

Beschreibung der Versuche

Das Äthansulfonsäurechlorid wurde analog dem Methansulfonsäurechlorid (vergl. ^{1b}) hergestellt. Sdp._g 50°; n_D^{20} 1.4495; Ausb. 48% d. Theorie.

Das äthansulfonsaure Kalium bereiteten wir ähnlich wie die methansulfonsauren Salze^{1a}). Es kristallisierte zunächst das Dihydrat, das durch mehrstündiges Trocknen bei 160° entwässert wurde. Der Kaliumgehalt wurde als Sulfat bestimmt.

$KC_2H_5SO_3$ Ber. K 26.37 Gef. K 26.26, 26.28

$KC_2H_5SO_3 \cdot 2H_2O$ Ber. K 20.99 Gef. K 21.10, 21.07

Aufnahmetechnik: Zur Aufnahme der Raman-Spektren bedienten wir uns der in den vorangehenden Mitteilungen¹) (ausführliche Darstellung⁷)) beschriebenen Geräte. Das IR-Spektrum wurde mit einem Perkin-Elmer-Spektrographen, Mod. 21 (NaCl-Prisma). gemessen*). Die Substanz wurde in KBr gepreßt.

286. Friedrich Weygand, Helmut Weber, Eturô Maekawa und Gerd Eberhardt: Über den Nachweis von aliphatischen und aromatischen primären Aminen mit *o*-Diacetyl-benzol

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin-Charlottenburg]

(Eingegangen am 1. Juni 1956)

Eine gut reproduzierbare Synthese von *o*-Diacetyl-benzol wird angegeben. Es bildet nicht nur, wie bekannt war, mit gewissen Aminosäuren, insbesondere mit Glycin und α -Alanin, einen violettblauen Farbstoff, sondern auch mit allen untersuchten primären aliphatischen Aminen. Daher eignet es sich besonders zum Nachweis der aus α -Aminosäuren durch Decarboxylierung hervorgehenden Amine. Ferner reagiert es in gleicher Weise mit vielen primären aromatischen und einigen heterocyclischen Aminen.

Bei Versuchen zur Darstellung von *o*-Diacetyl-benzol wurde im Laboratorium von Conrad Weygand in Leipzig beobachtet, daß die menschliche Haut durch diese Verbindung intensiv violett gefärbt wird. Auf Vorschlag von C. Weygand hin untersuchte H. Voss¹) die Brauchbarkeit von *o*-Diacetyl-benzol zum histochemischen Nachweis von Eiweiß. Nach dem Tode C. Weygands beschrieben R. Riemschneider²) und W. Winkler³) Synthesen von *o*-Diacetyl-benzol. Die gleichen Autoren berichteten auch über die Farbreaktionen des *o*-Diacetyl-benzols mit Aminosäuren, Peptiden und nativem Eiweiß^{3,4}). Danach kann man vorzugsweise Glycin und Glycyl-peptide sowie auch α -Alanin nachweisen, und zwar in Verdünnungen von 1:20000 bis 1:50000, bei anderen α -Aminosäuren ist die Farbreaktion viel weniger empfindlich.

Im Rahmen unserer Arbeiten über die Synthese von Naphthochinonen, wobei z. B. die Überführbarkeit von 1-Acetyl-2-propionyl-benzol mit Selen-

⁷) A. Simon, H. Kriegsmann u. E. Steger, Z. physik. Chem. **205**, 181, 190 [1956].

*) Hrn. Prof. Dr. Luther, der Hrn. Dutz freundlicherweise Gelegenheit gab, das IR-Spektrum in Braunschweig zu messen, sei auch an dieser Stelle herzlich gedankt.

¹) Z. mikroskop. anatom. Forsch. **49**, 51 [1941].

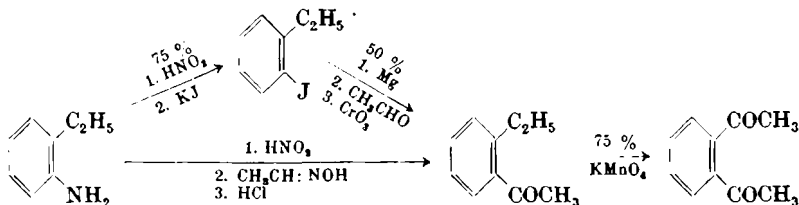
²) Gazz. chim. ital. **77**, 607 [1947]. ³) Chem. Ber. **81**, 256 [1948].

