

- [5] C. A. GROB, *Gazz. chim. ital.* **92**, 902 (1962); Dissertation R. FANKHAUSER, Basel 1960, sowie V. KRASNOBAJEV, Basel 1964.
- [6] S. CREMER & R. SRINIVASAN, *Tetrahedron Letters* **21**, 24 (1960); S. G. COHEN & R. ZAND, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 586 (1962); C. E. GRIFFIN, N. F. HEFFINGER & B. L. SHAPIRO, *ibid.* **85**, 2683 (1963); C. STEEL, R. ZAND, P. HURWITZ & S. G. COHEN, *ibid.* **86**, 679 (1964).
- [7] E. KOENIGS & L. NEUMANN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **48**, 961 (1915).
- [8] T. L. COTTRELL, «The Strengths of Chemical Bonds», Butterworths, London 1958.
- [9] CH. S. GIBSON & J. D. A. JOHANSON, *J. chem. Soc.* **1930**, 2525.
- [10] *Organic Syntheses*, Vol. II, 126 (1943).
- [11] R. CORNUBERT & P. ROBINET, *Bull. Soc. chim. France* [4] **53**, 565 (1933).
- [12] W. BORSCHKE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **48**, 683 (1915).
- [13] H. FEUER & W. A. SWARTS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 5427 (1955).
- [14] J. LEVY & G. A. BERNOTSKY, US Patent 2776293; vgl. *Chem. Abstr.* **51**, 9711 (1957).
- [15] B. EMMERT & W. DORN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **48**, 688 (1915).
- [16] S. M. McELVAIN & R. E. McMAHON, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 901 (1949).
- [17] W. B. LUTZ & S. LAZARUS, *J. org. Chemistry* **27**, 1695 (1962).
- [18] E. RENK & J. D. ROBERTS, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 878 (1961).
- [19] C.A. GROB, H. P. FISCHER, H. LINK & E. RENK, *Helv.* **46**, 1190 (1963).

242. 4,5-Dihalogen-O-acetylindoxyle

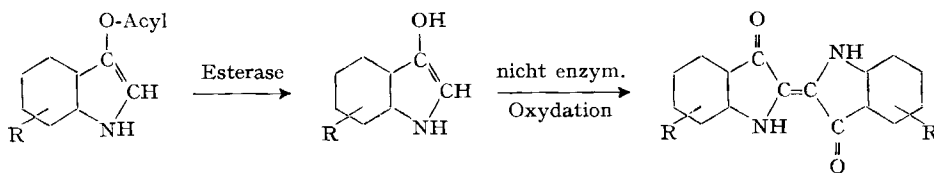
von Ed. Kambli

(24. IX. 64)

Einleitung

In Publikationen von BARNETT & SELIGMAN [1]¹⁾ sowie von HOLT & WITHERS [2] wurde erstmals gezeigt, dass man in Zellen tierischer Gewebe Esteraseaktivität mit Hilfe indigoider Farbstoffe histologisch nachweisen kann: Man bietet den esterspaltenden Enzymen einen Ester an, dessen freigelegte alkoholische Komponente durch nichtenzymatische Farbstoffbildung nachweisbar ist. Der histochemischen Enzymforschung ist dadurch ein wichtiges Gebiet erschlossen worden, das insbesondere auch durch PEARSE [3] und seine Mitarbeiter ausgebaut wurde.

Unter den bisher zu diesem Zweck in Betracht gezogenen «Substraten» erwiesen sich insbesondere O-acylierte Indoxyle als gut geeignet, die bei dem eben erwähnten Reaktionsablauf in indigoide Farbstoffe übergehen:



Zwecks möglichst präziser Lokalisierung der Esteraseaktivität müssen die Farbstoff-Vorstufen gewisse Bedingungen erfüllen, vor allem hinsichtlich Löslichkeit bzw.

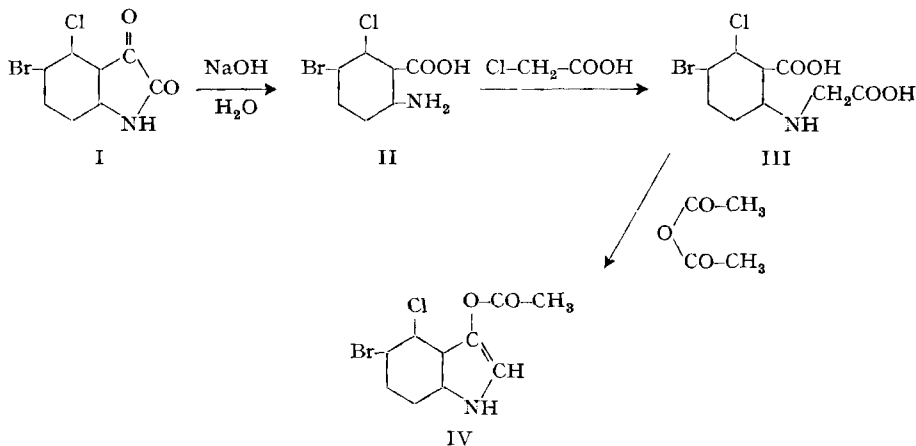
¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2163.

