

240. Über die Herstellung und physiologischen Eigenschaften einiger Acetylenverbindungen und verwandter Stoffe.

2. Mitteilung¹).

Über die Umlagerung von 3,4-Di-p-anisyl-3-ol-hexin-(I)

von Emil Hofstetter und A. E. Wilder Smith.

(9. X. 53.)

Wie in der ersten Mitteilung¹) erwähnt wurde, planten wir u. a., aus 3,4-Di-p-anisyl-3-ol-hexin-(I) (I) Wasser abzuspalten. Bei diesen Entwässerungsversuchen stiessen wir jedoch auf Schwierigkeiten, indem wir nur Umlagerungen erzielen konnten.

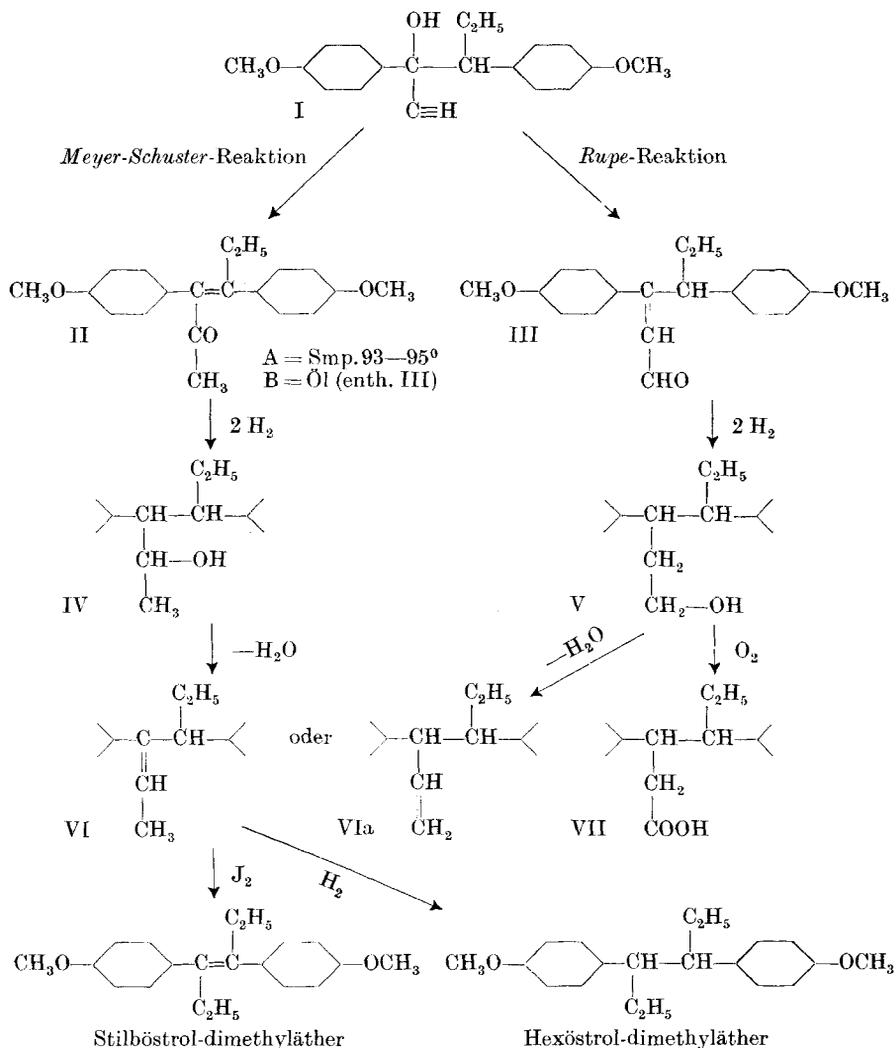
Die übliche Entwässerungsmethode mit Gemischen von Acetylchlorid und Essigsäureanhydrid ergab nach kurzem Erwärmen ein Acetylen-negativ, Keton-Aldehyd-positiv reagierendes Gemisch von Isomeren von I. Die Einwirkung von Phosphorpentoxyd in Gegenwart verschiedener Lösungsmittel, Kaliumhydrogensulfat, p-Toluolsulfosäure, Phosphoroxychlorid und Pyridin, Acetylchlorid und Pyridin, Essigsäureanhydrid und Na-Acetat sowie von Aluminiumphosphat bei 270–290° in der Gasphase (0,1 mm Hg) führten alle entweder zu diesem Umlagerungsprodukt oder ergaben nur Ausgangsstoff. Versuche, I mit Keten, Essigsäureanhydrid und Pyridin oder mit p-Nitrobenzoylchlorid zu verestern, scheiterten ebenfalls. In alkalischem Milieu bei erhöhter Temperatur und unter Druck wurde Wasser an I angelagert, doch untersuchten wir diese Reaktion nicht weiter.

