

Richard Kuhn† und Klaus Geider¹⁾

Ultraviolett- und fluoreszenz-spektroskopische Untersuchungen zur Ermittlung der Aminocarbonsäure- und Zwitterion-Struktur bei solvatisierten 2-Amino-benzoesäuren

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg
(Eingegangen am 8. April 1968)

An Hand der UV-Spektren wurden die Anteile an fluoreszierender Aminocarbonsäure-Form und nicht-fluoreszierender Zwitterion-Form in Lösungen einiger Anthranilsäure- und 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure-Derivate ermittelt. Für Damasceninsäure (7) in Benzol wurde ein Zwitterionengehalt von ca. 70% gefunden, für 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure (8) in Benzol ca. 55% und für 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure (6) in Wasser ca. 40%. Aus der Temperaturabhängigkeit der Tautomeren-Gleichgewichte ergaben sich Enthalpiebeträge von -1.8 bis -3.5 kcal/Mol für den Protonenübergang von der Carboxyl- zur Aminogruppe.

Aromatische Aminosäuren liegen solvatisiert im Gleichgewicht verschieden protonierter Formen vor. Bjerrum²⁾ erkannte die aliphatischen Aminosäuren in wäßriger Lösung als Zwitterionen. Den Zwitterion-Anteil der aromatischen Aminosäuren konnte er nur abschätzen. Kuhn und Brydówna³⁾ versuchten, aus der Methylierbarkeit der Aminogruppen Aussagen über den Zwitterion-Anteil zu gewinnen. Die Hammett-Gleichung führte bei neueren Arbeiten zur Berechnung des Tautomerie-Gleichgewichtes^{4,5)}. Aus der Lage der langwelligen Absorptionsbande (Nebenbande, Sekundärbande) lassen sich meist nur qualitative Aussagen über den Aminocarbonsäure- bzw. Zwitterion-Zustand machen⁶⁾, da die starke Bande der Aminocarbonsäure oft die Bande des Zwitterions mit schwacher Extinktion überdeckt. Geringe Anteile der Aminocarbonsäure-Form kann man durch Fluoreszenzmessung bestimmen, da das fluoreszenzunfähige Zwitterion nicht stört.

Die Ammoniumgruppe des Zwitterions verändert das π -Elektronen-System des Benzolkerns kaum, während es durch eine Aminogruppe verlängert wird. Durch Einführung einer Methoxygruppe in 3-Stellung konnten wir 2-Amino-benzoesäure-Derivate erhalten, bei denen das Gleichgewicht tautomerer Formen im UV meßbar war,

1) Auszug aus der Dissertat. K. Geider, Univ. Heidelberg 1967.

2) M. Bjerrum, Z. physik. Chem. **104**, 147 (1923).

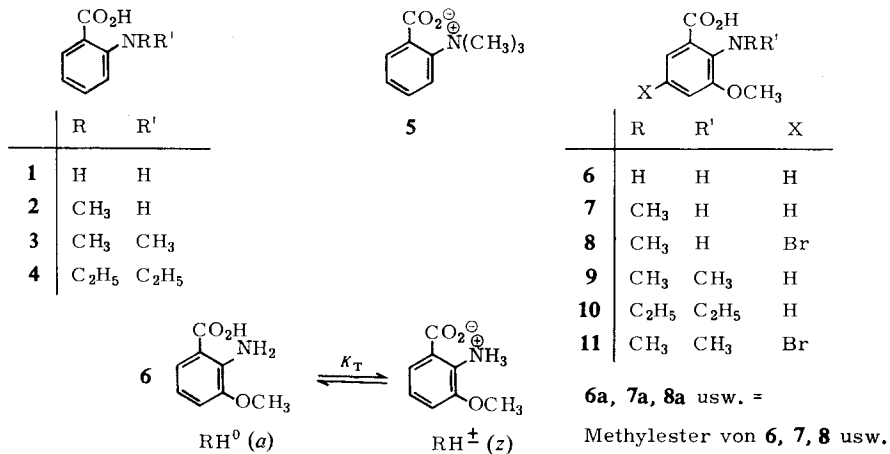
3) ^{3a)} R. Kuhn, I. Hausser und W. Brydówna, Forsch. u. Fortschr. **12**, 325 (1936); ^{3b)} R. Kuhn und W. Brydówna, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1333 (1937).

4) P. Leggate und G. E. Dunn, Canad. J. Chem. **43**, 1158 (1965).

5) A. V. Willi und W. Meier, Helv. chim. Acta **39**, 318 (1956).

6) H. Hünecke, Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 1451 (1927).

wie für Damasceninsäure (2-Methylamino-3-methoxy-benzoessäure) (7) in Benzol, 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoessäure (8) in Benzol und 2-Amino-3-methoxy-benzoessäure (6) in Wasser.



