

Im Falle der Chlorierung des Nitro-benzols findet *meta*-Substitution statt, da die Reaktion 7b rascher abläuft als 7a. Bei der Nitrierung des Chlor-benzols dagegen reagiert das *ortho*-ständige H-Atom, da auch die Reaktion 8a die größere Geschwindigkeit hat.

Die aufgezeigten Beziehungen sollen nochmals zusammenfassend erläutert werden: Das Bestreben, die chemischen Eigenschaften komplizierter organischer Moleküle aus den Eigenschaften der einzelnen Substituenten zu deuten, begegnet großen Schwierigkeiten. Diese sind vor allem darin begründet, daß es nicht immer möglich ist, den Substituenten experimentell gesicherte Eigenschaften zuzuschreiben. Es erscheint deshalb nützlich, Beziehungen zwischen dem chemischen Verhalten der einfachen und der komplizierten, vielatomigen Moleküle aufzusuchen. Praktisch brauchbar ist dieses Verfahren, wenn übersehbare Zusammenhänge zwischen der gegenseitigen Beeinflussung direkt und indirekt verknüpfter Substituenten bestehen.

Beim Benzol kann die gegenseitige Beeinflussung zweier Substituenten infolge einer auch theoretisch begründeten Parallelität aus den Eigenschaften derjenigen Verbindung abgeleitet werden, die nur aus den beiden Substituenten besteht. Im Rahmen dieser Abschätzung des gegenseitigen Einflusses ist es dann möglich, die chemischen Eigenschaften der Benzol-Derivate weitgehend aufzugliedern und einzureihen. Es wird damit auch eine neue Erklärung der sterischen Hinderung und des Orientierungs-Effektes gewonnen.

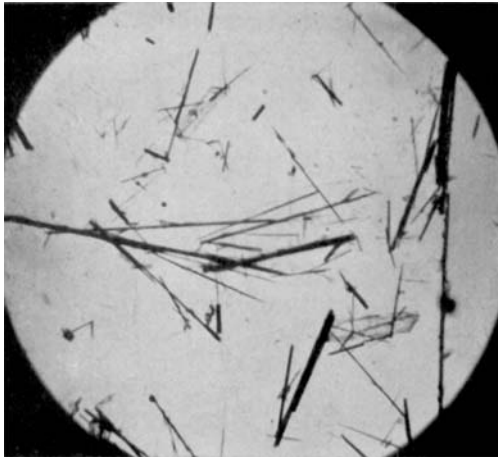
## 182. Harry Willstaedt: Über die Farbstoffe des echten Reizkers (*Lactarius deliciosus* L.) (II. Mitteil.<sup>1)</sup>).

[Aus d. Medizin.-chem. Institut d. Universität Uppsala.]

(Eingegangen am 16. März 1936.)

In der I. Mitteil.<sup>1)</sup> wurde bereits erwähnt, daß der echte Reizker, neben Lactaroviolin, mehrere andere lipoid-lösliche Farbstoffe enthält, darunter einen blauen, der im Aluminiumoxyd-Chromatogramm weniger stark adsorbiert wird und eine blaue Zone bildet, die bei der Entwicklung mit reinem Petroläther allmählich durch die ganze Säule wandert. Es gelang nun, größere Mengen dieses blauen Farbstoffs zu erhalten. Alle Versuche, ihn zur Krystallisation zu bringen, schlugen jedoch fehl (Ausfrieren von farblosen Begleitern mit Aceton-Kohlensäure-Schnee, wiederholtes Chromatographieren). Es mußte daher angenommen werden, daß dieser blaue Farbstoff auch in reinem Zustand eine Flüssigkeit darstellt. An flüssigen blauen Verbindungen des Pflanzenreiches kennt man nun bereits früher die Azulene, blaue Kohlenwasserstoffe, die in einer Reihe von ätherischen Ölen.

<sup>1)</sup> I. Mitteil.: B. 68, 333 [1935].



Trinitrobenzolat des Azulens aus *Lactarius deliciosus* L.