Die Umlagerung von I verlief am besten in methanolischer Lösung in Gegenwart von Ameisensäure, wobei in 90-proz. Ausbeute ein gelbes Öl entstand, welches zur Hauptsache aus einem Gemisch von stereoisomeren Ketonen und zum kleineren Teil aus damit isomeren Aldehyden bestand. Dieses Öl ergab mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin in fast theoretischer Ausbeute ein unscharf schmelzendes Hydrazon. Offenbar verlief die Umlagerung von I in saurem Milieu zum Teil nach *Rupe*²) und zum Teil nach *Meyer-Schuster*³). Dies wurde wie folgt nachgewiesen:

¹) 1. Mitt., *E. Hofstetter & A. E. Wilder Smith*, *Helv.* **36**, 1706 (1953).

²) Vgl. *H. Rupe* und Mitarb., *Helv.* **9**, 672 (1926); **14**, 708 (1931); *W. S. MacGregor*, *Am. Soc.* **70**, 3953 (1948); *G. F. Hennion* und Mitarb., *Am. Soc.* **71**, 2813 (1949); *J. Attenburrow* und Mitarb., *Soc.* **1952**, 1094; *H. B. Henbest & G. Woods*, *Soc.* **1952**, 1150.

³) Vgl. *K. H. Meyer & K. Schuster*, *B.* **55**, 819 (1922); *T. Takeshima*, *Am. Soc.* **75**, 3309 (1953).

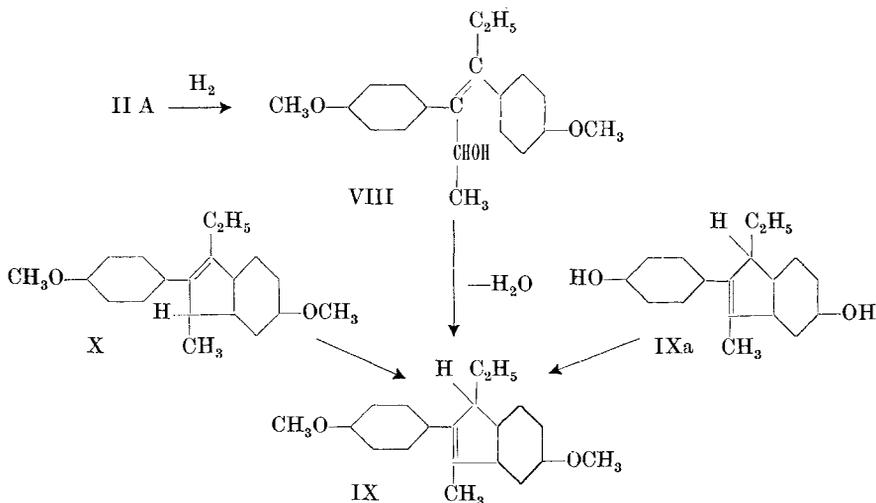


Das Umlagerungsgemisch (II und III) lieferte bei der Kristallisation aus Methanol ein Keton IIA vom Smp. 93–95°. IIA ergab ein 2,4-Dinitrophenylhydrazon und lieferte bei der Hydrierung in Gegenwart von *Adams*-Katalysator nach Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff ein gesättigtes Carbinol (3,4-Di-p-anisyl-hexanol-(2), IV). Dieses Carbinol konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden; es stellt wahrscheinlich ein Gemisch von stereoisomeren Verbindungen dar. Bei der Oxydation dieses Carbinols entstand ein ketonhaltiges Öl, jedoch keine Säure. Somit muss IIA aus I durch Umlagerung nach *Meyer-Schuster* entstanden sein und das ungesättigte Keton 3,4-Di-p-anisyl-hexen-(3)-on-(2) darstellen.

Das Öl IIB, das nach der Entfernung von IIA zurückblieb, bildete mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin ein Hydrazon und ergab bei der katalytischen Hydrierung ebenfalls nach Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff ein Carbinolgemisch (IV und 3,4-Di-p-anisyl-hexanol-(1), V), das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Die Oxydation dieses Carbinolgemisches mit CrO_3 in Aceton ergab in geringer Menge (ca. 5%) eine Säure (β, γ -Di-p-anisyl-capronsäure, VII), was auf das Vorhandensein eines Aldehydes (3,4-Di-p-anisyl-hexen-(2)-al-(1), III) hinweist. Somit enthält das Umlagerungsprodukt aus I neben ungesättigten stereoisomeren Ketonen auch isomere Aldehyde.

Weil die Trennung dieser isomeren Verbindungen sich als schwierig erwies, wurde das durch Umlagerung von I erhaltene Gemisch direkt katalytisch zum Carbinolgemisch (IV und V) hydriert und dieses mittels Acetylchlorid und Essigsäureanhydrid entwässert. Das Gemisch der entstandenen Äthylene (3,4-Di-p-anisyl-hexen-(2), VI, und 3,4-Di-p-anisyl-hexen-(1), VIa) liess sich mit Jod in Toluol in guter Ausbeute zu Stilböstroldimethyläther umlagern. Bei der katalytischen Hydrierung des Äthylengemisches mit PtO_2 entstand ein Gemisch der stereoisomeren Hexöstroldimethyläther.

Bei der teilweisen kat. Hydrierung von IIA mit Pd-Mohr entstand 3,4-Di-p-anisyl-2-ol-hexen-(3) (VIII).



Die Aufnahme des ersten Mol Wasserstoffes an der Ketogruppe erfolgte sehr rasch, während die Hydrierung der Doppelbindung nur sehr langsam vor sich ging. Die Wasserabspaltung aus VIII wurde durch 20-stündiges Kochen mit p-Toluolsulfosäure in Toluol durchgeführt. Interessanterweise entstand dabei nicht 1-Methyl-2-p-anisyl-3-äthyl-6-methoxy-inden (X)¹⁾, sondern 1-Äthyl-2-p-anisyl-3-methyl-

¹⁾ Vgl. 1. Mitteilung.

5-methoxy-inden (IX). IX konnte auch aus dem nach *E. Adler & B. Hägglund*¹⁾ hergestellten 1-Äthyl-2-p-oxyphenyl-3-methyl-5-oxy-inden (IXa) durch Methylierung mit Dimethylsulfat erhalten werden. In geringer Ausbeute konnte IX ebenfalls durch mehrstündiges Kochen von X in Toluol mit p-Toluolsulfosäure erhalten werden. Somit dürfte bei der Entwässerung von VIII, welche mehrere Std. dauert, zuerst X entstehen, um dann zu IX umgelagert zu werden.

Physiologische Eigenschaften von einigen der oben beschriebenen Verbindungen: Das reine Keton IIA und das Gemisch IIB zeigten nur geringe östrogene (1000mal weniger als Stilböstrol) oder progestogene (weniger als 1% von Progesteron) Wirksamkeit. Das Gemisch der Carbinole IV und V wies ca. 1/10 der östrogenen Wirkung von Stilböstrol peroral an der Maus auf. Die isomeren Äthylene VI und VIa zeigten peroral an der Maus 1/10–1/20 der östrogenen Wirkung von Stilböstrol. Säure VII zeigte weniger als 1/1000 der östrogenen Wirkung von Stilböstrol an der Maus peroral.

Experimenteller Teil²⁾ 3).

Umlagerung von 3,4-Di-p-anisyl-3-ol-hexin-(1). a) Herstellung des Keton-Aldehyd-Gemisches (II+III) und dessen 2,4-Dinitrophenylhydrazon: 500 mg Verbindung I (Smp. 95–97°) wurden in 60 cm³ Methanol und 40 cm³ Ameisensäure (98–100-proz.) gelöst und 2 Std. unter Rückfluss erwärmt. Danach wurden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand (Gemisch von II und III) wurde in 40 cm³ Methanol gelöst, mit 500 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin, welche in 100 cm³ Methanol und 1 cm³ konz. Schwefelsäure gelöst waren, versetzt und 1 Std. auf dem Dampfbad erwärmt. Nach 24 Std. Stehen im Kühlschrank wurde das ausgefallene, rot gefärbte Hydrazon abgenutscht und aus Alkohol umkristallisiert: Ausbeute 700 mg (theor. 790 mg), Smp. unscharf zwischen 70 und 100°.

3,785 mg Subst. gaben 8,824 mg CO₂ und 1,715 mg H₂O

3,186 mg Subst. gaben 0,325 cm³ N₂ (21°, 710 mm)

C₂₆H₂₆O₆N₄ Ber. C 63,66 H 5,34 N 11,42%

(490,50) Gef. „ 63,62 „ 5,07 „ 11,07%

b) Trennung der isomeren Verbindungen IIA und IIB: 3,4-Di-p-anisyl-hexen-(3)-on-(2) (IIA): 56 g I (Smp. 95–97°) wurden in 400 cm³ Methanol und 300 cm³ Ameisensäure (98–100-proz.) gelöst und auf dem Dampfbad 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Die anfangs klare Lösung wurde im Laufe der Reaktion etwas gelb und trüb. Das Reaktionsgemisch wurde dann auf 1 l Eiswasser und überschüssiges Natriumhydrogencarbonat gegossen und 4mal ausgeäthert. Die Ätherlösung wurde über Na-Sulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Der Rückstand, ein gelbes Öl, wurde in Methanol gelöst und 48 Std. bei 0° stehengelassen. Es kristallisierten 13,5 g IIA, weisse Nadeln, mit Smp. 85–90°. Nach zweimaliger Umkristallisation aus Methanol lag der Smp. bei 93–95°, Misch-Smp. mit I: starke Depression. Acetylenprobe mit AgNO₃/NH₃: neg.

3,382 mg Subst. gaben 9,598 mg CO₂ und 2,202 mg H₂O

C₂₆H₂₂O₃ (310,38) Ber. C 77,39 H 7,15% Gef. C 77,45 H 7,26%

Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon von IIA schmolz bei 75–80°.

3,870 mg Subst. gaben 0,380 cm³ N₂ (22°, 763 mm)

C₂₆H₂₆O₆N₄ (490,50) Ber. N 11,42% Gef. N 11,40%

¹⁾ Arkiv Kemi Min. Geol. **19A**, Nr. 23 (1945).

²⁾ Hrn. *A. Ciotto* danken wir für die Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche.

³⁾ Die Smp. sind nicht korrigiert.

Öl IIB: Die Mutterlauge, aus welcher IIA isoliert wurde, wurde eingedampft, wobei 42 g Umlagerungsprodukt IIB als gelbes Öl zurückblieben, welches destilliert wurde; Sdp. 188–192°/0,4 mm.

3,505 mg Subst. gaben 9,980 mg CO₂ und 2,310 mg H₂O

C₂₀H₂₂O₃ (310,38) Ber. C 77,39 H 7,15% Gef. C 77,78 H 7,38%

2,4-Dinitrophenylhydrazon vom Öl IIB, Smp. 73–80°.

4,112 mg Subst. gaben 0,388 cm³ N₂ (22°, 760 mm)

Ber. N 11,42% Gef. N 10,92%

Hydrierung von 3,4-Di-p-anisyl-hexen-(3)-on-(2) (IIA). 3,55 g IIA in 40 cm³ Dioxan und 50 mg Adams-Katalysator (frisch reduziert) wurden bei Zimmertemperatur und geringem Überdruck in einer Wasserstoffatmosphäre zusammen geschüttelt. Innerhalb von 5 Std. wurden 2 Mol. Wasserstoff absorbiert. Der Katalysator wurde dann abgenutzt und der Rückstand destilliert. Sdp. 165–170°/0,25 mm: farbloses Öl (Carbinol IV), welches nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

4,180 mg Subst. gaben 11,700 mg CO₂ und 3,100 mg H₂O

C₂₀H₂₆O₃ (314,41) Ber. C 76,40 H 8,34% Gef. C 76,43 H 8,31%

Hydrierung von IIB. 25,8 g Öl IIB wurden in 150 cm³ Methanol gelöst und in Gegenwart von 300 mg PtO₂ (frisch reduziert) bei Zimmertemperatur unter geringem Überdruck hydriert. Nach 12–15 Std. war der Katalysator zum Teil inaktiviert, so dass noch 100 mg PtO₂ zugegeben werden mussten. Innert 48 Std. wurden im ganzen 4,12 l Wasserstoff aufgenommen (ber. für 2 Mol. 4,2 l). Nach der Aufarbeitung analog der Hydrierung von IIA wurde destilliert. Sdp. 165–175°/0,1 mm, farbloses Öl (IV und V) (ein Gemisch von isomeren Verbindungen, die nicht zur Kristallisation gebracht werden konnten).

3,754 mg Subst. gaben 10,575 mg CO₂ und 2,771 mg H₂O

C₂₀H₂₆O₃ (314,41) Ber. C 76,40 H 8,34% Gef. C 76,87 H 8,26%

Nachweis von geringen Mengen Aldehyd III im Umlagerungsprodukt IIB. 7,4 g Carbinol IV + V (aus Öl IIB wie oben beschrieben) wurden in 50 cm³ Aceton gelöst und auf 0° gekühlt. Unter Rühren wurden 2,7 g Chromtrioxyd in 10 cm³ Wasser und 1 cm³ konz. Schwefelsäure langsam zugegeben, wobei die Temperatur unter 11° gehalten wurde. Danach wurde die Lösung 48 Std. bei Zimmertemperatur gerührt, dann auf Eis gegossen, mit konz. NaOH lackmusalkalisch gestellt, viermal ausgeäthert, der Äther zweimal mit Wasser gewaschen und über Na-Sulfat getrocknet. Aus dem Äther wurden 5,5 g Öl erhalten. Dieses Öl reagierte mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin, doch weder das Öl noch dessen Hydrazon konnten zur Kristallisation gebracht werden. Die alkalische Mutterlauge wurde nun mit konz. Salzsäure kongosauer gestellt, dreimal ausgeäthert, der Äther zweimal mit Wasser gewaschen und über Na-Sulfat getrocknet. Nach der Entfernung des Äthers blieb ein halbfester Rückstand zurück (2 g). Aus Methanol umkristallisiert ergaben diese 2 g 320 mg Säure VII mit Smp. 174–178,5°. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Methanol schmolz die Säure bei 181,5–182,5°, war in verd. Lauge löslich und konnte durch Ansäuern wieder gefällt werden.

3,522 mg Subst. gaben 9,430 mg CO₂ und 2,323 mg H₂O

C₂₀H₂₄O₄ (328,39) Ber. C 73,15 H 7,37% Gef. C 73,06 H 7,39%

Carbinol IV (aus IIA) ergab bei der gleichen Behandlung mit Chromsäure keine Carbonsäure.

Überführung des Umlagerungsgemisches IIA + IIB in Stilböstrol-dimethyläther. 8 g des durch Umlagerung und Hydrierung von I erhaltenen Carbinolgemisches (IV + V) wurden mit 40 cm³ Acetylchlorid und 40 cm³ Essigsäureanhydrid 48 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand (VI + VIa) in Toluol gelöst und mit 50 mg Jod versetzt. Nach 20 Std. Kochen unter Rückfluss wurde das Jod mit Thiosulfatlösung entfernt, das Toluol abdestilliert und der Rückstand in Alkohol mit Aktivkohle 5 Min. gekocht und dann filtriert. Aus dieser Lösung kristallisierte Stilböstrol-dimethyläther vom Smp. 121–122°.

Misch-Smp. mit authentischem Stilböstroldimethyläther 123—124°. Ausbeute: 2,7 g. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Methanol stieg der Smp. auf 122,5—124°.

3,737 mg Subst. gaben 11,090 mg CO₂ und 2,715 mg H₂O

C₂₀H₂₄O₂ (296,39) Ber. C 81,04 H 8,16% Gef. C 80,99 H 8,13%

Überführung des Umlagerungsgemisches IIA + IIB in Hexöstrol-dimethyläther. 2,58 g Äthylengemisch VI + VIa (hergestellt wie oben beschrieben) wurden in Äthanol mit 50 mg PtO₂ (frisch reduziert) bei Zimmertemperatur unter geringem Überdruck hydriert. Inert 20 Std. wurden 200 cm³ Wasserstoff aufgenommen (ber. für 1 Mol. 210 cm³). Der Katalysator wurde abgenutzt und das Lösungsmittel eingedampft. Aus Äthanol kristallisierte der Rückstand in feinen weissen Nadeln: 1,15 g vom Smp. 117—128°. Nach 6 Umkristallisationen aus Alkohol: Smp. 135—137°; Misch-Smp. mit authentischem Hexöstroldimethyläther (Smp. 145—146°): 143—145°. Es lag ein Gemisch von stereoisomeren Verbindungen vor.

3,682 mg Subst. gaben 10,870 mg CO₂ und 2,875 mg H₂O

C₂₀H₂₆O₂ (298,41) Ber. C 80,50 H 8,78% Gef. C 80,57 H 8,74%

3,4-Di-p-anisyl-2-ol-hexen-(3) (VIII). 3 g 3,4-Di-p-anisyl-hexen-(3)-on-(2) (IIA) wurden in 120 cm³ Methylalkohol mit 0,2 g Pd-Mohr unter 716 mm bei 23° hydriert. Nach Aufnahme von 1 Mol. Wasserstoff wurde die Hydrierung unterbrochen. Die Aufnahme dieses ersten Mol. dauerte 45 Min. (Für die Aufnahme eines zweiten Mol. Wasserstoffes würden einige Std. benötigt, vgl. Hydrierung von IIA zu IV.) Nach der Trennung vom Katalysator wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand in 10 cm³ Alkohol gelöst. Bei 0° kristallisierten 1,9 g Hexenol VIII, Smp. 56—58°. Das Mutterlaugenprodukt konnte nicht mehr zur Kristallisation gebracht werden. Für die Analyse wurde dreimal aus Alkohol umkristallisiert, Smp. 58—59°.

3,790 mg Subst. gaben 10,690 mg CO₂ und 2,609 mg H₂O

C₂₀H₂₄O₃ (312,39) Ber. C 76,89 H 7,74% Gef. C 76,98 H 7,70%

1-Äthyl-2-p-anisyl-3-methyl-5-methoxy-inden (IX). a) Aus Hexenol VIII: 1,5 g VIII wurden in 75 cm³ Toluol gelöst und mit 0,45 g p-Toluolsulfosäure 20 Std. unter Rückfluss gekocht. Danach wurde mit 30 cm³ 1-n. Natronlauge gewaschen, über CaCl₂ getrocknet, das Toluol abdestilliert und der Rückstand im Vakuum destilliert, Sdp. 185—195°/0,2 mm, 1,1 g. Aus Petroläther kristallisierten 0,6 g Indenderivat IX, Smp. 82—84°. Für die Analyse wurde dreimal aus Petroläther umkristallisiert, Smp. 86—87°. Das Mutterlaugenprodukt blieb halbfest.

3,736 mg Subst. gaben 11,170 mg CO₂ und 2,524 mg H₂O

C₂₀H₂₂O₂ (294,38) Ber. C 81,59 H 7,53% Gef. C 81,52 H 7,55%

b) Aus 1-Methyl-2-p-anisyl-3-äthyl-6-methoxy-inden (X) durch Umlagerung: 0,5 g X (Smp. 71—74°) wurden in 25 cm³ Toluol gelöst und mit 0,15 g p-Toluolsulfosäure 20 Std. gekocht. Dann wurde mit verd. Natronlauge gewaschen, getrocknet und das Toluol abdestilliert. Der Rückstand wurde in Petroläther gelöst und bei 0° stengelassen. Es kristallisierten 0,1 g, Smp. 70—74° (das Mutterlaugenprodukt blieb ölig). Aus Petroläther umkristallisiert stieg der Smp. auf 79—82°, Misch-Smp. mit dem Ausgangsprodukt (X): 60—68°, Misch-Smp. mit IX aus VIII: 80—82°.