Unlöslichkeit, da durch Diffusion des primären Reaktionsproduktes (enzymatisches Spaltprodukt) Unschärfen des sekundär gebildeten Farbstoffniederschlages hervorgerufen werden können. Auch Grösse und Wachstum der entstehenden Farbstoffteilchen sind für die optische Lokalisierung von grosser Wichtigkeit. Gewisse im Benzolkern durch Halogen substituierte O-Acetylindoxyle entsprechen den geforderten Eigenschaften sehr weitgehend. Von den vielen möglichen halogenierten Verbindungen gibt das 4-Chlor-5-brom-O-acetyl-indoxyl (IV) ganz besonders befriedigende Resultate [4].

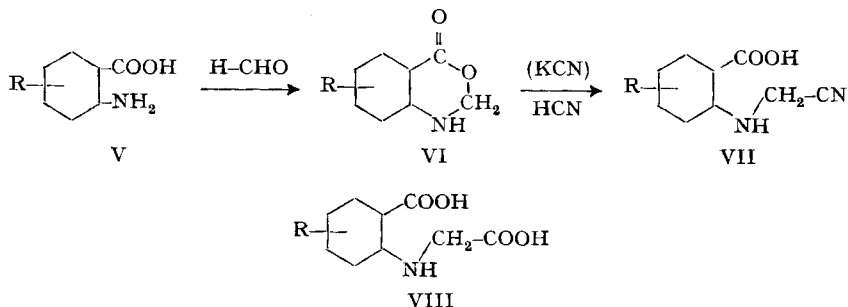
Das von HOLT & SADLER [5] für dessen Darstellung gewählte Ausgangsmaterial führt jedoch in den ersten Stufen der Synthese über Zwischenprodukte, deren Reindarstellung aus Isomerenmischungen mit einem erheblichen Arbeitsaufwand verbunden ist, so dass der erwähnte Acetylcster sehr schwer zugänglich wird. Daher wurde denn auch in den Publikationen von HOLT *et al.* [6] wiederholt erwähnt, dass entsprechendes Material nur in kleinsten Mengen zur Verfügung stand. Nachstehend wird ein einfacher Weg beschrieben, auf welchem dieses Acetylindoxyl IV leicht herzustellen ist; ferner wird darauf hingewiesen, dass bei der Synthese von in 7-Stellung substituierten 4,5-Dihalogen-O-acetyl-indoxylen sämtliche Schwierigkeiten mit Isomerenmischungen in den ersten Stufen dahinfallen, so dass sich mit diesen neuen, leicht zugänglichen Indoxylestern weitere Möglichkeiten für experimentelle Arbeiten auf dem Esterasegebiet eröffnen.

Theoretischer Teil

Im Verlaufe der Synthese von im Benzolkern substituierten O-Acetylindoxylen sind bekanntlich die gleich substituierten, stets schön kristallisierenden und daher leicht zu reinigenden Isatine die wichtigsten Zwischenstufen. Von hier an verlaufen die zu den Indoxylderivaten führenden Reaktionen grösstenteils mit befriedigenden Ausbeuten. Somit ist mit dem Erreichen des die gewünschte Substitution zeigenden Isatins die Darstellung des entsprechenden Acetylindoxyls gewährleistet.

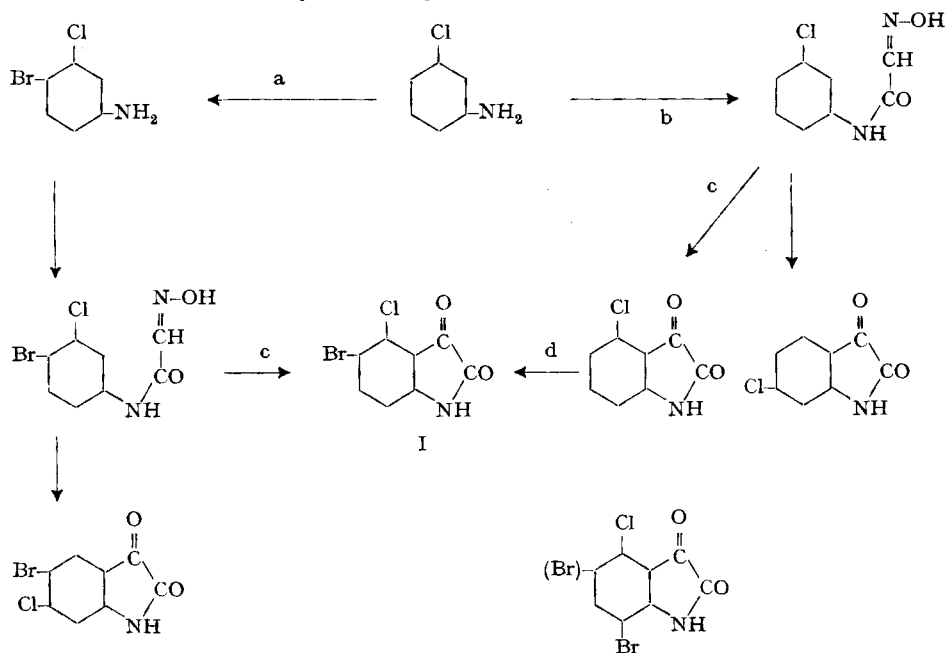


Es ist bekannt, dass mehrfach substituierte Anthranilsäuren mit Chloressigsäure oft nur schwer oder gar nicht reagieren. In diesen Fällen können die Phenylglycin-*o*-carbonsäuren VIII nach dem von VILLIGER [7] angegebenen Wege aufgebaut werden:



HOLT & SADLER [5] haben bei der Darstellung einer grossen Reihe von substituierten O-Acetyloxylen ihre Isatine mit Hilfe der klassischen SANDMEYER-Synthese [8] aus Arylaminen über die Isonitrosoacetarylide hergestellt. Im Falle des 4-Chlor-5-brom-isatins (I) sind sie dabei aber wegen der mannigfaltigen Möglichkeiten der Entstehung isomerer Verbindungen auf ernstliche Schwierigkeiten gestossen. Ausgehend von *m*-Chloranilin kann das zweite Halogenatom in der ersten Reaktionsstufe (Weg a) oder in das zuerst hergestellte Isatin (Weg b-d) eingeführt werden (s. Schema).

Bisherige Darstellung von 4-Chlor-5-brom-isatin (I)

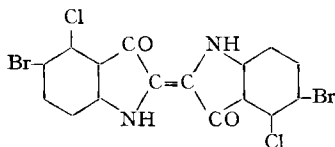


Nach beiden Wegen bilden sich neben I unerwünschte Isomere. Welche Reaktionsfolge HOLT & SADLER zur Darstellung des 4-Chlor-5-brom-isatins gewählt haben, geht aus ihrer Publikation nicht hervor.

Die geschilderten Schwierigkeiten fallen dahin, wenn man entweder einen prinzipiell andersartigen Weg für die Herstellung von I wählt (A) oder bei der Synthese

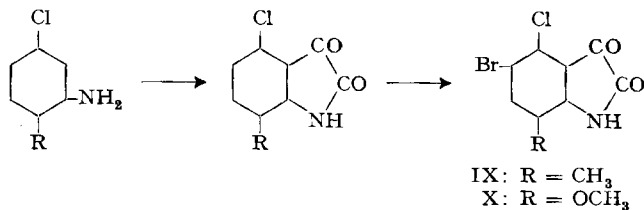
eines 4-Chlor-5-brom-isatins nach SANDMEYER von Anfang an im Benzolkern einen weiteren Substituenten mitführt, dessen Gegenwart im O-Acetylindoxyl die günstige Konfiguration der beiden vicinalen Halogenatome bei der Esteraselokalisierung nicht nachteilig beeinflusst (B).

Isatinzwischenstufe. – A. 4-Chlor-5-bromisatin (I): Bekanntlich führt der oxydative Abbau von Indigo und dessen Substitutionsprodukten zunächst zu den entsprechenden Isatinen. Insbesondere lassen sich die halogenierten Indigos durch Chromsäure leicht zu Isatinen oxydieren. 4,4'-Dichlor-5,5'-dibrom-indigo²⁾ («Brillantindigo 4 G» der BASF) ist das ideale Ausgangsmaterial für die Herstellung von 4-Chlor-5-bromisa-



tin. Mit Chromsäure liefert er mit etwa 80-proz. Ausbeute dieses Isatin, dessen Reinheit für die Weiterverarbeitung zur Anthranilsäure durchaus genügt. Der Handelsfarbstoff liegt dermassen fein verteilt vor, dass seine Oxydation selbst in einem heterogenen System (z.B. wässrige Suspension in schwefelsaurer Chromatlösung) durchgeführt werden kann.

B. 4-Chlor-5-brom-7-methyl (bzw. 7-methoxy)-isatin: Die Lösung des Problems der bisher schweren Zugänglichkeit des 4-Chlor-5-brom-O-acetyl-indoxyls auf diesem zweiten Wege zu versuchen, legt der folgende Umstand nahe: An Hand der obigen schematischen Darstellung der Isatinsynthese nach SANDMEYER ist leicht zu sehen, dass alle Reaktionsstufen zu chemisch einheitlichen Verbindungen führen, falls man im Ausgangsamin die *p*-Stellung zum Chloratom besetzt. Der zusätzliche Substituent befindet sich schliesslich in der 7-Stellung des 4,5-Dihalogen-isatins.

