

424. Clemens Schöpf, Günther Koepke, Bernhard Kowald, Felix Schülde und Dieter Wunderlich: Darstellung und Eigenschaften der *o*-Formamino- und der *o*-Amino-benzoylessigsäure, zweier zellmöglicher Abbauprodukte des Tryptophans und Heteroauxins

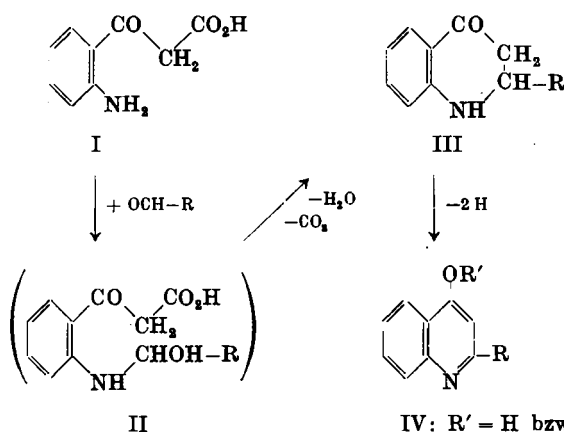
[Aus dem Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule Darmstadt]

(Eingegangen am 16. Oktober 1956)

Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Arthur Stoll, dem Präsidenten der Union Internationale de Chimie zum 70. Geburtstag in Verehrung und Freundschaft gewidmet

Die Darstellung der *o*-Formamino-benzoylessigsäure durch Ozonspaltung von Heteroauxin und die der *o*-Amino-benzoylessigsäure durch katalytische Hydrierung von *o*-Nitro-benzoylessigsäure wird beschrieben. Beide Verbindungen zeigen die charakteristischen Eigenschaften von β -Ketosäuren; in saurer Lösung gehen sie quantitativ in 4-Hydroxy-chinolon-(2) über, die *o*-Amino-benzoylessigsäure so leicht, daß sie nur in Form ihrer Salze darstellbar ist.

Für die Biogenese der Angostura-Alkaloide, die in der α -Stellung des Chinolinrings substituiert sind und die in γ -Stellung eine Hydroxy- oder Methoxy-Gruppe tragen (vergl. die allgemeine Formel IV), wurde von C. Schöpf¹⁾ als Baustein die *o*-Amino-benzoylessigsäure (I) in Betracht gezogen. Diese bisher unbekannte Verbindung könnte unter zellmöglichen Bedingungen mit Aldehyden zu 4-Oxo-1.2.3.4-tetrahydro-chinolin (III) zusammentreten, wobei für die beiden, in diese Umsetzung eingehenden Reaktionsstufen, nämlich die Aldehydammoniak-Bildung zu II und die Kondensation unter spontaner Kohlendioxydabspaltung (II \rightarrow III), gezeigt werden konnte, daß sie bereits unter zellmöglichen Bedingungen verlaufen, die erstere



¹⁾ Trabajos del IX Congreso Internacional de Química Pura y Aplicada 5, 4 [1934]; vergl. ferner C. Schöpf u. K. Thierfelder, Liebigs Ann. Chem. 518, 141 [1935].

sehr rasch²⁾; die zweite langsamer³⁾. Die als Zwischenprodukte angenommenen 4-Oxo-1.2.3.4-tetrahydro-chinoline (III) könnten weiter durch enzymatische Dehydrierung an der $-\text{NH}-\text{CH}$ -Bindung und anschließende spontane Enolisation in γ -Hydroxy-chinoline bzw. durch deren weitere Methylierung in die in der Natur vorkommenden, in α -Stellung durch den Rest R des verwandten Aldehyds substituierten γ -Methoxy-chinoline (IV) übergehen.

Die bei dieser Hypothese als Baustein angenommene *o*-Amino-benzoylessigsäure könnte intermediär in der Zelle auftreten, sie erscheint als „zellmögliche“ Verbindung. Ihre Vorstufe könnte das Tryptophan sein, von dem bekannt ist, daß es im tierischen Organismus zu dem von Z. Matsuoka und N. Yoshimatsu entdeckten⁴⁾, von Y. Kotake und Mitarb. eingehend untersuchten⁵⁾ und schließlich von A. Butenandt und Mitarbb. in seiner Konstitution aufgeklärten⁶⁾ Kynurenin (VII) abgebaut wird; man darf wohl annehmen, daß ein analoger Abbau auch in der Pflanzenzelle möglich ist. Denkt man sich nun in VII die Aminosäure-Gruppierung $-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}_2\text{H}$ zu $-\text{CO}_2\text{H}$ abgebaut in einer Reaktion, die offenbar auch vom Tryptophan (V) zum Heteroauxin (X) und vom Phenylalanin zur Phenylelessigsäure führt, so resultiert die *o*-Amino-benzoylessigsäure (I).

Ein solcher Abbau kann aber aus chemischen Gründen beim Kynurenin kaum über die Stufe der α -Ketosäure VIII verlaufen, da diese zweifellos spontan in einer auch unter zellmöglichen Bedingungen spielend leicht erfolgenden Aldehydammoniak-Bildung²⁾, die also nicht enzymatisch katalysiert zu werden braucht, in die innere Schiffische Base, die Kynurensäure (IX), übergeht⁷⁾. Man könnte nun zur Vermeidung dieser Schwierigkeit die weitere Annahme machen, daß der Abbau der Gruppe $-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}_2\text{H}$ zu $-\text{CO}_2\text{H}$ nicht über die Zwischenstufe der α -Ketosäure (VIII) erfolgt und daß deshalb keine Möglichkeit zum Ringschluß zur stabilen Kynurensäure besteht. Sehr überzeugend ist diese Zusatzhypothese aber nicht⁸⁾.

