

### Summary

Acylaminomethylation of aromatic compounds with N,N'-methylenebisamides in acidic media is described. Among the three N,N'-methylenebisamides, *i.e.*, benzamido, acetamido and formamido analogs, the first was the most efficient reagent for the reaction. Benzamidomethylations of aromatic compounds such as 2-naphthol, 4-nitrophenol, benzoic acid, 2-nitrotoluene, 4-nitrotoluene and 2,4-xyleneol were performed.

(Received October 18, 1963)

[Chem. Pharm. Bull.  
12 (4) 444 ~ 449]

UDC 615-07 : 536.421.082

#### 65. Teruji Ishii : Die Messung des Schmelz- und Erstarrungspunktes mit einem eigenen autographischen Apparat.

(*Nippon Roche K.K.\*1*)

Ein Methode, den Schmelz- und Erstarrungspunkt einer Substanz nach ihrer automatisch aufgezeichneten Schmelz- und Erstarrungskurve, d.h. der Zeit-Temperatur-Kurve des thermodynamischen Gleichgewichtes, objektiv zu bestimmen ist schon von der Petroleumindustrie her bekannt.<sup>1-3)</sup> Die fuer dies Bestimmungen benoetigte Probenmenge liegt in Grammordnung. Fuer die Arzneimittelindustrie und ihre Forschung ist demgegenueber eine Bestimmungsmoeglichkeit erforderlich, bei der die Probenmenge in Milligrammordnung liegt. Die hier vorgeschlagene Methode und Apparatur gestatten nicht nur, den Schmelz- und Erstarrungspunkt einer Substanz mit einer Milligrammordnung der Probe mit hoher Genauigkeit zu bestimmen, sondern man darf darueber hinaus noch erwarten, daβ diese Methode auch zur Bestimmung von Reirheit, Molekulargewicht oder dergl. Anwendung finden kann.

#### Methode

Das Prinzip der vorliegenden Apparatur besteht darin, wie das Diagramm Abb. 1 zeigt, daβ das Signal der von der thermodynamischen Phasenveraenderung einer Probe abhaengigen Temperaturveraenderung in elektrischen Widerstand umgewandelt und damit die Schmelz- und Erstarrungskurve automatisch registriert wird. Daraus, daβ die Bestimmungen mittels der geringeren Probenmenge durchgefuehrt werden koennen, ergibt sich der Vorteil, daβ Substanz gespart werden kann, und ferner, daβ eine gleichmaeβige Temperaturverteilung innerhalb der Proben leicht erreicht und damit eine erhoehte Genauigkeit sowie eine verkuerzte Meβzeit verwirklicht werden kann.

Die Bestimmung erfolgt unter Verwendung des kleinsten Perlen-Thermistors, indem man einer Probe ein entsprechendes, thermisch bestaendiges, indifferentes Zusatzmittel zusetzt. Als ein dazu dienendes Zusatzmittel sind die 100~200 Masche Koernchen, aus reinem Gold, Quarz, Hartglas oder dgl., geeignet, damit die in Anspruch genommene Probenmenge bis auf 5~10 mg herabgesetzt werden kann. Das Mischungsverhaeltnis der Probe zum Zusatzmittel liegt dabei zwischen 1:1 und 1:2. Die so vermischte Probe wird nun in ein fuer deren Aufnahme in Unterteil eines Probengefassees versehenes Probenkammerloch eingesetzt, worauf der Thermistor dann noch in diese Probe eingelegt und in einer bestimmten Stellung eingestellt wird. Die Deutlichkeit der Schmelzkurve haengt dabei

\*1 Ohimachi, Shinagawa-ku, Tokio (石井輝司).

1) W.P. Weite : J. Phys. Chem., **24**, 393 (1920).

2) B.J. Mair, A.R. Glasgow, Jr., F.D. Rossini : J. Research NBS, **26**, 591 (1941), RP 1397.

3) D.R. Stull : Ind. Eng. Chem., **18**, 234 (1946).

