

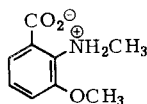
Richard Kuhn†, Walter Otting und Klaus Geider\*)

## Über die Kristallisation der Damasceninsäure als Zwitterion und als Aminocarbonsäure

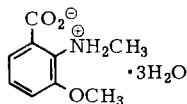
Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg  
(Eingegangen am 8. April 1968)

Damasceninsäure (2-Methylamino-3-methoxy-benzoesäure) wurde durch Kristallisation aus Äthanol als Zwitterion (1) und aus Wasser als Trihydrat (2) des Zwitterions erhalten. Aus der Schmelze des Trihydrats kristallisierte bei 45–50° das metastabile Dihydrat mit 3 Molekülen der ungeladenen Aminocarbonsäure-Form (3). Durch Trocknen des Trihydrats (2) entstand die Aminocarbonsäure-Form 4. Die Zuordnung der Strukturen zu den kristallisierten Substanzen erfolgte durch IR- und Fluoreszenz-Spektroskopie, deren Ergebnisse durch die Analyse deuterierter Produkte bestätigt wurden.

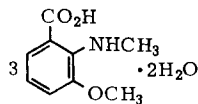
Aromatische Aminocarbonsäuren liegen in wäßriger Lösung teilweise polar (als Zwitterion), teilweise unpolar (als Aminocarbonsäure) vor<sup>1,2)</sup>. Bei den Festkörpern fand Uhlig<sup>3)</sup> auf Grund der IR-Spektren für das 2.5-Bis-[β-hydroxy-äthylamino]-terephthalsäure-monoäthylester-dihydrat ein Überwiegen der Zwitterion-Struktur und für die wasserfreie Verbindung eine Verstärkung der Aminocarbonsäure-Bande. Kuhn, Hausser und Brydówna<sup>4)</sup> hatten beim Entwässern des Trihydrats der Damasceninsäure den Übergang des nicht fluoreszierenden Zwitterions in die blau fluoreszierende Aminocarbonsäure beobachtet. Nach Wiederaufnahme dieser Versuche konnten wir von der Damasceninsäure die Zwitterion-Form (1) und ihr Trihydrat (2) sowie die Aminocarbonsäure-Form 3 rein darstellen und IR-spektroskopisch in ihrem Fluoreszenzverhalten und ihrem Phasengleichgewicht in Wasser untersuchen.



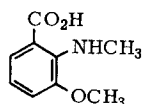
1



2



3



4

Die Form 1 erhielt man durch Kristallisieren aus Äthanol, ihr Trihydrat 2 beim Kristallisieren aus Wasser. Die Aminocarbonsäure-Form 4 entstand als instabile Form beim scharfen Entwässern des Trihydrats 2 und Tri-damasceninsäure-dihydrat (3) beim Abkühlen einer gesättigten wäßrigen Lösung. Nach röntgenographischen Untersuchungen<sup>5)</sup> kristallisieren 1 rhombisch und 2 und 3 monoklin.

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

1) G. E. Dunn, P. Leggate und I. E. Scheffler, *Canad. J. Chem.* **43**, 3080 (1965).

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

3) E. Uhlig, *Chem. Ber.* **93**, 679 (1960).

4) R. Kuhn, I. Hausser und W. Brydówna, *Forsch. u. Fortschr.* **12**, 325 (1936).

5) B. Nuber, R. Kuhn und K. Geider, *Z. Kristallogr.*, im Druck.