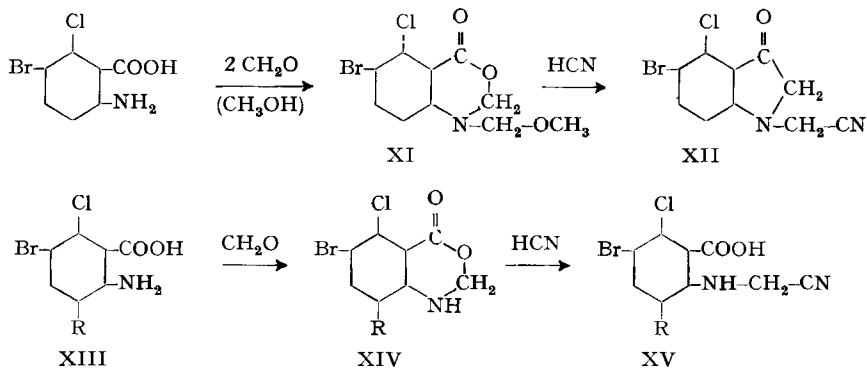


Zur Darstellung dieser Isatine nach der zweistufigen Synthese von SANDMEYER [8] werden zunächst 4-Chlor-2-amino-1-methyl-benzol bzw. -1-methoxy-benzol durch Erhitzen in schwach schwefelsaurer Hydroxylaminsulfatlösung unter Zusatz von Chloralhydrat in die Isonitrosoacetat-Verbindungen übergeführt. Dabei erfolgt die Sulfatbildung aus den Arylaminen – die Vorbedingung für einen einwandfreien Reaktionsablauf – besonders leicht, wenn man die Amine mit dem 1,5-fachen Gewicht Eisessig vermischt zur Hydroxylaminsulfatlösung unter Rühren tropfen lässt, worauf man dann nach der Zugabe des Chloralhydrates die Reaktion durch Erhitzen einleitet.

²⁾ Darstellbar durch Bromieren von 4,4'-Dichlor-indigo.

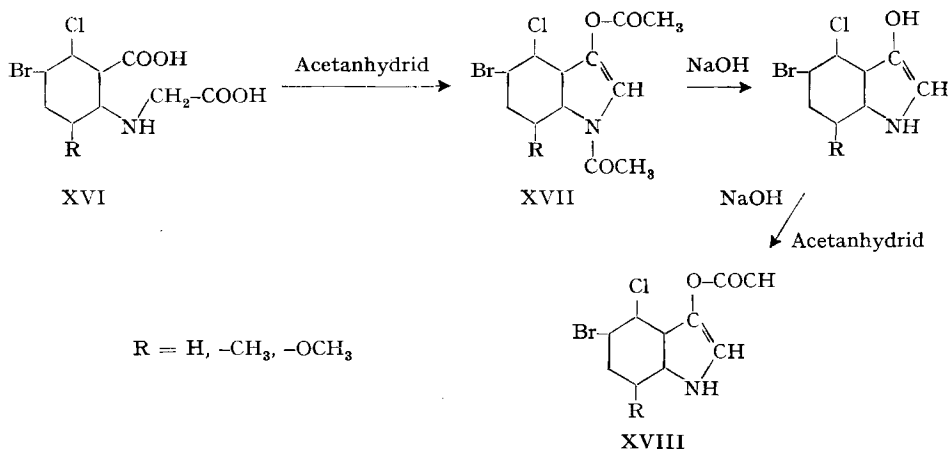
Aus diesen Isonitrosoverbindungen entstehen unter der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure durch Umlagerung und Ringschluss Isatine, die in den 4- und 7-Stellungen Substituenten tragen. Bei solchen Isatinen erfolgt die Halogenierung ausschliesslich in 5-Stellung, allerdings oft verschieden schwer. So lässt sich 4-Chlor-7-methyl-isatin sehr leicht in 5-Stellung bromieren, während die Bromierung des 4-Chlor-7-methoxy-isatins überhaupt nur in Nitrobenzol in Gegenwart eines Katalysators befriedigend verläuft.

4,5-Dihalogen-O-acetyl-indoxyle aus den Isatinen. Wählt man bei den drei Isatinen I, IX und X nach der oxydativen Ringaufspaltung zu den entsprechenden Anthranilsäuren für die Synthese der Phenylglycincarbonsäuren den von VILLIGER [7] vorgeschlagenen Weg, so ist zu beachten, dass diese Anthranilsäuren bei der Formalidbildung in verschiedenen stöchiometrischen Verhältnissen mit Formaldehyd reagieren können: Steht ausser der Carboxylgruppe kein weiterer Substituent in *o*-Stellung zur Aminogruppe, so treten in methylalkoholischem Medium zwei Formaldehydmolekeln in Reaktion. Ist die zweite *o*-Stellung jedoch durch die Methyl- oder die Methoxygruppe besetzt, so lassen diese Substituenten in gleicher Weise wie ein Halogenatom lediglich die Reaktion mit einer Molekel Formaldehyd zu.



Hinsichtlich der obigen Formelbilder sei darauf hingewiesen, dass für die Formulierung des Diformalids XI der zweite Vorschlag von VILLIGER [9] gewählt wurde. Beim Übergang der Formalide in die Nitrile bleibt im ersten Falle (XII) ein sauerstoffhaltiger Ring intakt; die Öffnung dieses Ringes unter Abspaltung von Formaldehyd erfolgt erst bei der alkalischen Verseifung des Nitrils zur Phenylglycin-*o*-carbonsäure.