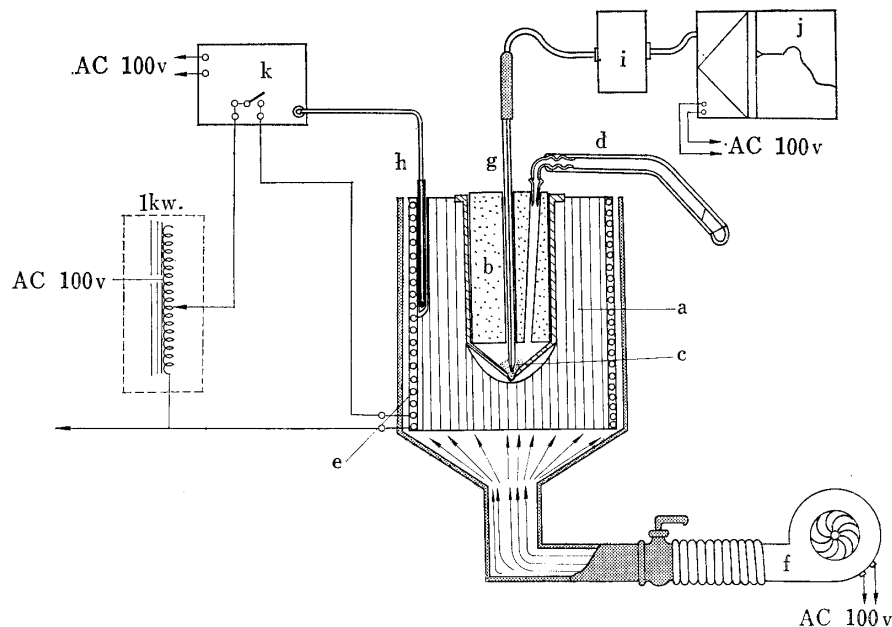


Abb. 1. Diagramm der Apparatur

- |                                    |  |
|------------------------------------|--|
| a : Metallblock des Ofens          | g : Thermistor fuer Temp.-Messung          |
| b : Probengefäß                    | h : Thermistor fuer Temp.-Regelung         |
| c : Probe                          | i : Umschalter fuer Messbereich            |
| d : Gas-Zufuehrleitung             | j : Rekorder                               |
| e : Heizer aus Nichromdraht (1 kw) | k : Automatische Temp.-Reguliereinrichtung |
| f : Ventilator fuer Abkuehlung     |  |

im wesentlichen von der Bauart des Probenkammerloches ab. Beim Aufzeichnen der Erstarrungskurve wird die Impfungsbehandlung zweckmäßig angewandt, wobei das Impfen ohne Schwierigkeiten schon dadurch erfolgen kann, daß man dazu die mit koernfoermigem Zusatzmittel gemischte Probe gleichfalls in Gebrauch nimmt.

### Apparatur

Die Apparatur wird in folgende 4 Hauptteile eingeteilt :

**Ofen und dessen Heiz- und Kuehlvorrichtung**—Der Ofen besteht aus einem mit einem 1 kw Heizer versehenen Hauptkoerper aus Kupfer- oder Massingblock. Die Abkuehlung des Ofens erfolgt mit geblasener Luft, fuer deren Fuehrung der Hauptkoerper an seiner Oberflaeche in Laengerichtung einige Dutzend eingeschnittene Luftrinnen aufweist. Er ist ferner mit einem Mantel ausgeruestet, der als weiterer Luftkanal zur Abkuehlung zweckmäßig ausgebildet ist, und auch zur Vermeidung von Waermeabgabe sowie zur Unfallsverhuetung dient. Ein so angeordnetes Ofenkoerperteil weist, wie das Schema in Abb. 2 zeigt, eine sehr hohe Aufheiz- und Abkuehl-Hoechstgeschwindigkeit auf. Die erwuenschte Aufheiz- und Abkuehl-Kurve, die eine lineare Neigung bildet und kaum eine Pendelschwingung mit sich bringt, kann leicht dadurch erreicht werden, daß die Aufheizung und Abkuehlung des Ofens mit Hilfe einer Programmkontrolle gemaeß dem Verhaeltnissteuerungssystem von Ein- und Ausschaltung erfolgt.

**Probengefäß**—Das Probengefäß aus Pyrexie-Glas, wie das Schema in Abb. 3 zeigt, besteht aus einem Aussenrohr, das im Bodenteil mit einem Probenkammerloch (1) versehen ist sowie einem Innenrohr, das ein Fuehrungsrohr (2) fuer den Thermistor und ein Impfungsloch (3), das auch als ein Gas-Zufuehrungsloch fuer die Bestimmung in der Atmosphaere des indifferenten Gases dient, aufweist.

