

## ANTHRACHINONFARBSTOFFE XII.\*

CYCLISIERUNG VON DI-(1-ANTHRACHINONYL)AMIN  
DURCH BEHANDLUNG MIT TITAN(IV)-CHLORID  
IN *o*-DICHLORBENZOL-MILIEU

J. MARHAN und J. ARIENT

*Forschungsinstitut für organische Synthesen, Pardubice-Rybitvi*

Eingegangen am 15. Juli 1970

Die Synthese von 16*H*-Dinaphtho[2,3-*a*:2',3'-*i*]carbazol-5,10,15,17-tetron (*II*; in der Literatur allgemein 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol bezeichnet) durch Cyclisierung von Di(1-anthrachinonyl)-amin (*I*; traditionelle Bezeichnung 1,1'-Dianthrimid) wurde zuerst in einigen Patenten beschrieben, da das Produkt unter dem Namen Indanthren gelb FFRK lange Zeit als Küpenfarbstoff Verwendung fand<sup>1</sup>. Mit der Bestätigung seiner Struktur befaßten sich Bradley und Mitarbeiter<sup>2</sup>, welcher Autor auch die Darstellung einiger Derivate der Verbindung *II* durch Cyclisierung von Anthrimiden unter Einwirkung von Titan(IV)-chlorid in *o*-Dichlorbenzol-Milieu beschrieb<sup>3,4</sup>, ein Verfahren, das von Mitarbeitern der Fa. American Cyanamid Corp. als allgemeine Herstellungsmethode von Diphthaloylcarbazol-Küpenfarbstoffen patentiert ist<sup>5</sup>.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir den Einfluß verschiedener Parameter auf den Cyclisierungsverlauf von 1,1'-Dianthrimid (*I*) zu 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol (*II*) durch Behandlung mit Titan(IV)-chlorid im Milieu von *o*-Dichlorbenzol. Die Reaktion ist heterogen, denn die Ausgangssubstanz ist in *o*-Dichlorbenzol praktisch unlöslich. Die Suspension muß man auf eine geeignete Temperatur erhitzen, bei der sich die Reaktion unter Freisetzung von Chlorwasserstoff vollzieht. Die Cyclisierung führten wir in einer geschlossenen Apparatur im Strom eines inerten Trägergases aus, das das gebildete Chlorwasserstoff in Natronlauge mitschleppt, deren Konzentration auf pH 9 gehalten wird. Nach dem Verbrauch des zugesetzten Alkalis wurde der Cyclisierungsverlauf verfolgt.

Bei den Versuchen zur Untersuchung des Einflusses der Temperatur auf den Cyclisierungsverlauf wurden die beiden vorher temperierten Komponenten — die Suspension der Substanz *I* in *o*-Dichlorbenzol und die Titan(IV)-chlorid-Lösung (in einer Menge von 2 mol Titan(IV)-chlorid pro mol Substanz *I*) gleichfalls in *o*-Dichlorbenzol rasch zusammengefügt und die Chlorwasserstoffentwicklung verfolgt. Bei Temperaturen bis 55°C verlief die Cyclisierung nicht, bei höheren Temperaturen setzte sie sofort nach Vereinigen der Komponenten ein und verlief innerhalb einiger Minuten, ohne daß ein größerer Einfluß der Temperatur auf ihre Geschwindigkeit bemerkbar war (Abb. 1). Die freigesetzte Chlorwasserstoffmenge entsprach 2 mol pro mol 1,1'-Dianthrimid, sofern sie (besonders bei höheren Temperaturen) nicht durch eine größere Menge mitgerissenen Titan(IV)-chlorids verzerrt wurde. Der Gehalt an 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol (*II*) in den Endprodukten wurde durch Spektralanalyse der Lösungen in konz. Schwefelsäure bestimmt. Die ermittelten Ausbeuten (90–98%) waren im Einklang mit den aus der Bestimmung des aufgefangenen Chlorwasserstoffes abgeleiteten Ergebnissen.

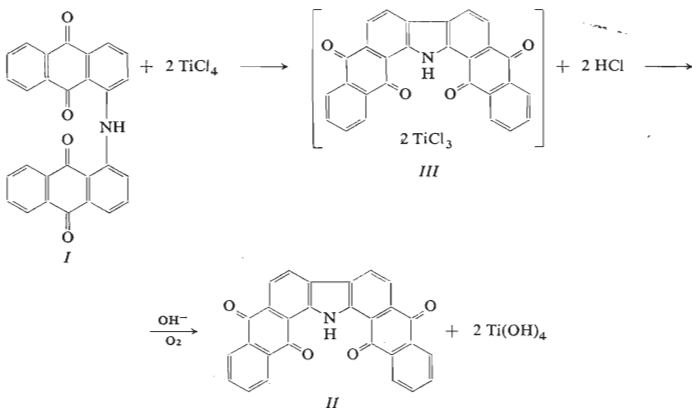
Die Ausbeuten der bei der erforderlichen Temperatur und bei hinreichender *o*-Dichlorbenzol-Menge ausgeführten Cyclisierungen werden hauptsächlich durch das Molverhältnis der Substanz *I* zu Titan(IV)-chlorid bestimmt. Die in einer diesen Einfluß verfolgenden Versuchsserie erzielten Ergebnisse sind in Tabelle I und Abb. 2 zusammengefaßt, aus denen hervorgeht, daß bei 70°C die Cyclisierung von 1 mol Substanz *I* erst bei Gegenwart von 2 mol Titan(IV)-chlorid praktisch

\* XI. Mitteilung: diese Zeitschrift 36, 2074 (1971).

quantitativ verlief. Durch sukzessiven Zusatz kleiner  $\text{TiCl}_4$ -Portionen konnte man diese Reaktion in eine beliebige Anzahl Stufen zerlegen. Diese Befunde zeigen, daß jeweils das gesamte vorhandene Titan(IV)-chlorid an der Cyclisierung teilnimmt. Deshalb konnte es nicht durch Bildung von Komplexverbindungen mit den Carbonylgruppen des Anthrimids *I* desaktiviert werden (siehe weiter unten), wie dies bei Anwendung von Aluminiumchlorid, dem verbreitetsten Katalysator für Friedel-Crafts-Reaktionen, der Fall ist<sup>8</sup>. Eine Erhöhung der Titan(IV)-chlorid-Menge über 2 mol war bereits zwecklos.

Ein charakteristisches Merkmal der Cyclisierungsreaktion war ihre hohe Selektivität. In keinem Fall wurde die Anwesenheit von durch Nebenreaktionen entstehenden Produkten festgestellt. Auch das angewandte *o*-Dichlorbenzol unterlag während der Reaktion keiner Veränderung; die gaschromatographisch analysierten Proben nach der Reaktion enthielten nicht *o*-Chlorbenzol-Isomerisierungsprodukte.

Bei der Cyclisierung entstand aus der ursprünglich roten Suspension des Anthrimids *I* eine schwarze Suspension der Komplexverbindung *III*. Diese Substanz, die sich isolieren ließ, war bis auf den abnehmenden Chlorgehalt beständig und änderte sich auch nicht bei langzeitigem Stehen an der Luft. Ihre Zersetzung unter Bildung von 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol (*II*) ließ sich in verschiedener Weise bewerkstelligen. Beispielsweise bei Einwirkung von verdünnten Alkalien färbte sie sich rasch braun und zersetzte sich zum Gemisch der Substanz *II* und Titan(IV)-hydroxid, das sich mit verdünnter Salzsäure quantitativ aus dem Gemisch extrahieren ließ. Der unlösliche Rückstand war die reine Verbindung<sup>6</sup> *II*. Ein verlässliches Zersetzungsverfahren war auch das sog. Überverküpen, d.i. die Reduktion des organischen Teils mit Natriumdithionit in alkalischem Milieu zum löslichen Natriumsalz der Leukoverbindung. Nach Absaugen von den ungelösten Titanhydroxiden wurde aus dem Filtrat durch Oxydation mit Sauerstoff Verbindung *II* ausgeschieden. In neutralem oder schwach saurem Milieu war die Komplexverbindung verhältnismäßig beständig. Ihre Zersetzung und die Auflösung der Titansalze verlief sehr langsam, und unter den untersuchten experimentellen Bedingungen konnte niemals



SCHEMA 1

mehr als die Hälfte des anorganischen Anteils entfernt werden. In konzentrierter Schwefelsäure ging die Komplexverbindung *III* in Lösung. Durch Fällen dieser Lösung mit überschüssigem Wasser schied sich wieder das Produkt *II* ab, während die Titansalze in Lösung blieben.

Der Titangehalt der Substanz *III* entsprach 2 mol Ti pro mol Verbindung *II*. Selbst bei Anwendung von überschüssigem Titan(IV)chlorid bei der Cyclisierung stieg der Titangehalt nicht an, und die 2 mol übersteigende Katalysatormenge ging gemeinsam mit *o*-Chlorbenzol in das Filtrat und band sich nicht an das Produkt. Der Chlorgehalt war immer niedriger als dem theoretischen Wert der Substanz *III* entsprach. Der Elementaranalyse der frei an der Luft belassenen Proben nahm der Chlorgehalt allmählich ab und wurde durch OH-Gruppen ersetzt. Wurde der Komplex *III* in trockenem Milieu abgesaugt, durch Waschen mit Tetrachlormethan und Äthanol von *o*-Dichlorbenzol befreit und die äthanolische Suspension mit äthanolischem Natriumhydroxid titriert, so entsprach die Summe der im Trägergas bestimmten Chlorwasserstoffmenge und der durch Titration des Komplexes bestimmten Chlorwasserstoffmenge der gesamten in Form von Titan(IV)-chlorid zugefügten Chlormenge. Die nach der Titration erhaltene Substanz enthielt nicht mehr Chlor, und gemäß ihrer Elementaranalyse näherte sie sich der Verbindung der Summenformel  $\text{II} \cdot \text{Ti}_2(\text{OH})_6$ . Der Unterschied der IR-Spektren der Proben der Komplexe in Nujol-suspension vom Spektrum der Substanz *II* erwies, daß bei allen diesen Änderungen die Bindung zwischen Titan und dem organischen Molekülteil im wesentlichen erhalten blieb. Erst nach Zersetzung mittels der beschriebenen Verfahren entsprachen die IR-Spektren der Proben dem Spektrum<sup>7</sup> von authentischem 1,2,7,8-Diphtaloylcarbazol (*II*).

Zur Bildung der beschriebenen Komplexverbindung kam es erst bei der eigentlichen Reaktion, denn 1,1'-Dianthrimid (*I*) bildet mit Titan(IV)-chlorid keinen festen Komplex. Langes Rühren des Reaktionsgemisches bei Temperaturen bis 50°C führte zu keiner Veränderung der roten Suspension, aus der durch Filtrieren immer die Ausgangsverbindung *I* zurückerhalten wurde, während Titan(IV)-chlorid quantitativ in das Filtrat übergang. Auf Grund dieser Befunde schla-

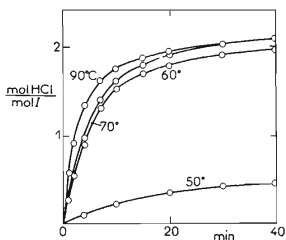


ABB. 1

Cyclisierungsverlauf von 1 mol 1,1'-Dianthrimid (*I*) bei Einwirkung von 2 mol Titan(IV)-chlorid bei 50–90°C

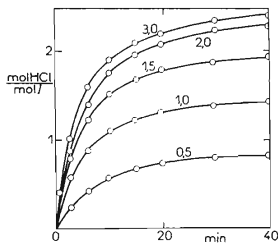


ABB. 2

Cyclisierungsverlauf von 1,1'-Dianthrimid (*I*) bei Einwirkung von Titan(IV)-chlorid bei 70°C

Die Zahlen an den Kurven bezeichnen das Ausgangsmolverhältnis von  $\text{TiCl}_4$  zur Substanz *I*.

gen wir für die Cyclisierungsreaktion das Reaktionsschema (1) vor. Die erste Reaktionsstufe muß mit einer erheblichen Änderung der räumlichen Anordnung des Moleküls verbunden sein. Wie aus dem Studium der IR-Spektren hervorging, bildet 1,1'-Dianthrimid kein ebenes Molekül, während umgekehrt das gebildete 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol planar ist<sup>7</sup>. Die zweite Stufe, die Zersetzung der Komplexverbindung in Verbund mit der Oxydation, stellt keine einheitliche Reaktion dar. Neben der Hauptreaktion wurde in dieser Stufe auch die intermediäre Anwesenheit von  $Ti^{III}$ -Salzen, die sich im alkalischen Milieu rasch zu Titan(IV)-hydroxid oxydierten, als auch die Anwesenheit der Leukoform des 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazols beobachtet, die durch Oxydation mit Luftsauerstoff rasch die chinoide Verbindung II regenerierte.

TABELLE I

Einfluß des Molverhältnisses  $TiCl_4/1,1'$ -Dianthrimid auf die Cyclisierungsausbeute bei 70°C

Molverhältnis $TiCl_4/1,1'$ -Dianthrimid	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0
Ausbeute II, %	22,1	42,8	70,8	97,7	98,3