Harry Willstaedt, B. **69**, 997 [1936].

angetroffen werden<sup>2)</sup>, die aber auch in manchen Teerarten vorkommen<sup>3)</sup>, und die ferner bei der Dehydrierung gewisser Sesquiterpene mit Schwefel oder Selen entstehen<sup>4)</sup> <sup>5)</sup> <sup>6)</sup>. In Pilzen ist dagegen meines Wissens bisher kein Vertreter dieser Stoffgruppe aufgefunden worden.

Der blaue Farbstoff aus Reizkern geht, wie schon früher mitgeteilt wurde, im Gegensatz zu Lactaroviolin nicht aus Petroläther in verd. Salzsäure, dagegen geht er aus Petroläther in 70-proz. Phosphorsäure und läßt sich durch Verdünnen mit Wasser wieder in Petroläther treiben. Er ist im Vakuum destillierbar und in der Dampfphase farblos. Alle diese Eigenschaften sind für Azulene in der Literatur beschrieben. Eine farblose, gut krystallisierende, aber bei Handwärme bereits schmelzende Verbindung begleitet den Farbstoff recht hartnäckig, läßt sich aber teils auf Grund ihrer Krystallisierbarkeit<sup>7)</sup>, teils auf Grund ihres höheren Siedepunktes weitgehend abtrennen. Über diese Verbindung wird in einer späteren Arbeit näher berichtet werden. Von den letzten Spuren der farblosen Substanz wird das Azulen durch Überführung in eine feste Molekularverbindung befreit. Es bildet z. B. ein Pikrat, doch ist dies nicht sehr beständig. Wenn die Lösung bei der Darstellung bis zum Siedepunkt des Alkohols erhitzt wird, so erhält man bei der Zersetzung des Pikrats mit Natronlauge kein blaues, sondern ein grünes Produkt zurück, auch ergeben die Analysen eines so gewonnenen Pikrats Werte, die auf eine stattgehabte Oxydation des Azulens deuten. Mit Dichlor-pikrinsäure wird eine solche Oxydation nicht beobachtet, und man erhält bei der Zersetzung blaue Lösungen zurück, doch lassen die Löslichkeits-Verhältnisse des Dichlor-pikrats es zur Isolierung des Azulens als ungeeignet erscheinen. Ich verdanke den HHrn. Dr. A. St. Pfau und Dr. Pl. Plattner, von deren Arbeiten über die Konstitution der Azulene<sup>8)</sup> ich auf dieser Stufe meiner Arbeit Kenntnis erhielt, den Hinweis auf die Eignung der Trinitro-benzolate zur Isolierung der Azulene in Form fester und stabiler Molekülverbindungen. Das Azulen aus *Lactarius deliciosus* gibt ein gut krystallisierendes Trinitro-benzolat (vergl. Abbild.) vom Schmp. 122—123° und der für  $C_{15}H_{18}, C_8H_3O_6N_3$  zu erwartenden Zusammensetzung. Für die Konstitutionserforschung des Lactaroviolins<sup>1)</sup>, des rotvioletten Farbstoffs aus dem Reizker, gibt die Auffindung von Azulen im gleichen Pilz insofern einen Fingerzeig, als die Annahme nicht unplausibel erscheint, daß zwischen den Verbindungen  $C_{15}H_{18}$  (Azulen) und  $C_{15}H_{14}O$  (Lactaroviolin) konstitutionelle Beziehungen bestehen.

<sup>2)</sup> vergl. F. W. Semmler, *Ätherische Öle*, Band III (Leipzig 1906).

<sup>3)</sup> Herzenberg u. Ruhemann, B. **58**, 2249 [1925]; Ruhemann u. Levy, B. **60**, 2459 [1927]; Schläpfer u. Stadler, *Helv. chim. Acta* **9**, 185 [1926].

<sup>4)</sup> Ruzicka u. Rudolph, *Helv. chim. Acta* **9**, 118 [1926].

<sup>5)</sup> Ruzicka u. Haagen-Smit, *Helv. chim. Acta* **14**, 1104 [1931].

