

Zur Beurteilung der Reinheit des 4-Sulfonamido- 2,4-diaminoazobenzols (Prontosil, Rubazin).

Von

L. und A. Kofler, Innsbruck.

(Eingelangt am 20. Juli 1949. Vorgelegt in der Sitzung am 13. Okt. 1949.)

Die Literaturangaben über den Schmelzpunkt des 4-Sulfonamido-2,4-diaminoazobenzols (S) weisen Differenzen auf, die sowohl die Höhe als auch die Schärfe betreffen. Das Ergänzungsbuch zum DAB. 6 verlangt (bei Bestimmung im Kapillarröhrchen) einen Schmp. von „etwa 226°“. Als Mikro-Schmp. fand *Reimers*¹ 232°, betont aber, daß das Schmelzen wesentlich früher beginnt. In unseren Tabellen² ist ein unscharfer Schmp. zwischen 223 und 230° angegeben. Nach *Fischer*³ liegt der Mikro-Schmp. bei 223 bis 227°.

Da sich manche Sulfonamide beim Schmelzen mehr oder weniger zersetzen, könnten die Differenzen durch die verschiedene Geschwindigkeit des Temperaturanstieges bedingt sein. Unsere Versuche haben jedoch ergeben, daß S sich beim Schmelzen zwar etwas zersetzt, daß aber die Differenzen im Schmelzbeginn nicht allein darauf zurückzuführen sind. Die Schmelzpunktunterschiede lassen sich auch nicht allein durch den verschiedenen Reinheitsgrad der untersuchten Präparate erklären, da auch Präparate von annähernd gleichem Reinheitsgrad Differenzen in der Höhe und Schärfe des Schmp. aufweisen. Unsere Untersuchungen führen vielmehr zu dem Ergebnis, daß bei dem Schmelzverhalten die Polymorphie des S eine wesentliche Rolle spielt.

Bei den durch Umkristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln erhaltenen Kristallisaten konnten *drei Modifikationen* festgestellt werden. Die stabile Modifikation, die in folgendem mit S I bezeichnet werden soll,

¹ *F. Reimers*, Dansk Tidsskr. Farmac. 15, 81, 177 (1941).

² *L. und A. Kofler*, Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner, 1948.

³ *R. Fischer* und *J. Reichel*, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 84, 268 (1943).

ist rot und schmilzt bei 232 bis 235°*, die zweite Modifikation (S II) ist orangefarben und schmilzt bei 218 bis 220°, die dritte Modifikation (S III) ist wieder rot und wandelt sich beim Erwärmen über 160° immer in die stabile Form um, so daß keine Angaben über ihren Schmp. gemacht werden können. S I und S II werden nebeneinander insbesondere aus Lösungen in Aceton erhalten, und zwar entsteht S II hauptsächlich bei überstürzter Kristallisation entweder bei raschem Verdunsten des Lösungsmittels oder beim Ausfällen aus einer Acetonlösung mit Wasser.

S I bildet rechteckige Blättchen oder größere Tafeln von roter Farbe mit gerader Auslöschung und γ in der Längsrichtung; senkrecht dazu orientierte Kristalle sind leistenförmig mit zugespitzten Enden und ebenfalls gerader Auslöschung. Demnach liegen *rhombische* Symmetrieverhältnisse vor. Häufig lagern sich die Blättchen rosettenartig aneinander. Als Schmp. wurden an verschiedenen Präparaten Werte zwischen 225 und 228°, aber auch höhere zwischen 228 und 230° und als höchster Wert 232 bis 235° gefunden. Dabei handelt es sich um Präparate, die von gleichem Reinheitsgrad zu sein schienen.

S II besitzt in feinkristallinem Zustand eine *orange* Farbe; gut ausgebildete Einzelkristalle sind im mikroskopischen Präparat *gelb*. Sie haben die Form gestreckter rechteckiger Blättchen, die in schrägen Lagen zu gekrümmten Leisten heranwachsen und bevorzugt dendritische Aggregate bilden. Auch hier läßt sich Pleochroismus feststellen; α' (in der Längsrichtung) ist hellgelb, γ' dunkelgelb. Vermutlich ist S II ebenfalls *rhombisch*.

Am häufigsten sind sehr feinkristalline, kugelige Aggregate, die im Mikroskop undurchsichtig und daher dunkel erscheinen. Als Schmp. wurde an sehr reinen Prontosilpräparaten 216 bis 218° gefunden, an einem sehr reinen Rubazin 218 bis 220°. Häufig wandelt sich ein Teil der S II-Kristalle vor oder während des Schmelzens in S I um.