Auch der Weg einer Decarboxylierung des Kynurenins (VII) zu dem entsprechenden biogenen Amin, dem Kynuramin, und dessen Übergang in die Säure erscheint ausge-

²⁾ Ausschließliche Aldehydammoniak-Bildung liegt z. B. vor bei der außerordentlich rasch verlaufenden Umsetzung von Δ^1 -Piperidein mit *o*-Amino-benzaldehyd bei p_{H} 4.6 und 25°; C. Schöpf, A. Komzak, F. Braun u. E. Jacobi, Liebigs Ann. Chem. 559, 4, 16 [1948]; C. Schöpf, H. Arm u. F. Braun, Chem. Ber. 85, 943 [1952].

³⁾ Beispiele für die Umsetzung von Aldehydammoniak mit β -Ketosäuren unter zellmöglichen Bedingungen sind u. a. die Synthesen des Tropinons, des Pseudopelletierins und des Lobelanins (C. Schöpf u. G. Lehmann, Liebigs Ann. Chem. 518, 1 [1935]) sowie des Isopelletierins (C. Schöpf, Angew. Chem. 61, 31 [1949]).

⁴⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 143, 206 [1925].

⁵⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 195, 139 [1931], 214, 1 [1933], 243, 237 [1936].

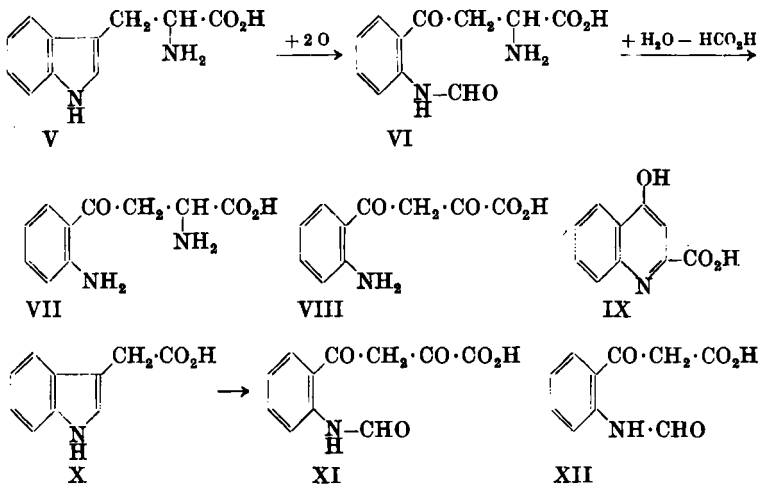
⁶⁾ Angew. Chem. 54, 89 [1941]; A. Butenandt, W. Weidel u. W. von Derjugin, Naturwissenschaften 30, 51 [1942]; A. Butenandt, W. Weidel, R. Weihert u. W. von Derjugin, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 279, 27 [1943].

⁷⁾ Vergleiche dazu die Synthese der Kynurensäure aus *o*-Nitrobenzoyl-brenztraubensäure von L. Musajo, A. Spada u. E. Bulgarelli, Gazz. chim. ital. 80, 161 [1950], zitiert nach C. 1950 II, 2667.

⁸⁾ Z. B. verläuft der Abbau der Gruppe $-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}_2\text{H}$ zu $-\text{CO}_2\text{H}$ in Aminosäuren mit Hilfe der im Gift der *Vipera aspis* vorkommenden Ophio-L-aminosäure-oxydase sicher über die α -Ketosäure, die dann erst durch das bei der Dehydrierung der Aminosäure entstehende Wasserstoffperoxyd weiter oxydiert wird; E. Zeller, Helv. chim. Acta 27, 1888 [1944].

geschlossen, da hierbei ein Aldehyd (VIII; H statt CO_2H) bzw. sein Imin als Zwischenprodukt auftreten müßten, die spielend leicht den Ringschluß zum Kynurin erleiden sollten⁹⁾.

Nun besteht aber keine Notwendigkeit anzunehmen, daß Tryptophan zunächst in Kynurenin (VII) umgewandelt und dieses erst zur *o*-Amino-benzoylessigsäure (I) abgebaut wird. Man kann vielmehr auch annehmen, daß Tryptophan zuerst in Heteroauxin (X) übergeht und dann dieses unter Verlust des α -Kohlenstoffatoms des Indolrings in derselben Weise zu I aufgespalten wird, wie Tryptophan in Kynurenin übergeht. Auf diese Weise ist die Bildung von I verständlich, ohne daß die Zwischenstufe VIII durchschritten wird, deren Neigung zum Ringschluß so groß sein muß, daß daneben andere Reaktionen nicht zum Zuge kommen.



Neben der Annahme, daß die hypothetische *o*-Amino-benzoylessigsäure aus Heteroauxin (X) hervorgeht, erscheint aber heute noch eine weitere Hypothese möglich, die die Verbindung vom Tryptophan ableitet, ohne daß die Stufe X durchschritten wird. Nach W. E. Knox und A. H. Mehler¹⁰⁾ verläuft nämlich der Abbau des Tryptophans zu Kynurenin in der Leber über die Stufe des *N'*-Formyl-kynurenins (VI)¹¹⁾. Nimmt man an, daß diese Zwischenstufe auch in der Pflanze auftritt und dort der Ausgangspunkt für die Bildung der *o*-Amino-benzoylessigsäure ist, so könnte in VI die Gruppe $-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CO}_2\text{H}$ zu $-\text{CO}_2\text{H}$ (XII) abgebaut und dabei die Stufe $-\text{CO}-\text{CO}_2\text{H}$ in XI durchschritten werden, ohne daß die in XI durch Formylierung geschützte Aminogruppe die Möglichkeit hat, sich an die Carbonylgruppe der

⁹⁾ Vergl. A. Butenandt, *Angew. Chem.* **65**, 519 [1953]; Kynurin wurde von A. Butenandt, P. Karlson u. W. Zillig, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **288**, 125 [1951], aus Seidenspinnerpuppen isoliert.

