

K.-A. Kovar

Die Anfärbung von Hydroxybenzoesäurederivaten nach der VITALI-MORIN-Methode*)

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Tübingen
(Eingegangen am 1. Juni 1973)

Von den Hydroxybenzoesäurederivaten der Tab. 1 werden Acetylsalicylsäure, Methylsalicylat, Salicylsäurephenylester, Salicylamid und Phenolphthalein unter VITALI-MORIN-Bedingungen orange bis rot gefärbt. In allen Fällen wird mit rauchender Salpetersäure die Pikrinsäure (1a) gebildet, die sich in Aceton und KOH zum MEISENHEIMER-Pikrat 2a umsetzt.

Bei Methylsalicylat beruht die Farbbildung hauptsächlich auf dem Entstehen des 3,5-Dinitromethylesters 3 und dessen Umsetzung zum Dinitrocyclohexadienat-Komplex 6.

Die Anfärbung des Salicylsäurephenylesters ist neben 2a auf die Cyclohexadienat-Addukte 7 und 8a zurückzuführen.

The Colour Reaction of Derivatives of Hydrobenzoic Acids under the Condition of VITALI-MORIN

From the derivatives of hydrobenzoic acids listed in table 1, acetylsalicylic acid, methyl salicylate, phenyl salicylate, salicylamide and phenolphthalein are coloured orange to red under the condition of VITALI-MORIN. In all cases with fuming nitric acid, picric acid (1a) is formed which changes into the „MEISENHEIMER Picrate“ 2a in acetone and potassium hydroxide.

3,5-Dinitro-methyl salicylate (3) results from methyl salicylate and as the main colouring matter the dinitro-cyclohexadienate complex 6 was isolated.

The colour reaction of phenyl salicylate results from the cyclohexadienate adducts 2a, 7 and 8a.

Die VITALI-Reaktion¹⁾ verschiedener Arzneibücher²⁾ ist für Tropasäurederivate nicht spezifisch, wenn sie in der MORIN-Modifizierung³⁾ ausgeführt wird, d.h., Aufnehmen des nach dem Behandeln der Substanz mit rauchender Salpetersäure erkalteten Rückstandes in Aceton vor der KOH-Zugabe⁴⁾. MORIN wollte durch den Acetonzusatz die störende Eigenfarbe des erkalteten Rückstandes vermindern und die Intensität der Reaktion steigern. Dadurch wird aber die JANOVSKY-Bedingung⁵⁾⁶⁾

*) Auszug aus 10)

1 D. Vitali, Orosi 1880 Nr.8 ref. in Arch. Pharmaz. 218, 307 (1881) und in Z.analyt.Chem. 20, 563 (1881), C. 1881, 710.

2 z.B. DAB 7 – BRD, DAB 7 – DDR, Austr. 1960 und Ph.Eur.

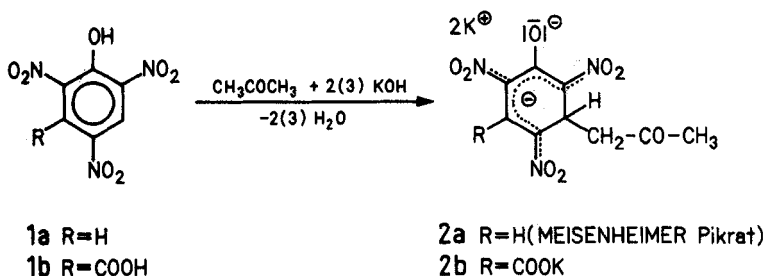
3 M.Ch. Morin, J.pharmac.Chim. 23, 545 (1936), C. 1937 II, 383.