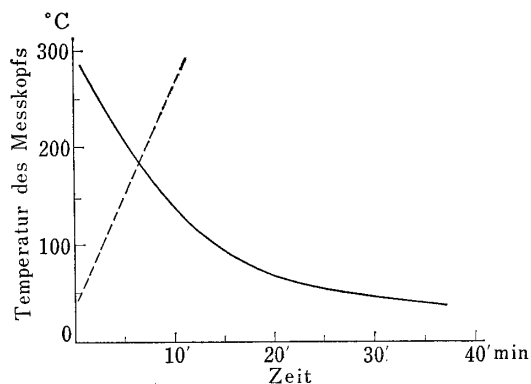
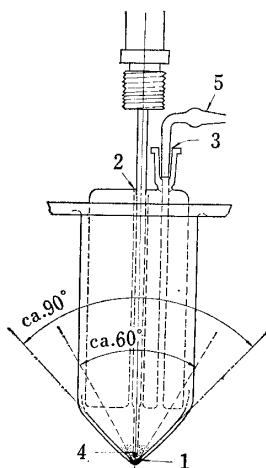


Abb. 2. Hoechst Aufheiz- und Abkuehlgeschwindigkeit bei der vorliegenden Apparatur

- |       |              |
|-------|--------------|
| —     | Abkühlkurve  |
| - - - | Aufheizkurve |



App. 3. Schema des Probengefäßes

- 1: Probenkammerloch
- 2: Föhrungsrohr fuer Thermistor
- 3: Impfungsloch
- 4: Perlenteil des Thermistors
- 5: Gas-Zuföhrleitung

Der Bodenteil des Probenkammerloches ist so ausgebildet, daß sein Scheitelwinkel ca.  $60^\circ$  betraegt und darauffolgend eine konische Innenwandflaeche von ca.  $90^\circ$  nach oben laeuft. In ein solches Probenkammerloch stellt man den Perlenteil (4) des Thermistors so ein, daß er gegenueber dem Boden des Probenkammerloches 1 mm hoch und zentrisch zu liegen kommt. Somit ist es moeglich, daß die mit Koernchen zugesetzte Probe die Veraenderung ihrer Schichthoehe vor und nach der Schmelzung auf ein Mindestmaß einhalten laeßt, so daß die ganze Probe ohne die Entstehung der unerwuenschten Erscheinungen einwandfrei zusammen geschmolzen wird und zusammenfaellt und damit die deutliche Schmelzkurve aufgezeichnet werden kann. Den Thermistor-Perlenteil in die bestimmte Stelle einzustellen, ist mit der Hilfe eines Föhrungsrohres sehr leicht und verlangt keine besondere Geschicklichkeit. Das Impfen aus dem Impfungsloch kann ohne die Bewegung bzw. Verschiebung des Thermistors erfolgen, und auch zur Gas-Einföhrung kann noch ein Aufsatz (5) in die Oeffnung des Impfungsloches zweckmaeßig eingesetzt werden.

**Thermistor und dessen Temperaturkontrolleeinrichtung**—Der Thermistor fuer die Temperaturmessung besteht aus einem  $1.5\text{mm}\phi$  Perlenteil und einem 10 mm langen Spitzenteil von etwa  $3\text{mm}\phi$ , der demjenigen des Föhrungsrohres den Innenrohrs angepaßt wird. Zur Messung von Tieftemp. ( $35\sim 200^\circ$ ) und Hochtemp. ( $200\sim 300^\circ$ ) werden zwei Thermistoren verwendet. Die angelegte Spannung

der Thermistoren: 1.5 V. Eine moeglicherweise entstehende Selbsterhitzung der Thermistoren ist sehr gering, so daß man sie unbeachtet lassen kann.

Zur Temperaturkontrolle des Thermistors findet ein Ein- und Ausschalt-Steuerungssystem, das mit einem weiteren Thermistor fuer Temperaturregelung verbunden ist, Anwendung. Somit wird die Temperatur des betreffenden Thermistors mit Hilfe eines Platin-Widerstand-Thermometers ausgeglichen. Unter Verwendung von international-thermometrischen Fixpunkten konnte nach dem potentiometrischen Verfahren eine Gleichung aufgestellt werden, nach der dieses Thermometer fuer je  $10^\circ$  geeicht wurde.