Tab. 1. UV-Absorption und Fluoreszenz von 2-Amino-benzoessäuren

| Verbindung | λ _{max} | | | | | UV-Absorption | | | | |
|---|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|---------------|------|------|-----------------|------|
| | a | b | c | d | e | a | b | c | d | e |
| 1 Anthranilsäure | 322 | 310 | 330 ^{g)} | 340 | 340 | 3.29 | 3.46 | 1.95 | 3.71 | 3.70 |
| | 277 | | 272 | | | 2.63 | | 3.00 | | |
| | 268 | | 263 | | | 2.60 | | 2.97 | | |
| 2 N-Methyl-anthranilsäure | 342 | 325 | 340 ^{g)} | 360 | 355 | 3.10 | 3.50 | 1.70 | 3.59 | 3.75 |
| | 277 | | 272 | | | 2.66 | | 3.04 | | |
| | | | 263 | | | | | 3.00 | | |
| 3 N,N-Dimethyl-anthranilsäure | 277 | 305 ^s | 272 | 282 | 335 | 2.80 | 3.11 | 3.00 | 2.94 | 2.65 |
| | 270 | 260 | | | 272 | 2.87 | 3.67 | | | 3.27 |
| | 265 ^s | | | | | 2.80 | | | | |
| 4 N,N-Diäthyl-anthranilsäure | 277 | 300 ^s | 272 | 282 | 280 ^s | 2.79 | 2.95 | 2.98 | 2.90 | 2.89 |
| | 270 | 266 | | | 275 | 2.87 | 3.50 | | | 2.93 |
| | 265 | | | | | 2.75 | | | | |
| 5 2-Benzbetain (2-Trimethyl-ammonio-benzoat) | 268 | 267 | 262 | — ^{h)} | 268 | 2.80 | 2.84 | 2.95 | — ^{h)} | 3.19 |
| | 262 | 262 | | | | 2.88 | 2.90 | | | |
| | 255 ^s | 255 ^s | | | | 2.78 | 2.83 | | | |
| 6 2-Amino-3-methoxy-benzoessäure | 330 | 315 | 330 ^{g)} | 345 | 340 | 3.35 | 3.56 | 2.30 | 3.75 | 3.72 |
| | 295 | | 295 | | | 3.23 | | 3.46 | | |
| 7 Damasceninsäure (2-Methylamino-3-methoxy-benzoessäure) | 290 | 305 | 297 | 365 | 352 | 3.47 | 3.43 | 3.52 | 3.05 | 3.59 |
| | | | | 298 | | | | | 3.35 | |
| 8 5-Brom-2-methyl-amino-3-methoxy-benzoessäure | 295 | 312 | 304 | 375 | 360 | 3.51 | 3.49 | 3.55 | 3.31 | 3.65 |
| | | | | 308 | | | | | 3.30 | |
| 9 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoessäure | 290 | 283 | 296 | 292 ^{d)} | 292 | 3.49 | 3.36 | 3.50 | 3.46 | 3.45 |
| 10 2-Diäthylamino-3-methoxy-benzoessäure | 290 | 278 | 297 | 292 ^{d)} | 293 | 3.51 | 3.34 | 3.51 | 3.49 | 3.47 |

a) in Wasser; b) in 0.1 n NaOH; c) in 0.1 n HCl; d) in Benzol; e) in Dimethylsulfoxid. Konzentration in allen Fällen $c = 4 \cdot 10^{-4} m$.

g) Dieses Maximum verschwindet in stärker saurer Lösung.

h) Unlöslich in Benzol.

i) Maximum, anschließend schwach ausgeprägte Schulter.

s = Schulter.

Tab. 1 (Fortsetzung)

| Verbindung | Fluoreszenz | | | | | | | | | |
|------------|-------------|-----|------------------|-----------------|-----|------|------|---------------|-----------------|------|
| | a | b | λ_e c | d | e | a | b | $\log f$ c | d | e |
| 1 | 400 | 390 | — | 395 | 400 | 3.34 | 3.44 | — | 3.10 | 3.86 |
| 2 | 420 | 415 | — | 415 | 420 | 3.58 | 3.81 | — | 2.48 | 3.76 |
| 3 | — | 410 | — | — | 425 | — | 2.26 | — | — | 2.26 |
| 4 | — | 410 | — | — | 420 | — | 2.11 | — | — | 1.86 |
| 5 | — | — | — | — ^{h)} | — | — | — | — | — ^{h)} | — |
| 6 | 410 | 410 | — | 410 | 410 | 3.11 | 3.75 | — | 3.18 | 3.77 |
| 7 | — | 430 | — | 415 | 430 | — | 3.03 | — | 2.45 | 3.45 |
| 8 | — | 425 | — | 435 | 435 | — | 3.44 | — | 1.88 | 2.74 |
| 9 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |
| 10 | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — |

 λ_e : Maximum der Fluoreszenz.

f: Relative Fluoreszenzintensität, bezogen auf 1 Mol/l.

Tab. 2. UV-Absorption und Fluoreszenz von Damasceninsäure (7) in verschiedenen Lösungsmitteln

| | λ_{\max} | $\log \epsilon$ | λ_e | $\log f$ |
|------------------|------------------|-----------------|-------------|----------|
| Wasser | 290 | 3.47 | — | — |
| Äthanol | 310 s | 3.24 | 440 | 2.08 |
| | 292 | 3.27 | | |
| Benzol | 365 | 3.05 | 415 | 2.45 |
| | 298 | 3.35 | | |
| Chloroform | 330 s | 3.02 | 435 | 2.87 |
| | 300 | 3.45 | | |
| Dimethylsulfoxid | 352 | 3.59 | 430 | 3.45 |
| Methylcyclohexan | 365 | 3.46 | 425 | 3.48 |
| | 302 | 2.95 | | |
| Di-n-butyläther | 318 | 3.68 | 425 | 3.51 |
| Diäthyläther | 355 | 3.68 | 425 | 3.77 |
| Dioxan | 355 | 3.81 | 425 | 3.78 |