4 K.-A. Kovar, Dtsch.Apotheker-Ztg. 110, 1509 (1970).

5 J.V. Janovsky und L. Erb, Ber.dtsch.chem.Ges. 19, 2155 (1886).

6 J.V. Janovsky, Ber.dtsch.chem.Ges. 24 I, 971 (1891).

der Farbreaktion von Polynitroaromaten mit Laugen erfüllt, die einen Acetonüberschuß anwendet. Da man bei der Umsetzung mit rauchender Salpetersäure verschieden nitrierte Aromaten erwarten darf, ist es nicht verwunderlich, daß 100 von 240 getesteten Substanzen eine Färbung nach VITALI-MORIN ergaben, von denen sich rund 50 anders oder ausschließlich in acetoniger Lösung mit KOH anfärbten^{4) 10)}. Nach dieser Methode geben Salicylsäure, 4-Hydroxybenzoesäure und 3-Hydroxybenzoesäure rote Farbreaktionen. Es entstehen mit rauchender Salpetersäure hauptsächlich die Pikrinsäure (**1a**) und die 2,4,6-Trinitro-3-hydroxybenzoesäure (**1b**)⁷⁾, die in Aceton und KOH die roten MEISENHEIMER Komplexe **2a** und **2b** ausbilden^{8) 9)}.



Weiter stellt sich die Frage, welche Derivate der Hydroxybenzoesäuren nach dieser Methode günstig angefärbt werden und welche Farbverbindungen dabei entstehen. Die wichtigsten werden in der Tab. 1 zusammengefaßt. Davon wurden die Verbindungen zur näheren Untersuchung ausgewählt, die wie die freien Hydroxybenzoesäuren eine orange bis rote Färbung bzw. einen entsprechend gefärbten Niederschlag geben: Acetylsalicylsäure, Methylsalicylat, Salicylsäurephenylester, Salicylamid und Phenolphthalein.

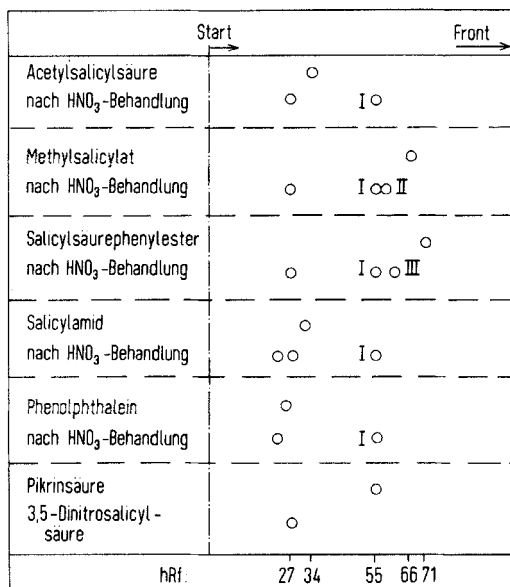
Wie schon bei der Untersuchung der Hydroxybenzoesäuren⁷⁾, so werden auch hier als erstes die Ausgangssubstanzen und deren Reaktionsrückstände mit rauchender Salpetersäure im Vergleich zur Pikrinsäure und zur 3,5-Dinitrosalicylsäure, welche als Reaktionsprodukte erwartet werden können, chromatographiert (Abb. 1). Die DC-Auswertung ergibt, daß in allen Fällen Pikrinsäure neben 3,5-Dinitrosalicylsäure als Haupt- oder als Nebenprodukt entsteht. Zur näheren Beweisführung werden die Reaktionsrückstände als Strichchromatogramme mit Ameisensäureäthylester entwickelt, die in Frage kommenden Zonen I–III mit Aceton eluiert und ein Elektronenspektrum aufgenommen (Tab. 2). Mit Ausnahme der Flecke II (Reaktionsprodukt von Methylsalicylat) und III (Reaktionsprodukt von Salicylsäurephenylester) wird

7 K.-A. Kovar, Dtsch. Apotheker-Ztg. 111, 1419 (1971).

8 K.-A. Kovar, Arch. Pharmaz. 305, 379 (1972).

9 K.-A. Kovar, Arch. Pharmaz. 307, 100 (1974).

10 K.-A. Kovar, Habilitationsschrift Tübingen 1972.



PH 320.1

Abb. 1: DC der Ausgangssubstanzen und deren Reaktionsrückstände nach dem Abrauchen mit r.HNO_3 auf Kieselgel F 254/366 Woelm-Platten, FM: Benzol + HCOOC_2H_5 + $\text{HCOOH} = 70 + 20 + 10$, Laufstrecke: 15 cm, Kammersättigung.

eine Pikrinsäurekurve gemessen, die nach geringem KOH-Zusatz in die Farbkurve des MEISENHEIMER Pikrates 2a übergeht.

