

## Eine neue Synthese der 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure

2. Mitt. zur Synthese der Phenylbrenztraubensäuren<sup>1</sup>

Von

G. Billek

Aus dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 18. Januar 1961)

4-Hydroxybenzaldehyd wird mit Hydantoin zum 5-(4'-Hydroxybenzal)-hydantoin kondensiert, welches mittels 20proz. NaOH in guter Ausbeute zur 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure gespalten werden kann.

In alkal. Lösung wird 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure leicht durch Sauerstoff oxydiert; als vorwiegendes Zersetzungsprodukt konnte 4-Hydroxybenzaldehyd nachgewiesen werden. Unter Ausschluß von Luftsauerstoff tritt in alkal. Lösung in geringem Umfang eine Kondensation zu einer „dimeren“ 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure ein, die als  $\alpha$ -(4-Hydroxybenzyl)- $\beta$ -(4-hydroxyphenyl)- $\gamma$ -oxoglutaconsäure formuliert werden konnte.

In einer früheren Arbeit<sup>1</sup> wurde über eine Synthese der radiokohlenstoffmarkierten 4-Hydroxy-PBTS\* berichtet. 4-Hydroxybenzaldehyd wird mit Hydantoin kondensiert und das Kondensationsprodukt mit wäßrigen Alkalien zur 4-Hydroxy-PBTS gespalten, wobei als Nebenprodukte nur CO<sub>2</sub> und NH<sub>3</sub> entstehen. Diese ursprünglich in der Millimol-Dimension ausgearbeitete Synthese besitzt nun auch Bedeutung für die Herstellung der inaktiven Verbindung, da die erzielte Ausbeute jene der früher beschriebenen Synthesen<sup>2, 3, 4</sup> übertrifft und ohne Schwierigkeiten ein reines Produkt erhalten wird.

<sup>1</sup> 1. Mitt.: G. Billek und E. F. Herrmann, Mh. Chem. **90**, 89 (1959).

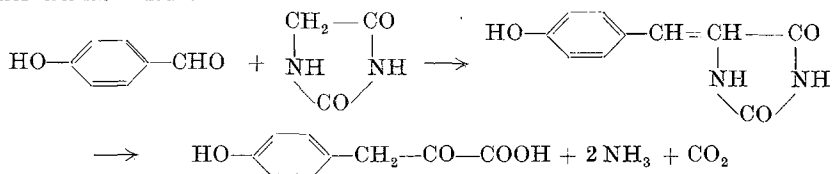
<sup>2</sup> O. Neubauer und K. Fromherz, Z. physiol. Chem. **70**, 326 (1911).

<sup>3</sup> M. Bergmann und D. Delis, Ann. Chem. **458**, 76 (1927).

<sup>4</sup> J. A. Saul und V. M. Trikojus, Biochem. J. **42**, 80 (1948).

\* Phenylbrenztraubensäure wird in vorliegender Arbeit mit PBTS abgekürzt.

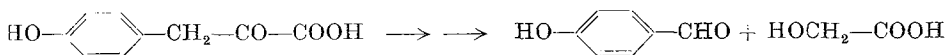
Die alkalische Spaltung der 5-Benzalhydantoine ist auf breiter Basis durchführbar und stellt damit eine einfache Methode zur Synthese der PBTSn dar<sup>5</sup>.



In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit von Dow<sup>6</sup> wurde über die Einwirkung von Natronlauge auf die 4-Hydroxy-PBTS berichtet. Danach soll eine spontane Spaltung in 4-Hydroxybenzaldehyd bereits bei einem pH von 9 einsetzen. Dieser Befund steht im Gegensatz zu vorliegender und früheren Arbeiten<sup>1, 2, 3</sup>, in denen eine Isolierung der 4-Hydroxy-PBTS aus alkalischen Lösungen beschrieben wird.

Es wurde von Dow<sup>6</sup> das UV-Spektrum der 4-Hydroxy-PBTS in einem Phosphatpuffer bei pH 7,7 aufgenommen und das Spektrum der Ketoform erhalten. Erhöht man den pH-Wert der Lösung auf 12,5, tritt sofort das Spektrum der Phenolat-Form des 4-Hydroxybenzaldehyds auf. Anschließend Variation des pH-Wertes der Lösung liefert Kurvenscharen mit zwei isosbestischen Punkten, die mit den UV-Spektren des 4-Hydroxybenzaldehyds übereinstimmen. Diese experimentellen Befunde wurden überprüft und konnten vorerst vollständig bestätigt werden.

Für die Bildung des 4-Hydroxybenzaldehyds aus der 4-Hydroxy-PBTS wird von Dow<sup>6</sup> eine Reaktionsfolge vorgeschlagen, welche als zweites Spaltstück Glykolsäure liefert und demnach nur disproportionierend und nicht oxydativ verläuft.



Es wurde deshalb in vorliegender Arbeit die Einwirkung von Alkalien auf die 4-Hydroxy-PBTS unter Variation der Versuchsbedingungen näher untersucht. Es konnte gezeigt werden, daß sich die 4-Hydroxy-PBTS in alkalischer Lösung (0,1 n und 2,0 n NaOH) innerhalb weniger Stunden vollständig zersetzt. Als Spaltstücke wurden vorwiegend 4-Hydroxybenzaldehyd neben 4-Hydroxybenzoesäure, 4-Hydroxy-phenyl-essigsäure, Oxalsäure und einigen nicht identifizierten Verbindungen nachgewiesen. In keinem Fall konnte auch nur eine Spur von Glykolsäure gefunden werden. Die Unbeständigkeit der 4-Hydroxy-PBTS im alkalischen Bereich ist übrigens schon früher beschrieben worden<sup>7</sup>.

<sup>5</sup> G. Billek, Mh. Chem. **92**, 343 (1961).

<sup>6</sup> C. H. Dow, Nature [London] **186**, 529 (1960)

<sup>7</sup> Th. Bücher und E. Körberger, Biochim. Biophys. Acta **8**, 401 (1952).

4-Hydroxybenzaldehyd ist auch nach kurzer Zeit in kristalliner 4-Hydroxy-PBTS nachweisbar und stellt eine schwer entfernbare Verunreinigung dieser Verbindung dar<sup>8</sup>.

In parallelen Versuchen wurde die Einwirkung der Lauge auf die 4-Hydroxy-PBTS in reiner Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Hierbei konnten über 80% der eingesetzten 4-Hydroxy-PBTS unverändert isoliert werden. 4-Hydroxybenzaldehyd war nur in Spuren nachweisbar. Die „Spaltung“ der 4-Hydroxy-PBTS in 4-Hydroxybenzaldehyd ist demnach eine Oxydation durch Luftsauerstoff.

Schließlich wurde versucht, das UV-Spektrum der 4-Hydroxy-PBTS in alkalischer Lösung unter peinlichem Ausschluß von Sauerstoff in verschlossenen Küvetten aufzunehmen. In den zur Messung gelangenden sehr verdünnten Lösungen der Säure ist das molare Verhältnis gegenüber Sauerstoff jedoch so ungünstig, daß trotz aller Vorsichtsmaßnahmen (im N<sub>2</sub>-Strom ausgekochte Lauge, Füllen der Küvetten in einer mit N<sub>2</sub> gespülten „glovebox“) immer noch eine mehr oder minder große Wirkung der unvermeidbaren geringsten Sauerstoffspuren feststellbar war. Die erhaltenen Spektren waren insbesondere im Bereich von 310–350 m $\mu$ , der Lage des Extinktionsmaximums der Phenolatform des 4-Hydroxybenzaldehyds ( $E_{\max} = 2,51 \cdot 10^4$  bei 330 m $\mu$ ) uneinheitlich. Sie lagen aber in jedem Fall weitaus tiefer als der Extinktion des 4-Hydroxybenzaldehyds entspricht. Nach dem Öffnen der Küvette beobachtet man ein rasches Ansteigen der Extinktion bei 330 m $\mu$ . Durch die Einwirkung des Luftsauerstoffs wird bereits nach kurzer Zeit der einem praktisch vollständigen Umsatz zu 4-Hydroxybenzaldehyd entsprechende Maximalwert der Extinktion erhalten. Die Oxydation verläuft also außerordentlich rasch. Dies erklärt die Befunde von Dow<sup>6</sup>, der zweifellos ohne Ausschluß von Luftsauerstoff gearbeitet hat.