### Zuordnung der Strukturen durch die IR-Spektren \*)

Die vier Formen 1–4 der Damasceninsäure sind durch ihre IR-Spektren strukturell gut zu charakterisieren. Während für die Zwitterion-Struktur die breite Ammonium-Bande um 2400 und die Carboxylat-Banden bei 1620 und 1360/cm typisch sind (Tab. 1), findet man für die Aminocarbonsäure-Formen die NH-Bande bei 3330 und die Carbonyl-Bande bei 1675/cm. Die *N*-Formyl-damasceninsäure (DMS-Nr. 17105) liegt in Festsubstanz als Zwitterion vor. Die  $\nu_{(\text{CO})}$ -Bande bei 1703/cm der *N*-CHO-Gruppe

Tab. 1. Charakteristische IR-Banden ( $\text{cm}^{-1}$ ) der Damasceninsäure und ihrer Hydrate

DMS-Nr.			
1	17100	keine Bande um 3400	
		2700–2000	breite und starke Absorption mit Maxima bei 2560 und 2380–2300
		1625 } 1360 }	$-\overset{\oplus}{\text{N}}\text{H}_2\text{CH}_3$ $-\text{CO}_2^{\ominus}$
		um 975 bei 770	drei mittelstarke Banden eine starke Bande
2	17101	3500–3200	starke und breite Bande für eine Ammoniumgruppe auffallend schwache, breite Bande
		2500–2200	
		1620 } 1360 }	
		um 975 bei 768	nur eine mittelstarke Bande eine starke Bande sowie sehr breite und mittelstarke Absorption um 725
3	17102	3330	breite Absorption mit Spitze bei 3330
		3000–2500	breite Absorption
		1675	mit langwelliger Schulter
		980	schwache Bande
		um 760	drei starke, scharfe Banden 777, 762 und 751
4	17103	3305	scharfe Bande
		3090	mittelstarke, breite Bande, um 2500 schwache Absorption
		1660	starke Bande ohne langwellige Verbreiterung
		981	schwache Bande
		um 760	zwei starke, scharfe Banden 768 und 753

\*) Die IR-Spektren werden in der DMS-Kartei unter Nr. 17100–17107 veröffentlicht (Dokumentation der Molekül-Spektroskopie, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr., Butterworth, London).

ist kurzweilig verschoben, da der Ammonium-Stickstoff kein freies Elektronenpaar mehr zur Verfügung hat, das die sonst langwellige Lage einer Amidbande verursacht. Die starke Bande der  $\text{CO}_2^-$ -Gruppe liegt bei 1625/cm. Die NH-Gruppe erkennt man an den breiten Ammonium-Banden um 2500 und 1900/cm. Im Gegensatz dazu beobachtet man bei Damascenin (2-Methylamino-3-methoxy-benzoessäure-methylester) (DMS-Nr. 17104) die  $\nu_{(\text{NH})}$ -Absorption als scharfe Bande bei 3345/cm, die  $\nu_{(\text{CO})}$  der Estergruppe bei 1682/cm. 2-Acetamino-3-methoxy-benzoessäure (DMS-Nr. 17106) zeigt eine scharfe NH-Bande bei 3275/cm sowie die für dimere Säuren typischen Banden um 2500 und 2600/cm. Die Säurecarbonylbande bei 1707/cm ist durch den Elektronensog der benachbarten Amidgruppe kurzweilig verschoben. Die Carbonylbande der Amidgruppe beobachtet man bei 1632/cm. Das 2-Benzbetain (2-Trimethylammonio-benzoat) (DMS-Nr. 17107) zeigt typische Carboxylat-Banden bei 1660 und 1365/cm.

Die Aminocarbonsäure-Form **4** konnte nur in Nujolsuspension aufgenommen werden. **4** ist sehr instabil und wandelt sich in dieser Suspension nach 2 Stunden vollkommen in **1** um.