Aus dem Reaktionsansatz von Methylsalicylat mit rauchender Salpetersäure ließ sich als Hauptprodukt 3,5-Dinitro-salicylsäuremethylester (3) isolieren, der mit II (Rf 0,58) identisch ist. Fleck III im Reaktionsgemisch des Salicylsäurephenylesters ist nicht einheitlich, denn chromatographiert man mit einem etwas modifizierten Fließmittel (Benzol + $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ + $\text{CH}_3\text{COOH} = 70 + 20 + 10$), so trennt sich dieser in zwei Flecke auf, die als 3,5-Dinitro-salicylsäure-4'-nitrophenylester (4, Rf 0,61) und als 3,5-Dinitro-salicylsäure-2', 4'-nitrophenylester (5, Rf 0,48) dc und nach Alkalisplaltung identifiziert werden konnten¹⁰⁾.

In der weiteren Untersuchung soll geklärt werden, inwieweit die Polynitroverbindungen 3–5 an der Farbbildung beteiligt sind. Dazu wurde die rote Farbverbindung aus einer Lösung von 3 in Aceton mit äthanol. KOH gefällt und der Niederschlag in D_2O gemessen (Abb. 2).

Man erhält so neben den nichtstörenden Lösungsmittelsignalen von Aceton und Äthanol die für einen MEISENHEIMER Komplex charakteristischen chemischen Verschiebungen der aromatischen Protonen¹⁰⁾¹¹⁾ nach $\delta = 8,40$ ppm und $\delta = 4,99$ ppm (H_b als Triplett, $J = 6$ Hz). Entsprechend treten das Methylen-Dublett ($J = 6$ Hz) der Ace-

11 M.J. Strauss, Chem.Reviews 70, 667 (1970).

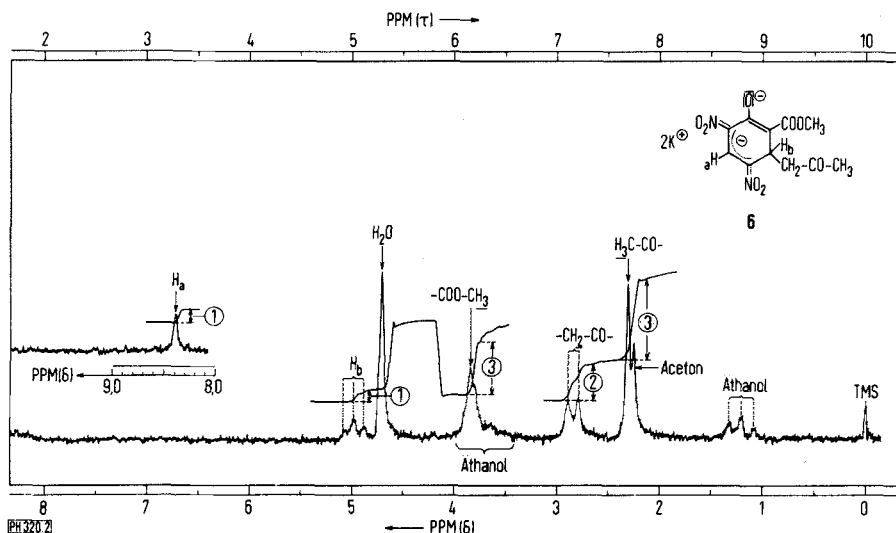
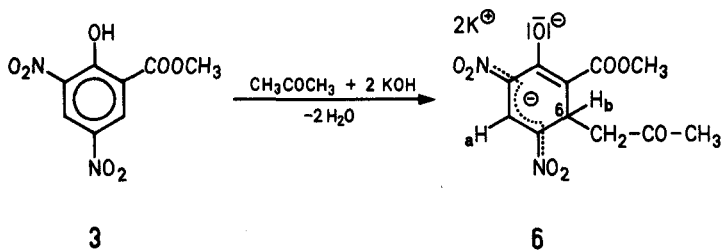