¹⁰⁾ *J. biol. Chemistry* **187**, 419 [1950]; A. H. Mehler u. W. E. Knox, *J. biol. Chemistry* **187**, 431 [1950], sowie ferner C. E. Dalglish, W. E. Knox u. A. Neuberger, *Nature [London]* **168**, 20 [1951].

¹¹⁾ Zum Chemismus dieses Übergangs vergl. A. Ek, H. Kissman, J. B. Patrick u. B. Witkop, *Experientia [Basel]* **8**, 36 [1952].

Seitenkette anzulagern. Eine enzymatische Verseifung¹⁰⁾ des Formylrestes in XII durch Formylase¹²⁾ würde dann die gesuchte *o*-Amino-benzoylessigsäure liefern.

Nach den vorstehenden Ableitungen erscheint nicht nur die *o*-Amino- sondern auch die *o*-Formamino-benzoylessigsäure (XII) als zellmögliche Verbindung. Wir haben die Verbindung gleichfalls dargestellt und möchten glauben, daß die beiden β -Ketosäuren auch als biologische Umwandlungsprodukte des Heteroauxins in Betracht zu ziehen sind.

Die präparative Darstellung der *o*-Formamino-benzoylessigsäure (XII) gelingt verhältnismäßig leicht durch Ozonisation des Heteroauxins bei -80° in Tetrahydrofuran unter Zusatz einer kleinen Menge Methanol, wobei 1 Mol. Ozon verbraucht wird, und hydrierende Spaltung der Lösung bei 0° , wobei die für die Spaltung des Ozonids berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen wird. Als Nebenreaktion beobachtet man eine geringfügige Kohlendioxydabspaltung, die unter den vorstehenden Bedingungen jedoch 7% d. Th. nicht übersteigt.

Änderungen dieser Ozonisationsmethode, wie Änderung oder Weglassen des Methanol-Zusatzes oder Arbeiten in Essigester, aus dem bei -60° ein Ozonid fest ausfällt, oder auch Ozonisation in Formamid, führten nur zu einer Verschlechterung der Ausbeute und der Reinheit des Präparates. Die Zersetzung der Ozonisationslösung in Tetrahydrofuran mit Wasser und die Aufarbeitung durch Eindampfen i. Vak. lieferte unter Ringschluß und Abspaltung der Formylgruppe das 2,4-Dihydroxy-chinolin, das, wie F. Arndt, L. Erger und O. Kutlu gezeigt haben, in festem Zustand als 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII) vorliegt¹³⁾.

Die Aufspaltung von Indol-Derivaten mit Ozon zu *o*-Acylaminophenyl-ketonen ist schon an vielen Beispielen durchgeführt worden¹⁴⁾, und A. H. Mehler und W. E. Knox¹⁰⁾ haben so Tryptophan in *N'*-Formyl-kynurenin übergeführt. Unsere Versuche unterscheiden sich von denen der genannten Autoren nur dadurch, daß das Endprodukt durch besondere Labilität ausgezeichnet ist.

Als β -Ketosäure geht XII beim Erhitzen über den Schmelzpunkt unter Kohlendioxydabspaltung quantitativ in *o*-Formamino-acetophenon über. Mit Eisen(III)-chlorid gibt sie in Alkohol eine tief braunrote Färbung.

Beim Ansäuern ihrer Lösung in Natriumhydrogencarbonat mit $2n$ HCl scheidet sich nach kurzer Zeit das in Wasser sehr schwer lösliche, bei 355° schmelzende 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII) ab, das sich unter Abspaltung des Formylrestes und Ringschluß bildet. Da die Fällung quantitativ ist, läßt sich die *o*-Formamino-benzoylessigsäure so in wäßriger Lösung bestimmen.

Beim Aufbewahren der Säure in wäßrigen Pufferlösungen bei 25° tritt, wie zu erwarten, gleichfalls allmählich schon Decarboxylierung ein. In $3\frac{1}{2}$ Tagen wurden bei 25° bei p_H 5 und p_H 7 92 bzw. 88% d. Th. Kohlendioxyd abgespalten; das dabei gebildete *o*-Formamino-acetophenon wurde präparativ isoliert. Bei p_H 9 haben unter analogen Bedingungen erst knapp 70% der Säure Kohlendioxyd abgespalten; jedoch wird unter diesen Bedingungen der Formylrest schon abgespalten, so daß im wesentlichen *o*-Amino-acetophenon (XIV) neben sehr wenig *o*-Formamino-acetophenon erhalten wurde.

¹²⁾ = Kynurenin-formamidase; vergl. W. B. Jakoby, J. biol. Chemistry 207, 657 [1954].

¹³⁾ Chem. Ber. 86, 951 [1953].

¹⁴⁾ B. Witkop, Liebigs Ann. Chem. 556, 103 [1944], dort frühere Literatur; D. W. Ockenden u. K. Schofield, J. chem. Soc. [London] 1953, 612.

Die *o*-Amino-benzoylessigsäure (I) ließe sich vielleicht durch Verseifung ihrer Formylverbindung durch Stehenlassen mit Alkali bei Zimmertemperatur darstellen. Wir haben diesen Weg nicht versucht, sondern sie durch katalytische Hydrierung der bekannten *o*-Nitro-benzoylessigsäure gewonnen, für deren Darstellung im Versuchsteil einige Verbesserungen angegeben sind. Bei der Durchführung der Hydrierung muß beachtet werden, daß die *o*-Amino-benzoylessigsäure viel rascher als die *o*-Formamino-benzoylessigsäure schon in schwach saurer Lösung in 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII) übergeht. Man kann daher nicht die freie Säure, sondern nur ihre Salze isolieren, oder man muß sich damit begnügen, sie nur in wäßrig-alkalischer, bestenfalls neutraler Lösung herzustellen.

Die Leichtigkeit des Ringschlusses trägt die Schuld daran, daß bei früheren Versuchen, bei denen die Säure oder ihre Ester hätten entstehen können, statt dessen immer XIII erhalten wurde.

So entsteht diese Verbindung aus *o*-Amino-phenylpropionsäure beim Erwärmen mit konz. Schwefelsäure und Eingießen in Wasser¹⁵). Die Versuchsbedingungen waren die, unter denen aus Phenylpropionsäure Benzoylessigsäure entsteht. Bei der Claisen-Kondensation von Anthranilsäureester mit Essigester wird gleichfalls beim Aufarbeiten unter Ringschluß XIII erhalten¹⁶) und ebenso, wenn *o*-Nitro-benzoylessigsäure mit Eisen(II)-sulfat und Ammoniak reduziert und die Lösung anschließend angesäuert wird¹⁷).

Zur präparativen Darstellung des Monokaliumsalzes der *o*-Amino-benzoylessigsäure haben wir *o*-Nitro-benzoylessigsäure in Methanol mit der Hälfte der berechneten Menge Kaliumhydroxyd versetzt und diese Lösung mit Platinoxid unter Wasserstoff geschüttelt, wobei rasch die berechnete Menge Wasserstoff aufgenommen wurde.

Hydrierung bei Gegenwart der äquivalenten Menge Kaliumhydroxyd verschlechtert die Ausbeute und das schließlich ausgefällte Salz ist mit anorganischen Salzen verunreinigt. Die Ursache dafür dürfte darin liegen, daß während der Hydrierung immer in merklichem Umfang auch eine Decarboxylierung eintritt; bei Gegenwart der äquivalenten Menge Alkali kann das abgespaltene Kohlendioxid nicht entweichen, sondern wird in Form von Natriumhydrogencarbonat mit ausgefällt.

Daß das von uns gewonnene Kaliumsalz frei von 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII) ist, läßt sich auf zweierlei Weise zeigen: Einmal gibt es beim Stehenlassen mit konz. Ammoniak an der Luft nicht die für diese Verbindung charakteristische Blaufärbung. Dann erhält man beim Diazotieren durch Eingießen einer alkalischen Lösung eines Gemisches aus dem Kaliumsalz und Natriumnitrit in verd. Salzsäure eine klare, mit β -Naphthol kuppelnde Diazoniumsalz-Lösung, aus der sich die unter diesen Bedingungen aus XIII quantitativ entstehende, in Wasser praktisch unlösliche 3-Nitroso-Verbindung¹⁸) auch nicht spurenweise abscheidet.

Beim Ansäuern einer wäßrigen Lösung des Kaliumsalzes scheidet sich bei p_H 4 augenblicklich, bei p_H 5 sehr rasch 4-Hydroxy-chinolon-2 (XIII) ab. Säuert man nur auf p_H 6 an, so erfolgt die Abscheidung wesentlich langsamer.

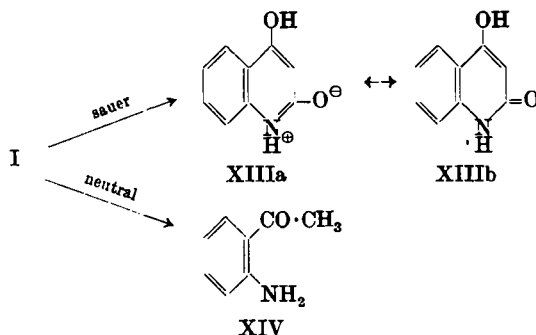
¹⁵) A. Baeyer u. F. Bloehm, Ber. dtsh. chem. Ges. 15, 2147 [1882].

¹⁶) H. Erdmann, Ber. dtsh. chem. Ges. 32, 3570 [1899].

¹⁷) C. J. Overmyer, J. Amer. chem. Soc. 48, 454 [1926].

¹⁸) A. Baeyer u. B. Homolka, Ber. dtsh. chem. Ges. 16, 2216 [1883].

Bei p_H 7 ist auch nach 3 Wochen noch keine Abscheidung zu bemerken. Die p_H -Abhängigkeit des Ringschlusses dürfte darauf beruhen, daß die Aminogruppe der *o*-Amino-benzoylessigsäure sich nicht an das mesomere, keine „echte“ C=O-Doppelbindung enthaltende $-\text{CO}_2^-$ -Ion anlagern kann, wohl aber aldehydammoniakartig mit der C=O-Doppelbindung der undissoziierten Carboxylgruppe reagiert.



Kocht man die wäßrige Lösung des Kaliumsalzes, so wird unter Decarboxylierung XIV gebildet.

Für die präparativen Umsetzungen mit Aldehyden, die neben anderen Reaktionsprodukten die gesuchten in 2-Stellung substituierten 4-Oxo-1.2.3.4-tetrahydro-chinoline ergaben, die in einer späteren Arbeit beschrieben werden sollen, genügt es, durch Hydrieren von *o*-Nitro-benzoylessigsäure in wäßriger Suspension unter allmählichem Zutropfen der berechneten Menge Natronlauge sich eine wäßrige Lösung von p_H 8–9 herzustellen, aus der neutrale Verunreinigungen durch Ausäthern entfernt werden, und in der der Gehalt an *o*-Amino-benzoylessigsäure durch Ansäuern und Wägen des abgeschiedenen 4-Hydroxy-chinolons-(2) bestimmt wird. Die Ausbeute an I beträgt, da auch unter diesen Bedingungen teilweise Decarboxylierung eintritt, etwa 75 % d. Theorie.

Der Badischen Anilin- & Soda-Fabrik AG., Ludwigshafen, sowie der Research Corporation, New York, danken wir für die Unterstützung der vorstehenden Arbeit.

Beschreibung der Versuche

o-Formamino-benzoylessigsäure (XII) (Sch.; W.): 1.75 g (10 mMol) Heteroauxin (X) vom Schmp. 163–165°, dargestellt nach J. Thesing und F. Schülde¹⁹), wurden in 29 ccm reinem peroxydfreiem Tetrahydrofuran gelöst, 1 ccm wasserfreies Methanol zugeben und durch die auf -78° gekühlte Lösung ein Sauerstoffstrom mit 500 ccm/Min. geleitet, der 2.7 Vol.-% Ozon enthielt. Nach 18 Min., d. h. nach dem Einleiten von 0.01 Mol Ozon, trat in einer hinter das Ozonisationsgefäß geschalteten, mit Kaliumjodid-Stärke-Lösung beschickten Waschflasche eine schwache Blaufärbung auf. Daraufhin wurde die klare, schwach gelbe Lösung nach dem Anwärmen auf 0° mit einem

¹⁹) Chem. Ber. 85, 324 [1952]. Eine vereinfachte Darstellungsmethode aus Methylphenyl-skatyl-amin ist neuerdings von J. Thesing, S. Klüssendorf, P. Ballach u. H. Mayer, Chem. Ber. 88, 1295 [1955], angegeben worden.

Palladiumkatalysator²⁰) bei Atmosphärendruck in einer mit einer Kühlspirale versehenen Schüttelbirne bei 0–3° unter Wasserstoff geschüttelt, von dem die theoret. Menge in längstens 20, meist aber schon in 10 Min. aufgenommen wurde²¹). Dann wurde die gelbliche Lösung vom Katalysator abfiltriert und das Lösungsmittel bei Raumtemp. i. Vak. abgedampft. Der kristalline Rückstand (2.05 g) wurde durch Anreiben mit 5 ccm reinem Essigester von wenig gelblicher Schmiere befreit. Nach dem Abfiltrieren und Trocknen wurden 1.52 g (73.5% d.Th.) *o*-Formamino-benzoylessigsäure vom Rohschmp. 114–116° (Zers.) erhalten und daraus durch zweimaliges rasches Umkristallisieren aus siedendem Methanol 0.83 g (40% d.Th.) reine Säure vom konstanten Schmp. 136 bis 137° (Zers.).

C₁₀H₉O₄N (207.2) Ber. C 57.98 H 4.38 N 6.76 Gef. C 57.86 H 4.64 N 6.78

Beim Arbeiten in Essigester (60 ccm) fällt bei –60° ein farbloses Ozonid kristallisiert aus. Die Zersetzung dieser Suspension mit wasserhaltigem Essigester sowie die Ozonisation in Methanol bei 0° ist dem vorstehenden Verfahren in Bezug auf Ausbeute und Reinheit des Rohprodukts aber weit unterlegen.

In einem weiteren Versuch wurde die Kohlendioxyd-Abspaltung bei der vorstehend geschilderten Hydrierung durch Durchspülen der Hydrierbirne mit Wasserstoff nach beendeter Hydrierung und Auffangen in Barytwasser bestimmt; sie betrug nur 6.7% d.Th.

Die Säure XII gibt in Alkohol mit Eisen(III)-chlorid eine tief rotbraune Färbung. Sie ist in Wasser, Eisessig, Essigester, Äther, Benzol, Cyclohexan, Chloroform und Methylchlorid verhältnismäßig schwer, in Tetrahydrofuran und Dioxan dagegen leicht löslich.

Zur Überführung in 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII) wurde die Lösung von 0.207 g (1 mMol) XII vom Schmp. 135–136° in 20 ccm 2*n* NaHCO₃ mit 2*n* HCl angesäuert. Es schied sich nach kurzer Zeit farblose Kristallflocken ab, die nach 15 Stdn. abfiltriert wurden. Nach dem Trocknen wurden 0.160 g (99.4% d.Th.) XIII erhalten, das bei 350° leicht sinterte und bei 355° unter Zersetzung schmolz (Lit. 355°, Zers.)²²). Die farblose Lösung in konz. Ammoniak gibt an der Luft die für die Verbindung charakteristische Blaufärbung.

Zur Überführung in *o*-Formamino-acetophenon wurden 0.224 g XII vom Schmp. 135–136° unter Überleiten von kohlendioxydfreiem Stickstoff 1 Stde. im Ölbad auf 150° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Apparatur noch einige Zeit mit Stickstoff gespült; in dem vorgelegten Barytwasser wurde durch Titration mit 0.1*n* HCl ein Verbrauch an Ba(OH)₂ festgestellt, der einer 99-proz. Decarboxylierung der Säure entsprach. Der Rückstand im Kölbchen bestand aus 0.174 g (99% d.Th.) krist. *o*-Formamino-acetophenon vom Rohschmp. 76–77° (Lit. 79°), das mit einem auf anderem Wege²³) dargestellten Vergleichspräparat vom Schmp. 79° keine Schmelzpunktserniedrigung zeigte. Durch Umkristallisieren aus Isopropylalkohol steigt der Schmp. des Rohprodukts auf 78°.

Die Decarboxylierung der *o*-Formamino-benzoylessigsäure erfolgt, wie zu erwarten, auch schon bei 25° in wäßrigen Pufferlösungen vom p_H 5–9, wobei in letzterem Falle auch schon eine teilweise Verseifung des Formylrestes beobachtet wurde.

Die Lösung von je 0.25 g XII vom Schmp. 130° in 10 ccm wäßriger, gesätt. Natriumhydrogencarbonat-Lösung wurde in jeweils 50 ccm Acetatpuffer vom p_H 5 bzw. Phos-

²⁰) 0.1 g nach C. Weygand, Organ. Chem. Experimentierkunst (J. A. Barth, Leipzig 1948), S. 158, dargestelltes Pd(OH)₂ auf Bariumsulfat nach C. Paal wurden in 10 ccm absol. Tetrahydrofuran vorhydriert.