### Verhalten der Damasceninsäure und ihrer Hydrate in Wasser

Aus wäßriger Lösung lassen sich die verschiedenen Formen der Damasceninsäure gewinnen, wenn man folgendes beachtet: Oberhalb 46.5° ist **1** schwerer löslich als **2**; unterhalb dieser Temperatur kristallisiert **2** aus, wenn die Lösung mit **1** und **2** angeimpft wird. Bei Raumtemperatur zeigt **2** eine viel größere Wachstumsgeschwindigkeit als **3**. Andererseits ist die Keimbildungsgeschwindigkeit von **3** größer als von **2**, so daß aus den übersättigten wäßrigen Lösungen oft **3** in Form stark fluoreszierender, klar durchsichtiger Nadelbüschel auskristallisiert, wenn die Lösung ruhig steht, mit **3** angeimpft wird oder der Gefäßboden kurzzeitig stark abgekühlt wird. Wird in Trockeneis/Aceton eingefroren, dann entsteht eine Damasceninsäure-Eismischung, die meist stark fluoresziert und nach der Gefriertrocknung das IR-Spektrum von **4** zeigt. Neben **2** sind **3** und **4** im Kontakt mit der wäßrigen Lösung instabil und wandeln sich in **2** um. An der Luft verliert **2** sehr leicht Kristallwasser. Die durchsichtigen Kristalle werden trüb. Es entsteht eine der anderen Damasceninsäure-Formen. Die Löslichkeit von Damasceninsäure in Wasser ist aus Tab. 2 zu entnehmen.

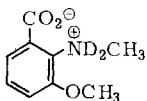
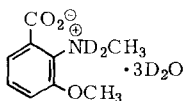
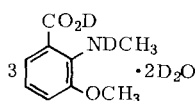
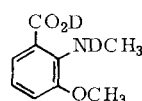
Tab. 2. Löslichkeit der Damasceninsäure in Wasser

Temperatur °C	20	30	40	45	46.5	50	55
g wasserfreie Damasceninsäure pro 100 g Wasser	9	20	61	83	87	91	100
Konzentration in Mol/l	0.5	1.0	2.2	2.7	2.8	2.9	3.0

Die Löslichkeit der Damasceninsäure steigt im oberen Existenzbereich von **2** stark an (0.1 Mol/l und Grad), im anschließenden Bereich von **1** nimmt die Löslichkeit nur schwach zu (0.02 Mol/l und Grad).

### Deuterierung der Damasceninsäure

Durch Kristallisation aus deuteriumhaltigen Lösungsmitteln ließen sich die zu **1** bis **4** analogen Deuteroprodukte herstellen.

**1a****2a****3a****4a**

Die Strukturen sind wie für die H-haltigen Formen aus den IR-Daten abzuleiten (Tab. 3).

Tab. 3. Charakteristische IR-Banden ( $\text{cm}^{-1}$ ) der deuterierten Damasceninsäure-Formen

<b>1a</b>	Keine Bande im Bereich von 2600—2200	Fehlen von $\text{D}_2\text{O}$
	2000—1800 mittelstarke, breite Absorption	$\text{ND}_2\text{CH}_3$
	1565 starke, breite Bande	} $\text{CO}_2^-$
	1360 starke Bande	
	790—750 eine starke Bande bei 769 mit kurzweiliger Schulter	
	um 500 keine Absorption	
<b>2a</b>	2600—2300 sehr starke, breite Bande mit Maximum bei 2500	$\text{D}_2\text{O}$
	2300—1950 mittelstarke bis schwache Banden	$\text{ND}_2\text{CH}_3$
	1575 } starke Banden	} $\text{CO}_2^-$
	1365 }	
	790—750 eine starke und scharfe Bande bei 770	
	um 500 breite, mittelstarke bis starke Bande	
<b>3a</b>	2500—2000 6 mittelstarke Banden mit Maxima bei 2480, 2420, 2180 und 2040	—OD, —ND und $\text{D}_2\text{O}$
	1700—1550 3 Banden mit Maxima bei 1660 (m), 1615 (s) und 1578 (s)	$\text{CO}_2\text{D}$ und Benzolring
	1358 starke Bande	
	790—750 2 starke Banden 773 und 761 sowie langweilige Schulter bei 755	
<b>4a</b>	2500—2200 schwache Absorptionen mit Maxima bei 2430 und 2300	—OD, —ND
	1700—1550 2 Banden 1638 (s, br) und 1580 (m)	$\text{CO}_2\text{D}$ und Benzolring
	um 1360 nur mittelstarke Absorption, keine auffallend starke Bande	
	790—750 2 starke Banden 768 und 750	

**3a** geht beim Stehenlassen über einer gesättigten wäßrigen Natriumbromid-Lösung langsam in **3** über, ist also in der Struktur mit diesem identisch, wie auch die röntgenographischen Untersuchungen eine Identität von **3** und **3a** ergaben<sup>5)</sup>.