**Umschaltvorrichtung fuer Massbereich und Registriervorrichtung**—Diese mehrstufige Umschaltungsbruecke bildet 16 Stufenumschaltungen, d.h. der Bruckenbereich von  $35^\circ$  bis  $280^\circ$  ist hier im Abstand von  $20^\circ$  (je mit  $5^\circ$  verdoppelt) in 16 Stufen eingeteilt. Der Registrator weist eine 250 mm breite Voll-Skala von  $20^\circ$  auf, die in gleichen Abstaenden des Papiers von etwa  $0.2^\circ$  eingeteilt ist. Die Vor-schubgeschwindigkeit ist 50 mm/min.

## Messergebnisse und ihre Diskussion

### Beziehung zwischen Schmelzkurve und Schmelzpunkt

Man vergleicht zunaechst die Wechselbeziehung zwischen den unteren und oberen aufgezeichneten Knickpunkten der Zeit-Temperatur-Schmelzkurve und den Schmelzstufen nach der ueblichen Kapillar-Methode. Als Proben wurden hier die WHO-Schmelzpunkt-Referenz-Substanzen<sup>4)</sup> verwendet. Aus der Schmelzkurve von Azobenzol ergibt sich, wie die Kurve in Abb. 4 zeigt, daß der untere Knickpunkt auf einer etwas hoeheren Temperatur-Stelle als der Auftaupunkt nach Augenmaß liegt. Dieser Knickpunkt veraendert sich je nach Aufheizgeschwindigkeit. Und zwar kommt er mit Abnahme der Aufheizgeschwindigkeit dem oberen Knickpunkt naeher, der unterhalb des Schmelz-Endpunktes nach Augenmaß liegt. Er erscheint immer an einer bestimmten Temperatur-Stelle der Kurve und wird von der Aufheizgeschwindigkeit des Ofens kaum beeinflusst, wenn diese nicht besonders rasch ist (cf. Abb. 5). Es hat sich ausserdem herausgestellt, daß die starke Steigung zwischen den oberen und unteren Knickpunkten der Schmelzkurve dem Stadium des Schmelzvorganges, auf der die Erscheinung jenes Zusammenfallens nach Augenmaß entsteht, genau entspricht. Diese unteren und oberen Knickpunkte lassen sich als Tangentenschnittpunkte darstellen. Die Tangente

4) H. Bervenmark, N. A. Diding, B. Oehrner: Bull. Org. Mond Sante, Bull. Wld. Hith. Org. 1963, 28, 175.

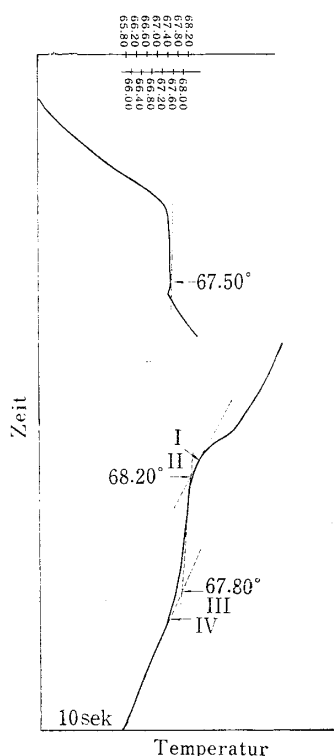


Abb. 4. Automatische Rekorder-Aufzeichnung der Erstarrungs- und Schmelz-kurve von Azobenzol der WHO-Probe

oberer Kurve:	I : Schmelzpunkt nach
Probe: 10 mg	Augenmass
Quarzpulver: 10 mg	II : oberer Knick
Angelegtes volt: 0 v	III : unter Knick
(ohne Luftzufuhr)	IV : Auftaupunkt nach
Zimmertemp.: 18.0°	Augenmass
unterer Kurve:	
Probe: 10 mg	
Quarzpulver: 10 mg	
Angelegtes volt: 30 v	
Zimmertemp.: 18.0°	

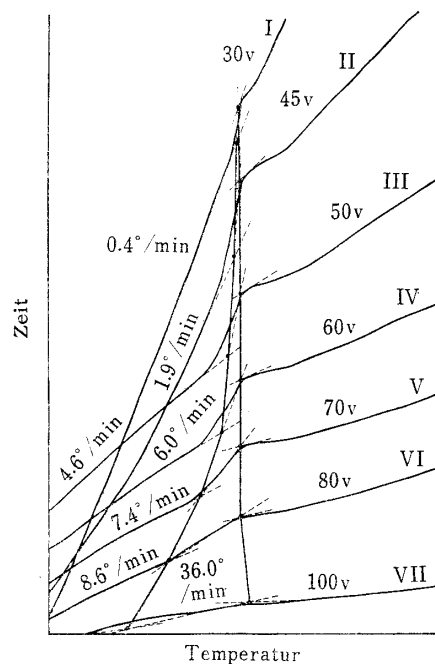


Abb. 5. Schmelzkurve von Phenacetin mittels der verschiedenen Aufheiz- und Vorschubgeschwindigkeiten

