

411. Hans Schmalfuß und Wilhelm Peschke: Kern-methylierte Tyrosine und Melanin-Bildung.

[Aus d. Chem. Staatsinstitut, Hamburg, Universität.]
(Eingegangen am 16. August 1929.)

In früheren Arbeiten über fermentative Melanin-Bildung¹⁾ haben wir auf Grund mehrerer tausend Versuche unter bestimmten Bedingungen die melanogenen Eigenschaften nahezu aller wichtigen Gruppen und Gruppen-Kombinationen in chemischen Molekülen festgelegt. Die Versuchs-Bedingungen waren hierbei möglichst getreu den Bedingungen für Melanin-Bildung im Organismen-Reich nachgebildet²⁾. Daher ist es möglich, auf diese Weise die Anzahl der Stoffe, die beim Aufsuchen von Melanogenen im Organismenreich berücksichtigt werden müssen, einzuschränken. Das ist in der vorliegenden Arbeit für die kern-methylierten *p*-Tyrosine durchgeführt.

Die Arbeit trug zwangsläufig noch auf einem anderen Gebiet der Melanin-Chemie Früchte: Es ist bekannt, daß *p*-Tyrosin³⁾ in Gegenwart von Wasser⁴⁾, Sauerstoff und Tyrosinase⁵⁾ in Melanin⁶⁾ übergeht. Nach H. S. Raper⁷⁾ wird Tyrosin zunächst in β -[3,4-Dioxy-phenyl]- α -alanin und dann in ein Indol-Derivat übergeführt, entsprechend seinem auf S. 2592 abgedruckten Schema.

Für die vorliegende Arbeit ist es wichtig, daß die Stellen 2 und 5 im Benzolkern des ursprünglichen Tyrosins, soweit das Schema reicht, nicht verändert werden. Man sollte daher erwarten, daß die Stellen 2 oder 5 oder beide ohne Schaden für die Reaktion mit Methylgruppen besetzt werden dürften⁸⁾, es sei denn, daß Hinderungen besonderer Art eine Rolle spielen.

Weiter zeigte C. Funk⁹⁾, wenn auch auf indirektem Wege, daß 3-Amino-tyrosin (ähnlich wie 3-Oxy-tyrosin) im Gegensatz zu 2-Amino-tyrosin in Melanin übergehen kann. C. Oppenheimer¹⁰⁾ nimmt hierbei als Zwischenprodukt ein *o*-Chinon-imin an, das ebenso leicht wie *o*-Benzochinon in Melanin übergehen kann. In diesem Beispiel ist die Stelle 2 des Benzolkerns ohne Schaden für die Melanin-Bildung besetzt, allerdings durch eine Gruppe, die durch Tyrosinase zugunsten der Melanin-Bildung leicht umgewandelt werden soll. Im Gegensatz hierzu kann die Aminogruppe in anderen Fällen

¹⁾ H. Schmalfuß, Fermentforsch. 8, 1—41 [1924]; derselbe, ebendort S. 86; derselbe und Hans Werner, ebendort S. 116—134; dieselben, ebendort S. 423—427 [1925]; dieselben, Ztschr. induct. Abstamm. u. Vererb.-Lehre 41, 285—358 [1926]; derselbe, Naturwiss. 15, 453—457 [1927], 16, 209—219 [1928].

²⁾ H. Schmalfuß und H. Werner, B. 58, 2763—2764 [1925]; derselbe und H.-P. Müller, Biochem. Ztschr. 183, 362—368 [1927]; H. Przi Bram, H. Schmalfuß, H.-P. Müller und K. Spitzer, ebendort 187, 467—469 [1927]; H. Schmalfuß und H. Barthmeyer, Biochem. Ztschr. 190, 424—434 [1927]; dieselben, Ztschr. induct. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre 47, 261—269 [1928]; dieselben, ebendort [1929] im Druck.

³⁾ Sowohl *d*- als auch *l*- und *d,l*-*p*-Tyrosin; geprüft mit Tyrosinase aus *Russula delica* Fr. durch E. Abderhalden u. H. Sichel, Fermentforsch. 7, 85—90 [1924].

⁴⁾ H. Schmalfuß, Fermentforsch. 8, 124 [1924].

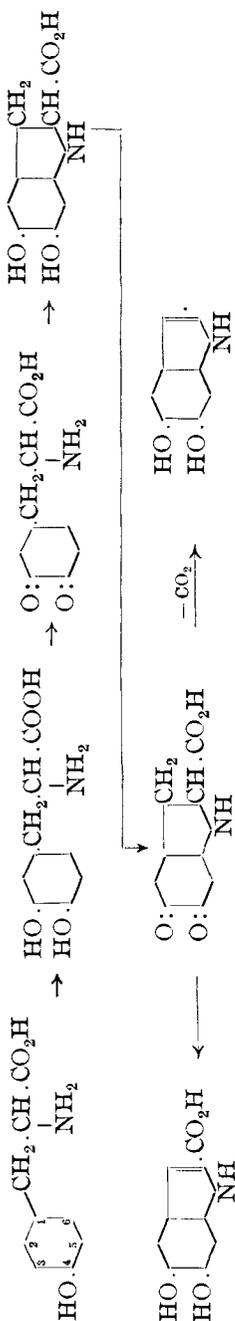
⁵⁾ Die Natur der Tyrosinase ist für diese Untersuchung belanglos; vergl. hierzu H. Raper, Biochem. Journ. 20, 69—72 [1926].

⁶⁾ „Melanin“ ist nur ein Sammelname für braunschwarze bis schwarze Pigmente.

⁷⁾ Biochem. Journ. 21, 89—96 [1927]; H. S. Raper und E. Oxford, Journ. chem. Soc. London 129, 417—422 [1927]. ⁸⁾ Im Gegensatz zu den Stellen 3 und 6.

⁹⁾ Journ. chem. Soc. London 101, 1004—1008 [1912].

¹⁰⁾ Lehrbuch d. Enzyme, S. 938—939; G. Thieme, Leipzig 1927.



die Melanin-Bildung empfindlich stören, wie wir früher gezeigt haben¹⁾. Die Aminogruppe ist also als Substituent für unsere Fragestellung ungeeignet. Auf der anderen Seite geben weder *o*-Tyrosin, noch *m*-Tyrosin Melanin oder andere Umwandlungsprodukte, wie E. Abderhalden¹¹⁾ zeigte, obwohl aus beiden *o*-Chinone entstehen könnten. Man sollte annehmen, daß im Schema Rapers das *m*-Tyrosin das *p*-Tyrosin vollwertig vertreten könnte (da in der zweiten Reaktionsstufe die Stellen 3 und 4 mit Oxygruppen besetzt sind). Das ist aber offenbar nicht der Fall. Auch diese Befunde erlauben keinen Schluß für unsere Fragestellung.

Wir ersetzten daher die Kern-Wasserstoffe im *p*-Tyrosin einzeln und, soweit es für die vorliegende Untersuchung nötig war, auch zu mehreren durch Methyl¹²⁾. Dann prüften wir, ob die entstandenen Stoffe noch fähig waren, in Melanin überzugehen, und ob sie durch das genannte Ferment irgendwie verändert wurden. Es wurden erstmalig folgende Stoffe dargestellt und auf melanogene Eigenschaften hin untersucht: *d,l*-2-Methyl-tyrosin (I); *d,l*-2,3-Dimethyl-tyrosin (II); *d,l*-3,5-Dimethyl-tyrosin (III); *d,l*-2,5-Dimethyl-tyrosin (IV)¹³⁾; schließlich wurde das bekannte *d,l*-3-Methyl-tyrosin (V) auf anderem Wege als bisher dargestellt und ebenfalls auf melanogene Eigenschaften hin geprüft. Man hätte nach dem Raperschen Schema erwarten sollen, daß die Verbindungen I, V und IV, im Gegensatz zu II und III, Melanin bilden würden. Die Untersuchung ergab aber, daß keiner der genannten Stoffe unter den gewählten Bedingungen, im Gegensatz zu *p*-Tyrosin und 3-Oxy-*p*-tyrosin, in Melanin übergeht oder auch nur merklich durch das genannte Ferment verändert wurde. Da die Löslichkeit der Methyl-tyrosine ausreicht und sowohl in Wasser als auch in geeigneter Puffer-Lösung bei Anwesenheit und bei Abwesenheit von *p*-Tyrosin und 3-Oxy-*p*-tyrosin gearbeitet wurde, so ergibt sich, daß die eingeführten Methylgruppen, einerlei an welcher Stelle des Benzolkerns im *p*-Tyrosin sie haften, verhindern, daß durch Tyrosinase Melanin oder ein Zwischenprodukt auf dem Wege zum Melanin gebildet wird. Was für die Methylgruppe gilt, dürfte auch für andere Gruppen gelten, soweit sie das Ferment nicht beeinflussen und selbst durch das Ferment nicht verändert werden. Wir werden die Untersuchungen auf Tyrosine

¹¹⁾ Fermentforsch. **9**, 117 [1928].

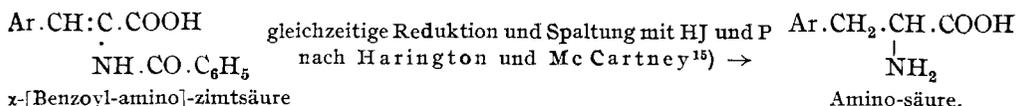
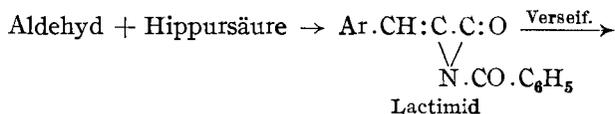
¹²⁾ Das Methyl als Alkylgruppe fördert oder stört erfahrungsgemäß die fermentative Melanin-Bildung nicht; auch wird diese Gruppe in der Reaktion nicht verändert (Lit. s. Anm. 1!).

¹³⁾ 2,6-Dimethyl-tyrosin ließ sich auf dem von uns benutzten Wege nicht gewinnen.

ausdehnen, die am Stickstoff methyliert sind, sowie auf *o*-Dioxy- und *p*-Dioxy-Verbindungen, die im Kern oder am Stickstoff alkyliert sind.

Beschreibung der Versuche.

Wir stellten die kern-methylierten *p*-Tyrosine nach der Synthese von E. Erlensmeyer jun.¹⁴⁾ her, die durch C. Harington und W. McCartney¹⁵⁾ vereinfacht ist. Bei dieser Synthese werden aromatische Aldehyde bei Gegenwart von wasser-freiem Natriumacetat und Essigsäure-anhydrid mit Hippursäure kondensiert. Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema:



Wir beschreiben die Darstellung der kern-methylierten Tyrosine eingehend nur am Beispiel der

d, l- β -[4-Oxy-2-methyl-phenyl]- α -amino-propionsäure (*d, l*-2-Methyl-tyrosin).

4-[Acetyl-oxy]-2-methyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure-lactimid: 15 g 4-Oxy-2-methyl-benzaldehyd¹⁶⁾, 20 g Hippursäure¹⁷⁾ und 9 g wasser-freies Natriumacetat wurden innig vermischt und mit 33 g frisch destilliertem Essigsäure-anhydrid 20 Min. auf dem siedenden Wasserbade erhitzt. Es entstand ein gelber Krystallkuchen, der nach dem Abkühlen fein zerrieben wurde. Die Krystalle wurden mit heißem Wasser, dann mit 50-proz. Alkohol, schließlich mit Äther gewaschen und durch 1-maliges Umlösen¹⁸⁾ aus 60-proz. Essigsäure gereinigt. Rein-Ausbeute 26.0 g (73% d. Th.). Die gelben Krystalle vom Schmp. 157° lösen sich in Wasser schwer, in Äther sehr schwer und werden von Eisessig leicht aufgenommen.

0.2216 g Sbst.¹⁹⁾: 0.5745 g CO₂, 0.0968 g H₂O. — 0.2123 g Sbst.: 0.5510 g CO₂, 0.0933 g H₂O. — 0.01895 g Sbst.: 0.731 ccm N (23°, 766 mm). — 0.01595 g Sbst.: 0.636 ccm N (23.5°, 765 mm).

C₁₉H₁₅O₄N. Ber. C 71.01, H 4.71, N 4.36.
Gef. „ 70.69, 70.78, „ 4.89, 4.92, „ 4.39, 4.53.

4-Oxy-2-methyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure: Zwecks Verseifung wurden 20 g 4-[Acetyl-oxy]-2-methyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure-lactimid mit einer Lösung von 7 g Natriumhydroxyd in 300 ccm 50-proz. Alkohol übergossen. Hierbei färbte sich das Lactimid orangerot²⁰⁾.

¹⁴⁾ A. 275, 1—2 off. [1893]. ¹⁵⁾ Biochem. Journ. 21, 852—856 [1927].

¹⁶⁾ Vom Schmp. 110°, hergestellt nach L. Gattermann, B. 31, 1767 [1898], aus 3-Methyl-phenol. Alle Schmp. und Zers.-Pkte. sind korrigiert angegeben.

¹⁷⁾ Bezogen von der I.-G. Farbenindustrie A.-G.

¹⁸⁾ Der Schmp. änderte sich nicht mehr.

¹⁹⁾ Die Substanz wurde im luft-verdünnten Raum über Phosphor-pentoxyd getrocknet.

²⁰⁾ Diese Erscheinung trat auch bei den weiter unten dargestellten Lactimiden auf.