Tab. 3. Temperaturabhängigkeit des Tautomeriegleichgewichts von Aminocarbonsäure und Zwitterion bei Damasceninsäure (7) in Benzol

| Temp. °C | $\lambda_{\max} = 360 \text{ nm}$ ϵ_{7a} | $\lambda_{\max} = 292$ ϵ_9 | $\lambda_{1,\max} = 365$ $\epsilon_{a,7}^*$ | $\lambda_{2,\max} = 298$ $\epsilon_{z,7}^*$ | α | z | K_T | ΔG (kcal/Mol) |
|-------------|--|--|--|--|----------|-------|-------|--------------------------|
| 20 | 4567 | 2925 | 1119 | 2194 | 0.245 | 0.722 | 2.947 | -0.629 |
| 25 | 4533 | 2900 | 1156 | 2138 | 0.255 | 0.708 | 2.776 | -0.605 |
| 30 | 4500 | 2850 | 1188 | 2085 | 0.264 | 0.701 | 2.655 | -0.588 |
| 40 | 4400 | 2800 | 1263 | 2013 | 0.287 | 0.685 | 2.387 | -0.541 |
| 50 | 4283 | 2750 | 1362 | 1938 | 0.318 | 0.667 | 2.097 | -0.475 |
| 60 | 4167 | 2675 | 1450 | 1875 | 0.348 | 0.658 | 1.891 | -0.422 |

7a 2-Methylamino-3-methoxy-benzoensäure-methylester (Damascenin) in Benzol, $c = 3 \cdot 10^{-4} \text{ m}$.9 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoensäure in Benzol, $c = 4 \cdot 10^{-4} \text{ m}$. $\epsilon_{a,7}$ Extinktion der Aminocarbonsäure-Form, bezogen auf 1 Mol Gesamtkonzentration von Damasceninsäure (7). $\epsilon_{z,7}$ Extinktion der Zwitterion-Form, bezogen auf 1 Mol Gesamtkonzentration von Damasceninsäure (7).Gesamtkonzentration der Damasceninsäure (7) in Benzol: $8 \cdot 10^{-4} \text{ m}$.* Bandenüberlagerung nicht berücksichtigt; es sind abzuziehen: für $\lambda = 298 \text{ nm}$ $\epsilon'_{7a} = 370$, für $\lambda = 365 \text{ nm}$ $\epsilon'_9 = 0$. α Anteil der Aminocarbonsäure-Form. z Anteil des Zwitterions.Isosbestischer Punkt: $\lambda = 313 \text{ nm}$, $\epsilon = 990$. Der zweite isosbestische Punkt fällt in das Gebiet der Benzolabsorption.

Um die tautomeren Formen von 6, 7 und 8 zu fixieren, wurden die Protonen durch Methylgruppen ersetzt⁷⁾.

Bei der Damasceninsäure (7) (Tab. 3) bezogen wir die UV-Absorption der Aminocarbonsäure-Form auf das Spektrum des 2-Methylamino-3-methoxy-benzoensäure-

⁷⁾ 7a) M. Pestemer, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. 47, 20 (1941); 7b) H. Specker und H. Gawrosch, Ber. dtsh. chem. Ges. 75, 1338 (1942).

methylesters (Damascenin) (7a) und verglichen das Zwitterion der Damasceninsäure (7) mit der 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoesäure (9), die so gut wie vollständig in der Zwitterion-Form vorliegt. Die Summe der so ermittelten Tautomeren ($a + z$) ergibt für 7 nach Tab. 3 annähernd 1.

$$\text{Aus} \quad \Delta G = \Delta H - \Delta S \cdot T; \quad \Delta G = -R \cdot T \ln K_T; \quad K_T = \frac{z}{a}$$

berechneten wir für 7 in Benzol $\Delta H = -2.1 \pm 0.2$ kcal/Mol und $\Delta S = -4.9 \pm 0.5$ cal/Grad·Mol für die Umwandlung $a \rightarrow z$.

Die Daten für das Tautomeriegleichgewicht bei 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure (8) zeigt Tab. 4. Als Bezugsverbindungen dienten hier der Ester 8a und die Säure 11.

Tab. 4. Temperaturabhängigkeit des Tautomeriegleichgewichts von Aminocarbonsäure und Zwitterion bei 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure (8) in Benzol

| Temp. °C | $\lambda_{\max} = 370$ nm | $\lambda_{\max} = 298$ | $\lambda_{1,\max} = 375$ | $\lambda_{2,\max} = 308$ | a | z | K_T | ΔG (kcal/Mol) |
|-------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|--------------------------|
| | ϵ_{8a} | ϵ_{11} | $\epsilon_{a,8}^*$ | $\epsilon_{z,8}^*$ | | | | |
| 20 | 5250 | 3150 | 2017 | 1992 | 0.384 | 0.559 | 1.456 | -0.219 |
| 25 | 5200 | 3125 | 2050 | 1958 | 0.394 | 0.550 | 1.396 | -0.198 |
| 30 | 5100 | 3100 | 2067 | 1917 | 0.405 | 0.540 | 1.333 | -0.173 |
| 40 | 5025 | 3050 | 2133 | 1850 | 0.424 | 0.523 | 1.233 | -0.130 |
| 50 | 4925 | 3000 | 2217 | 1775 | 0.450 | 0.502 | 1.116 | -0.070 |
| 60 | 4825 | 2950 | 2267 | 1700 | 0.470 | 0.476 | 1.013 | -0.009 |

8a 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure-methylester in Benzol, $c = 2 \cdot 10^{-4} m$.