Probe: Phenacetin	10 mg
Glas-Körnchen	10 mg
Zimmertemp.:	23°
I : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/4 min
II : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/min
III : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/min
IV : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/min
V : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/min
VI : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/min
VII : Vorschub-Geschwindigkeit:	15 cm/min

an die Gleichgewichtsteile der Flüssig- und Festphasen (c) der Kurve wird geschnitten von der Tangente an die Kurve der stabilen Festphase (a) und von der Tangente an die Kurve der stabilen Flüssigkeitsphase (b). Die beiden Schnittpunkte entsprechen dem unteren und oberen Knickpunkt der Schmelzkurve (cf. Abb. 6). Da der obere Knickpunkt, wie schon erwähnt, von den Aufheizgeschwindigkeiten unabhängig ist und einen reproduzierbaren Wert zeigt, darf man ihn hier als Schmelzpunkt definieren.

#### Beziehung zwischen Erstarrungskurve und Erstarrungspunkt

Wenn nun die Erstarrungskurven mit den verschiedenen Abkuehlgeschwindigkeiten des Ofens aufgezeichnet werden, so ergibt sich,

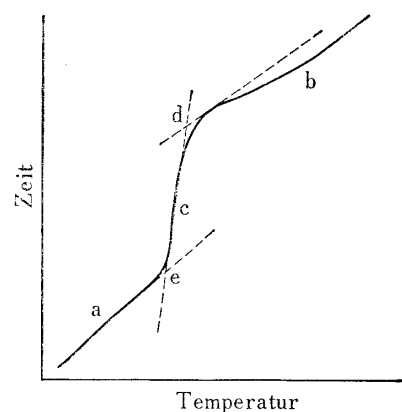


Abb. 6. Darstellung des Knickpunktes :

- a : Aufheizkurve fuer stabile feste Phase
- b : Aufheizkurve fuer stabile fluessige Phase
- c : Gleichgewichtsteil der Fluessig- und Festphase
- d : Oberer Knickpunkt
- e : Unterer Knickpunkt

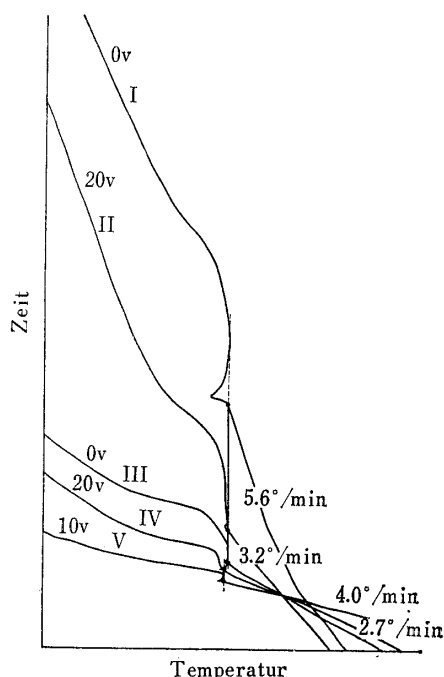


Abb. 7. Erstarrungskurve von Phenacetin mittels der verschiedenen Abkühl- und Vorschubgeschwindigkeiten

Probe :	10 mg
Glas-Körnchen	10 mg
Zimmertemp. :	23°
I : ohne Luftzufuhr	
Vorschub-Geschwindigkeit :	15 cm/15 sec
II : ohne Luftzufuhr	
Vorschub-Geschwindigkeit :	15 cm/min
III : unter Luftzufuhr	
Vorschub-Geschwindigkeit :	15 cm/min
IV : ohne Luftzufuhr	
Vorschub-Geschwindigkeit :	15 cm/4 min
V : ohne Luftzufuhr	
Vorschub-Geschwindigkeit :	15 cm/4 min