Abb. 2: 60 MHz-NMR-Spektrum der MEISENHEIMER Verbindung 6 aufgenommen in D₂O. TMS $\delta = 0,00$ ppm. Sweep offset = 100 Hz.

tonylgruppe bei $\delta = 2,82$ ppm und das CH₃-Singulett bei $\delta = 2,30$ ppm in Resonanz. Die chemische Verschiebung des a-Protons zu tieferem Feld als $\delta = 8,1$ ppm¹²⁾¹³⁾ und das Elektronenspektrum mit den beiden Maxima 368 und 493 nm (< 600 nm¹²⁾¹⁴⁾) (Tab. 3) beweisen die Ausbildung des Dinitrocyclohexadienat(6)-Komplexes 6 und lassen eine Addition des Acetonylrestes an C-4 nicht zu.



Von den Mono- und Dinitrophenylestern 4 und 5 der 3,5-Dinitrosalicylsäure ließen sich durch Fällen aus Aceton mit KOH keine MEISENHEIMER-Kaliumsalze darstellen und auch nicht in NMR-Messungen indirekt erfassen. Man ist ausschließlich auf die

12 M.R. Crampton und H.A. Khan, J.chem.Soc. (London)-Perkin Transaction II, 1972, 733.

13 M.J. Strauss, H. Schran, T. Jensen und K.O. Connor, J.org.Chemistry 35, 383 (1970).

14 R.J. Pollit und B.C. Saunders, J.chem.Soc. (London) 1965, 4615.

Tabelle 1: Die Anfärbbarkeit von Hydroxybenzoesäurederivaten und ähnlicher Verbindungen nach dem Abbrauchen mit rauchender HNO_3 durch KOH ohne und mit Aceton

Substanz	Farbe des Rückstandes	Farbe mit 1 ml 0,1 n äthanol. KOH ohne Aceton	mit Aceton
Salicylsäure	gelb	gelb	orange
Acetylsalicylsäure	gelb	gelb	rotorange
Methylsalicylat	gelb	gelb	orange
Salicylsäurephenylester	gelb	gelb	orange
4-Aminosalicylsäure	rotbraun	schmutzig grün	brauner Nd
Salicylamid	gelb	(orange)	orange
Nicosamid (Yomesan®)		rotbraun	weinrot
Anthranilsäure	gelbbraun	gelbbraun	violett dann braun
4-Hydroxybenzoesäure	gelb	gelb	rot
Nipagin M®	gelb	gelb	gelb, brauner Nd
Nipasol M®	gelb	gelb	gelb
4-Aminobenzoesäure	gelblich	gelbbraun	violett dann braun
Phenolphthalein	gelb	gelb	rot
Oxyphenisatindiacetat Isacen®	gelbgrün	rotbraun	rotbraun
Bisacodyl (Dulcolax®)	braun	braun	rotbraun

Tabelle 2: Maxima in den Elektronenspektren der Reaktionsprodukte I bis III in Abb. 1 im Vergleich zur Pikrinsäure
 $\lambda_{\text{max}}^{\text{Aceton}} = \text{nm (E), Sch} \hat{=} \text{Schulter}$