11 5-Brom-2-dimethylamino-3-methoxy-benzoesäure in Benzol, $c = 4 \cdot 10^{-4} m$.

$\epsilon_{a,8}$ Extinktion der Aminocarbonsäure-Form, bezogen auf 1 Mol Gesamtkonzentration von 8,

$\epsilon_{z,8}$ Extinktion des Zwitterions, bezogen auf 1 Mol Gesamtkonzentration von 8,

Gesamtkonzentration von 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure (8) in Benzol $c = 6 \cdot 10^{-4} m$.

* Als Bandenüberlappung sind für $\lambda = 308$ nm $\epsilon_{8a} = 600$ und für $\lambda = 375$ nm $\epsilon_{11} = 0$ zu berücksichtigen.

a, z s. Tab. 3.

Die isosbestischen Punkte lagen bei $\lambda = 284$ nm, $\epsilon = 1770$, und $\lambda = 322$ nm, $\epsilon = 980$.

Aus der thermodynamischen Funktion (s. o.) berechneten wir für 8 in Benzol $\Delta H = -1.8 \pm 0.2$ kcal/Mol und $\Delta S = -5.3 \pm 0.5$ cal/Grad·Mol für die Umwandlung $a \rightarrow z$.

In Tab. 5 sind die Daten über die Temperaturabhängigkeit des Tautomeriegleichgewichts für 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure (6) zusammengestellt, bezogen auf 6a und 9.

Tab. 5. Temperaturabhängigkeit des Tautomeriegleichgewichts von Aminocarbonsäure und Zwitterion bei 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure (6) in Wasser

| Temp. °C | $\lambda_{\max} = 335$ nm | $\lambda_{\max} = 290$ | $\lambda_{1,\max} = 330$ | $\lambda_{2,\max} = 295$ | a | z | K_T | ΔG (kcal/Mol) |
|-------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|--------------------------|
| | ϵ_{6a} | ϵ_9 | $\epsilon_{a,6}^*$ | $\epsilon_{z,6}^*$ | | | | |
| 20 | 4500 | 3025 | 2020 | 1650 | 0.449 | 0.408 | 0.909 | 0.056 |
| 25 | 4488 | 3000 | 2130 | 1620 | 0.475 | 0.393 | 0.827 | 0.113 |
| 30 | 4475 | 2975 | 2220 | 1580 | 0.496 | 0.376 | 0.758 | 0.167 |
| 40 | 4450 | 2950 | 2390 | 1500 | 0.537 | 0.339 | 0.631 | 0.286 |
| 50 | 4425 | 2925 | 2560 | 1430 | 0.579 | 0.304 | 0.525 | 0.414 |
| 60 | 4400 | 2900 | 2710 | 1360 | 0.616 | 0.272 | 0.442 | 0.540 |

6a 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure-methylester in Wasser, $c = 4 \cdot 10^{-4} m$.

9 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoesäure in Wasser, $c = 4 \cdot 10^{-4} m$.

$\epsilon_{a,6}$ Extinktion der Aminocarbonsäure-Form, bezogen auf 1 Mol Gesamtkonzentration von 6,

$\epsilon_{z,6}$ Extinktion des Zwitterions, bezogen auf 1 Mol Gesamtkonzentration von 6,

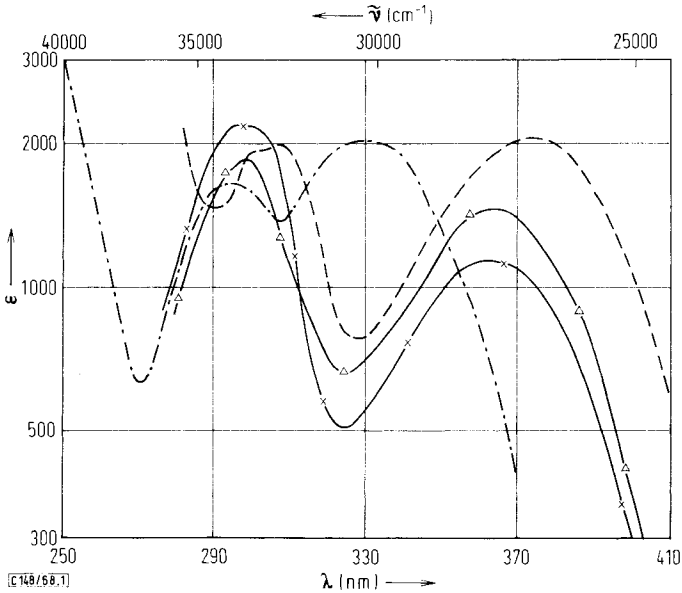
Gesamtkonzentration von 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure in Wasser (6) $c = 1 \cdot 10^{-3} m$.

* Bandenüberlagerung für $\lambda = 295$ nm $\epsilon_{6a} = 925$ und für $\lambda = 330$ nm $\epsilon_9 = 0$.

a, z s. Tab. 3.

Die isosbestischen Punkte lagen bei $\lambda = 270$ nm, $\epsilon = 630$, und $\lambda = 302$ nm, $\epsilon = 1520$.