⁴) R. Riemschneider u. C. Weygand, Mh. Chem. **86**, 201 [1955].

dioxyd in 2-Hydroxy-3-methyl-naphthochinon-(1.4) gezeigt wurde⁵⁾, hatten wir uns mit der Synthese von *o*-Diacetyl-benzolen zu beschäftigen. Dabei arbeiteten wir den folgenden Reaktionsweg zur Darstellung von *o*-Diacetylbenzol aus, der mit Sicherheit zur kristallinen Verbindung führt.

Äthylbenzol wird zu *o*- und *p*-Nitro-äthylbenzol nitriert⁶⁾, die *o*-Verbindung durch fraktionierte Destillation i. Vak. abgetrennt und mit Wasserstoff und Raney-Nickel zum *o*-Amino-äthylbenzol reduziert. Daraus wird durch Diazotierung und Umsetzung mit Kaliumjodid das *o*-Jod-äthylbenzol dargestellt, das, als Grignard-Verbindung mit Acetaldehyd umgesetzt und ohne Isolierung des entstehenden Carbinols mit Chromsäure oxydiert, das *o*-Äthylacetophenon liefert. Nun wird in bekannter Weise^{2,3)} mit Kaliumpermanganat in Magnesiumnitratpuffer zum *o*-Diacetylbenzol oxydiert. Die Destillation i. Vak. liefert ein sofort kristallisierendes Produkt (Schmp. 38°). Es kann aus Äther unter Kühlung mit Trockeneis-Aceton umkristallisiert werden und fällt dabei in feinen, farblosen Nadeln an. Die Ausbeute beträgt 25 % d. Th., ber. auf *o*-Amino-äthylbenzol unter Berücksichtigung nicht oxydierten *o*-Äthylacetophenons, das wieder oxydiert werden kann.

Man kann auch nach einer von W. F. Beech⁷⁾ angegebenen Methode das *o*-Amino-äthylbenzol diazotieren und mit Acetaldehydoxim in Cu(I)-Salzlösung direkt über sein Oxim in *o*-Äthylacetophenon überführen. Jedoch erhält man hierbei ein unreineres Produkt, das durch eine Oxydation mit Kaliumpermanganat gereinigt werden kann.



Bei der Ausführung der Farbreaktion mit *o*-Diacetylbenzol auf primäre aliphatische Amine hat es sich als günstig erwiesen, zunächst die Komponenten in wäßriger Lösung unter Zusatz von Natriumhydrogencarbonat einige Zeit – 5 bis 15 Min. – bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Hierbei fällt vielfach ein farbloses oder gelbliches Produkt aus⁸⁾. Nach Zusatz von Eisessig bildet sich beim Stehenlassen oder schneller beim Erhitzen der violette Farbstoff. Werden die Hydrochloride oder Sulfate der Amine verwendet unter Zusatz von wenig Hydrogencarbonat, so können zunächst andere Farbnuancen auftreten (Tafel 1). Von besonderem Interesse dürfte sein, daß die durch Decarboxylierung aus α -Aminosäuren hervorgehenden primären Amine noch in großer Verdünnung auf Papierchromatogrammen und Elektropherogrammen nachgewiesen werden können. Ferner reagieren ω -Aminocarbonsäuren,

⁵⁾ F. Weygand, H. Weber u. G. Eberhardt, Angew. Chem. **66**, 680 [1954].

⁶⁾ E. L. Cline u. E. E. Reid, J. Amer. chem. Soc. **49**, 3153 [1927].

⁷⁾ J. chem. Soc. [London] **1954**, 1297.

⁸⁾ Ähnlich wie mit Ammoniak (W. Winkler, Chem. Ber. **81**, 256 [1948]).

wie β -Alanin und γ -Amino-buttersäure, positiv, ebenso solche Derivate von Ornithin und Lysin, deren ω -ständige Aminogruppe frei ist. Harnstoff gibt eine rötliche Farbreaktion, was offenbar auf einem Übergang in Ammoniumcyanat beruht: Die Farbstoffbildung erfolgt viel langsamer als bei den direkt reagierenden Verbindungen. Es ist bekannt, daß Ammoniak eine Farb-reaktion mit *o*-Diacetyl-benzol gibt³⁾. Glucosamin sowie alle sek. und tert. Amine (Tafel 1) reagieren nicht.

Tafel 1. Farbreaktionen prim. aliphatischer Amine mit *o*-Diacetyl-benzol

Verbindung	in wäßr. Natrium- hydrogencarbonat (ca. 5%) nach wenigen Min.	nach Ansäuern voriger Lösg. mit Essigsäure und Erhitzen
Äthanolamin-hydrochlorid	violett	violett
Agmatin-sulfat	violett	violett
Äthylamin-hydrochlorid	rotviolett	violett
Amino-acetonitril-sulfat	rosa	violett
<i>p</i> -Aminomethyl-sulfonamid ^{*)}		violett ^{*)}
<i>iso</i> -Amylamin-hydrochlorid	schwach rosa	violett
Cadaverin-dihydrochlorid	rotviolett	violett
Histamin-hydrochlorid	rötlich	violett
Methylamin-hydrochlorid	rot	violett
α -Phenyl-äthylamin	farblos ^{**)}	carmin bis violett
β -Phenyl-äthylamin	hellrosa	violett
<i>n</i> -Propylamin	rosa	violett
Isopropylamin	rosa	violett
Putrescin-hydrochlorid	carmin	violett
Thyrocidin	rosa	blau
2,2,2-Trifluor-äthylamin-hydrochlorid ..	farblos	violett (langsam)
Tryptamin-hydrochlorid	violett	violett
Tyramin-hydrochlorid	violett	violett
β -Alanin	violett	violett
γ -Amino-buttersäure	violett	violett
<i>N</i> α -Trifluoracetyl-ornithin		violett
<i>N</i> α -Trifluoracetyl-lysin		violett
<i>N</i> β -Trifluoracetyl-ornithin		negativ
<i>N</i> ϵ -Trifluoracetyl-lysin		negativ
Glucosamin		negativ
Harnstoff		rötlich ^{***)}
Guanidin-carbonat		negativ
Glykocyamin		negativ
Kreatin		negativ
Kreatinin		negativ
Dimethylamin		negativ
Diäthylamin		negativ
Triäthylamin		negativ
Cholin		negativ
Cysteamin		violett ^{****)}

^{*)} Marfanil, als Hydrochlorid in wäßr. Lösung oder auf Papierchromatogrammen schnelle Farbstoffbildung, in essigsaurer Lösg. verzögerte Reaktion.

^{**)} Ohne Hydrogencarbonat.

^{***)} In essigsaurer Lösg. oder auf Papierchromatogrammen langsame Farbstoffbildung.

^{****)} Beim Schütteln mit Luft oder unter Zusatz von wenig Wasserstoffperoxyd.

Mit vielen prim. aromatischen Aminen ist die Farbreaktion mit *o*-Diacetyl-benzol in essigsaurer Lösung sehr intensiv⁵⁾ (Tafel 2). Durch Besprühen mit einer 1-proz. 2*n* essigsauen *o*-Diacetyl-benzol-Lösung lassen sich in

Tafel 2. Farbreaktionen primärer aromatischer Amine mit *o*-Diacetyl-benzol

Verbindung	mit <i>o</i> -Diacetyl-benzol in essigsaurer Lösung	Verbindung	mit <i>o</i> -Diacetyl-benzol in essigsaurer Lösung
Anilin	+	<i>p</i> -Amino-salicylsäure	+
<i>o</i> -Phenylendiamin ..	+	3-Amino-2-hydroxy-benzoesäure	+
<i>p</i> -Phenylendiamin ...	+	3-Amino-phthalsäure-hydrazid	+ schwach
<i>o</i> -Toluidin	+	7-Amino-4.5.6-trimethoxy-phthalid	+ schwach
<i>m</i> -Toluidin	+	α -Naphthylamino-disulfonsäure-(3.8)	+ schwach
<i>p</i> -Toluidin	+	5-Amino-naphthol	+ schwach
<i>o</i> -Amino-äthylbenzol.	+	<i>o</i> -Nitranilin	—
<i>o</i> -Amino-phenol	+	<i>m</i> -Nitranilin	+
<i>p</i> -Amino-phenol	+	<i>p</i> -Nitranilin	+ sehr schwach
<i>m</i> -Amino-acetophenon	—	3-Amino-4-hydroxy-diphenyl	+
Anthranilsäure	+	2-Amino-anthrachinon	—
<i>p</i> -Amino-benzoesäure	+	2-Amino-naphthalin-carbonsäure-(3)	—

geeigneten Fällen noch 10^{-6} g solcher Amine auf Papierchromatogrammen nachweisen (Tafel 3). Die Farbstoffbildung geht bei 80° im Trockenschrank innerhalb von 10 bis 15 Min. bei den niedrigsten noch nachweisbaren Mengen vor sich.

Tafel 3. Papierchromatographischer Nachweis von aromatischen prim. Aminen mit *o*-Diacetyl-benzol in essigsaurer Lösung

	1 γ	2 γ	10 γ
<i>o</i> -Phenylendiamin ...	—	**	***
Anthranilsäure	*	***	***
<i>p</i> -Amino-benzoesäure	*	***	***
<i>p</i> -Toluidin	*	***	***
<i>p</i> -Phenylendiamin ..	**	***	***

* mäßige, ** sehr deutliche, *** intensive Farbstoffbildung.

Auch alle *p*-Amino-benzolsulfonamide, wie Sulfapyridin, Sulfathiazol und viele andere lassen sich leicht mit *o*-Diacetyl-benzol nachweisen, ebenso das Marfanil (Tafel 1), das nicht wie die anderen Sulfonamide durch Diazotierung und Kuppelung bestimmbar ist.

Nur langsam und schlecht erfolgte die Farbreaktion bei solchen aromatischen Aminen, die in Nachbarstellung zur Aminogruppe Carbonylgruppen

tragen, wie z. B. beim 3-Amino-phthalhydrazid oder beim 7-Amino-4.5.6-trimethoxy-phthalid (Wasserstoffbrücke?). Auch α -Naphthylamine zeigen sehr schwache Reaktion, was auf sterische Hinderung zurückgeführt werden kann. Gar nicht reagieren *o*-Nitrilanilin, 2-Amino-anthrachinon, 2-Amino-naphthalin-carbonsäure-(3), positiv hingegen *m*-Nitrilanilin, 3-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, 5-Amino-2-hydroxy-benzoesäure, *o*-Amino-phenol, 3-Amino-4-hydroxy-diphenyl, sehr schwach *p*-Nitrilanilin.

Die folgenden heterocyclischen Amine geben keine Farbreaktion mit *o*-Diacetyl-benzol: α - und γ -Amino-pyridin, α,α' -Diamino-pyridin, 4-Amino-2.6-dimethyl-pyridin, Adenosin, Folsäure, 4-Amino-imidazol-carbonsäure-(5)-amid, weil entweder die Basizität der Aminogruppen zu gering ist oder die Aminogruppen in der Iminoform vorliegen. Positiv hingegen reagieren 5-Amino-uracil und 2.4.5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin, die eine echte Aminogruppe in der 5-Stellung besitzen. β -Amino-pyridin gibt nach 12 Stdn. sehr schwache Reaktion.

Der aus Isopropylamin und *o*-Diacetyl-benzol gebildete Farbstoff zeigt in Eisessig ein Maximum bei 586 m μ und eine Schulter bei 550–560 m μ , der aus Anilin gebildete ein Maximum bei 592 m μ und ein etwas tieferes bei 562 m μ . Von den im Zuge unserer Arbeiten über Naphthochinone hergestellten *o*-Diacetyl-benzolen geben das *o*-Propionyl-acetophenon und das *o*-Butyryl-acetophenon mit Anilin eine Blaufärbung, das 3.4-Dimethoxy-2-propionyl-acetophenon und das 3.4.5.6-Tetramethoxy-2-butyryl-acetophenon eine Grünfärbung.

Herrn Prof. Dr. J. Schormüller danken wir für die Überlassung von aliphatischen Aminen.

Beschreibung der Versuche

o-Nitro-äthylbenzol⁶⁾: Zu 700 g Äthylbenzol, die sich in einem mit Eis gekühlten Kolben befinden, wird eine Mischung von 510 g konz. Salpetersäure ($d = 1.4$) und 675 g konz. Schwefelsäure im Laufe von 6 Stdn. tropfenweise unter Rühren zugegeben, wobei die Temperatur 40° nicht übersteigen soll. Nach weiterem 3 stdg. Rühren bei 20° wird die Temperatur im Laufe von 4 Stdn. allmählich auf 100° erhöht und schließlich 2 Stdn. dort gehalten. Nach dem Erkalten trennt man die ölige Phase ab und fraktioniert i. Vak. über eine Widmer-Spirale: Sdp.₁₆ 36–40°, 143 g Äthylbenzol; 112–115°, 311 g *o*-Nitro-äthylbenzol; 115–120°, 35 g Zwischenfraktion; 120–125°, 298 g *p*-Nitro-äthylbenzol; 50 g Rückstand.

o-Amino-äthylbenzol: 20 g *o*-Nitro-äthylbenzol werden in 80 ccm Methanol nach Zugabe von 2–3 Spatelspitzen Raney-Nickel unter Normaldruck mit Wasserstoff reduziert. Nach Aufnahme der berechneten Menge wird das Methanol i. Vak. abdestilliert. Es hinterbleibt *o*-Amino-äthylbenzol als schwach gelbes Öl in fast quantitativer Ausbeute. Sdp.₁₀ 94–96°, n_D^{20} 1.5598.

$C_8H_{11}N$ (121.2) Ber. C 79.20 H 9.15 N 11.54 Gef. C 79.38 H 9.24 N 11.50

Zur Charakterisierung wird eine Probe mit Acetanhydrid in *o*-Acetamino-äthylbenzol verwandelt. Schmp. 111°⁹⁾; farblose Nadeln aus heißem Wasser.

o-Jod-äthylbenzol: Eine auf 0–5° Innentemperatur gekühlte Lösung von 12 g *o*-Amino-äthylbenzol in 60 ccm Wasser und 20 ccm konz. Salzsäure wird in einem geräumigen Kolben mit 7.2 g Natriumnitrit in 100 ccm Wasser in üblicher Weise

⁹⁾ H. Paucksch, Ber. dtsch. chem. Ges. 17, 768 [1884].

diazotiert. Nach beendeter Diazotierung gibt man eine konz. wäßrige Lösung von 17 g Kaliumjodid auf einmal zu. Es beginnt sofort oder bei gelindem Erwärmen eine lebhaft Stickstoffentwicklung. Zur Vervollständigung der Reaktion wird auf 50–60° erwärmt. Nun wird die Lösung alkalisch gemacht und das *o*-Jod-äthylbenzol mit Wasserdampf destilliert. Ausb. nach nochmaliger Rektifikation: 17–18 g (75–80% d. Th.). Sdp.₁₃ 92–95°; n_D^{20} 1.5922.

C₈H₉J (232.1) Ber. C 41.40 H 3.91 Gef. C 41.13 H 3.78

o-Äthyl-acetophenon aus *o*-Jod-äthylbenzol: In einen dreifach tubulierten Kolben, der mit Rückflußkühler, Tropftrichter und Rührer versehen ist, werden 3 g Magnesium gegeben und mit Äther überschichtet. Nach Zugabe eines Körnchen Jods wird eine Lösg. von 23 g *o*-Jod-äthylbenzol in 50 ccm absol. Äther tropfenweise unter Rühren zugesetzt. Nach Abklingen der Reaktion wird noch einige Zeit zum Sieden erhitzt.