²¹) Mit Palladium auf Calciumcarbonat als Katalysator erfolgte die Wasserstoffaufnahme wesentlich langsamer.

²²) Die in Wasser und in allen neutralen organischen Lösungsmitteln – Pyridin löst leicht unter Salzbildung – extrem schwer lösliche Verbindung läßt sich aus alkohol. oder 16-proz. wäßriger Salzsäure oder auch durch Lösen in heißem Dioxan und Zusatz von Wasser bis zur Trübung umkristallisieren. In Wasser von Zimmertemperatur ist sie nur zu 0.02% löslich. Erst von p_H 8.5 ab tritt glatte Lösung in Wasser ein.

²³) Nach R. Camps, Ber. dtsh. chem. Ges. 84, 2708 [1901].

phatpuffer vom p_H 7 und 9 gegeben und die Mischungen, deren p_H mit Lyphanpapier kontrolliert wurde, bei 25° im Thermostaten 3½ Tage aufbewahrt. Dann wurde mit 2n NaOH jeweils auf p_H 10 gebracht und sofort anschließend fünfmal mit je 50 ccm peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt.

Die wäßrigen Lösungen wurden zur Bestimmung der unveränderten Ausgangssäure mit 2n HCl auf p_H 1 gebracht und die dabei abgeschiedenen Kristalle von 4-Hydroxychinolon-(2) (XIII) nach 1 Tag abgesaugt. Es wurden so bei dem Versuch bei p_H 5 8, bei p_H 7 10 und bei p_H 9 31% d.Th. an XIII vom Schmp. 350–354° (Zers.) erhalten.

Die mit wenig Wasser gewaschenen Ätherlösungen wurden nach dem Trocknen mit Natriumsulfat eingedampft. Der Rückstand bestand beim Versuch bei p_H 5 aus 0.18 g (92% d.Th.) und bei p_H 7 aus 0.17 g (88% d.Th.) *o*-Formamino-acetophenon, das bei 76° bzw. 72–75° schmolz (Mischprobe mit Kontrollpräparat). Bei dem Versuch bei p_H 9 war der Ätherrückstand nicht kristallisiert. Die Papierchromatographie des in einer Ausbeute von 0.115 g erhaltenen Öls (5½ Stdn. aufsteigend an Whatman 4 mit Cyclohexan, das mit Methanol gesättigt war) ergab 2 Flecken, die im Licht der Quarzlampe deutlich zu sehen waren. Die eine Substanz von R_F 0.43 fluorescierte stark hellblau und war, wie ein Vergleichschromatogramm zeigte, *o*-Amino-acetophenon. Die zweite Substanz, R_F 0.31, zeigte eine schwach orangefarbene Fluorescenz und war nach dem Vergleichschromatogramm *o*-Formamino-acetophenon. Nach der Größe der Flecke überweg die erstere Verbindung weit.

o-Nitro-benzoylessigsäure: Für die Darstellung aus *o*-Nitro-benzoesäure und Acetessigester wurden die Angaben der Literatur in einigen Punkten abgeändert.

Zur Überführung in ihr Säurechlorid versetzte man reine *o*-Nitro-benzoesäure²⁴⁾ bei 45–50° allmählich tropfenweise mit frisch über Leinöl destilliertem Thionylchlorid. Dann wurde auf 80° bis zum Aufhören der Gasentwicklung erwärmt und der nach dem Abdestillieren des überschüss. Thionylchlorids verbliebene Rückstand als Rohprodukt sofort anschließend mit Acetessigester umgesetzt. Muß man das Säurechlorid einige Zeit aufbewahren, so ist es zweckmäßig, es vor der Verwendung frisch zu destillieren; Sdp._{1.0} 112°.

Die Umsetzung mit Acetessigester wurde im Gegensatz zu den Angaben der Literatur nicht in alkoholischer Lösung bei Gegenwart von Natriumalkoholat, sondern in wäßrig-alkalischer Lösung durchgeführt, analog wie S. N. Chitrik²⁵⁾ aus Benzoylchlorid und Acetessigester in wäßrig-alkalischer Lösung Benzoylacetessigester dargestellt hat. Zu diesem Zweck ließ man zu 62 ccm auf 8° gekühlte 14-proz. Kalilauge (entspr. 0.175 Mol KOH) unter gutem Rühren 18.5 g (0.14 Mol) Acetessigester zutropfen, wobei man dafür sorgte, daß die Temperatur nicht über 12–15° stieg. Man kühlte wieder auf 5–7°, setzte als Lösungsvermittler 10 ccm Dioxan²⁶⁾ zu und ließ bei dieser Temperatur innerhalb von 1 Stde. unter lebhaftem Rühren 20 g (0.09 Mol) *o*-Nitro-benzoylchlorid und gleichzeitig 11.5 ccm 40-proz. Kalilauge (entspr. 0.115 Mol KOH) zutropfen. Die zunächst trübe, gelb bis orange-gelb gefärbte Suspension klärte sich gegen Ende des Zutropfens. Man rührte dann noch 15 Min. weiter und schüttelte die alkalische Lösung zweimal mit je 30 ccm Äther aus. Die wäßr. Schicht wurde mit Eis versetzt und mit 2n H₂SO₄ angesäuert, wobei sich der *o*-Nitrobenzoyl-acetessigester als orangegelbes Öl abschied, das sofort in Äther aufgenommen wurde.