Mit den Werten von Tab. 5 berechnet man nach der thermodynamischen Funktion (S. 3590) für **6** in Wasser $\Delta H = -3.5 \pm 0.2$ kcal/Mol und $\Delta S = -12.2 \pm 0.5$ cal/Grad·Mol beim Übergang *a*→*z*. Beispiele der in Tab. 3–5 ausgewerteten UV-Spektren zeigt folgende Abbild.:



UV-Spektren von **6**, **7** und **8**

×-×-×-× **7** in Benzol bei 20° (s. Tab. 3); Δ-Δ-Δ **7** in Benzol bei 60° (s. Tab. 3);
 - - - **8** in Benzol bei 20° (s. Tab. 4); - · - · - **6** in Wasser bei 20° (s. Tab. 5)

Tab. 6 enthält die p*K*-Werte von 2-Amino-benzoesäuren in Wasser.

Tab. 6. p*K*-Werte verschiedener 2-Amino-benzoesäuren in Wasser, eigene Messungen (Lit. s. l. c.⁸⁾ und ⁹⁾)

| | Verbindung | p <i>K</i> ₁ | p <i>K</i> ₂ |
|----------|--|-------------------------|-------------------------|
| 1 | Anthranilsäure | 2.1 | 4.9 |
| 2 | <i>N</i> -Methyl-anthranilsäure | 2.1 | 5.4 |
| 3 | <i>N,N</i> -Dimethyl-anthranilsäure | 1.3 | 8.4 |
| 5 | 2-Benzbetain (2-Trimethylammonio-benzoat) | 1.3 | — |
| 6 | 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure | 1.75 | 4.8 |
| 7 | Damasceninsäure | 2.15 | 7.4 |
| 8 | 5-Brom-2-methylamino- 3-methoxy-benzoesäure | 2.05 | 6.7 |
| 9 | 2-Dimethylamino-3-methoxy- benzoesäure | 1.5 | 9.0 |

⁸⁾ A. C. Cumming, Z. physik. Chem. **57**, 574 (1907).

⁹⁾ E. Uhlig und K. Doering, Chem. Ber. **97**, 1127 (1964).

Diskussion

Die mesomeriefähige Aminogruppe bedingt langwellige UV-Absorption und Fluoreszenz. Die Fluoreszenzintensität ist in Wasser und in 0.1 *n* NaOH der Extinktion der Nebenbande im UV annähernd proportional. In Benzol und Dimethylsulfoxid besteht nur ein qualitativer Zusammenhang, wobei die Eigenabsorption dieser Lösungsmittel für die Erregerlinie (254 nm) zu berücksichtigen ist.

Die Zwitterion-Struktur ergibt eine kurzwellige verschobene Nebenbande, da das mesomeriefähige System um die Ionengruppen verkürzt ist (für **3**, **4**, **5**, **9** und **10** in allen Lösungsmitteln, **7** und **8** in Wasser). — In 0.1 *n* HCl werden die Aminogruppen protoniert, und es tritt die kurzwellige Absorption auf. In den Verbindungen **1**, **2** und **6** ist bei dieser Säurekonzentration noch ein geringer Anteil freier Aminogruppen vorhanden. Im allgemeinen beobachtet man auch beim Übergang von den Aminocarbonsäuren zu den Anionen (in alkalischer Lösung) eine kurzwellige Verschiebung, beim Übergang von den Zwitterionen zu den Anionen eine langwellige Verschiebung der Nebenbande. Das trifft für 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoessäure (**9**) und 2-Diäthylamino-3-methoxy-benzoessäure (**10**) nicht zu. Als Erklärung nehmen wir an, daß die in *o*-Stellung zur Dialkylaminogruppe stehenden Carboxylat- und Methoxygruppen die Dialkylaminogruppe so weit aus ihrer normalen Lage querstellen, daß das freie Elektronenpaar nicht mehr an der Mesomerie teilnehmen kann. Dies kann am Kalottenmodell gezeigt werden. Weiterhin konnten wir den 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoessäure-methylester (**9a**) nicht methylieren, was ebenfalls eine sterische Abschirmung des freien Elektronenpaares der Dimethylaminogruppe wahrscheinlich macht. Das UV-Spektrum des Anions entspricht dem Spektrum von 3-Methoxybenzoat (Tab. 7).

Tab. 7. Vergleich der UV-Absorption der 2-Dialkylamino-3-methoxy-benzoessäuren und 3-Methoxy-benzoessäure in alkalischer Lösung

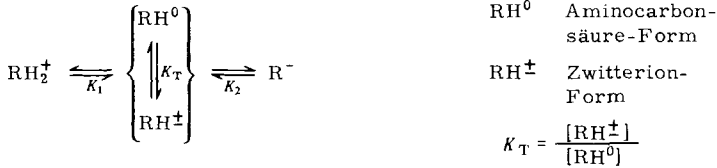
| Verbindung | λ_{\max} | $\log \epsilon$ |
|---|------------------|-----------------|
| 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoessäure (9) | 283 | 3.36 |
| 2-Diäthylamino-3-methoxy-benzoessäure (10) | 278 | 3.34 |
| 3-Methoxy-benzoessäure ¹⁰⁾ | 283 | 3.32 |