#### Die „dimere“ 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure

Bei den Untersuchungen über die Stabilität der 4-Hydroxy-PBTS in alkalischer Lösung (Stickstoffatmosphäre) wurde jeweils die rückgewonnene Säure und die Mutterlauge papierchromatographisch analysiert. Hierbei konnte in der Mutterlauge eine weitere Verbindung gefunden werden, welche zweifellos durch die Einwirkung von Alkali auf die 4-Hydroxy-PBTS entstand. Dieselbe Verbindung ist auch stets in den Mutterlauge der 4-Hydroxy-PBTS nachweisbar, sofern deren Synthese in alkalischem Medium verlief.

Sie besitzt den Schmp. von 191° (Zers.) und die Summenformel C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub> · 2 H<sub>2</sub>O. Nach dem Trocknen über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bei 100° und 10 Torr wird die wasserfreie Form erhalten. Das UV-Spektrum dieser Verbindung

<sup>8</sup> W. E. Knox und B. M. Pitt, Biochem. J. **225**, 675 (1957).

ist weitgehend ähnlich dem Spektrum der Enolform der 4-Hydroxy-PBTS. Die Summenformel läßt vermuten, daß es sich um ein Kondensationsprodukt aus zwei Molekülen 4-Hydroxy-PBTS unter Austritt von einem Molekül Wasser handelt.

*Neubauer* und *Fromherz*<sup>2</sup> erhielten bei der Synthese der 4-Hydroxy-PBTS nach der Methode der Azlactonspaltung als Nebenprodukt eine Verbindung der Formel  $C_{18}H_{14}O_7 \cdot 2 H_2O$ . Es gelang jedoch nicht, diese Substanz rein darzustellen und eine Strukturformel anzugeben. Auf Grund der von diesen Autoren angegebenen Eigenschaften dieser Verbindung (zweibasische Säure, Farbreaktionen) ist anzunehmen, daß diese identisch ist mit der hier beschriebenen „dimeren“ 4-Hydroxy-PBTS.

Von der unsubstituierten PBTS ist eine dimere Form bekannt und von *Hemmerlé*<sup>9</sup> als  $\alpha$ -Benzyl- $\alpha$ -hydroxy- $\beta$ -phenyl- $\gamma$ -oxo-glutarsäure (IIIa) formuliert worden. Diese Verbindung soll beim Trocknen spontan in das Lacton IVa übergehen, von dem *Jarrousse*<sup>10</sup> auch die Existenz einer Enolform (Va) annahm.

Bei der Aufklärung der Struktur des Atromentins, eines Pilzchinons aus dem Samtfuß (*Paxillus atrotomentosus*), wurde dieses von *Kögl*<sup>11</sup> einem alkalischen Abbau unterzogen. Atromentin (I) soll hierbei zu einer Triketosäure (II) aufgespalten werden, welche nach einer Benzilsäureumlagerung die  $\alpha$ -(4-Hydroxybenzyl)- $\alpha$ -hydroxy- $\beta$ -(4-hydroxyphenyl)- $\gamma$ -oxo-glutarsäure (IIIb) bildet. *Kögl* erhielt jedoch nicht die Verbindung IIIb, sondern ein Produkt, welches einen Mindergehalt von 1 H<sub>2</sub>O aufwies. In Anlehnung an die Arbeiten von *Hemmerlé*<sup>9</sup> über die „dimere“ PBTS wurde dieses analog IVa als  $\alpha$ -Oxo- $\beta$ -(4-hydroxyphenyl)- $\gamma$ -(4-hydroxybenzyl)-butyrolacton- $\gamma$ -carbonsäure (IVb) formuliert. Obwohl *Kögl*<sup>11</sup> hierfür einen Schmp. von 202° angibt, besteht auf Grund der Angaben anderer Eigenschaften dieser Verbindung kein Zweifel an der Identität mit der hier beschriebenen „dimeren“ 4-Hydroxy-PBTS (Schmp. 191°). Die Strukturformel *Kögl*s (IVb) konnte jedoch an der in dieser Arbeit erhaltenen Verbindung nicht bestätigt werden.