wie das Schema in Abb. 7 zeigt, daß die Spitze der Erstarrungskurve unabhängig von Abkühlgeschwindigkeiten einen bestimmten reproduzierbaren Wert zeigt. Unter dem hier genannten Erstarrungspunkt ist daher die entsprechende Temperatur des Höchstwertes der Erstarrungskurve zu verstehen. Der thermodynamischen Auffassung nach soll der Erstarrungspunkt bei der gleichen Temperatur liegen, wie der Schmelzpunkt. Aber der gesuchte Erstarrungspunkt aus der mittels der vorliegenden Apparatur aufgezeichneten Erstarrungskurve hat in den meisten Fällen, die Neigung, in niedrigeren Temperaturbereichen als der Schmelzpunkt zu stehen. Dies geht daraus hervor, daß jeder Schmelzstoff durch die verschiedenen Keimbildungsgeschwindigkeiten charakterisiert wird. Die Temperaturunterschiede zwischen den Erstarrungs- und Schmelzpunkten sind je nach Substanzen verschieden.

#### Beurteilung der Genauigkeit des Schmelz und Erstarrungspunktes aus der Zeit-Temperatur-Kurve nach der vorliegenden Methode :

Die Daten der Messung nach der Methode sind, wie aus der Tabelle I ersichtlich ist, als Gegenstände von den 13 verschiedenen WHO-Schmelzpunkt-Referenz-Substanzen ausgeführt worden. Daraus lässt sich schließen :

1. Aus den Zufallsfehlern, die bei den für einen gleichen Gegenstand wiederholt vorgenommenen Messungen oft entstehen können, ergibt sich zwar eine gewisse Abweichung, welche aber sehr klein ist, d.h. die durchschnittliche Standarddeviation für den Schmelzpunkt und für den Erstarrungspunkt beträgt  $0.04^\circ$  resp.  $0.05^\circ$ . Sie liegt innerhalb der Genauigkeit der zur Messung verwendeten Registriervorrichtung. Daraus folgt, daß bei der vorliegenden Methode die Tendenz zur höheren Standarddeviation bei höherem Schmelzpunkt nicht vorhanden ist.

2. Auf die Abweichung von einem wahren Wert werden wir hier nicht zu sprechen kommen. Man kann jedoch verstehen, daß die Differenz zwischen den Schmelz- und Erstarrungspunkten auf keinen Zufallsfehler zurückzuführen ist, sondern daß die beiden Punkte für jede Substanz als zwei verschiedene Konstanten dargestellt werden sollen. Die Differenz der beiden Konstanten ist je nach der Substanz verschieden.

3. Der nach der vorliegenden Methode ermittelte Schmelzpunkt kommt den durchschnittlichen Werten, wie man sie nach dem Gleichgewichtsverfahren nach der Thermo-Mikro-Methode Koflers erhält näher als der durchschnittliche Schmelzpunkt nach der Kapillar-Methode. Dagegen zeigt der Erstarrungspunkt nach der vorliegenden Methode einen weit niedrigeren Wert, verglichen mit den durchschnittlichen Schmelz- und Auftau-punkten (Collapse-Point) nach der Kapillar-Methode.

TABELLE I.