### Fluoreszenz

Eine Ammoniumgruppierung am Benzolring läßt die Fluoreszenz verschwinden<sup>6,7)</sup>. Eine Aminogruppe verstärkt die Fluoreszenz wegen ihrer Mesomeriefähigkeit. Die

<sup>6)</sup> Th. Förster, Fluoreszenz organischer Verbindungen, Verlag Vandenhoeck & Ruprecht, Göttingen 1951.

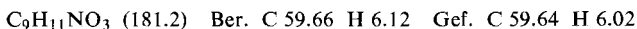
<sup>7)</sup> R. Kuhn † und K. Geider, Chem. Ber. **101**, 3587 (1968), vorstehend.

wasserfreien Aminocarbonsäure-Formen (**4** und **4a**) fluoreszieren etwa zehnfach stärker als eine 0,001 *m* Lösung von Damasceninsäure in Diäthyläther. Das Fluoreszenzmaximum liegt bei 430 nm. Das Tri-damasceninsäure-dihydrat und das deuterierte Produkt (**3** und **3a**) fluoreszieren fünfmal stärker als die Vergleichslösung, und zwar mit einem Fluoreszenzmaximum bei 435 nm. Die Zwitterion-Formen (**1**, **1a**, **2** und **2a**) zeigen keine vergleichbare Fluoreszenz.

Fräulein *E. Crummenerl* danken wir für die Mikroanalysen.

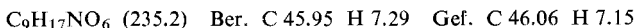
## Beschreibung der Versuche

1. Beim Umkristallisieren der in l. c.<sup>7)</sup> nach *Kaufmann* und *Rothlin*<sup>8)</sup> erhaltenen *Damasceninsäure* aus 96proz. Äthanol erhielten wir sechskantige Prismen (**1**) mit den Flächennormalenwinkeln  $\gamma = 48.5^\circ$ ;  $\delta = 83^\circ$ . Die Flächenkanten lagen parallel zur Prismenachse.



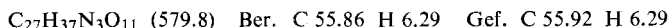
Die Substanz nahm auch im gepulverten Zustand während wochenlangen Stehens bei 75% relat. Luftfeuchtigkeit (über einer in Wasser gesättigten NaCl-Lösung, 50 Torr)<sup>9)</sup> kein Wasser auf.

2. Aus wäbr. Lösung kristallisierte *Damasceninsäure-trihydrat* (**2**) in Platten. Ihre Kristalltracht stimmte mit den Angaben von *Groth*<sup>10)</sup> überein. Getrocknet wurde 12 Stdn. über einer gesättigten wäbr. NaBr-Lösung<sup>9)</sup> bei Raumtemp. und 20 Torr. Schmp. 80°.



Bei der quantitativen Trocknung über Phosphorpentoxid und bei ca. 0,01 Torr wurde eine Gewichtsabnahme von 23,05% (ber. für 3 H<sub>2</sub>O: 22,98%) festgestellt. Im geschlossenen Gefäß war das Trihydrat monatelang haltbar. An der Luft verwitterte es schnell unter Bildung des Zwitterions **1**.

3. *Damasceninsäure-trihydrat* (**2**) wurde im verschlossenen Reagenzglas bei 100–110° geschmolzen, das Reagenzglas am Boden abgekühlt und nach dem Abscheiden der erstarrten fluoreszierenden Kristalle des *Tri-damasceninsäure-dihydrats* (**3**) 24 Stdn. bei 45–50° aufbewahrt. Wir verdünnten mit Wasser, erwärmten etwas, um die Kristalle von der Gefäßwand zu lösen, und schütteten den Inhalt auf Filtrierpapier. Die so gewonnenen Kristalle dienten nach Trocknen über NaBr/H<sub>2</sub>O (12 Stdn., Raumtemp., 20 Torr) als Impfkristalle zur Gewinnung dickerer Nadeln. Wir stellten eine bei 50° gesättigte wäbr. *Damasceninsäure*-Lösung her, die angeimpft im verschlossenen Gefäß bei 46–48° temperiert wurde. Ebenso sättigten wir bei 45° und ließen das *Tri-damasceninsäure-dihydrat* (**3**) bei 40–42° kristallisieren. Manchmal wuchsen neben den Nadeln auch die Kristalle der Modifikation **1**, wenn über 46,5° gearbeitet wurde, und die des Hydrats **2** unterhalb dieser Temperatur. Die Nadeln mußten daher sorgfältig mit Lupe und UV-Lampe auf ihre Einheitlichkeit untersucht werden. Nach Trocknen auf Filtrierpapier (1 Stde.) zeigten sie über NaBr/H<sub>2</sub>O bei Raumtemp. und 20 Torr keine nennenswerte Gewichtsabnahme. Gut ausgebildete Nadeln hatten 8 Flächen, deren Kanten parallel zur Nadelachse lagen, mit den Flächennormalenwinkeln  $\gamma = 65^\circ$ ;  $\delta = 38.5^\circ$ . Schmp. ca. 88°.



<sup>8)</sup> *A. Kaufmann* und *E. Rothlin*, Ber. dtsh. chem. Ges. **49**, 578 (1916).

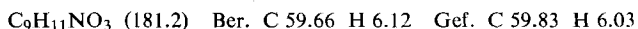
<sup>9)</sup> *D. S. Carr* und *B. L. Harris*, Ind. Engng. Chem. **41**, 2014 (1949).

<sup>10)</sup> *P. Groth*, Chemische Kristallographie, Bd. IV, S. 514, Verlag von W. Engelmann, Leipzig 1917.

Die Gewichtsabnahme nach quantitativer Trocknung über Phosphorpentoxid bei Raumtemp. und 0.1 Torr (24 Std.) war 6.36% (ber. 6.25%). Bei höheren Temperaturen und niedrigerem Druck sublimierte die Damasceninsäure langsam, so daß eine genauere Wasserbestimmung aus den CH-Analysenwerten erhalten wurde.

Die Zusammensetzung eines Molekülkomplexes aus 3 Molekülen Damasceninsäure und zwei Molekülen Wasser wurde durch die röntgenographischen Untersuchungen bestätigt<sup>5)</sup>. Die Substanz war im geschlossenen Gefäß monatelang stabil. An offener Luft entstand langsam das Zwitterion **1**.

4. Durch Entwässern von Damasceninsäure-trihydrat (**2**) über Phosphorpentoxid bei Raumtemp. und 0.001 Torr entstand innerhalb 24 Std. ein stark fluoreszierender kristalliner Bruch der wasserfreien ungeladenen Form **4**. Auch durch Gefriertrocknung einer bei  $-80^\circ$  (Trockeneis/Aceton) gefrorenen wäßr. Damasceninsäure-Lösung erhielten wir diese Form vom Schmp.  $140^\circ$ .

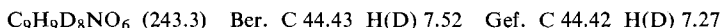


Die Struktur **4** war beim Aufbewahren in trockener Atmosphäre (über  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) einige Tage nachzuweisen. Im Kontakt mit feuchter Luft ging **4** schnell in **1** über.

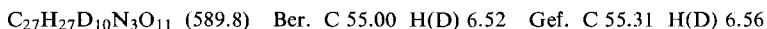
5. Beim Umkristallisieren aus Tetradeuteromethanol (Reinheit  $> 99\%$ , als  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) erhielten wir die dideuterierte Verbindung **1a**.



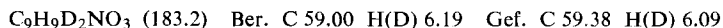
6. Das *Deutero-trihydrat* **2a** entstand durch mehrmaliges Umkristallisieren aus schwerem Wasser (Reinheit  $> 99\%$   $\text{D}_2\text{O}$ ). Wir trockneten über in  $\text{D}_2\text{O}$  gesättigtem NaBr 12 Std. bei Raumtemp. und 20 Torr.