In Wasser sind Zwitterionen gut solvatisiert, sie sind daher gegenüber der Aminocarbonsäure-Form energetisch begünstigt. Dagegen ist in einem unpolaren Lösungsmittel die Aminocarbonsäure-Struktur bevorzugt, was für die Damasceninsäure (**7**) näher untersucht wurde. Während sie in Wasser nur als Zwitterion vorliegt, ist sie in Äthanol oder Chloroform noch überwiegend Zwitterion. In Di-*n*-butyläther, Diäthyläther, Methylcyclohexan, Dioxan und auch in Dimethylsulfoxid zeigt die Damasceninsäure nur die langwellige Absorption der Aminocarbonsäure. Entsprechend nimmt die Fluoreszenz zu. Unerwartet ist das Ergebnis, daß Damasceninsäure und 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoessäure (**8**) in Benzol in einem gut meßbaren Gleichgewicht von Aminocarbonsäure- und Zwitterion-Form vorliegen. Da Ionen mit vollständigem Ladungsübergang (2-Benzbetain (**5**), Damasceninsäure-hydrochlorid (**7**·HCl) und Na-Salz der Damasceninsäure) in Benzol unlöslich sind, ist für das Zwitter-

¹⁰⁾ H. Dannenberg, Z. Naturforsch. **4b**, 327 (1949).

ion der beiden Säuren und für die als Zwitterion vorliegenden 2-Dialkylamino-benzoesäuren in benzolischer Lösung eine Wasserstoffbrücke (intra- oder intermolekular) wahrscheinlich. Die Änderung der Enthalpie ΔH beim Protonenübergang ($a \rightarrow z$) in Benzol lag für Damasceninsäure bei -2.1 kcal/Mol, für 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure bei -1.8 kcal/Mol und für 2-Amino-3-methoxy-benzoesäure in Wasser bei -3.5 kcal/Mol. In allen drei Fällen nimmt die Enthalpie H beim Übergang zum Zwitterion ab. Die solvatisierte Aminocarbonsäure ist demnach das energiereichere System. Auf die Problematik, ΔH für den Vergleich molekularer Energieänderungen zu verwenden, hat *Bell*¹¹⁾ hingewiesen. Der freien Drehbarkeit der Ammoniumgruppe entspräche eine positive Entropieänderung. Andererseits nimmt im Zwitterion die Carboxylatgruppe an der Mesomerie stärker teil als im protonierten Zustand, was ihre Drehbarkeit einschränkt. Weiterhin vermindert eine Wasserstoffbrücke zwischen Ammonium- und Carboxylatgruppe die Drehbarkeit beider Gruppen. Die resultierende Abnahme der Entropie stimmt mit den gefundenen Werten überein. Wahrscheinlich sind an der negativen Entropieänderung zusätzlich Solvatationseffekte beteiligt, die auch *Briegleb*¹²⁾ für das Anilin diskutiert.

In Wasser ist neben dem Gleichgewicht der tautomeren Formen auch das Säure-Base-Gleichgewicht mit dem Lösungsmittel zu berücksichtigen, bei dem die Gesamtdissoziationskonstanten K_1 und K_2 meßbar sind.



Berücksichtigt man auch die Teilaciditätskonstanten K_A , K_B , K_C und K_D , die die Gleichgewichte zwischen RH_2^+ , RH^\pm usw. beschreiben⁴⁾, so ist wegen

$$K_T = \frac{K_A}{K_B} = \frac{K_C}{K_D}$$

K_T dann gleich 1, wenn $K_A = K_B$ oder $K_C = K_D$ ist. Liegt eine Säure überwiegend in der Aminocarbonsäure-Form vor (z. B. Anthranilsäure*), so ist die Dissoziationskonstante K_2 annähernd K_C . Für die *N,N*-Dimethyl-anthranilsäure als Zwitterion in wäßriger Lösung ist K_2 mit noch besserer Näherung gleich K_D . Der pK_2 -Wert einer Säure mit einem Aminocarbonsäure-Zwitterion-Gleichgewicht von $K_T = 1$ sollte daher der Mittelwert der pK_2 -Werte der beiden Extremfälle sein, mit den Dissoziationskonstanten von Tab. 6 etwa 7. Ammoniumgruppe und Carboxylgruppe würden dann mit gleicher Stärke das Proton binden. Beim Wechsel des Protons zur anderen Gruppe entsteht jedoch im ersten Fall eine Aminocarbonsäure, im zweiten Fall ein Zwitterion, das viel besser als die unpolare Form solvatisiert wird. Daher wird für $pK_2 = 7$ nur die Zwitterion-Struktur vorliegen. Löst man aber in einem wenig polaren Lösungsmittel, so müßte das Zwitterion in die Aminocarbonsäure übergehen. In Tabelle 6 liegen nur die pK_2 -Werte von Damasceninsäure (7) und von 5-Brom-2-methylamino-

*) Auch durch das Ergebnis von *Leggate* und *Dunn*⁴⁾, wonach 50% der Anthranilsäure als Zwitterion vorliegen, wird an der Betrachtung dieses Zusammenhangs nichts Grundsätzliches geändert.

11) *R. P. Bell*, *The Proton in Chemistry*, Cornell University Press, Ithaca, New York 1959.

12) *G. Briegleb*, *Z. Elektrochem. angew. physik. Chem.* **53**, 350 (1949).

3-methoxy-benzoesäure (8) nahe bei 7. Es sind die beiden Amino-benzoesäuren, die in Wasser als Zwitterion vorliegen, in anderen Lösungsmitteln jedoch in die Aminocarbonsäure-Form übergehen.