<sup>6)</sup> vergl. z. B. Melville, *Journ. Amer. chem. Soc.* **55**, 2462, 3288 [1933]; Birrell, ebenda **56**, 1248 [1934], **57**, 893 [1935]; Komppa, *Kong. Norske Vidensk. Selsk. Skr.* **1933**, Nr. 1; C. **1933** II, 3122.

<sup>7)</sup> Birrell<sup>6)</sup> konnte das bei der Dehydrierung aus Guajakholzöl entstehende Azulen krystallin erhalten, das Azulen aus *Lactarius deliciosus* widerstand aber bisher allen Krystallisations-Versuchen.

<sup>8)</sup> Eine Notiz über diese Arbeiten erschien in *Verhandl. Schweizer. Naturforsch. Ges.*, 116. Jahresversamml., **1935**, 313.

Es war nun erwünscht, das Lactarien-Azulen mit einem anderen natürlichen Azulen zu vergleichen. Am reichsten an Azulen scheinen nach den Angaben der Literatur Kamillenöl und Schafgarbenöl zu sein. Ich stellte mir deshalb durch Chromatographie einer petrolätherischen Lösung von Kamillenöl an Aluminiumoxyd eine Lösung von dessen Azulen (Chamazulen) her. Ein Gemisch von Chamazulen und Lactarien-Azulen erwies sich im Aluminiumoxyd-Chromatogramm nicht als trennbar. Es stand mir weiterhin durch das Entgegenkommen der HHrn. Dr. Pfau und Dr. Plattner, für das auch hier bestens gedankt sei, eine Probe von S-Guajazulen zur Verfügung, einem Azulen, das aus Guajol durch Dehydrierung mit Schwefel gebildet wird<sup>9)</sup>. Dieses zeigte indessen eine bedeutend mehr violettstichige Farbe, als das aus Reizkern gewonnene Azulen und ließ sich von diesem im Aluminiumoxyd-Chromatogramm völlig abtrennen. Das S-Guajazulen wurde dabei schwächer adsorbiert und zeigte auch im Adsorbat eine stärker violettstichige Nuance als das Pilz-Azulen. Es schien deshalb, als sei das Lactarien-Azulen mit dem Chamazulen identisch und ein eigener Name dafür überflüssig, doch liegt der Schmp. des Chamazulens nach einer Privatmitteil. der HHrn. Dr. Pfau und Dr. Plattner bei 132<sup>0</sup>. Die beiden Azulene sind deshalb nicht identisch. Für das Azulen aus Lactarien sei deshalb der Name Lactarazulen vorgeschlagen.

Präzise Angaben über die Lage der Absorptionsmaxima von Azulenen im sichtbaren Spektrum fehlen bisher<sup>9)</sup>, dagegen ist das Absorptionsspektrum im Ultraviolett recht eingehend untersucht worden<sup>5)</sup>. Die Absorptionsmaxima der drei von mir untersuchten Azulene (Chamazulen, Azulen aus Reizkern und S-Guajazulen) im sichtbaren Gebiet zeigen untereinander vollkommen identische Lage, und zwar sowohl in Petroläther als auch in Äther als Lösungsmittel. Sie wurden bei 662, 632, 603, 581 und 556 m $\mu$  gefunden. Die stärkste Bande ist die bei 662 m $\mu$ , dann folgt diejenige bei 603 m $\mu$ <sup>10)</sup>.

Bei der Azulen-Darstellung auf chromatographischem Wege zeigte sich, daß sowohl in *Lactarius deliciosus*, als auch in dem untersuchten Kamillenöl neben dem typischen Azulen ein zweites Azulen in geringerer Menge vorhanden ist. Es sei als Azulen II bezeichnet. Es unterscheidet sich vom typischen Azulen dadurch, daß es im Aluminiumoxyd-Chromatogramm stärker festgehalten wird und im Adsorbat eine heller blaue Farbe zeigt, während es in Lösungen eine grünblaue Nuance aufweist, die dem Chamazulen und Lactarazulen völlig abgeht.