Subst.	Nach der vorliegenden Methode				WHO-Durchschnitt-Data und Standard-Deviationen			
	Schmelzpunkte			Erstarrungspunkte $\bar{Y}$	Standard-Deviationen			
	$\bar{X}$	$\bar{X}-\bar{x}'$	$\bar{X}-\bar{x}'''$		$\bar{x}$	$\bar{x}'$	$\bar{x}''$	$\bar{x}'''$
1. Azobenzol	68.05 (Q) (0.03)	-0.75	-0.25	67.35 (Q) (0.12)	67.8 (0.4)	68.8 (0.4)	68.8 (0.8)	68.3 (0.5)
2. Vanillin	81.20 (0.11)	-1.80	-0.60	—	81.7 (0.7)	83.0 (0.6)	82.5 (0.7)	81.8 (0.5)
3. Benzil	95.10 (Q) (0.08)	-0.90	-0.10	93.77 (Q) (0.00)	94.8 (0.7)	96.0 (0.8)	95.6 (0.7)	95.2 (0.4)
4. Acetanilid	114.32 (Q) (0.02)	-1.38	-0.68	113.03 (Q) (0.05)	114.4 (0.5)	115.7 (0.6)	115.4 (0.7)	115.0 (0.6)
5. Phenacetin	134.62 (G) (0.00)	-1.28	-0.58	133.48 (G) (0.08)	134.7 (0.8)	135.9 (0.6)	135.4 (0.5)	135.2 (0.4)
6. Benzanilid	163.23 (Q) (0.02)	-1.47	-0.27	162.46 (Q) (0.02)	163.5 (0.8)	164.7 (0.8)	164.5 (1.5)	163.5 (0.4)
7. Sulfanilamid	164.67 (Q) (0.06)	-1.23	+0.37	162.15 (Q) (0.02)	164.7 (0.9)	165.9 (0.7)	165.9 (1.5)	164.3 (0.6)
8. Salophen	191.81 (G) (0.04)	-0.29	+2.21	—	190.9 (1.5)	192.1 (1.4)	190.8 (1.6)	189.6 (0.7)
9. Sulfapyridin	191.37 (G) (0.00)	-1.33	+0.97	—	191.7 (1.1)	192.7 (1.1)	192.4 (1.2)	190.4 (0.8)
10. Dicyandiamid	209.15 (G) (0.03)	-1.05	-0.45	—	209.0 (1.1)	210.2 (1.0)	210.8 (0.9)	209.6 (0.5)
11. Saccharin	228.01 (Q) (0.07)	-1.29	-0.69	226.66 (Q) (0.02)	227.2 (1.3)	229.3 (0.7)	228.8 (1.1)	228.7 (0.7)
12. Kaffein	236.07 (Q) (0.00)	-0.93	+0.17	235.56 (Q) (0.00)	235.8 (1.1)	237.0 (0.7)	236.9 (1.9)	235.9 (0.5)
13. Phenolphthalein	262.59 (G) (0.02)	-0.41	+0.89	—	261.5 (1.6)	263.0 (1.3)	263.0 (2.5)	261.7 (1.1)
$\Sigma$	2140.19			1194.46	2137.6	2154.4	2150.8	2139.2
Durchschnitt :	164.63 (0.04)			149.31 (0.05)	164.4 (0.96)	165.7 (0.82)	165.4 (1.20)	164.6 (0.59)

## Anmerkung :

$\bar{x}$  und  $\bar{x}'$  zeigen den Auftaupunkt resp. Schmelzpunkt nach der Kapillar-Methode, und  $\bar{x}''$  und  $\bar{x}'''$  zeigen Durchgehend- resp. Gleichgewicht- Verfahren nach Kofler's Thermo-Mikro-Methode.

Die mit (G) oder (Q) bezeichnete Zahl gibt in °C einen Messwert fuer eine Mischung aus einer Probe von 10 mg und einem Zusatzmittel von 10 mg Gold resp. Quarz.

Die in Klammer angegebene Zahl bedeutet eine Standard-Deviation der betreffenden Substanzen nach den denentsprechenden Methoden.

Fehlt die Angabe eines Erstarrungspunktes, so zeigt das, dass in den dazugehoerigen Substanzen keine Erstarrungskurve auftritt.

Ich moechte hiermit Herrn Prof. Dr. E. Ochiai, Ehren-Professor der Universität Tokio, der mir bei dieser Arbeit verschiedene Anweisungen gegeben hat, sowie Herrn Dr. T. Itai vom Staatlichen Hygienischen Institut, der die wertvollen WHO-Materialien zur Verfuegung stellte und mich bei der Durchfuehrung der Versuche unterstuetzte, herzlichsten Dank aussprechen.

## Zusammenfassung

Eine Apparatur zur Schmelz- und Erstarrungspunktmessung zur Kontrolle fuer Arzneimittel, sowie die Diskussion der mit der vorliegenden Apparatur erzielten Messergebnisse bei Proben von WHO-Schmelzpunkt-Referenz-Substanzen wurden angegeben. Die Methode unter Verwendung der vorliegenden Apparatur, welche mit Thermistoren und einer Registriervorrichtung versehen wird, ist dadurch gekennzeichnet, daß sie es ermoeeglicht, aus einer aufgezeichneten thermodynamischen Gleichgewichtskurve den Schmelz- und Erstarrungspunkt einer Substanz objektiv mit großer Genauigkeit (etwa  $\pm 0.2^\circ$ ) zu bestimmen. Die Messung erfolgt mit einer Milligramm-Ordnung der Probe, der man ein entsprechendes, thermisch bestaendiges, indifferentes Zusatzmittel, z.B. Koernchen aus reinem Gold, Quarz, Hartglas oder dgl. zusetzt.

(Eingegangen am 10. Juli, 1963)