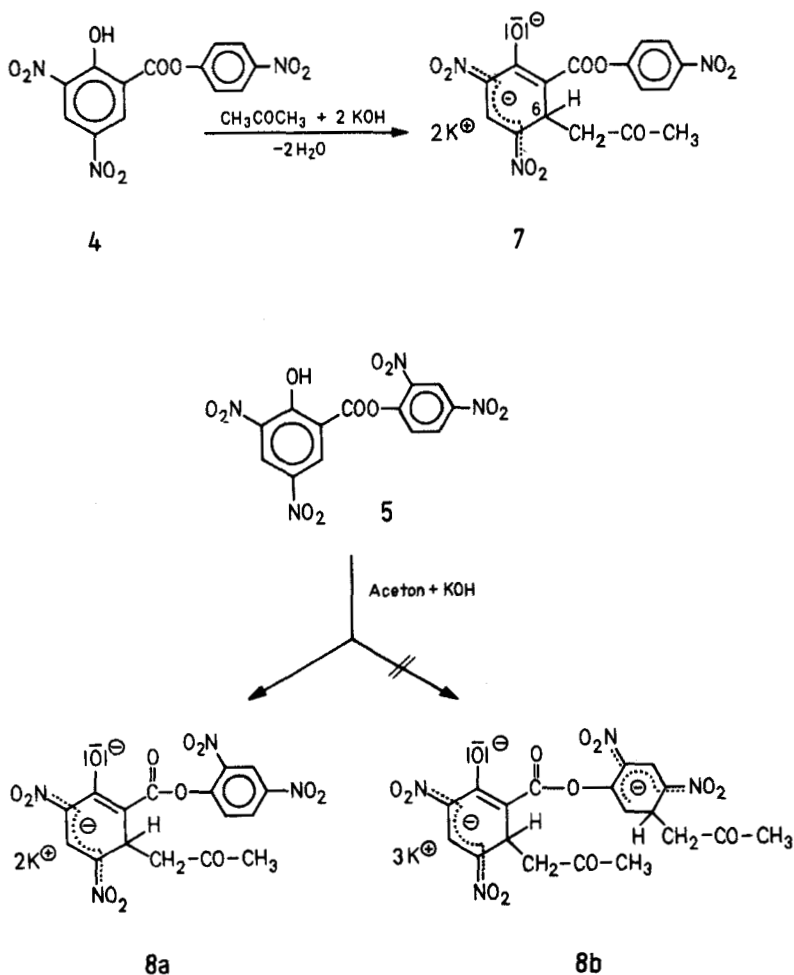
Reaktionsprodukt	in Aceton	nach Zusatz von a ml 0,02 n äthanol. KOH	a = ml
Acetylsalicylsäure: Fleck I	376 (0,70) ~435 Sch	400 (0,66) ~ 500 (0,21)	0,1
Methylsalicylat: Fleck II	380 (0,93) ~405 Sch	368 (0,72) ~ 490 (0,32)	0,1
Salicylsäurephenylester: Fleck I	376 (0,61) ~435 Sch	400 (0,66) ~ 500 (0,28)	0,15
Fleck III	374 (0,78) ~400 Sch ~440 Sch	412 (0,71) ~ 500 (0,03)	0,15
Salicylamid: Fleck I	376 (0,60) ~435 Sch	400 (0,56) ~ 500 (0,21)	0,1
Phenolphthalein: Fleck I	376 (0,55) ~435 Sch	400 (0,52) ~ 500 (0,18)	0,01
Pikrinsäure	376 (0,65) ~435 Sch	400 (0,69) ~ 500 (0,23)	0,07

Tabelle 3: Vergleich der Maxima in den Elektronenspektren von **2a** bis **8a** und von 2,4-Dinitrophenylacetat