Auch bei der Cyclisierung zu den Diacetylindoxylen XVII durch Erhitzen der Phenylglycin-*o*-carbonsäuren XVI mit Essigsäureanhydrid und wasserfreiem Natriumacetat [10] macht sich die Besetzung der zweiten *o*-Stellung zum Stickstoffatom durch eine Methyl- bzw. Methoxy-Gruppe bemerkbar. In beiden letzteren Fällen bilden sich wechselnde Mengen bedeutend höher schmelzender Nebenprodukte unbekannter Konstitution. Dagegen verläuft die Bildung der Monoacetylverbindung XVIII nach der Abspaltung beider Acetylreste mit Natronlauge unter Stickstoff und erneuter Acetylierung in wässrig-alkalischem Medium mit Essigsäureanhydrid [11] in allen drei Fällen gleich.



Die auf dem skizzierten Wege hergestellten neuen Verbindungen, 4-Chlor-5-brom-7-methyl-O-acetyl-indoxyl (XVIII, $\text{R} = -\text{CH}_3$) und 4-Chlor-5-brom-7-methoxy-O-acetylindoxyl (XVIII, $\text{R} = -\text{OCH}_3$), enthalten ausser der für die Esteraselokalisation besonders günstigen Konfiguration der beiden vicinalen Halogenatome eine Methyl- bzw. Methoxy-Gruppe in 7-Stellung. Die Prüfung der neuen Testsubstanzen ergab, dass diese beiden Substituenten weder die Einleitung der enzymatischen Esterspaltung noch die daran anschliessende Farbstoffbildung irgendwie nachteilig beeinflussen. Für die Technik der histochemischen Lokalisation von Esteraseaktivität bedeuten somit diese neuen «Substrate» zusammen mit dem 4-Chlor-5-brom-O-acetyl-indoxyl (XVIII, $\text{R} = \text{H}$) eine wertvolle Bereicherung [12].

Experimenteller Teil³⁾

Mitarbeiter: W. DETTWILER

1) *Isonitrosoacetarylide*: In eine mit 10 g chem. reiner Schwefelsäure versetzte Lösung von 246 g (1,5 Mol) Hydroxylaminsulfat und 1,7 kg $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ in 8000 ml Wasser wird ein Gemisch von $\frac{1}{2}$ Mol Amin (71 g 2-Amino-4-chlor-1-methyl-benzol oder 79 g 2-Amino-4-chlor-1-methoxy-benzol) und 120 g Eisessig bei 50–60° eingerührt. Nach Zugabe von 96 g (0,65 Mol) Chloralhydrat und 7stündigem Rühren bei 80–90° werden die ausgeschiedenen Isonitrosoacetarylide kalt filtriert.

2) *Isatine*: 1 Mol Isonitrosoacetarylid (213 g 2-Isonitrosoacet-4-chlor-1-methyl-benzol oder 229 g 2-Isonitrosoacet-4-chlor-1-methoxy-benzol) wird in 2300 g chem. reine Schwefelsäure bei 70° eingerührt. Nach 1stündigem Erhitzen auf 80–90° wird kalt auf Eis und Wasser ausgetragen, dann $\frac{1}{2}$ Std. auf 70–75° erwärmt und filtriert. Das 4-Chlor-7-methyl- und das 4-Chlor-7-methoxy-isatin werden durch Lösen in verdünnter warmer Natronlauge, Filtrieren mit Kohle und Ansäuern mit Salzsäure gereinigt.

3) *4-Chlor-5-brom-isatine*. – *4-Chlor-5-brom-7-methyl-isatin (XI)*: Eine Suspension von 196 g (1 Mol) 4-Chlor-7-methyl-isatin in 1100 ml Eisessig wird nach dem Zutropfen einer Lösung von 176 g (10% Überschuss) Brom in 160 ml Eisessig 8 Std. bei 50° gerührt. Aus Butanol braunstichig orange Plättchen, Smp. 294–295°.

$\text{C}_9\text{H}_5\text{O}_2\text{NClBr}$	Ber. C 39,38	H 1,84	N 5,10	Cl 12,92	Br 29,11%
	Gef. „ 39,51	„ 1,65	„ 5,24	„ 12,76	„ 29,09%

4-Chlor-5-brom-7-methoxy-isatin (X): Eine Suspension von 212 g (1 Mol) 4-Chlor-7-methoxy-isatin und 4 g wasserfreiem Eisenchlorid in 500 ml Nitrobenzol wird nach dem Zutropfen einer

³⁾ Die Smp. sind unkorrigiert.

Lösung von 185 g (15% Überschuss) Brom in 200 ml Nitrobenzol 2 Std. bei 30–35° und 7 Std. bei 45–50° gerührt. Aus Butanol dunkelrote Nadeln, Smp. 265–266°.