Das Spektrum des Azulens II konnte bei dem Produkt aus Pilzen untersucht werden. Es zeigte den gleichen typischen Anblick wie das der anderen Azulene. Geringe Abweichungen in der Lage der Maxima wurden zwar gefunden; ob ihnen aber realer Charakter zuzusprechen ist, oder ob sie noch auf vorhandene Beimengungen zurückzuführen sind, kann erst nach weiterer Reinigung der Substanz entschieden werden.

Außerdem enthalten sowohl Reizker als auch Kamillenöl ein rein grünes Produkt, das noch stärker adsorbiert wird als Azulen II. Dieses Produkt

<sup>9)</sup> Zitate älterer Arbeiten bei Ruzicka u. Rudolph<sup>4)</sup>.

<sup>10)</sup> Zur Untersuchung des Spektrums diente ein Gitter-Meßspektroskop von Zeiss. Hrn. Dr. J. Waldenström von der hiesigen medizinischen Klinik bin ich für die Erlaubnis zur Benutzung dieses Instruments zu großem Dank verpflichtet.

(aus Kamillenöl) zeigte (in Petroläther) nur eine diffuse Absorption bei etwa 490 m $\mu$ .

Der van't-Hoff-Stiftung der Akademie der Wissenschaften in Amsterdam möchte ich für die Gewährung einer Unterstützung auch an dieser Stelle bestens danken.

### Beschreibung der Versuche.

#### Darstellung des Azulens aus *Lactarius deliciosus* L.

Die zerkleinerten Pilze werden, wie früher<sup>1)</sup> beschrieben, mit Alkohol extrahiert. Dabei wird bei manchen Ansätzen beobachtet, daß sich die Pilze an der Oberfläche der Schnitzel intensiv blau färben, und daß der zweite alkoholische Extrakt einen stark blaustichigen Ton zeigt<sup>11)</sup>. Die 2-mal mit Alkohol extrahierten Pilzschnitzel werden nun mit Aceton übergossen, wobei sich dieses fast augenblicklich prächtig blau färbt. Nach 1-tägigem Stehen werden die Schnitzel abgesaugt, abgepreßt und nochmals mit Aceton extrahiert. Danach ist die Extraktion vollständig. Die tiefblauen Extrakte werden mit ihrem halben Volumen Benzin und dann mit so viel Wasser versetzt, daß gerade Entmischung erfolgt. Das Benzin färbt sich dabei tiefblau, die wäßrig-acetonische Schicht wird durchsichtig und ist rot. Man schüttelt noch einmal mit Benzin aus und vereinigt den ersten und zweiten Benzin-Extrakt. Dann überschichtet man nochmals mit Benzin, setzt sehr reichlich Wasser zu und läßt absitzen (die Schichten-Trennung erfolgt jetzt nur noch langsam). Der erhaltene dritte Benzin-Extrakt wird für sich verarbeitet, worauf hier aber nicht näher einzugehen ist, da die in ihm enthaltenen Farbstoffe in einer späteren Arbeit gesondert besprochen werden sollen. Die vereinigten ersten und zweiten Benzin-Extrakte werden mit Wasser sorgfältig frei von Aceton gewaschen, durch 2-tägiges Stehen über methanolischer Kalilauge verseift (doch kann die Verseifung auch unterbleiben), von Methanol frei gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und (evtl. nach Einengen) an Aluminiumoxyd chromatographiert (Apparat nach Winterstein und Schön<sup>12)</sup>, kleineres Modell). Im oberen Teil der Säule bilden sich mehrere kleine Ringe aus (von oben nach unten: violett, braungelb, schwarz, purpurfarbig [Lactaroviolin]), darunter ein olivgrüner Ring, dann eine breite, hellblaue Zone (Azulen II) und eine breite, intensiv blaue (Lactarazulen) Zone. Nur schwach adsorbiert wird ein bereits in der I. Mitteil. erwähnter orange Farbstoff, der bei der Entwicklung (Benzin oder Petroläther) schnell in das Filtrat übergeht.