c) Aus 1-Äthyl-2-p-oxyphenyl-3-methyl-5-oxy-inden (IXa): 1 g IXa wurde in 20 cm³ Methylalkohol gelöst und mit 1,5 cm³ Dimethylsulfat versetzt. Unter Rühren wurden 11,5 cm³ 2-n. Natronlauge zugetropft, wobei die Temperatur unter 30° gehalten wurde. Ein Niederschlag fiel aus. Darauf wurde 1 Std. bei Zimmertemperatur gerührt und dann nochmals mit 1,5 cm³ Dimethylsulfat versetzt und 11,5 cm³ 2-n. NaOH bei 20—30° zugetropft. Nach zweistündigem Rühren bei Zimmertemperatur wurden 5 cm³ konz. Ammoniak zugegeben und nach 15 Min. der Niederschlag (1 g) abgenutzt; Smp. 79—80°. Aus Petroläther umkristallisiert, Smp. 83—84°; Misch-Smp. mit IX aus VIII: 82—84°, Misch-Smp. mit IX aus X: 79—82°. Für die Analyse wurde viermal aus Petroläther umkristallisiert.

3,596 mg Subst. gaben 10,760 mg CO₂ und 2,433 mg H₂O

Gef. C 81,66 H 7,57%

SUMMARY.

Attempts to remove water from 3,4-di-p-anisyl-1-hexyn-3-ol in acid medium resulted in rearrangement according to *Meyer-Schuster* principally and to *Rupe* to a minor extent. None of the derivatives of these rearrangement products reached the oestrogenicity of stilboestrol. The dehydration of 3,4-di-p-anisyl-3-hexen-2-ol does not lead to the expected diene but to the corresponding methylether of the known 1-ethyl-2-p-hydroxyphenyl-3-methyl-5-hydroxyindene.

Pharmazeutische Abteilung
der *Ed. Geistlich Söhne AG.*, Wolhusen.

**241. Das Lab und seine Wirkung auf das Casein der Milch¹).
VII. Über die Abspaltung von Nicht-Protein-Stickstoff (NPN)
aus Casein durch Lab und ihre Beziehung zur Primärreaktion
der Labgerinnung der Milch²)**

von **Ch. Alais³), G. Mocquot³), Hs. Nitschmann** und **P. Zahler**.

(13. X. 53.)

Einleitung.

Es ist seit langem bekannt, dass die Labgerinnung der Milch aus mindestens zwei verschiedenen Vorgängen besteht, nämlich der Primärreaktion, bei der das Enzym das Casein chemisch verändert, und der Sekundärreaktion, die wohl nichts anderes ist als die Koagulation des enzymatisch angegriffenen Caseins als Calciumsalz. Für Reaktionsgeschwindigkeitsmessungen der Labgerinnung wird stets die Sekundärreaktion benutzt, indem man z. B. die Zeit misst, die vom Labzusatz bis zum Auftreten von mit blossen Auge sichtbaren Flocken verstreicht. Eine Möglichkeit, die besonders interessante Primärreaktion direkt messend zu verfolgen, gab es bisher nicht, denn man konnte keine während der Labung auftretende Veränderungen des Caseins, die sich mit der erforderlichen Genauigkeit quantitativ hätten erfassen lassen.

Es liegt zwar nahe, die Fällbarkeit durch Calcium-Ionen, die das gelabte Casein (Paracasein) vor nativem Casein voraus hat, heran-

¹) Nr. VI dieser Reihe: *H. Mattenheimer, Hs. Nitschmann & P. Zahler*, *Helv.* **35**, 1970 (1952).

²) Mitgeteilt an der Winterversammlung der Schweiz. Chemischen Gesellschaft in Neuenburg, 1. März 1953. Siehe Autorreferat in: *Chim.* **7**, 93 (1953).

³) Adresse: Station Centrale de Microbiologie et Recherches Laitières (Institut National de la Recherche Agronomique), Jouy-en-Josas (Seine et Oise), France.