S III wurde in einem von der Herstellerfirma im Laboratorium aus Wasser umkristallisierten Rubazinpräparat in Form von *roten* leistenförmigen Kristallen aufgefunden. Sie sind in der Regel von schräg eingelagerten Zwillingisleisten im Winkel von $\sim 20^\circ$ durchsetzt. Die Auslöschungsrichtung α' weicht nur wenig von der Richtung der Zwillingisleisten ab. Beim Erwärmen entstehen über etwa 160° in den Leisten an verschiedenen Stellen Keime der stabilen Form, die bald mit deutlich verfolgbare Umwandlungsfrent die ursprünglichen Kristalle in fleckig erscheinende Aggregate umlagern. Es gelang auch bei raschem Erhitzen nicht, den Schmp. von S III zu bestimmen, weil sich die Kristalle stets in S I umwandeln. Bei dem aus S III entstandenen S I wurde ein

* In der vorliegenden Arbeit handelt es sich, wenn nicht anders vermerkt, um Schmelzpunkte unter dem Heiztisch-Mikroskop². (Optische Werke C. Reichert, Wien.)

Schmp. von 232 bis 235° gefunden, d. i. der höchste Schmp., den wir bei S erreichen konnten.

Bei der Untersuchung der Handelspräparate stellte sich heraus, daß Prontosil aus der stabilen Form S I besteht, Rubazin hingegen aus S II; dementsprechend zeigt ersteres einen höheren Schmelzbeginn als letzteres. Das Ende des Schmelzens erreicht auch beim Rubazin eine Temperatur von 230°, da immer ein Teil von S II in S I umgewandelt wird.

Die Schmelzpunktbestimmung im Kapillarröhrchen liefert demgegenüber keinen deutlichen Anhaltspunkt für den eigentlichen Beginn des Schmelzvorganges und dessen endgültigen Abschluß, sondern ergibt einen Mittelwert, der in der Regel zwischen 226 und 230° liegt.

Kristallisiert man einerseits Prontosil, andererseits Rubazin aus Aceton zu den beiden Modifikationen S I und S II um, so zeigt sich folgendes eigenartige Verhalten: S II aus Prontosil schmilzt in der Regel zwischen 216 und 218°, S I aus Prontosil zwischen 226 und 228°. S II der verschiedenen Rubazinpräparate schmilzt durchwegs tiefer, und zwar zwischen 210 und 212° oder 213 und 214°; dieser tieferen Schmelzpunktlage des S II steht kein niedrigerer Schmp. von S I zur Seite; der Schmp. von S I aus Rubazin ist entweder gleich hoch wie der des S I aus Prontosil, in der Regel aber etwas höher bis 230°. Der höchste Schmp. von S I wurde, wie oben erwähnt, in umgewandelten S III-Kristallen mit 232 bis 235° gefunden, wie sie nach Mitteilung der Österr. Stickstoffwerke an Rubazinproben beobachtet wurden, die durch Umkristallisieren der Natriumverbindung aus Wasser gereinigt worden waren.

Als einfaches Kriterium für den Reinheitsgrad hat sich das Erhitzen einer kleinen Probe zwischen Deckglas und Objektträger (auf dem Mikroheiztisch² oder auf der Heizbank⁴) auf etwa 216° durch etwa 2 Min. und makroskopische Betrachtung der Farbe erwiesen. Bei dieser Erhitzungsprobe ändern reine Präparate kaum ihre rotbraune Farbe, während unreine Präparate sich bräunlich oder fast schwarz verfärben.

Wenn man Lösungen in Aceton durch eine Adsorptionssäule von Al₂O₃ gießt, wird im obersten Teil der Säule eine schwarzbraune Zone zurückgehalten, die bei Prontosil- und Rubazinpräparaten die gleiche Farbe und ungefähr die gleiche Ausdehnung hat. Nach der chromatographischen Reinigung zeigen die Prontosil- und Rubazinpräparate Unterschiede in den Schmelzpunkten auch dann, wenn man die gereinigten Substanzen nach der Reinigung in gleicher Weise umkristallisiert. Beim Rubazin ist der Schmp. der Modifikation II niedriger, beim Prontosil der der Modifikation I.