Der Grignard-Lösung werden unter Eiskühlung 6 g Acetaldehyd tropfenweise zugefügt. Abschließend wird erwärmt. Nach Hydrolyse mit Eis und 2*n* H₂SO₄ wird die äther. Phase abgetrennt. Die wäßr. Phase wird noch einmal mit Äther ausgezogen, die äther. Lösungen werden mit Natriumcarbonatlösung gewaschen. Der Äther wird sodann i. Vak. abdestilliert. Der im Kolben verbliebene flüssige Rückstand wird mit 40 ccm Eisessig, sodann portionsweise mit einer Lösung von 4 g Chromtrioxyd in 20–30 ccm Eisessig + wenig Wasser versetzt. Nach Beendigung der Wärmeentwicklung wird noch kurze Zeit auf dem Wasserbad erhitzt. Nach Verdünnen mit Wasser wird ausgeäthert, die äther. Phase mit verd. Natriumcarbonatlösung gewaschen und der Äther verdampft. Die bei der Vak.-Destillation erhaltene Fraktion Sdp.₁₄ 98–105° ist das gesuchte *o*-Äthyl-acetophenon. Ausb. 7.5 g (50% d. Th.). Sdp.₁₈ 108° (Lit.^{2,3}) 108°).

o-Äthyl-acetophenon aus *o*-Äthyl-anilin: 30 g *o*-Äthyl-anilin werden mit 57 ccm konz. Salzsäure, 50 ccm Wasser und 100 g Eis versetzt und mit 17.5 g Natriumnitrit in 25 ccm Wasser bei 0–5° diazotiert. Das Diazoniumsalz wird mit 22 g krist. Natriumacetat in 35 ccm Wasser gegen Kongorot neutralisiert. Die Lösung des Diazoniumsalzes wird unter Rühren bei 10–15° zu einer Lösung von 22.5 g Acetaldehydoxim, 12.5 g Kupfersulfat, 1 g Natriumsulfat und 165 g krist. Natriumacetat in 200 ccm Wasser gegeben. Nach 1 Stde. wird mit konz. Salzsäure kongosauer gemacht, weitere 230 ccm konz. Salzsäure werden zugefügt. Es wird 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht und sodann mit Wasserdampf destilliert: 15 g rotes Öl. Durch Destillation i. Vak. 10 g gelbliches Öl. Sdp.₁₈ 110°. Ausb. 25–30% d. Theorie. Es empfiehlt sich, die Verbindung mit wenig Kaliumpermanganat in warmem Wasser + Magnesiumnitrat zu behandeln und dann nach einmal zu destillieren.

o-Diacetyl-benzol^{2,3}): 15 g *o*-Äthyl-acetophenon, dargestellt aus *o*-Jod-äthylbenzol, werden in 200 ccm Wasser, das 50 g Magnesiumnitrat enthält, mit 25 g Kaliumpermanganat bei 65–70° oxydiert. Das benötigte Permanganat wird in möglichst wenig warmem Wasser gelöst und jeweils dann zutropft, wenn die violette Farbe verschwunden ist. Unter intensivem Rühren ist die Reaktion nach 3 Stdn. beendet. Es wird vom Mangandioxyd-hydrat abgesaugt und dieses gut mit Äther gewaschen. Das wäßr. Filtrat wird nun mit diesem Äther kontinuierlich 12 Stdn. lang extrahiert. Es empfiehlt sich, das Mangandioxyd-hydrat noch mit Methanol zu waschen und den beim Verdampfen des Methanols verbleibenden Rückstand zusammen mit dem Ätherextrakt über Calciumchlorid zu trocknen. Durch Dest. i. Vak. werden erhalten: Sdp.₁₈ 105–110°, 8 g *o*-Äthyl-acetophenon; 110–150°, 6 g, die, unter 0.05 Torr nochmals destilliert, neben 2 g Vorlauf bei 105° 3.5 g öliges *o*-Diacetyl-benzol ergeben, das im Eisschrank sofort kristallisiert. Aus Äther läßt es sich unter Kühlung auf –60° sehr gut umkristallisieren. Farblose Nadeln, Schmp. 38°). Ausb. 70%, bezogen auf umgesetztes *o*-Äthyl-acetophenon.