$C_9H_5O_3NClBr$	Ber. C 37,31	H 1,73	N 4,82	Cl 12,21	Br 27,51%
	Gef. „ 37,28	„ 1,72	„ 4,74	„ 12,4	„ 27,3 %

4-Chlor-5-brom-isatin (I): Zu einer Suspension von 245 g 4,4'-Dichlor-5,5'-dibrom-indigo (0,5 Mol) in 2500 ml 30-proz. Schwefelsäure, enthaltend 20 g eines auch in saurem Bereich wirksamen Netzmittels⁴⁾, wird eine Lösung von 240 g $Na_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$ (0,8 Mol) in 500 ml 30-proz. Schwefelsäure in 15 Min. gegeben. Man erwärmt auf 80° und rührt noch 1 Std., wobei eventuell auftretender Schaumbildung durch Zugabe von wenig Nitrobenzol als oxydationsbeständigem Antischaummittel begegnet werden kann. Das Rohprodukt enthält noch etwas unangegriffenen Indigo, der beim Lösen des Isatins in verdünnter Natronlauge zurückbleibt. Aus Butanol orange Nadeln, Smp. 269–271°.

$C_8H_3O_2NClBr$	Ber. C 36,89	H 1,16	N 5,38	Cl 13,61	Br 30,68%
	Gef. „ 36,85	„ 1,29	„ 5,44	„ 13,6	„ 30,2 %

4) Anthranilsäuren: Zu der Lösung von 0,5 Mol Isatin in 1500 ml 1N-Natronlauge werden bei 45–50° 3–3,5 Mol Wasserstoffperoxid als konz. wässrige Lösung unter Rühren getropft, bis beim Ansäuern einer Probe praktisch weisse Anthranilsäure ausfällt. Die auf 20° gekühlte Lösung wird mit Kohle filtriert und das Oxydationsprodukt mit Salzsäure ausgefällt.

5-Brom-6-chlor-anthranilsäure (II): Aus Wasser farblose Plättchen, Smp. 166–167° (Zers.).

$C_7H_5O_2NClBr$	Ber. C 33,56	H 2,01	N 5,59	Cl 14,16	Br 31,90%
	Gef. „ 33,62	„ 1,88	„ 5,72	„ 13,99	„ 31,91%

3-Methyl-5-brom-6-chlor-anthranilsäure (XIII, $R = -CH_3$): Aus Wasser farblose Nadeln, Smp. 151–153° (Zers.).

$C_8H_7O_2NClBr$	Ber. C 36,33	H 2,67	N 5,30	Cl 13,40	Br 30,21%
	Gef. „ 36,62	„ 2,69	„ 5,05	„ 13,3	„ 30,1 %

3-Methoxy-5-brom-6-chlor-anthranilsäure (XIII, $R = -OCH_3$): Aus Wasser farblose Nadeln, Smp. 153–155° (Zers.).

$C_8H_7O_3NClBr$	Ber. C 34,25	H 2,52	N 4,99	Cl 12,64	Br 28,49%
	Gef. „ 34,05	„ 2,42	„ 5,07	„ 12,6	„ 28,6 %

5) Anthranilsäure-formalide: Zur heiss filtrierten Lösung von 0,5 Mol Anthranilsäure in 600 ml Methanol wird unter Kochen und Rückflusskühlung⁵⁾ bei XI 1,1 Mol, bei XIII 0,55 Mol Formaldehyd als konz. wässrige Lösung zugetropft. Nach 1stündigem Rühren wird kalt filtriert. Reinigung durch Umkristallisation aus Methanol.

5-Brom-6-chlor-anthranilsäure-diformalidmethyläther (XI): Farblose Nadeln. Smp. 147–148° (Zers.).

$C_{10}H_9O_3NClBr$	Ber. C 39,18	H 3,20	N 4,57	Cl 11,57	Br 26,07%
	Gef. „ 39,17	„ 2,96	„ 4,53	„ 11,5	„ 25,8 %

3-Methyl-5-brom-6-chlor-anthranilsäure-formalid (XIV, $R = -CH_3$): Farblose Nadeln. Zers. 201–203°.

$C_9H_7O_2NClBr$	Ber. C 39,09	H 2,55	N 5,07	Cl 12,82	Br 28,89%
	Gef. „ 39,88	„ 2,62	„ 4,94	„ 12,7	„ 28,7 %

3-Methoxy-5-brom-6-chlor-anthranilsäure-formalid (XIV, $R = -OCH_3$): Farblose Nadeln. Zers. 199–201°.

$C_9H_7O_3NClBr$	Ber. C 36,95	H 2,41	N 4,79	Cl 12,12	Br 27,32%
	Gef. „ 37,07	„ 2,34	„ 4,92	„ 12,1	„ 27,3 %

6) Phenylglycinnitril-2-carbonsäuren: Man rührt 1 Mol der Formalide in eine Lösung von 1,05 Mol Kaliumcyanid in 300 ml Wasser ein, wobei die Reaktionstemperatur auf 45–50° gehalten wird. Nach 2 Std. wird auf 20° gekühlt und mit 15-proz. Salzsäure angesäuert. Die schmierig ausfallenden Phenylglycinnitril-2-carbonsäuren werden nach kurzer Zeit fest.

⁴⁾ Dispergator SF (CIBA) oder Tamol NNO (BASF).

⁵⁾ Bei XIV erhält man bessere Ausbeuten, wenn der Formaldehyd bei +10° zugetropft wird. Anschliessend Erwärmen auf 60°.