## EXPERIMENTELLER TEIL

## Cyclisierung von 1,1'-Dianthrimid (I)

0,86 g (0,002 mol) Substanz I wurden in 30 ml *o*-Dichlorbenzol auf 70°C erhitzt und mit einem trockenen Stickstoffstrom, den man zum Kolbenboden leitete, die Luft aus der Apparatur vertrieben. Dann wurde die ebenfalls auf 70°C erhitzte Lösung von 0,44 ml (0,004 mol) Titan(IV)-chlorid in 10 ml *o*-Dichlorbenzol in einem Guß zugefügt und das Rühren bei dieser Temperatur fortgesetzt. Der sich bildende Chlorwasserstoff wurde im stetigen trockenen Stickstoffstrom in Natronlauge geleitet, deren Alkalität automatisch auf pH 9 gehalten wurde (Kalomet- und Glaselektrode, geschaltet über ein Multoskop mit einem automatischen Titriergerät) und der 0,2N-NaOH-Verbrauch in Abhängigkeit von der Zeit registriert. Nach Aufhören der Chlorwasserstoffentwicklung wurde das Gemisch abgekühlt, die Komplexverbindung abgesaugt und getrocknet; Ausbeute 1,75 g schwarzes Pulver.

Der Elementaranalyse nach näherte sich die Zusammensetzung der Komplexverbindung der Summenformel von 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol.  $Ti_2Cl_3(OH)_3$  (680,6) berechnet: 49,41% C, 2,37% H, 2,06% N, 15,30% Cl, 14,08% Ti; gefunden: 50,10% C, 2,54% H, 2,77% N, 15,30% Cl, 13,83% Ti. Nach Neutralisation der Chloridionen mit äthanolischer Natronlauge wurde eine schwarze Substanz erhalten, deren Zusammensetzung sich der Summenformel von 1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol.  $Ti_2(OH)_6$  (625,2) näherte. Berechnet: 53,78% C, 3,06% H, 2,24% N, 15,32% Ti; gefunden: 53,48% C, 2,93% H, 2,36% N, 16,18% Ti, <0,3% Cl.

Kurzes Erhitzen der Komplexverbindung in 50 ml 2,5N-NaOH ergab eine braune Suspension, aus der Titan(IV)-hydroxid durch Ansäuern mit 50 ml konz. HCl, Absaugen und Waschen mit verdünnter Salzsäure und Wasser entfernt wurde. Das Produkt wurde getrocknet (0,83 g) und der

1,2,7,8-Diphthaloylcarbazol-Gehalt durch Kolorimetrieren der Lösung einer Probe in konz. Schwefelsäure bei  $\lambda$  526 nm bestimmt.

Analog wurde auch bei den übrigen Versuchen unter den im Text diskutierten Bedingungen verfahren.

Für technische Mitarbeit danken wir Frau L. Musilová.

#### LITERATUR

1. Arient J., Slavík V., Marhan J.: Chem. listy 60, 1509 (1966).
2. Bradley W., Thitchener C. R.: J. Chem. Soc. 1953, 1085.
3. Bradley W., Pandit N. P.: J. Chem. Soc. 1955, 3399.
4. Bradley W., Pandit N. P.: J. Chem. Soc. 1957, 819.
5. American Cyanamid Corp.: US-Pat. 2 416 931 (1947).
6. Arient J., Marhan J., Musilová L.: Tschechoslow. Pat. 123 732 (1967).
7. Arient J., Knížek J., Marhan J., Slavík V.: diese Zeitschrift 33, 3280 (1968).
8. Wick A. K.: Helv. Chim. Acta 54, 769 (1971).

Übersetzt von M. Wichsová.

#### STABILITY OF ALKALINE PROTEASE FROM *Aspergillus flavus*

J. TURKOVÁ and O. MIKEŠ

*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry,  
Czechoslovak Academy of Sciences, Prague 6*

Received July 24th, 1970

The serine alkaline protease<sup>1,2</sup> from the mold *Aspergillus flavus* is very unstable in the absence of salts. The desalted preparations of the protease kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  were autolyzed already after a few weeks. In this characteristic susceptibility to rapid autolysis the alkaline protease resembles among others, trypsin<sup>3</sup> and subtilisin<sup>4,5</sup>. In this study, the effect of pH, temperature, metal ions, and certain other agents on the stability of the alkaline protease is investigated and the process of its inactivation is compared with the inactivation of trypsin and subtilisin.

#### EXPERIMENTAL

*Material:* The alkaline protease was prepared by the procedure described by us<sup>1</sup> from the crude proteolytic preparation of the mold *Aspergillus flavus* produced in the Research Institute of Food Technology, Czech Academy of Agriculture, Prague. Hemoglobin was a commercial preparation of Zdravotnické potřeby, Prague, the other chemicals were purchased from Lachema, Brno.

*The measurement of proteolytic activity* was carried out by the method of Anson<sup>6</sup> using a solution of denatured hemoglobin. To 2 ml of the hemoglobin solution at pH 7 (Britton-Robinson