Sowohl von der Verbindung  $C_{18}H_{14}O_7 \cdot 2 H_2O$  als auch von der wasserfreien Form wurde das UV-Spektrum in Wasser (Abb. 1), Äthanol und Dioxan aufgenommen und jeweils dasselbe Spektrum erhalten. Auch die beiden IR-Spektren waren soweit gleich, daß daraus für den Trockenprozeß lediglich Kristallwasserabgabe und keine Änderung des Grundskeletts zu folgern war. Somit ist beim Trocknen keine Lacton-

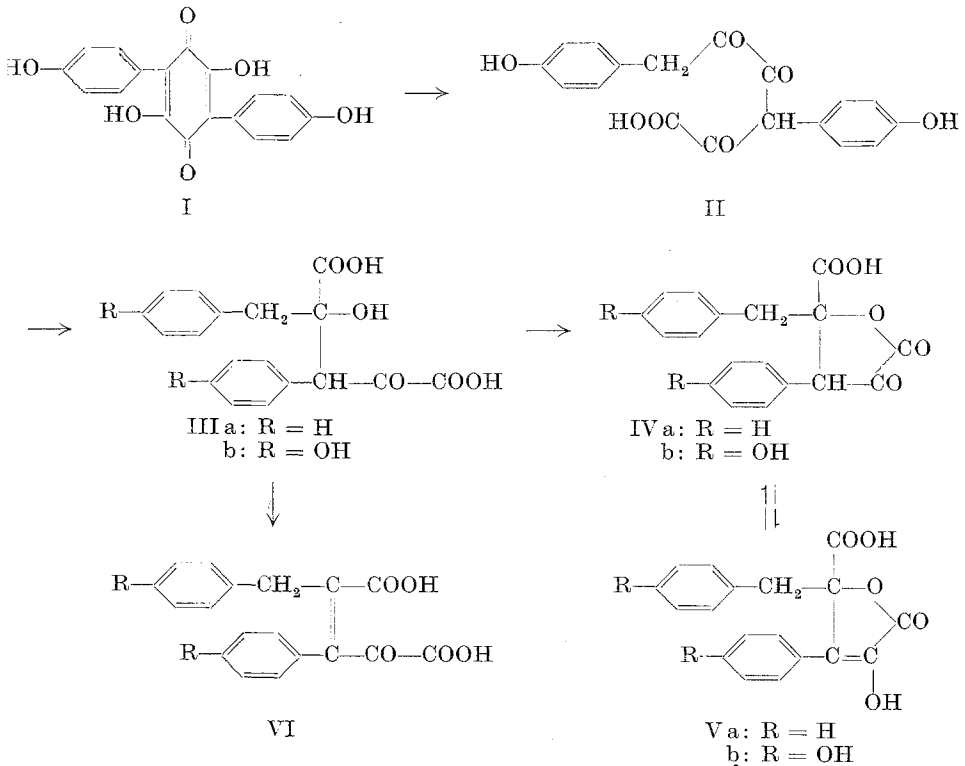
<sup>9</sup> R. Hemmerlé, C. r. acad. sci. Paris **162**, 758 (1916).

<sup>10</sup> J. Jarrousse, C. r. acad. sci. Paris **201**, 676 (1935); **204**, 132 (1937); Ann. chim. [11] **9**, 157 (1938).

<sup>11</sup> F. Kögl und J. J. Postowsky, Ann. Chem. **445**, 168 (1925); F. Kögl und H. Becker, Ann. Chem. **465**, 220 (1928).

bildung eingetreten, wie es von *Hemmerle*<sup>9</sup> und *Jarrousse*<sup>10</sup> für die „dimere“ PBTS beschrieben worden war.

Die weitgehende Ähnlichkeit des UV-Spektrums (Abb. 1) der fraglichen Verbindung mit jenem der Enolform der 4-Hydroxy-PBTS schließt eine Formulierung als Lacton (nach IV b) aus. Das IR-Spektrum zeigt eine deutliche Bande bei ca.  $1650\text{ cm}^{-1}$ , die einer nichtaromatischen



C=C-Schwingung zugeordnet werden kann, was ebenfalls der Formel IV b widerspricht. Außerdem wäre für das Lacton eine C=O-Bande um  $1770\text{ cm}^{-1}$  neben der C=O-Absorption bei ca.  $1740\text{ cm}^{-1}$  für die Ketogruppe, bzw. für die Carboxylgruppe zu erwarten. Tatsächlich werden aber zwei Banden bei  $1725$  und  $1695\text{ cm}^{-1}$  beobachtet. Damit ist aber auch Formel V b widerlegt. Obendrein ist es sehr unwahrscheinlich, daß ein derartiges Enollacton (V b) in wäßrigen Lösungen, wie beobachtet, völlig stabil verbleibt und nicht, wie die 4-Hydroxy-PBTS, einer Umlagerung in die Ketoform unterliegt. Auch die Übereinstimmung der UV-Spektren in verschiedenen Lösungsmitteln (Wasser, Äthanol und Dioxan) schließt eine Struktur nach V b aus.

Für die „dimere“ 4-Hydroxy-PBTS wird deshalb in Übereinstimmung mit den Ergebnissen aller spektrographischen Untersuchungen die Struktur einer  $\alpha$ -(4-Hydroxybenzyl)- $\beta$ -(4-hydroxyphenyl)- $\gamma$ -oxo-glutaconsäure

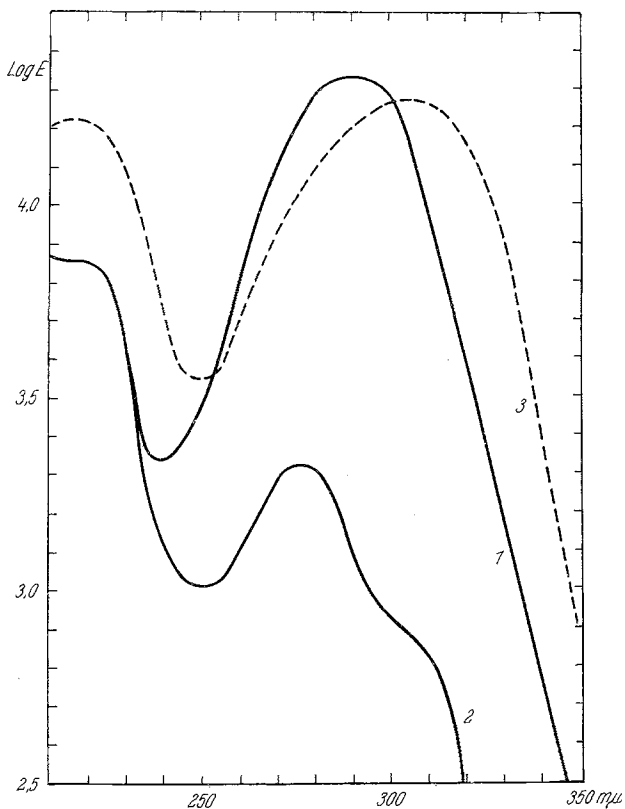


Abb. 1. UV-Spektren in 0,1 mM wässriger Lösung

1. Enolform der 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure.  
Nach vollständiger Lösung der Substanz in Wasser wurde in Intervallen von je 20 Min. das Spektrum aufgenommen. Durch die sofort einsetzende Umlagerung werden Kurven abnehmender Extinktion erhalten. Die angegebene Kurve verbindet die auf den Zeitpunkt 0 extrapolierten Werte.
2. Ketoform der 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure.  
Aufgenommen 24 Stdn. nach der Lösung. Nach *Bücher* und *Kirberger*<sup>7</sup> sollen im Gleichgewicht 96% der Ketoform vorhanden sein.
3. „Dimere“ 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure.  
Das Spektrum zeigt keine Änderung in Abhängigkeit von der Zeit. In Äthanol und Dioxan wird praktisch dasselbe Spektrum erhalten.

(VI) vorgeschlagen. Als Vorstufe ist  $\alpha$ -(4-Hydroxybenzyl)- $\alpha$ -hydroxy- $\beta$ -(4-hydroxyphenyl)- $\gamma$ -oxo-glutarsäure (III b) anzunehmen. Diese Verbindung wird beim alkalischen Abbau des Atromentins (I) durch Benzilsäureumlagerung aus II, bei der Bildung der „dimeren“ 4-Hydroxy-PBTS durch Aldolkondensation aus 4-Hydroxy-PBTS erhalten. Die

spontane Wasserabspaltung entsprechend der Regel von *Saytzeff* und die Ausbildung einer Doppelbindung in Konjugation zur Carbonylgruppe ist glaubhaft und wird durch die Anwesenheit einer paraständigen Hydroxylgruppe am aromatischen Kern begünstigt.

Es wurde bisher nicht untersucht, ob die von *Hemmerlé*<sup>9</sup> und *Jarrouse*<sup>10</sup> beschriebene „dimere“ PBTS abweichend vom Strukturvorschlag dieser Autoren (IVa = Va) analog VI zu formulieren sei. Durch die Abwesenheit der paraständigen Hydroxylgruppen ist ein abweichendes Verhalten nicht auszuschließen.

Herrn Dr. *J. Derkosch* danke ich für die Auswertung der IR-Spektren und für wertvolle Diskussion. Die Analysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium des Organisch-chemischen Institutes von Herrn *H. Bieler* durchgeführt.

Die Österr. Akademie der Wissenschaften hat diese Arbeit aus den Mitteln der *Seegen*-Stiftung unterstützt, wofür auch an dieser Stelle gedankt sei.

### Experimenteller Teil

#### *Die Synthese der 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure*

*5-(4'-Hydroxybenzal)-hydantoin*. 6,11 g 4-Hydroxybenzaldehyd und 5,5 g Hydantoin<sup>12</sup> werden mit 10,0 ml trockenem Piperidin 30 Min. auf 130° unter Rückfluß erhitzt. Danach wird das Reaktionsprodukt in 200 ml Wasser unter gelindem Erwärmen gelöst und gegebenenfalls filtriert. Die klare rote Lösung wird mit 20 ml konz. HCl versetzt und nach kurzer Kühlung abgesaugt. Ausb. 8,5—8,8 g (83—86% d.Th.) eines hellgelben Pulvers, dessen Reinheit zur Weiterverarbeitung völlig ausreicht. Aus 50 Teilen Essigsäure werden gelbe Nadeln vom Schmp. 315° (Zers.) erhalten.

*4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure*. Die alkalische Spaltung erfolgt in einem mit Rückflußkühler, Tropftrichter und Gaseinleitrohr versehenen Rundkolben. Darin werden 8,5 g 5-(4'-Hydroxybenzal)-hydantoin nach Verdrängen der Luft durch reinen Stickstoff mit 240 ml 20proz. wäbr. NaOH versetzt und 3 Stdn. in einem Ölbad (160—170°) zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen im Stickstoffstrom läßt man durch den Tropftrichter 100 ml konz. HCl langsam einfließen. Die nun fast neutrale Lösung wird durch Zusatz von 5,0 g NaHCO<sub>3</sub> gepuffert und zur Entfernung geringer Mengen phenolischer Verunreinigungen (etwa 0,3 g) in einem kontinuierlichen Extraktor mit Äther extrahiert. Ein Ausschütteln im Scheidetrichter ist wegen der Sauerstoffempfindlichkeit nicht empfehlenswert. Nach etwa 2stdg. Extraktion wird die Lösung vorsichtig mit 60 ml konz. HCl versetzt und erneut mit Äther extrahiert. Der äther. Extrakt wird zur Trockene gedampft und der kristalline Rückstand (ca. 7 g) in 85 ml Wasser in der Siedehitze gelöst. Die noch warme Lösung wird mit 8,5 ml konz. HCl versetzt und danach mehrere Stdn. gut gekühlt. Nach dem Absaugen werden 4,5—4,7 g (60—63%) 4-Hydroxy-PBTS vom Schmp. 216—218° (Zers.) erhalten.

<sup>12</sup> *C. Harries* und *M. Weiss*, Ber. dtsh. chem. Ges. **33**, 3418 (1900); *E. C. Wagner* und *J. K. Simons*, J. chem. Education **13**, 265 (1936).

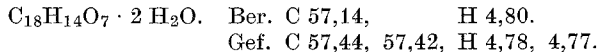
Nach längerem Kühlen der Mutterlauge wird ein Kristallinat in einer Ausb. von 400—700 mg (4,5—8%) und mit einem Schmp. ab 190° (Zers.) erhalten, welches vorwiegend aus „dimerer“ 4-Hydroxy-PBTS besteht.

*Reinigung der 4-Hydroxy-PBTS.* Das Endprodukt der oben beschriebenen Synthese enthält bereits nach einer Lagerungszeit von wenigen Tagen papierchromatographisch nachweisbare Spuren von 4-Hydroxybenzaldehyd. Zur Reinigung wird die Säure in einem Quarzkolben im Stickstoffstrom in 10 Teilen luftfreien Wassers durch längeres Sieden gelöst und noch warm mit einem Teil konz. HCl gefällt. Nach etwa 1stdg. Kühlen im Eisschrank wird abgesaugt. Das erste Kristallinat (Schmp. 220°) enthält den gesamten 4-Hydroxybenzaldehyd. Weiteres Kühlen der Mutterlauge liefert dann farblose Blättchen der papierchromatographisch reinen 4-Hydroxy-PBTS vom Schmp. 221° (Zers.).

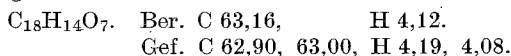
*Papierchromatographie.* Schleicher & Schüll, Nr. 2043b, aufsteigend in n-Butanol—Essigsäure—Wasser (4:1:1). Sprühreagenzien: diazotiertes p-Nitroanilin<sup>13</sup>, 2,4-Dinitrophenylhydrazin (0,2% in 2 n HCl) oder, besonders empfindlich für die Ketosäure, das Reagenz nach *Folin* und *Denis*<sup>14</sup>. *R<sub>F</sub>*-Werte: 4-Hydroxy-PBTS 0,72, „dimere“ 4-Hydroxy-PBTS 0,84, 4-Hydroxybenzaldehyd 0,87.

#### Die „dimere“ 4-Hydroxyphenylbrenztraubensäure

Die aus der Mutterlauge obiger Synthese der 4-Hydroxy-PBTS erhaltene Verbindung wird aus Wasser umkristallisiert und mit einem Schmp. von 191° (Zers.), Kristallwasserabgabe bei 100—110°, erhalten.



Nach dem Trocknen (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 100°, 10 Torr, 3 Stdn.) erhält man die wasserfreie Verbindung.



<sup>13</sup> H. G. Bray, W. V. Thorpe und K. White, *Biochem. J.* **46**, 271 (1950).

<sup>14</sup> O. Folin und W. Denis, *J. Biol. Chem.* **12**, 239 (1912).