Zur Überführung in *o*-Nitro-benzoylessigsäure²⁷⁾ wurden 61 g des rohen, durch Abdampfen des Äthers gewonnenen *o*-Nitrobenzoyl-acetessigesters²⁸⁾ unter Rühren

²⁴⁾ Dargestellt aus *o*-Nitro-toluol nach der Vorschrift in C. F. Boord, W. R. Brode und R. G. Bossert, Laboratory Outlines and Notebook for organic chemistry (J. Wiley & Sons, Inc., New York; 2. Aufl. 1949), S. 241. Zur Darstellung des Säurechlorids durch Eintragen der Säure in Thionylchlorid vergl. K. v. Auwers u. M. Düesberg, Ber. dtsh. chem. Ges. 53, 1207 [1920].

²⁵⁾ J. Chim. gén. (russ.) 10, 2095 [1940], zitiert nach C. 1941 II, 2082.

²⁶⁾ Gereinigt nach E. Eigenberger, J. prakt. Chem. [2] 130, 75 [1931].

²⁷⁾ Analog dem Verfahren von C. J. Overmyer, J. Amer. chem. Soc. 48, 459 [1926].

²⁸⁾ Sollte aus dem Präparat *o*-Nitro-benzoesäure auskristallisieren, so wird diese vorher durch Absaugen entfernt.

in 310 g 85-proz. Schwefelsäure eingetragen, wobei man darauf achtete, daß die Temperatur keinesfalls 25° überstieg. Die dunkelrotbraune Lösung wurde 3–4 Tage im Thermostaten bei 25° aufbewahrt, wobei sie noch dunkler wurde, und dann unter Rühren auf 620 g zerstobenes Eis gegossen, wobei sich die durch Verseifen der Estergruppe und Abspaltung des Acetylrests entstandene *o*-Nitro-benzoylessigsäure körnig-kristallin ausschied (41.5 g = 89% d.Th.). Sie schmilzt nach dem Abpressen auf Ton bei 97–102° (Zers.).

Zur Reindarstellung wurden 10 g des Rohprodukts in 200 ccm auf 75–80° vorgewärmt Benzol rasch gelöst, die Lösung filtriert und sofort wieder gekühlt. Man erhielt so die *o*-Nitro-benzoylessigsäure in Nadeln vom konstanten Schmp. 118–119° (Zers.). Man kann die Säure auch durch Anreiben mit wenig Äther und Absaugen reinigen; auch dabei betragen die Verluste 40–50%.

o-Nitro-benzoylessigsäure ist in Wasser von Zimmertemperatur zu etwa 0.3% löslich. Sie ist ziemlich zersetzlich; schüttelt man z. B. 1 g der Säure in 45 ccm 1*n* HCl, so kann nach 12 Stdn. nur noch *o*-Nitro-acetophenon nachgewiesen werden.

Kaliumsalz der *o*-Amino-benzoylessigsäure (I) (Ko.; Koe.): Die Lösung von 2.1 g (10 mMol) *o*-Nitro-benzoylessigsäure in 20 ccm Methanol wurde mit 5 ccm 1*n* methanol. Kalilauge (5 mMol) versetzt, zur vorhydrierten Suspension von 0.2 g Platinoxid in 10 ccm Methanol gegeben und bei 20° und Atmosphärendruck mit Wasserstoff geschüttelt; nach 20–30 Min. war die theoret. Menge aufgenommen. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde i. Vak. auf etwa 15 ccm eingeeengt, nochmals filtriert und das Monokaliumsalz von I durch Zugabe von 200–250 ccm Aceton unter gutem Rühren in Form von gelblichen hygroskopischen Prismen ausgefällt; Ausb. 0.780 g (72% d.Th.) vom Schmp. 207° (Zers.; leichtes Sintern bei 133–134°). Die Substanz zeigte bei Zimmertemperatur i. Hochvak. keine Abnahme.

C₉H₈O₃NK (217.3) Ber. C 49.74 H 3.71 N 6.45 K 17.99

Gef. C 50.21 H 3.87 N 6.79 K 17.65

Durch Ausfällen des Salzes mit trockenem Äther kann die Ausbeute auf 91% der theoret. möglichen Menge gesteigert werden, doch erhält man das Salz dann oft ölig. Es löst sich leicht in Wasser und Alkohol und ist hygroskopisch. Die Lösung in konz. Ammoniak färbt sich an der Luft auch nach mehrtägigem Stehenlassen nicht blau; das Präparat enthält demnach kein 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII).

Ein weiterer Beweis für die Abwesenheit von XIII ist durch Diazotierung zu erbringen. Zu diesem Zweck ließ man die Lösung von 100 mg des Kaliumsalzes mit 45 mg Natriumnitrit in 1 ccm 2*n* NaOH und 9 ccm Wasser unter Eiskühlung in 5 ccm 2*n* HCl einfließen. Aus der klaren, orangefarbenen Diazoniumsalz-Lösung fiel auch nach 3-stdg. Stehenlassen in Eis und Reiben mit dem Glasstab weder XIII noch sein 3-Nitroso-Derivat aus.

Mischt man bei diesem Versuch dem Kaliumsalz etwas XIII zu, so fällt aus der Lösung das 3-Nitroso-4-hydroxy-chinolon-(2) in 98-proz. Rohausbeute aus. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol schmilzt die Verbindung bei 208° (Lit.¹⁸) 208°).

Beim Eingießen der Diazoniumsalz-Lösung in alkalische β -Naphthol-Lösung tritt eine schmutzig-schwarzbraune Verfärbung, aber kein nennenswerter Niederschlag auf. Säuert man mit 2*n* HCl an, so schlägt die Farbe in Rot um, und ein amorpher Niederschlag scheidet sich ab, der nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Das als rötlich-braunes Pulver isolierte Rohprodukt schmolz unscharf bei 88° (Sintern ab 78°).

Zur Überführung des Kaliumsalzes von I in XIII wurde die Lösung von 114.9 mg Kaliumsalz in 7 ccm Wasser mit 5 ccm 2*n* HCl versetzt. Die Abscheidung des 4-Hydroxy-chinolons-(2) setzte nach kurzer Zeit ein. Es wurde nach 12 Stdn. abfiltriert; Ausb. 82.8 mg (97% d.Th.).