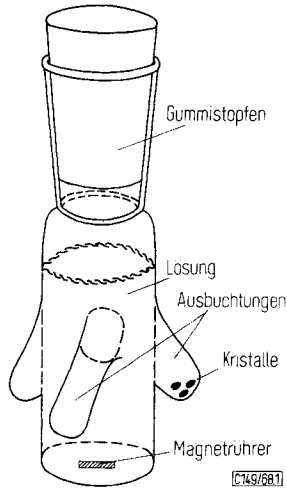
7. Aus der Schmelze des Deutero-trihydrats kristallisierte bei  $45-50^\circ$  das *Deutero-tridamasceninsäure-dihydrat* **3a**. Es wurde ebenfalls über NaBr/ $\text{D}_2\text{O}$  12 Std. bei Raumtemp. und 20 Torr getrocknet. Es ging bei dreitägigem Stehenlassen über NaBr/ $\text{H}_2\text{O}$  in **3** über (mit 3 übereinstimmendes IR-Spektrum).



8. Durch schnelles Entwässern des Deutero-trihydrats **2a** über Phosphorpentoxid bei Raumtemp. und 0.001 Torr bildete sich **4a**. Wir erhielten **4a** ebenso durch Einfrieren (Trockeneis/Aceton) einer Lösung von Damasceninsäure in schwerem Wasser und anschließende Gefrier-trocknung.



Zur Bestimmung der Stabilitätsbereiche in wäßriger Lösung sättigten wir bei  $0.5^\circ$  oberhalb der in Tab. 2 angegebenen Temperaturen, pipettierten 3 ccm in ein Gefäß mit drei Ausbuchtungen (Abbild.), in denen die Kristalle der Damasceninsäure-Formen **1**, **2** und **3** lagen und senkten unter Rühren die Temperatur um  $0.5^\circ$ . Das Wachstum und die Auflösung der Kristalle wurden beobachtet und so die stabile Form ermittelt. Zur Bestimmung der Löslichkeit wurden nach 2 Std. 2 ccm der Lösung abpipettiert, gewogen und durch Trocknung über Phosphorpentoxid bei Raumtemperatur und 1 Torr nach 24 Std. der Rückstand als wasserfreie Damasceninsäure bestimmt.



Gefäß zur Bestimmung der Stabilitätsbereiche der Damasceninsäure-Formen in Wasser

### Spektren

Die *IR-Spektren* wurden mit den Perkin-Elmer-Geräten 621 und 21 aufgenommen. Wegen der Instabilität der Strukturen von **2**, **3** und **4** ist es schwer, von diesen Substanzen einwandfreie Preßlings-Spektren zu bekommen. Aus diesem Grunde wurden vorwiegend Anreibungen in Paraffinöl untersucht. Es hat sich jedoch gezeigt, daß **2** unter diesen Versuchsbedingungen sein Kristallwasser an die KBr-Platten abgeben kann und das Spektrum von **1** erhalten wird. Zwischen AgCl-Platten ist die Anreibung stabiler. Auch die Anreibungen von **3** und **4** sind instabil. Aus diesem Grund wurde die Fluoreszenz nach der Aufnahme kontrolliert. Auch der Vergleich einer zweiten Aufnahme mit derselben Präparation ließ Veränderungen während der Aufnahme leicht erkennen.

Die *Fluoreszenzspektren* wurden mit einem Cary-UV-Spektrometer mit Fluoreszenzzusatz im Reflexionsverfahren aufgenommen. Dazu zerrieben wir die Substanzen zwischen Quarzplatten und brachten sie in die durch wäßrige NiSO<sub>4</sub>-Lösung und Uviol-Glas gefilterte Strahlung einer Quecksilber-Hochdrucklampe. Als Fluoreszenzanregung diente vorwiegend die 254 nm-Hg-Linie.

[149/68]