Dann wurde 15 Min. auf siedendem Wasserbade erhitzt. Hierbei entstand eine weinrote Lösung, die allmählich bedeutend heller wurde. Nun wurden 600 ccm siedendes Wasser zugesetzt. Unter beständigem Umrühren und Erhitzen auf dem Wasserbade wurde tropfenweise mit 10-proz. Salzsäure angesäuert²¹⁾. Sobald die Lösung sauer reagierte, fiel der größte Teil der freien Säure schon in der Wärme krystallinisch aus. Durch Abkühlen ließ sich noch eine geringe Menge der Säure gewinnen. Das Rohprodukt wurde in der 10-fachen Menge heißen 96-proz. Alkohols gelöst und bis zur beginnenden Trübung mit siedendem Wasser verdünnt. Durch wenig Alkohol wurde die Trübung beseitigt. Beim Erkalten krystallisierte die Substanz aus. Rein-Ausbeute: 16.8 g (91% d. Th.). Die schwach gelblichen Krystalle vom Zers.-Pkt. 254° waren in heißem und kaltem Wasser schwer löslich, in absol. Alkohol leicht löslich.

0.1122 g Sbst.¹⁹⁾: 0.2818 g CO₂, 0.0517 g H₂O. — 0.1636 g Sbst.: 0.4126 g CO₂, 0.0765 g H₂O. — 0.00943 g Sbst.: 0.397 ccm N (23°, 777 mm). — 0.01482 g Sbst.: 0.590 ccm N (23°, 778 mm).

C₁₇H₁₅O₄N. Ber. C 68.67, H 5.09, N 4.71.
Gef. „ 68.50, 68.78, „ 5.16, 5.23, „ 4.86, 4.61.

d, l-β-[4-Oxy-2-methyl-phenyl]-α-amino-propionsäure (*d, l*-Methyl-tyrosin): 5 g 4-Oxy-2-methyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure wurden mit einer Mischung von 25 ccm Jodwasserstoffsäure (am besten vom spezif. Gew. 1.96), 25 ccm Essigsäure-anhydrid und 3 g rotem Phosphor am Rückflußkühler auf dem Babo-Blech 1½ Stdn. im Sieden erhalten. Die noch heiße Lösung wurde durch ein Schottisches Glasfilter gegeben und im luft-verdünnten Raum bei 50° zur Trockne verdampft, um die überschüssige Jodwasserstoffsäure zu entfernen. Das Eindampfen wurde nach Zusatz von je 30 ccm Wasser 2-mal wiederholt. Der dunkel gefärbte Rückstand wurde in heißem Wasser gelöst. Nach dem Erkalten wurde die Lösung 3-mal ausgeäthert, um die entstandene Benzoessäure und einen rotbraunen Farbstoff zu entfernen. Die verbliebene, schwach gelbe Lösung²²⁾ wurde mit 25-proz. Ammoniak schwach alkalisch gemacht. Die alkalische Lösung wurde im luft-verdünnten Raum zur Trockne verdampft. Ausnahmsweise entstanden hier nicht, wie bei den anderen methylierten *p*-Tyrosinen sogleich Krystalle, sondern es hinterblieb ein Sirup, der sich bis auf einen kleinen Rest²³⁾ in 60-proz. Alkohol löste. Nun wurde die alkohol. Lösung im Vakuum eingedampft. Es blieb ein gelb gefärbter Sirup zurück, der nach 3 Tagen krystallinisch erstarrte und dann in 60-proz. Alkohol sehr schwer löslich war²⁴⁾. Das Rohprodukt wurde in wäßriger Lösung mit Tierkohle entfärbt und 5-mal aus Wasser umkrystallisiert²⁵⁾. Rein-Ausbeute: 2.0 g (61% d. Th.). Die Krystalle vom Zers.-Pkt. 261° waren in Wasser wesentlich

²¹⁾ So erhält man Krystalle.

²²⁾ Die Lösung enthielt die Amino-säure als Hydrojodid.

²³⁾ Dieser Rest besteht aus dem Ammoniumsalz einer Säure des Phosphors mit niedrigerem Sauerstoffgehalt als der der Phosphorsäure.

²⁴⁾ Das beigemengte Ammoniumjodid wurde quantitativ gelöst.

²⁵⁾ Da die Substanz leicht, ebenso wie das *p*-Tyrosin, übersättigte Lösungen bildet, wurde die Krystallisation durch Einengen im luft-verdünnten Raum beschleunigt. Die Fermentversuche verlangen größte Reinheit.

leichter löslich als *p*-Tyrosin. Die Substanz gibt mit Millons Reagens eine Rotfärbung und als α -Amino-säure die Wasser-Brauchlische Reaktion²⁶⁾.

o.1318 g Sbst.¹⁹⁾: 0.2979 g CO₂, 0.0808 g H₂O. — 0.1853 g Sbst.: 0.4169 g CO₂, 0.1148 g H₂O. — 0.00915 g Sbst.: 0.571 ccm N (20°, 760 mm). — 0.01674 g Sbst.: 1.042 ccm N (21°, 759 mm).

C₁₀H₁₃O₃N. Ber. C 61.51, H 6.71, N 7.18.
Gef. „ 61.64, 61.36, „ 6.86, 6.93, „ 7.13, 7.19.

d, l- β -[4-Oxy-2.5-dimethyl-phenyl]- α -amino-propionsäure
(2.5-Dimethyl-tyrosin).

4-[Acetyl-oxy]-2.5-dimethyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure-lactimid: 15 g 4-Oxy-2.5-dimethyl-benzaldehyd²⁷⁾, 20 g Hippur-säure, 9 g wasser-freies Natriumacetat und 33 g Essigsäure-anhydrid wurden in der beschriebenen Weise kondensiert. Rein-Ausbeute: 23.8 g (71% d. Th.). Die gelben Krystalle vom Schmp. 166° lösen sich sehr schwer in Wasser. Von Eisessig werden sie leicht aufgenommen.

o.1156 g Sbst.¹⁹⁾: 0.3040 g CO₂, 0.0536 g H₂O. — 0.1060 g Sbst.: 0.2778 g CO₂, 0.0496 g H₂O. — 0.01241 g Sbst.: 0.473 ccm N (24°, 765 mm). — 0.01606 g Sbst.: 0.610 ccm N (25°, 765 mm).

C₂₀H₁₇O₄N. Ber. C 71.61, H 5.12, N 4.18.
Gef. „ 71.72, 71.48, „ 5.19, 5.24, „ 4.32, 4.29.

4-Oxy-2.5-dimethyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure: 20 g Lactimid wurden in der beschriebenen Weise verseift. Dann wurde 3-mal aus wäßrigem Alkohol umkrystallisiert. Rein-Ausbeute: 15.3 g (82% d. Th.). Die schwach gelblichen Krystalle vom Zers.-Pkt. 239° lösen sich schwer in Wasser, aber ziemlich leicht in 96-proz. Alkohol.

o.1440 g Sbst.¹⁹⁾: 0.3672 g CO₂, 0.0723 g H₂O. — 0.1085 g Sbst.: 0.2757 g CO₂, 0.0553 g H₂O. — 0.01167 g Sbst.: 0.464 ccm N (22°, 785 mm). — 0.01549 g Sbst.: 0.604 ccm N (22°, 785 mm).

C₁₈H₁₇O₄N. Ber. C 69.42, H 5.51, N 4.50.
Gef. „ 69.55, 69.30, „ 5.62, 5.74, „ 4.66, 4.57.

d, l- β -[4-Oxy-2.5-dimethyl-phenyl]- α -amino-propionsäure (*d, l*-2.5-Dimethyl-tyrosin): 5 g 4-Oxy-2.5-dimethyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure wurden in der beschriebenen Weise 1¼ Stde. behandelt. Rein-Ausbeute: 2.4 g (72% d. Th.). Die Krystalle vom Zers.-Pkt. 249° sind leichter löslich in Wasser als *p*-Tyrosin. Die Substanz gibt mit Millons Reagens eine Rotfärbung und als α -Amino-säure die Wasser-Brauchlische Reaktion²⁶⁾.

o.1362 g Sbst.¹⁹⁾: 0.3146 g CO₂, 0.0898 g H₂O. — 0.1649 g Sbst.: 0.3804 g CO₂, 0.1077 g H₂O. — 0.01304 g Sbst.: 0.759 ccm N (20°, 766 mm). — 0.01259 g Sbst.: 0.736 ccm N (19°, 766 mm).

C₁₁H₁₃O₃N. Ber. C 63.12, H 7.23, N 6.69.
Gef. „ 63.00, 62.91, „ 7.38, 7.31, „ 6.70, 6.75.

²⁶⁾ Helv. chim. Acta 7, 757 [1924].

²⁷⁾ Schmp. 133°, hergestellt aus reinem 2.6-Dimethyl-phenol nach L. Gattermann, wie oben.

d, l-β-[4-Oxy-3.5-dimethyl-phenyl]-α-amino-propionsäure
(*d, l*-3.5-Dimethyl-tyrosin).

4-[Acetyl-oxy]-3.5-dimethyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure-lactimid: 12 g 4-Oxy-3.5-dimethyl-benzaldehyd²⁸⁾, 16 g Hippursäure 7 g wasser-freies Natriumacetat und 25 g Essigsäure-anhydrid wurden in der beschriebenen Weise kondensiert. Rein-Ausbeute 25.6 g (95% d. Th.). Die gelben Krystalle vom Schmp. 190° lösen sich schwer in Wasser. Von Eisessig werden sie leicht aufgenommen.

0.2041 g Sbst.¹⁹⁾: 0.5377 g CO₂, 0.0954 g H₂O. — 0.1533 g Sbst.: 0.4032 g CO₂, 0.0727 g H₂O. — 0.01293 g Sbst.: 0.491 ccm N (24°, 765 mm). — 0.01220 g Sbst.: 0.454 ccm N (25°, 765 mm).

C₂₀H₁₇O₄N. Ber. C 71.61, H 5.12, N 4.18.
Gef. ,, 71.85, 71.73, ,, 5.23, 5.31, ,, 4.31, 4.21.

4-Oxy-3.5-dimethyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure: 20 g Lactimid wurden in der beschriebenen Weise verseift. Rein-Ausbeute 14.9 g (80% d. Th.). Die gelblichen Krystalle vom Zers.-Pkt. 222° lösen sich schwer in Wasser, aber ziemlich leicht in 96-proz. Alkohol.

0.1449 g Sbst.¹⁹⁾: 0.3676 g CO₂, 0.0734 g H₂O. — 0.1368 g Sbst.: 0.3477 g CO₂, 0.0684 g H₂O. — 0.01396 g Sbst.: 0.541 ccm N (23°, 782 mm). — 0.01630 g Sbst.: 0.628ccm N (23°, 782 mm).

C₁₈H₁₇O₄N. Ber. C 69.42, H 5.51, N 4.50.
Gef. ,, 69.19, 69.32, ,, 5.67, 5.60, ,, 4.51, 4.48.

d, l-β-[4-Oxy-3.5-dimethyl-phenyl]-α-amino-propionsäure (*d, l*-3.5-Dimethyl-tyrosin): 5 g 4-Oxy-3.5-dimethyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure wurden in der beschriebenen Weise 1¹/₂ Stdn. behandelt. Rein-Ausbeute 2.2 g (65% d. Th.). Die Krystalle vom Zers.-Pkt. 253° sind leichter löslich in Wasser als *p*-Tyrosin. Die Substanz gibt, wie nach F. Blum und W. Vaubel²⁹⁾ zu erwarten war, keine Rotfärbung mit Millons Reagens³⁰⁾, aber als α-Amino-säure die Waser-Brauchliche Reaktion²⁶⁾.

0.1694 g Sbst.¹⁹⁾: 0.3932 g CO₂, 0.1104 g H₂O. — 0.1491 g Sbst.: 0.3447 g CO₂, 0.0987 g H₂O. — 0.01545 g Sbst.: 0.892 ccm N (19°, 766 mm). — 0.01614 g Sbst.: 0.940 ccm N (19°, 766 mm).

C₁₁H₁₅O₃N. Ber. C 63.12, H 7.23, N 6.69.
Gef. ,, 63.30, 63.05, ,, 7.29, 7.41, ,, 6.67, 6.73.

d, l-β-[4-Oxy-2.3-dimethyl-phenyl]-α-amino-propionsäure
(*d, l*-2.3-Dimethyl-tyrosin).

4-[Acetyl-oxy]-2.3-dimethyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure-lactimid: 6 g 4-Oxy-2.3-dimethyl-benzaldehyd³¹⁾, 8 g Hippur-

²⁸⁾ Schmp. 116°, hergestellt durch Oxydation von 2.4.6-Trimethyl-phenol mit Amylnitrit nach J. Thiele und H. Eichwede, A. **311**, 367 [1900].

²⁹⁾ Journ. prakt. Chem. [2] **57**, 388 [1898].

³⁰⁾ Die Lösung färbte sich nicht rot, und es entstand statt des roten Niederschlags ein weißer. 4-Oxy-3.5-dimethyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure verhielt sich ebenso. Dagegen gab 4-Oxy-3.6-dimethyl-α-[benzoyl-amino]-zimtsäure beim Erwärmen eine Rotfärbung. Wichtig ist das praktische Ergebnis, daß 3.5-Dimethyl-tyrosin durch den negativen Ausfall der Millonschen Reaktion vom 2.5-Dimethyl-tyrosin qualitativ unterschieden werden kann. Denn zumal die Schmelzpunkte beider liegen dicht beieinander.

³¹⁾ Schmp. 173°, hergestellt wie oben nach L. Gattermann aus 2.3-Dimethyl-phenol. Dieses wurde aus 2-Methyl-6-oxy-benzaldehyd in Anlehnung an E. Clemmensen, B. **47**, 60 [1914], mit einer Rein-Ausbeute von 60% d. Th. gewonnen.

säure, 4 g wasser-freies Natriumacetat und 15 g Essigsäure-anhydrid wurden in der beschriebenen Weise kondensiert. Rein-Ausbeute 10.3 g (77% d. Th.). Die gelben Krystalle vom Schmp. 183° lösten sich schwer in Wasser und Äther. Von Eisessig wurden sie leicht aufgenommen.

0.1737 g Subst.¹⁹⁾: 0.4566 g CO₂, 0.0826 g H₂O. — 0.1245 g Subst.: 0.3277 g CO₂, 0.0595 g H₂O. — 0.01544 g Subst.: 0.567 ccm N (20°, 761 mm). — 0.01948 g Subst.: 0.720 ccm N (20°, 761 mm).

C₂₀H₁₇O₄N. Ber. C 71.61, H 5.12, N 4.18.
Gef. „ 71.69, 71.79, „ 5.32, 5.35, „ 4.20, 4.23.

4-Oxy-2.3-dimethyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure: 8 g Lactimid wurden in der beschriebenen Weise verseift. Rein-Ausbeute 6.5 g (87% d. Th.). Die schwach gelblichen Krystalle vom Schmp. 236° sind in heißem und kaltem Wasser schwer löslich, aber ziemlich leicht in 96-proz. Alkohol.

0.1433 g Subst.¹⁹⁾: 0.3644 g CO₂, 0.0731 g H₂O. — 0.1463 g Subst.: 0.3733 g CO₂, 0.0736 g H₂O. — 0.01636 g Subst.: 0.635 ccm N (22°, 785 mm). — 0.01836 g Subst.: 0.720 ccm N (23°, 785 mm).

C₁₈H₁₇O₄N. Ber. C 69.43, H 5.51, N 4.50.
Gef. „ 69.35, 69.59, „ 5.71, 5.63, „ 4.55, 4.58.

d, l- β -[4-Oxy-2.3-dimethyl-phenyl]- α -amino-propionsäure (*d, l*-2.3-Dimethyl-tyrosin): 5 g 4-Oxy-2.3-dimethyl- α -[benzoyl-amino]-zimtsäure wurden in der beschriebenen Weise 1 $\frac{1}{2}$ Stdn. behandelt. Rein-Ausbeute 2.6 g (78% d. Th.). Die Krystalle vom Zers.-Pkt. 284° lösen sich in Wasser etwa ebenso leicht wie *p*-Tyrosin. Die Substanz gibt mit Millons Reagens eine Rotfärbung und als α -Amino-säure die Wasser-Brauchliche Reaktion²⁶⁾.

0.1295 g Subst.¹⁹⁾: 0.3007 g CO₂, 0.0848 g H₂O. — 0.2176 g Subst.: 0.5045 g CO₂, 0.1423 g H₂O. — 0.00868 g Subst.: 0.514 ccm N (19°, 766 mm). — 0.00947 g Subst.: 0.552 ccm N (20°, 766 mm).

C₁₁H₁₅O₃N. Ber. C 63.12, H 7.23, N 6.69.
Gef. „ 63.33, 63.23, „ 7.33, 7.32, „ 6.84, 6.71.

Ferment-chemischer Teil.

Folgende Stoffe wurden auf ihre Fähigkeit hin, Melanin zu bilden, untersucht: Monomethyl-*p*-tyrosine: *d, l*-2-Methyl-tyrosin und *d, l*-3-Methyl-tyrosin³²⁾, Dimethyl-*p*-tyrosine: *d, l*-2.5-Dimethyl-tyrosin, *d, l*-3.5-Dimethyl-tyrosin, *d, l*-2.3-Dimethyl-tyrosin.

Je 1 ccm wäßriger oder gepuffertes³³⁾ $m/_{100}$ -Substrat-Lösung³⁴⁾ wurde in Glasstöpsel-Fläschchen gegeben. In jedes Fläschchen wurde ein Ferment-Prüfstreifen eingeführt, der mit der Hämolymphe aus der Larve eines Mehl-

³²⁾ Das 3-Methyl-tyrosin wurde bereits von K. Fromherz und L. Hermanns, Ztschr. physiol. Chem. 91, 202 [1924], gewonnen. Es wurde nun auf andere Weise, nämlich so wie die übrigen Methyl-tyrosine, dargestellt. Die Verbindung wurde, wie die übrigen, durch Schmp., 4 Elementaranalysen, Millonsche und Wasser-Brauchliche Reaktion identifiziert.