	λ_1	(E)		λ_2	(E)	$c = x \cdot 10^{-4}$ Mol/l	gemessen in
2a	400	(1,06)		500	(0,52)	0,5	Aceton
2b	402	(0,59)		498	(0,38)	0,5	Aceton
3	360	(0,82)				0,5	methanol. KOH
4	379	(1,40)				0,5	methanol. KOH
5	378	(0,58)				0,5	methanol. KOH
6 (aus 3)	368	(0,75)		493	(0,40)	0,5	Aceton
7 (aus 4)	412	(1,54)		498	(0,30)	0,5	Aceton + 0,3 ml 0,02 n äthanol. KOH
8a (aus 5)	364 (0,74)		407 (0,54)	495 (0,21)		0,3	Aceton + 0,4 ml 0,02 n äthanol. KOH
2,4-Dinitro- phenylacetat + 3	364	(0,86)	407 (0,65)	495 (0,18)		0,3	Aceton + 0,4 ml 0,02 n äthanol. KOH
2,4-Dinitro- phenylacetat	366	(0,22)	407 (0,23)			0,5	Aceton + H ₂ O
	367	(0,84)	418 (0,87)			0,5	Aceton + 0,3 ml 0,02n äthanol. KOH

Deutung der Elektronenspektren im Vergleich zu den bisher untersuchten Verbindungen angewiesen. Cyclohexadienat-Verbindungen erkennt man im Elektronenspektrum an dem typischen Kurvenverlauf. Man erhält meistens zwei Maxima im sichtbaren Bereich¹¹⁾, deren Extinktionen sich im Falle der Trinitroverbindungen etwa wie 2 : 1 verhalten. Viele unsubstituierte und substituierte Dinitrocyclohexadienat-Komplexe verschieben ein Maximum unterhalb 400 nm¹⁴⁾, ein oder zwei andere Maxima liegen je nach Substitution bei höheren Wellenlängen¹¹⁾¹⁴⁾. 3,5-Dinitro-salicylsäure-4'-nitrophenylester (**4**) und 3,5-Dinitro-salicylsäure-2', 4'-dinitrophenylester (**5**) weisen in Aceton und KOH eine solche Cyclohexadienat-Kurve auf (Tab. 3)¹⁰⁾, die sich deutlich von der E-Kurve in methanol. KOH unterscheidet. **4** absorbiert in methanol. KOH bei 379 nm und in Aceton auf KOH-Zusatz bei 412 und 498 nm. Die Extinktionen

verhalten sich wie 5:1 im Gegensatz zu den Cyclohexadienat-Verbindungen 2a, 2b und 6, die ein Verhältnis ($\lambda_1 : \lambda_2$) von etwa 2:1 besitzen. Trotzdem muß wegen der Ausbildung eines weiteren Maximums (498 nm) auf einen MEISENHEIMER Komplex geschlossen werden. Im Vergleich zu elektronenspektroskopischen Untersuchungen der Cyclohexadienat-Addukte von 2,4-Dinitrobenzoesäure und deren Methylestern¹²⁾ sowie der Tab. 3 erfolgt die Addition eines Acetylrestes an C-6 (7), denn eine C-4-Addition müßte ein längerwelliges Maximum verursachen^{11) 12) 14)}. Die besonders hohe Extinktion von λ_1 in 7 erklärt sich dabei durch die Konjugation des Nitrophenylrings über die Estergruppierung zur Cyclohexadienat-Anordnung.



Mit den Elektronenspektren von **5** in methanol. KOH und in Aceton + KOH verhält es sich ähnlich. Aus der maximalen Absorption bei 367 nm in Aceton entstehen auf KOH-Zusatz drei Absorptionsmaxima bei 364, 407 und 495 nm, deren Extinktionen sich etwa wie 3,5:2,5:1 verhalten; in methanol. KOH ist nur ein Maximum bei 378 nm zu registrieren. Mindestens ein Acetonylester muß auch hier angelagert worden sein. Zu klären war lediglich, ob ein (**8a**) oder zwei (**8b**) Acetonylester addiert werden.