<sup>11)</sup> Ob das Azulen schon in den Pilzen vorgebildet ist, ist noch unsicher. Manche Beobachtungen scheinen darauf zu deuten, daß es erst während der Extraktion der Schnitzel mit Alkohol gebildet wird, doch bestand noch keine Gelegenheit zu einer systematischen Untersuchung dieser Frage. Vom chemischen Standpunkt wäre eine Dehydrierung einer farblosen Vorstufe zum Azulen durch den Luft-Sauerstoff nicht analogieles, da Ruzicka und van Veen, A. 476, 70 [1929], u. zw. S. 86, eine solche beschreiben. Daß Azulen auch in der Schafgarbe nicht vorgebildet ist, hat K. Graham (Journ. Amer. pharmac. Assoc. 22, 819 [1933]; C. 1934 I, 81) wahrscheinlich gemacht.

<sup>12)</sup> Ztschr. physiol. Chem. 280, 139 [1934], u. zw. S. 143—144; vergl. auch den Übersichts-Artikel über Methodik und Anwendungen der chromatographischen Analyse bei Willstaedt, Svensk Kemisk Tidskrift 48, 32 [1936].

Die Säule wird nach beendeter Entwicklung wie üblich zerlegt, und die einzelnen Zonen werden mit methanol-haltigem Petroläther eluiert. Die Eluate werden von Methanol frei gewaschen und getrocknet. Die Chamazulen-Eluate von mehreren Aufarbeitungen werden vereinigt und vom Petroläther durch Eindampfen im Stickstoff- oder Kohlendioxyd-Strom befreit. Beim Erkalten scheiden sich aus dem tiefblauen, flüssigen Rückstand farblose Krystalle aus, von denen abgesaugt wird. Das Filtrat wird der Destillation im Vakuum unterworfen. Das Azulen geht unter 2.5—3 mm Druck bei 155—160° über. Als Nachlauf geht eine farblose, in der Vorlage krystallin erstarrende Substanz über. Sie wird mit den oben erwähnten, spontan ausgeschiedenen Krystallen vereinigt und durch 2-maliges Umlösen aus Methanol in wohlausgebildeten, farblosen Blättchen erhalten. Das erhaltene Azulen-Destillat wird in eine warme alkohol. Lösung von 1.3.5-Trinitro-benzol eingetragen (auf je 1 g Roh-azulen je 1.2 g Trinitro-benzol in 50 ccm Alkohol). Nach 1-maligem Aufkochen läßt man erkalten. Dabei scheiden sich tiefschwarze Nadeln aus (unter dem Mikroskop erweisen sich die Krystalle als stabförmig, vergl. Abbild. <sup>13)</sup>). Aus 30 kg frischen Pilzen wurden 4.5 g rohes Trinitro-benzolat erhalten; nach 4-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol liegt sein Schmelzpunkt bei 122—123° (unkorr.).

3.288 mg Sbst.: 7.470 mg CO<sub>2</sub>, 1.420 mg H<sub>2</sub>O. — 11.7 mg Sbst.: 8.53 ccm n/100-Säure (Mikro-Kjeldahl-Bestimmung nach Reduktion mit Phosphor und Jodwasserstoffsäure, Elek-Sobotka<sup>14)</sup>).

C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 61.31, H 5.11, N 10.22.

Gef. „ 61.96, „ 4.83, „ 10.20.

#### Chromatographie von Kamillenöl.

2 g Kamillenöl wurden in 60 ccm Petroläther gelöst. Nach dem Abfiltrieren von gelben Flocken wurde an Aluminiumoxyd (Säure von 1½ cm Durchmesser und 20 cm Höhe) chromatographiert. Dabei wurden in der Reihenfolge von oben nach unten folgende Zonen erhalten: grünbraun (Zersetzungsprodukte), olivgrün, hellblau (Azulen II), stärker blau (Chamazulen). Elution wie üblich.

<sup>13)</sup> Ich danke Hrn. cand. med. E. Stenhagen für die Herstellung der Mikrophotographie.

<sup>14)</sup> vergl. Friedrich, Praxis d. organ. Mikro-analyse (Leipzig und Wien, 1933), S. 203.