Herrn Prof. Th. Wieland und Herrn Dr. H. Fischer sei für die kritische Durchsicht des Manuskripts gedankt.

Herrn G. Riethmüller danken wir für die *N*- und *O*-Methylbestimmungen.

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden mit dem Recording Spektrophotometer Cary 14 in 1-cm-Küvetten bei 25° aufgenommen. Das Gerät wurde zur Messung der Fluoreszenz mit einem Fluoreszenz-zusatz (Modell 1412) versehen. Die Strahlung der Quecksilber-Lampe filterten wir mit NiSO₄-Lösung und Uviol-Glas, benutzten also vorwiegend die Linie bei 254 nm zur Fluoreszenzanregung. Die Proben füllten wir in 0.1-cm-Quarzküvetten (QS). Als Vergleichs-substanz diente ein fluoreszierendes Glas (Nr. 160 der Applied Physics Corp. Monrovia), dessen Fluoreszenz gleich 1 gesetzt wurde. Die logarithmische Aufzeichnung des Schreibers rechneten wir auf Emission *F* um und berechneten die spezifische Fluoreszenzintensität *f* auf die Konzentration 1 Mol/l. In den Tabellen ist der Logarithmus von *f* angegeben. *F* ist der Konzentration im Bereich $c = 10^{-4} m$ annähernd linear proportional (gemessen für Anthranilsäure (1) in Wasser und 5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoesäure (8) in Dimethylsulf-oxid für $c = 4 \cdot 10^{-5} m$ bis $4 \cdot 10^{-4} m$). Die Temperaturabhängigkeit der UV-Absorption wurde mit dem Leitz-Unicam Ultraviolet-Spektrophotometer Sp. 800 gemessen. Die Zellen waren durch einen Wassermantel auf $\pm 0.2^\circ$ thermostatisiert (1-cm-Küvetten, für 6 0.5-cm-Küvetten).

Die Elementaranalysen der für die spektroskopischen Untersuchungen verwendeten Substanzen stimmten alle innerhalb der Fehlergrenzen (CHN $\pm 0.3\%$) mit den berechneten Werten überein.

Die *potentiometrischen Messungen* wurden mit einem Beckman-pH-Meter ausgeführt. Bei leicht löslichen Säuren wurde 1 mMol Säuren in 10 ccm 0.1 *n* HCl gelöst und mit 0.1 *n* NaOH titriert. Bei 1, 2 und 6 wurden 0.1 mMol Säure in 10 ccm 0.01 *n* HCl unter Erwärmen gelöst und mit 0.01 *n* NaOH titriert.

Zur Reinigung von Anthranilsäure und *N*-Methyl-anthranilsäure wurden Handelsprodukte aus Äthanol/Wasser umkristallisiert und sublimiert.

N,N-Dimethyl-anthranilsäure (3): Anthranilsäure wurde nach Kuhn und Trischmann¹³⁾ methyliert: 3.0 g Anthranilsäure lösten wir in 50 ccm Dimethylformamid und versetzten (zunächst unter Eiskühlung) mit 10 ccm Methyljodid, 5 g BaO (wasserfrei, pulverisiert) und 0.3 g Ba(OH)₂·8 H₂O. Es wurde 20 Stdn. gerührt, dann in Chloroform aufgenommen, zweimal mit Wasser, einmal mit Thiosulfat-Lösung und noch einmal mit Wasser ausgeschüttelt. Nach dem Einengen der Chloroform-Phase wurde bei 93°/3 Torr destilliert. Ausb. 1.2 g (33%) 3a, verunreinigt durch etwas *N*-Methyl-anthranilsäure-methylester.

Geht man von Anthranilsäure-methylester aus, so erhält man viel Ausgangsmaterial zurück. Etwas besser ist die Ausb., wenn man *N*-Methyl-anthranilsäure methyliert (40%).

Zur Hydrolyse kochten wir 1.2 g des *N,N*-Dimethyl-anthranilsäure-methylesters (3a) 20 Stdn. mit 100 ccm Wasser ohne Katalysatorzusatz¹⁴⁾, schüttelten mit wenig Äther aus und kristallisierten den Rückstand der wäßr. Phase dreimal aus Äther um. Ausb. 0.60 g *N,N*-Dimethyl-anthranilsäure (48%), Schmp. 69°.

¹³⁾ R. Kuhn und H. Trischmann, Chem. Ber. 96, 284 (1963).

¹⁴⁾ R. Willstätter und W. Kahn, Ber. dtsch. chem. Ges. 37, 409 (1904).

N,N-Diäthyl-anthranilsäure (4) wurde wie vorstehend mit Äthyljodid als Alkylierungsmittel dargestellt. Schmp. 120° (Lit.⁹⁾: 121°).

2-Benzetain (2-Trimethylammonio-benzoat) (5): 3.5 g des oben beschriebenen *N,N*-Dimethyl-anthranilsäure-methylesters erwärmen wir mit 3.25 g Methyljodid im Bombenrohr 2 Tage auf 40°. Die Kristallmasse wurde mit Äther verrührt, der Rückstand in Wasser gelöst, 4 Stdn. mit Ag₂O (frisch gefällt aus 3.5 g AgNO₃) in der Kälte gerührt, das Filtrat mit Äther ausgeschüttelt und die wäbr. Phase eingedampft. Dann wurde dreimal aus Methanol/Äther umkristallisiert. Ausb. 0.70 g (10%), Schmp. 231° (Zers.).