Zur Überführung in *o*-Amino-acetophenon (XIV) wurde die Lösung von 0.189 g (0.87 mMol) Kaliumsalz in 7.5 ccm Wasser, die p_H 7.7 zeigte, 2 Stdn. unter langsamem Durchleiten von CO₂-freiem Stickstoff zum Sieden erhitzt. Der Verbrauch von 8.5 ccm vorgelegter 0.1 *n* Ba(OH)₂ entsprach einer CO₂-Abspaltung von 48.7% d.Theorie. Nach dem Ansäuern mit 2*n* H₂SO₄ (zur Zerlegung des aus dem primär abgespaltenen Natriumhydrogencarbonat entstandenen Natriumcarbonats) wurde die Lösung wieder 2 Stdn.

unter Durchleiten von Stickstoff erhitzt, wobei noch 8.25 ccm 0.1 n Ba(OH)₂ verbraucht wurden, was weiteren 47.4% CO₂ entspricht, so daß insgesamt 96% d. Th. an Kohlendioxyd gefunden wurden. Die saure Lösung wurde mit 2 n NaOH alkalisch gemacht und dreimal mit je 20 ccm Äther ausgezogen. Im getrockneten Ätherauszug wurde zunächst mit äther. Salzsäure das Hydrochlorid von XIII gefällt²⁹), der Äther i. Vak. abgedampft, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und aus der wäßr. Lösung das Pikrat gefällt. Es wurden 0.217 g Pikrat von XIII vom Rohschmp. 127° (68.5% d. Th.) isoliert. Beim Umkristallisieren aus Wasser änderte sich der Schmelzpunkt nicht mehr.

C₉H₉ON · C₆H₅O₇N₃ (364.3) Ber. C 46.15 H 3.32 N 15.38

Gef. C 45.56 H 3.36 N 15.41

Darstellung einer Lösung des Natriumsalzes der *o*-Amino-benzoylessigsäure (Ko.): 5.22 g (25 mmol) *o*-Nitro-benzoylessigsäure vom Schmp. 117 bis 120° (Zers.), die durch Verreiben mit wenig Äther und Absaugen gereinigt worden war, wurden in 30 ccm 0.1 n NaOH eingetragen und zu der Suspension 0.5 g 10-proz. Pd-Katalysator zugegeben. Dann wurde unter ständigem Zutropfen von weiteren 200 ccm 0.1 n NaOH bei 20° mit Wasserstoff bei Atmosphärendruck geschüttelt. Die Zutropfgeschwindigkeit der Natronlauge betrug ca. 100 ccm/Stde. (läßt man die Natronlauge zu rasch zutropfen, oder setzt von vornherein die ganze Natronlauge zu, so färbt sich die Lösung stark braun und man erhält nach der Hydrierung einen dunkelblauen Farbstoff, vermutlich Indigo, als Verunreinigung). Nach ca. 3 stdg. Schütteln und einer Aufnahme von 1690 ccm H₂ (korr.; ber. 1680 ccm) war Sättigung eingetreten. Der Katalysator wurde abfiltriert und das gelbe Filtrat, das p_H 8–9 zeigte, nach Zugabe von weiteren 10 ccm 2 n NaOH zur Abtrennung von neutralen Verunreinigungen erschöpfend ausgeäthert. Die so gewonnene alkalische Lösung, aus der der gelöste Äther i. Vak. bei Zimmertemperatur abgesaugt werden kann, enthält 75% d. Th. *o*-Amino-benzoylessigsäure (I). Zusatz von Barytwasser fällt kein schwer lösliches Bariumsalz.

Zur Bestimmung der Ausbeute wurden 25 ccm der Lösung mit 2 ccm 2 n HCl angesäuert und das ausgefallene 4-Hydroxy-chinolon-(2) (XIII) nach einiger Zeit abgesaugt, getrocknet und gewogen. Der Beweis, daß in der alkalischen Hydrierungslösung selbst noch kein XIII vorliegt, ist dadurch erbracht, daß beim Versetzen dieser Lösung mit konz. Ammoniak auch nach 4 Tagen die für XIII charakteristische Blaufärbung auch nicht spurenweise zu beobachten ist. Auch dann, wenn man die alkalische Lösung vorsichtig unter Rühren mit Salzsäure auf p_H 7 abstumpft, ist in der neutralen Lösung XIII nicht nachzuweisen.

Säuert man dagegen stärker an, so zeigt sich, daß bei p_H 5 und darunter die Chinolon-Bildung praktisch augenblicklich erfolgt. Beim Ansäuern auf p_H 6 bemerkt man aber schon eine deutliche Verlangsamung der Ausfällung, und bei p_H 6.6 bis 6.8 war XIII erst nach etwa 3 Wochen quantitativ ausgefallen. Bei p_H 7 bleibt die Lösung nach dieser Zeit noch völlig klar.

Die katalyt. Hydrierung von *o*-Nitro-benzoylessigsäure in Alkohol bei 0° führte zu XIII, das ebenfalls als wesentliches Reaktionsprodukt erhalten wurde, als in wasserfreier Ameisensäure bei 5–7° oder in dem formylierend wirkenden Gemisch von Ameisensäure und Acetanhydrid bei 2–3° hydriert wurde.

²⁹) Dabei fällt das Hydrochlorid nicht rein an. Das Rohprodukt dürfte mit dem nach R. Camps (Arch. Pharmaz. 237, 668 [1899], Ber. dtsch. chem. Ges. 32, 3231 [1899]) aus 2 Moll. *o*-Amino-acetophenon in einer Friedländerschen Chinolinsynthese leicht entstehenden 4-Methyl-2-[*o*-amino-phenyl]-chinolin („*o*-Flavanilin“) verunreinigt sein.