3-Chlor-4-brom-phenylglycinnitril-2-carbonsäure-monoformalid (XII). Aus Propanol farblose längl. Plättchen. Smp. 167–169°.

$C_{10}H_6O_2N_2ClBr$	Ber.	C 39,79	H 2,01	N 9,29	Cl 11,76	Br 26,50%
	Gef.	„ 40,13	„ 1,92	„ 9,32	„ 11,7	„ 26,2 %

3-Chlor-4-brom-6-methyl-phenylglycinnitril-2-carbonsäure (XV, R = $-CH_3$). Aus Benzol farblose Plättchen, Smp. 143–145° (Zers.).

$C_{16}H_8O_2N_2ClBr$	Ber.	C 39,57	H 2,66	N 9,23	Cl 11,68	Br 26,33%
	Gef.	„ 39,60	„ 2,57	„ 9,42	„ 11,5	„ 26,0 %

3-Chlor-4-brom-6-methoxy-phenylglycinnitril-2-carbonsäure (XV, R = $-OCH_3$). Aus Benzol farblos Oktaeder, Smp. 172–174° (Zers.).

$C_{10}H_8O_3N_2ClBr$	Ber.	C 37,59	H 2,52	N 8,77	Cl 11,10	Br 25,01%
	Gef.	„ 37,91	„ 2,42	„ 8,53	„ 11,0	„ 25,0 %

7) Phenylglycin-2-carbonsäuren: Nach dem Einrühren von 0,5 Mol Phenylglycinnitril-2-carbonsäure in eine Lösung von 2 Mol Natriumhydroxid in 800 ml Wasser wird im offenen Becherglas unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht, bis kein Ammoniak mehr entweicht (3 bis 4 Std.). Die abgekühlte Lösung wird in 2,5 Mol Salzsäure (enthalten in 2500 ml Wasser) eingerührt.

3-Chlor-4-brom-phenylglycin-2-carbonsäure (XVI, R = H). Aus Wasser farblose Nadeln, Smp. 169–171° (Zers.).

$C_9H_7O_4NClBr$	Ber.	C 35,04	H 2,29	N 4,54	Cl 11,49	Br 25,91%
	Gef.	„ 35,19	„ 2,18	„ 4,67	„ 11,6	„ 25,7 %

3-Chlor-4-brom-6-methyl-phenylglycin-2-carbonsäure (XVI, R = $-CH_3$). Aus Chlorbenzol farblose Plättchen. Smp. 168–170° (Zers.).

$C_{10}H_9O_4NClBr$	Ber.	C 37,24	H 2,81	N 4,34	Cl 11,00	Br 24,78%
	Gef.	„ 37,53	„ 2,67	„ 4,18	„ 11,0	„ 24,7 %

3-Chlor-4-brom-6-methoxy-phenylglycin-2-carbonsäure (XVI, R = $-OCH_3$). Aus Chlorbenzol farblose Plättchen. Smp. 164–166° (Zers.).

$C_{10}H_9O_5NClBr$	Ber.	C 35,48	H 2,68	N 4,14	Cl 10,47	Br 23,60%
	Gef.	„ 35,41	„ 2,64	„ 4,17	„ 10,6	„ 23,4 %

8) Diacetylindoxyle: 1 Teil Phenylglycin-2-carbonsäure wird bei 125–130° in ein Gemisch von 10 Teilen Essigsäureanhydrid und 3 Teilen wasserfreiem Natriumacetat eingerührt. Nach dem Aufhören des Schäumens wird noch 45 Min. unter Rückfluss gekocht und dann bei 110° filtriert.

Das beim Austragen des Filtrates auf Eis und Wasser sich ölig ausscheidende Rohprodukt wird bald fest. Reinigen durch Kristallisieren aus Methanol.

4-Chlor-5-brom-diacetyl-indoxyl (XVII, R = H). Aus Äthanol schwach gelbliche Nadeln. Smp. 161–162°.

$C_{12}H_9O_3NClBr$	Ber.	C 43,60	H 2,74	N 4,24	Cl 10,72	Br 24,17%
	Gef.	„ 43,54	„ 2,86	„ 4,36	„ 10,7	„ 24,0 %

4-Chlor-5-brom-7-methyl-diacetyl-indoxyl (XVII, R = $-CH_3$). Aus Äthanol gelbliche rhomboedr. Kristalle. Smp. 130–131°.

$C_{13}H_{11}O_3NClBr$	Ber.	C 45,31	H 3,22	N 4,06	Cl 10,29	Br 23,19%
	Gef.	„ 45,07	„ 3,13	„ 3,98	„ 10,1	„ 23,3 %

4-Chlor-5-brom-7-methoxy-diacetyl-indoxyl (XVII, R = $-OCH_3$). Aus Methanol schwach gelbliche Nadeln. Smp. 132–133°.