2-Nitro-3-methoxy-benzoessäure stellten wir nach Warnell¹⁵ dar. Hydrierung in Methanol mit Pd/Kohle (10proz.) als Katalysator ergab 2-Amino-3-methoxy-benzoessäure (6), die aus Äthanol umkristallisiert und sublimiert wurde. Schmp. 169°.

Damasceninsäure (2-Methylamino-3-methoxy-benzoessäure) (7), modifiziert nach Kaufmann und Rothlin¹⁶: 17 g (nicht völlig trockenes) Na-Oxinat wurden unter Eiskühlung mit 35 g Dimethylsulfat methyliert (bei sehr trockenem Na-Salz ist die Reaktion heftig). Die Lösung des Reaktionsprodukts in 2l Wasser wurde mit NaOH auf pH 7 gebracht, mit 25 g MgSO₄ · 7H₂O versetzt und bei 10° eine Lösung von 73 g KMnO₄ in 2l Wasser innerhalb von 10 Stdn. zugegeben. Nach weiteren 24 Stdn. wurde vom Mangandioxid abgesaugt und das Filtrat auf 250 ccm eingengt. Nach Ansäuern mit konz. Salzsäure fiel *N*-Formyl-damasceninsäure aus, die mit anorganischen Salzen verunreinigt war. Es wurde daher mit 100 ccm Äthanol aufgekocht, filtriert und das Filtrat eingengt. Nach Wasserzugabe ließ man auskristallisieren. Ausb. 4.02 g Formyldamasceninsäure (19%), Schmp. 193°.

Nach Verseifen durch 5stdg. Kochen mit 20 ccm 5*n* HCl Ausb. 3.7 g Damasceninsäurehydrochlorid-dihydrat (77%), Schmp. 208° (Zers.).

Die wäbr. Lösung des Hydrochlorids wurde mit Natriumacetat auf pH 5 gebracht und eingedampft. Der trockene Rückstand wurde 3 Tage mit Äther extrahiert. Ausb. 2.65 g Damasceninsäure (7) (ca. 100%), aus Äthanol/Benzol Schmp. 142° (Lit.³): 144°. 7 sublimiert langsam bei 120°/0.01 Torr.

5-Brom-2-methylamino-3-methoxy-benzoessäure (8): Zu 3.62 g Damasceninsäure (7) in 100 ccm Äthanol wurde bei 0° eine Lösung von 3.2 g Brom in 30 ccm Äthanol getropft. Dann wurde bis zum Verschwinden der Bromfarbe erwärmt, eingengt und das Hydrobromid¹⁷ von 8 abgesaugt. Ausb. 5.1 g (75%), Schmp. 207° (Zers.).

Die wäbr. Lösung des Hydrobromids wurde mit Natriumacetat auf pH 5 gebracht, eingedampft und 5mal mit 100 ccm Äther ausgeschüttelt. Ausb. 2.7 g (80%). Aus Äthanol nach Sublimation bei 120°/0.01 Torr Schmp. 157°.

Aus Wasser kristallisierte das Dihydrat (8 · 2H₂O), Schmp. 108°.

NMR: Kopplungskonstante der beiden Ringprotonen 2.2 Hz, was für *m*-Kopplung (5-Stellung des Broms) spricht¹⁸).

2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoessäure (9): 3.0 g 2-Amino-3-methoxy-benzoessäure (6) methylierten wir in 50 ccm Dimethylformamid, wie bei der *N,N*-Dimethyl-anthranilsäure (3) beschrieben. Ausb. 2.7 g 2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoessäure-methylester (9a) (73%, NH-frei).

Zur Gewinnung der freien Säure 9 verseiften wir wie beim 3-Methylester in Wasser und kristallisierten aus Benzol/Benzin um. Ausb. 1.6 g (86%), Schmp. 115°.

¹⁵ J. L. Warnell, Biochem. Preparations 6, 20 (1958).

¹⁶ A. Kaufmann und E. Rothlin, Ber. dtsh. chem. Ges. 49, 578 (1916).

¹⁷ O. Keller, Arch. Pharmaz. 242, 314 (1904).

¹⁸ H. S. Gutowsky, C. H. Holm, A. Saika und G. A. Williams, J. Amer. chem. Soc. 79, 4596 (1957).

Entsprechend der Methylierungsvorschrift (s. 3) stellten wir *5-Brom-2-dimethylamino-3-methoxy-benzoesäure* (11) (Schmp. 165°) und *2-Diäthylamino-3-methoxy-benzoesäure* (10) (Schmp. 80°) nach Verseifen der Ester her.

Den *2-Dimethylamino-3-methoxy-benzoesäure-methylester* (9a) konnten wir nicht zum quartären Ammonium-Salz methylieren. Ohne Lösungsmittel erhielten wir nach Erhitzen mit *Methyljodid* keine Reaktion, in Methanol entstand das *Hydrojodid* (Schmp. 147°), das sich auch bei 12stdg. Erwärmen des Esters mit Methyljodid in Nitromethan auf 130° im Bombenrohr in geringer Ausb. (wahrscheinlich entstand etwas Wasser im Reaktionsgemisch) bildete.

$C_{11}H_{16}NO_3J$ (337.2) Ber. CH_3 17.83 Gef. CH_3 17.08

[148/68]