³³⁾ Phosphat-Puffer [H⁺] = 10^{-7.9} nach L. Michaelis; Die Wasserstoff-Ionen-Konzentration, S. 188, Springer, Berlin [1914].

³⁴⁾ Das 2.3-Dimethyl-tyrosin mußte durch Erwärmen im Wasserbade in Lösung gebracht werden. Beim Erkalten krystallisierte es nicht wieder aus, da es leicht, ähnlich wie Tyrosin, übersättigte Lösungen bildet.

käfers, *Tenebrio molitor* L., getränkt war. Die verschlossenen Fläschchen blieben 5 Tage im Brutschrank bei ca. 36° stehen. Es hatte sich kein Melanin auf den Prüfstreifen gebildet. Auf Zusatz von Tyrosin oder 3-Oxy-tyrosin trat in jedem Fall schon nach 10 Minuten eine deutliche Grau- oder Braunfärbung auf, ein Zeichen, daß die Prüfstreifen leistungsfähig und die Substrate frei von Fermentgift waren. Die untersuchten Amino-säuren wurden unter dem Einfluß des Ferments auch nicht in andere farblose Verbindungen übergeführt, denn die Verbindungen konnten noch nach 2 Tagen praktisch quantitativ wiedergewonnen werden. Schmp. und Misch-Schmp. zeigten keine Änderung gegenüber dem jeweiligen Ausgangsprodukt.

Je 2 ccm $m/_{100}$ -Substrat-Lösungen wurden mit einem Ferment-Prüfstreifen 2 Tage im Brutschrank bei ca. 37° gehalten. Dann wurden die Lösungen im Trockenschrank zur Trockne verdampft.

3-Methyl-tyrosin: Ber. 3.90 mg, gef. 3.89 mg.

2-Methyl-tyrosin: Ber. 3.90 mg, gef. 3.91 mg.

2.5-Dimethyl-tyrosin: Ber. 4.18 mg, gef. 4.17 mg.

3.5-Dimethyl-tyrosin: Ber. 4.18 mg, gef. 4.19 mg.

2.6-Dimethyl-tyrosin: Ber. 4.18 mg, gef. 4.19 mg.

412. Hermann Leuchs und Fritz Kröhnke: Oxydationsprodukte der reduzierten Hanssen-Säure (Über Strychnos-Alkaloide, LIII).

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 31. August 1929.)

Die Säure $C_{19}H_{22}O_6N_2$ von Hanssen enthält 2 C:C-Bindungen und nach der Reduktion mit Natrium-amalgam zu $C_{19}H_{24}O_6N_2$ ¹⁾ noch eine. Auch diese hydrierte Säure reagiert infolgedessen in Bicarbonat-Lösung leicht mit Kaliumpermanganat, und der Verbrauch ist etwa sechs Äquivalente. Es ließ sich aber nur in einer Menge von gegen 30% ein in Blättchen kristallisiertes, in heißem Wasser schwer (1:110) lösliches Produkt gewinnen, das der Formel $C_{19}H_{24}O_9N_2 + H_2O$ entspricht.

Die Aufnahme von drei Atomen Sauerstoff hat aus der Säure $C_{19}H_{24}O_6N_2$ mit einem sauren Carboxyl eine solche mit zweien gemacht. Bemerkenswert ist, daß sie zum Unterschied von allen Säuren dieser Reihe mit Mineralsäuren offenbar keine beständigen Salze mehr bildet. Der Grund dafür mag die Anwesenheit von drei Carboxylen oder die Schwerlöslichkeit der freien Säure sein, vielleicht auch das Verschwinden der Basizität des b-N-Atoms nach dem Schema $>N.C:C \rightarrow >N.CO:HO_2C-$, das allerdings drei saure Carboxyle erwarten ließe. Oxydation nach Perkin-Robinson²⁾ von $.CH_2.N <$ zu $.CO.N <$ würde die Aufnahme von zwei Hydroxylen an der C:C-Bindung erfordern, wie sie bei der Brom-Oxydation der Säure $C_{19}H_{24}O_6N_2$ statthat. Aber die dann vorhandene Angreifbarkeit durch Quecksilberoxyd fehlt dem Stoff.

Man muß deshalb annehmen, daß $C_2:C:CH-$ zu $C_2:CO:HO_2C-$ aufgespalten und beim b-N-Atom nichts verändert ist. Jedoch ist ein sicherer

¹⁾ H. Leuchs u. Mitarbeiter, B. 55, 2412 [1922].

²⁾ Journ. chem. Soc. London 1928, 3086.