$C_{13}H_{11}O_4NClBr$	Ber.	C 43,30	H 3,07	N 3,88	Cl 9,89	Br 22,18%
	Gef.	„ 43,47	„ 3,19	„ 3,80	„ 9,9	„ 22,0 %

9) O-Acetylindoxyle: Durch kurzes Kochen unter Stickstoff werden 1500 ml einer 11% Na_2SO_4 . $10H_2O$ enthaltenden wässrigen Lösung von Sauerstoff befreit. Stets unter Stickstoff rührt man darauf bei 40–50° 0,1 Mol Diacetylindoxyl ein, erhitzt nach Zugabe von 350 ml 5N-Natronlauge 1 Std. auf 90–95° und kühlt dann die dunkelbraune, geringe Mengen einer flockigen Verunreinigung enthaltende Lösung auf –5° bis 0° ab. Dann tropft man 40 ml Essigsäureanhydrid und nach $1/2$ Std. nochmals 80 ml 5N-Natronlauge sowie 40 ml Essigsäureanhydrid bei höchstens 0°

zu. Das Reaktionsgemisch soll dauernd phenolphthaleinalkalisches reagieren. Nach $\frac{1}{2}$ Std. wird filtriert und mit Wasser, zuletzt unter Zusatz von etwas Essigsäure, gewaschen. Aus dem feuchten Nutschgut extrahiert man das O-Acetylindoxyl mit 300 ml heissem Methanol, wobei der als Nebenprodukt entstandene entsprechende Indigo zurückbleibt. Beim Verdünnen des Extraktes mit dem gleichen Volumen konz. Kochsalzlösung fällt das Rohprodukt zunächst schmierig aus, wird aber bald fest. Reinigen durch Kristallisieren aus Tetrachlorkohlenstoff.

4-Chlor-5-brom-O-acetyl-indoxyl (XVIII, R = H). Farblose Schüppchen. Smp. 106–107°.

$C_{10}H_7O_2NClBr$	Ber. C 41,62	H 2,44	N 4,85	Cl 12,28	Br 27,70%
	Gef. „ 41,64	„ 2,38	„ 4,94	„ 11,95	„ 27,95%

4-Chlor-5-brom-7-methyl-O-acetyl-indoxyl (XVIII, R = $-CH_3$). Farblose Plättchen. Smp. 170–171°.

$C_{11}H_9O_2NClBr$	Ber. C 43,67	H 3,00	N 4,63	Cl 11,72	Br 26,41%
	Gef. „ 43,84	„ 3,07	„ 4,50	„ 11,5	„ 26,5 %

4-Chlor-5-brom-7-methoxy-O-acetyl-indoxyl (XVIII, R = $-OCH_3$). Farblose längliche Plättchen. Smp. 175–176°.

$C_{11}H_9O_3NClBr$	Ber. C 41,47	H 2,85	N 4,40	Cl 11,13	Br 25,09%
	Gef. „ 41,57	„ 3,04	„ 4,31	„ 11,2	„ 25,0 %

Der Direktion der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, sei für die Erlaubnis zur Publikation dieser Arbeit, den Herren Dr. R. HESS für die Prüfung der Esteraseaktivität, PD Dr. W. JENNY für viele Anregungen, vor allem aber Herrn Prof. A. G. E. PEARSE (Postgraduate Medical School of London) für die interessanten Diskussionen gelegentlich seiner Besuche in Basel und im Schwarzwald und für sein entgegengebrachtes Interesse bestens gedankt.

SUMMARY

In the synthesis of 4-chloro-5-bromo-O-acetyl indoxyl, an important substance used in locating esterase activity, difficulties arose from the formation of isomeric intermediate products. Selection of different starting compounds not only facilitates the syntheses of this dihalogeno O-acetyl indoxyl, but also enables the production of new O-acetyl indoxyls of equal applicability.

Forschungslaboratorien
der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel
Farbstoff-Abteilung

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. J. BARNETT & A. M. SELIGMAN, *Science* **114**, 579 (1951).
- [2] S. J. HOLT & R. F. J. WITHERS, *Nature* **170**, 1012 (1952).
- [3] A. G. E. PEARSE, *Histochemistry, Theoretical and Applied*, 2nd ed., J. and A. Churchill, London 1960.
- [4] S. J. HOLT, *Journ. Histochemistry Cytochemistry* **4**, 552 (1956); S. J. HOLT & R. F. J. WITHERS, *Proc. Roy. Soc. B* **148**, 530 (1958).
- [5] S. J. HOLT & P. W. SADLER, *Proc. Roy. Soc. B* **148**, 495 (1958).
- [6] S. COTSON & S. J. HOLT, *Proc. Roy. Soc. B* **148**, 514, 515 (1958).
- [7] V. VILLIGER, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **42**, 3529 (1909).
- [8] T. SANDMEYER, *Helv.* **2**, 234ff. (1919).
- [9] V. VILLIGER, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **42**, 3536 (1909); vgl. auch W. JENNY & E. KAMBLI, in Vorbereitung.
- [10] P. FRIEDLÄNDER, S. BRUCKNER & G. DEUTSCH, *Liebigs Ann. Chem.* **388**, 32 (1912).
- [11] D. VORLÄNDER & B. DRESCHER, *DRP* 131400.
- [12] R. HESS, in Vorbereitung.