Erwartungsgemäß setzt sich das Elektronenspektrum von 3,5-Dinitrosalicylsäure-2', 4'-dinitrophenylester (**5**) in Aceton + KOH aus den beiden Teilspektren des 3,5-Dinitro-salicylsäuremethylesters (**3**) und des 2,4-Dinitrophenylacetats zusammen. Aus beiden Ansätzen erhält man fast identische E-Kurven. Eine Verseifung des Ester ist nicht eingetroffen, denn 3,5-Dinitrosalicylsäure und 2,4-Dinitrophenol addieren sich in Aceton + KOH zu einem anderen Elektronenspektrum. Für 3,5-Dinitro-salicylsäuremethylester ist in Aceton mit KOH die MEISENHEIMER Struktur **6** bewiesen. 2,4-Dinitrophenylacetat besitzt im selben Milieu zwei Maxima bei 367 und 418 nm. Da die Maxima auch ohne KOH-Zugabe lediglich um einiges schwächer ausgebildet werden, und das Elektronenspektrum nicht die typische Kurvencharakteristik der Cyclohexadienat(4)- bzw. -(6)-Komplexe der 1-substituierten 2,4-Dinitrobenzole¹⁴⁾ aufweist, kann man unter diesen Bedingungen und in dieser Konzentration¹⁵⁾ die Bildung einer MEISENHEIMER Verbindung für 2,4-Dinitrophenylacetat verneinen. Die Farbsalzbildung des Dinitrophenylesters **5** in Aceton mit KOH beruht somit in Analogie zum Mononitrophenylester **4** und zum Methylester **3** auf der Addition nur eines Acetonylesteres zum Cyclohexadienat-Addukt **8a**.

Beschreibung der Versuche

Schmp.: unkorrigiert nach der Kapillarmethode im Linstromblock. IR-Spektren: Beckman Spektrophotometer IR 8 in KBr ($\tilde{\nu}/\text{cm}$). Elektronenspektren: Beckman Spektralphotometer DB-GT. NMR-Spektren: Varian A 60-Gerät ($\delta = 0,00$ ppm in bezug auf internes TMS) S = Singulett, D = Dublett, Q₄ = Quadruplett.

3 aus Methylsalicylat mit rauchender HNO₃: 1,0 ml Methylsalicylat werden allmählich in 10 ml rauchende HNO₃ in der Kälte eingetragen, und das Reaktionsgemisch auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Nach dreimaligem Abrauchen mit je 10 ml rauchender HNO₃ wird zweimal mit jeweils 5 ml H₂O eingedampft. Das Rohprodukt wird nach dem Digerieren mit Benzol mehrmals aus 50proz. Äthanol umkristallisiert. Ausbeute: 800 mg (40 % d.Th.) silberglänzende Schuppen vom Schmp. 126–127°. IR: 1675 (Ester), 1530 und 1330 (–NO₂). NMR (Aceton-d₆): 8,99 und 8,98 (–OH, aromat. H); 4,13 S (Methylester).

15 T. Canbäck, *Farmac.Revy* **48**, 217 (1949), berichtet von einer Farbreaktion des 2,4-Dinitrophenylacetats mit Aceton in alkalischer und saurer wäßriger Lösung. Diese Reaktion wurde nicht näher untersucht, da nach weiterer Acetonzugabe keine MEISENHEIMER-Kurve zu messen war.

4 aus Salicylsäurephenylester: 1,0 g Salicylsäurephenylester werden in 20 ml Essigsäure gelöst, unter Rühren mit 20 ml rauchender HNO_3 tropfenweise versetzt und 1 Std. auf dem Wasserbad erhitzt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch in 250 ml Eiswasser gegossen, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Essigsäure umkristallisiert. Ausbeute: 400 mg (65 % d.Th.) farblose Kristalle vom Schmp. 178° . $\text{C}_{13}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_9$ (349,2) Ber.: C 44,71; H 2,02; N 12,0; Gef.: C 44,80; H 2,29; N 11,9. IR: 1700 (Ester) 1535 und 1340 ($-\text{NO}_2$). NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 10,15 ($-\text{OH}$); 8,70 s (2 arom. H); 8,15 Q_4 und 7,43 Q_4 (A_2B_2 -Spektrum, $J_{\text{AB}} = 9 \text{ Hz}$, $J_{\text{m}} = 2 \text{ Hz}$).

5 aus Salicylsäurephenylester: 2,0 g Salicylsäurephenylester werden in ein eisgekühltes Gemisch aus 10 ml rauchender HNO_3 und 14 ml konz. H_2SO_4 allmählich unter Rühren eingetragen. Es wird 90 Min. bei Raumtemperatur weitergerührt und danach das Reaktionsgemisch in 100 ml Eiswasser gegossen. Man saugt den Niederschlag ab, wäscht ihn mineralisäurefrei und kristallisiert aus Benzol um. Ausbeute: 2,46 g (65 % d.Th.) lange gelbliche Nadeln vom Schmp. 135° . $\text{C}_{13}\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_{11}$ (394,3) Ber.: C 39,60; H 1,52; N 14,20; Gef.: C 39,74; H 1,63; N 13,47. IR: 1700 (Ester); 1530 und 1340 ($-\text{NO}_2$). NMR (Aceton- d_6): 8,87 d (H_a , $J_{\text{m}} = 2,5 \text{ Hz}$); 8,78 d (H_a , $J_{\text{m}} = 2,5 \text{ Hz}$); 8,63 d (H_b , $J_{b,c} = 2,5 \text{ Hz}$); 8,38 Q_4 (H_c , $J_{c,b} = 2,5 \text{ Hz}$, $J_{c,d} = 9 \text{ Hz}$); 7,68 d (H_d , $J_{d,c} = 9 \text{ Hz}$).

6 aus 3,5-Dinitrosalicylsäure-methylester (3): 121 mg (0,5 mmol) **3** werden in 50 ml Aceton gelöst. Nach Zusatz von 2 ml 0,5 n äthanol. KOH (1 mmol) erhält man einen roten Niederschlag. Der Niederschlag wird mit Aceton gewaschen und 1–2 Std. i. Vak. über CaCl_2 und Paraffin getrocknet. Ausbeute: 150 mg.

2,4-Dinitrophenylacetat nach¹⁶⁾: Ausbeute: 70 % d.Th. Schmp. $65-68^\circ$. IR: 1770 (Ester) 1530 und 1340 ($-\text{NO}_2$).

16 J.J. Blanksma, C. 1909 II, 1219.

Anschrift: Priv.Do. Dr. K.-A. Kovar, 74 Tübingen, Auf der Morgenstelle

[320]

H. Böhme und F. Martin

Über β -Chlor- und β -Mesyl-äthylhydrazine

Aus dem Pharmazeutisch-chemischen Institut der Universität Marburg/Lahn.
(Eingegangen am 1. Juni 1973)

Das Hydrochlorid des Benzaldehyd- $[\beta$ -hydroxyäthyl]-hydrazons (**6**) ist mit Thionylchlorid in das Benzaldehyd- $[\beta$ -chloräthyl]-hydrazon-hydrochlorid (**7**) zu überführen, aus dem durch Hydrolyse mit verd. Salzsäure β -Chloräthylhydrazin-dihydrochlorid (**5**) entsteht. – Methylhydrazin und 1,2-Dichloräthan reagieren bei Raumtemperatur unter Bildung von Methylhydrazin-hydrochlorid (**10**) und N-Methyl-N- $[\beta$ -chloräthyl]-hydrazin (**9**), das als Dihydrochlorid **12** isoliert werden kann. – Aus Benzaldehyd- $[\beta$ -hydroxyäthyl]-hydrazon (**6**) und Mesylchlorid entsteht Benzaldehyd-[N-methylsulfonyl-N- β -mesyläthyl]-hydrazon (**14a**), dessen Hydrolyse mit verd. Salzsäure zu N- $[\beta$ -Mesyläthyl]-methansulfonsäure-hydrazid (**15**) führt.