Diese Beobachtungen können durch die Annahme erklärt werden, daß in den Handelspräparaten des S auch isomorphe Beimengungen eine Rolle

⁴ L. und W. Kofler, Mikrochem. 34, 374 (1949).

spielen. Die in der Aluminiumoxydsäule zurückgehaltenen Verunreinigungen dürften bei Prontosil und Rubazin ungefähr als gleichartig anzusehen sein. Daneben sind jedoch Beimengungen anzunehmen, die mit dem S isomorph sind und die von der Al_2O_3 -Säule ebenso wie das S selbst nicht zurückgehalten werden. Beim Umkristallisieren werden diese Beimengungen in das Kristallgitter des S eingebaut. Die Möglichkeit zu solchen Beimengungen ist durch den Ersatz einer oder beider NH_2 -Gruppen im Phenylendiaminrest durch OH gegeben. Versuche darüber sind bei den Österr. Stickstoffwerken im Gang. Nach dem *Grimmschen* Hydridverschiebungssatz ist isomorphes Verhalten derartig substituierter Verbindungen wahrscheinlich. Bei der Herstellung des S liegt die Entstehung solcher Derivate durchaus im Bereich der Möglichkeit.

Im Prontosil scheint eine isomorphe Beimengung vorhanden zu sein, die den Schmp. der stabilen Form senkt, auf den der instabilen Form II aber keinen oder wenig Einfluß hat, weil die instabile Form keine Mischkristalle mit dieser Beimengung bildet.

Beim Rubazin jedoch tritt anscheinend die Beimengung gerade in die instabile Form II ein, und zwar *erniedrigt* sie dabei deren *Schmelzpunkt bei gesteigerter Haltbarkeit*. Denn bei den Rubazinpräparaten ist die Haltbarkeit der Form II gegenüber I auffallend im Vergleich mit dem Verhalten von S II, das aus Prontosil hergestellt wurde. Ein derartiges Verhalten ist bei isomorphen Stoffen sehr häufig; meist ist eine der Modifikationen — sei es die stabile oder eine instabile — in bezug auf die Mischkristallbildung mit dem isomorphen Stoff begünstigt.

Eine Haltbarkeitssteigerung einer *instabilen* Form in analoger Weise scheint bei Sulfonamiden keine seltene Erscheinung zu sein; so wurde bei *Sulfathiazol*, das einerseits als *Cibazol* und andererseits als *Eleudron* in den Handel kommt, ähnliches Verhalten beobachtet². Während ein als Sulfathiazol bezeichnetes Präparat, das so wie Cibazol oder Eleudron als instabile Form vorliegt, beim Erwärmen restlos in die stabile Form übergeht, bleibt diese Umwandlung bei den Präparaten Cibazol und Eleudron zunächst aus, so daß der Schmelzbeginn durch Erreichen des Schmelzpunktes der instabilen Form bei 174° eintritt; der Schmelzvorgang zieht sich aber dann, da ein Teil doch in die stabile Form übergeht, bis 201° dem Schmp. der stabilen Form, hin. Offenbar ist die Stabilisierung auf vermutlich nur ganz geringe Mengen einer isomorphen Substanz zurückzuführen.

Die mikroskopische Prüfung des Schmelzverhaltens des S zeigt nach dem Obigen deutlich, daß der Reinheitsgrad eines Stoffes nicht immer nach dem mehr oder weniger großen Schmelzintervall beurteilt werden darf. Denn verfrühter Schmelzbeginn kann durch das Auftreten instabiler, durch geringste Beimengungen *haltbar* gemachter Modifikationen bedingt sein. Die Steigerung der Haltbarkeit ist dabei entweder auf

starke Herabsetzung der Umwandlungsgeschwindigkeit zurückzuführen wie im Fall Cibazol oder Eleudron oder auf eine Verminderung der Keimbildung der stabilen Form wie im Fall des Rubazins. Jedenfalls wäre die Feststellung mangelnder Reinheit bei Cibazol und Eleudron auf Grund eines Schmelzbeginns von 174° gegenüber dem eigentlichen Schmp. von 201° ebenso falsch wie die Annahme eines ungenügenden Reinheitsgrades bei Rubazin, wenn letzteres unter dem Mikroskop bei 212° zu schmelzen beginnt.

Die untersuchten Rubazinpräparate verdanken wir den Österr. Stickstoffwerken. Die Prontosilpräparate wurden vor einigen Jahren teils aus dem Handel bezogen, teils wurden sie uns von der I. G. Farbenindustrie-Aktiengesellschaft in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt.