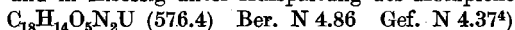
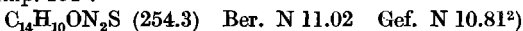


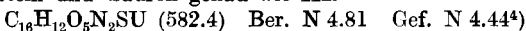
Chinolin-aldehyd-(2)-*o*-oxy-anil-uranylacetat (III): Eine alkohol. Lösung von 99 mg Chinolin-aldehyd-(2)-*o*-oxy-anil wird mit einer alkohol. Lösung von 169 mg Uranylacetat bei Wasserbadtemperatur zusammengebracht. Sofort fällt der Uran-Komplex aus<sup>3)</sup>. Man läßt langsam abkühlen, saugt ab und wäscht mit Alkohol nach; rote Mikrokristalle. Unlöslich in Wasser, sehr schwer löslich in Pyridin (Lösungsfarbe rot), in den anderen üblichen organ. Lösungsmitteln fast unlöslich, in konz. Schwefelsäure, Salzsäure und in Eisessig unter Aufspaltung des Komplexes löslich.



Benzthiazol-aldehyd-*o*-oxy-anil (II): Die Darstellung erfolgt analog I aus 0.4 g Benzthiazol-aldehyd und 0.28 g *o*-Amino-phenol in 8 ccm Alkohol. Hellgelbe Kristalle vom Schmp. 151°.



Benzthiazol-aldehyd-*o*-oxy-anil-uranylacetat (IV): Die Verbindung wurde analog III aus 51 mg Benzthiazol-aldehyd-*o*-oxy-anil und 85 mg Uranylacetat<sup>3)</sup> dargestellt; dunkelrote Mikrokristalle. Der Komplex verhält sich gegenüber Wasser, organ. Lösungsmitteln und Säuren genau wie III.



## 76. Heinrich Thies und Günther Kallinich: Über die Farbreaktionen der Keto-hexosen, II. Mitteil.\*): Der blaue Farbstoff aus Fructose und Diphenylamin-Salzsäure

[Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München]  
(Eingegangen am 5. Februar 1952)

Es werden die Reindarstellung und die chemischen Eigenschaften des Farbstoffes aus Fructose und Diphenylamin-Salzsäure beschrieben.

Fructose und andere Keto-hexosen geben mit Diphenylamin und heißer alkoholischer Salzsäure eine tief blaue Farbreaktion<sup>1)</sup>.

Diese Reaktion ist für Keto-hexosen weitgehend spezifisch und schon vielfach zu ihrer colorimetrischen Bestimmung neben anderen Zuckerarten, insbesondere zur Bestimmung von Fructose neben Glucose verwendet worden. Über ihren Mechanismus und die Natur der dabei entstehenden Farbstoffe ist aber bisher nur wenig bekannt.

N. Schoorl und P. C. J. van Kalmthout<sup>2)</sup> nehmen zwar an, daß die Farbstoffbildung dem Oxymethylfurfurolo zu verdanken sei, das nach J. Kiermayer<sup>3)</sup>, W. A. van Eckenstein und J. J. Blanckesma<sup>4)</sup> bei der Säurebehandlung von Fructose als erstes Zersetzungsprodukt entsteht. Sie gründen diese Annahme darauf, daß Oxymethylfurfurolo mit Diphenylamin-Salzsäure gleiche Farbreaktionen liefert wie Fructose. Zu einem wesentlich anderen Schluß ist aber L. Radlberger<sup>5)</sup> gekommen. Dieser vertritt die Ansicht, daß der entstehende blaue Farbstoff mit dem bei der bekannten Reaktion zwischen Diphenylamin-Schwefelsäure und Salpetersäure entstehenden Diphenyl-diphenochinon-diimoniumsalz (I), dessen Konstitution damals gerade von H. Wieland<sup>6)</sup> sowie

<sup>3)</sup> Bei einem zweiten Ansatz mit doppelter Menge an Azomethin wurde der gleiche Komplex erhalten. <sup>4)</sup> Die Analysen wurden von Frln. Dr. Lotte Loewe ausgeführt.

\* I. Mitteil.: H. Thies, S. W. Souci u. G. Kallinich, Ztschr. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. (im Druck). <sup>1)</sup> A. Ihl, Chem.-Ztg. 9, 451 [1885]. <sup>2)</sup> B. 20, 181 [1887].

<sup>3)</sup> Chem.-Ztg. 19, 1004 [1895]. <sup>4)</sup> B. 43, 2355 [1910].

<sup>5)</sup> Oesterr.-Ung. Ztschr. Zuckerind. 44, 261 [1915].

<sup>6)</sup> B. 41, 3478 [1908], 46, 3296, 3304 [1913].

von F. Kehrman und St. Micewicz<sup>7)</sup> aufgeklärt war, identisch sei. Er ist zu dieser Auffassung durch die Beobachtung gekommen, daß die blaue Farbe der Reaktionslösungen von Diphenylamin-Schwefelsäure und Fructose bei der Reduktion mit Zinkstaub ebenso

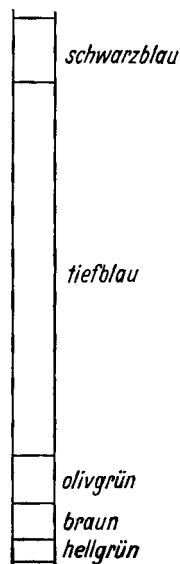


entfärbt wird und bei der Aufarbeitung Diphenyl-benzidin liefert wie das Diphenyl-diphenochinon-diimoniumsulfat. Da aber Radlberger mit der gesamten Reaktionsmischung gearbeitet hat, ohne den Farbstoff selbst zu isolieren, erscheint diese Beweisführung zweifelhaft und wenig stichhaltig, um so mehr als die Entstehung des Diphenyl-diphenochinon-diimoniumsulfates üblicherweise an die Anwesenheit stark oxydierender Stoffe (Salpetersäure, Chromsäure, Permangansäure u. ä.) gebunden ist, während der Fructose nur reduzierende Eigenschaften zukommen. Insbesondere vermag aber Fructose Diphenyl-benzidin, das nach Wieland bei der Salpetersäure-Reaktion als Zwischenprodukt auftritt, nicht in das blau gefärbte Diphenyl-diphenochinon-diimoniumsulfat überzuführen.

Eigene Untersuchungen über die colorimetrische Bestimmung des Inulins, das als Polyfructosan ebenfalls die Diphenylamin-Reaktion gibt, veranlaßten uns nun, dem Mechanismus dieser Reaktion erneut Aufmerksamkeit zu schenken. Hierbei gelang es, den blauen Farbstoff in reiner Form zu isolieren und seine Natur chemisch und spektroskopisch näher zu charakterisieren. Über diese vorläufigen Ergebnisse soll im folgenden kurz berichtet werden.

Die präparative Darstellung geschieht zweckmäßig in Anlehnung an die colorimetrische Arbeitsweise durch Erhitzen des fructosehaltigen Materials mit Diphenylamin und Salzsäure in Methanol-Lösung.

Dabei hat sich die Verwendung von Saccharose als Ausgangsmaterial und von Methanol als Lösungsmittel als zweckmäßig erwiesen, da die so erhaltenen Produkte merklich weniger unlösliche Anteile enthalten\*). Aus der alkoholischen Reaktionslösung kann der Rohfarbstoff durch Zusatz von reichlich Wasser als schaumiger, voluminöser Niederschlag abgeschieden und auf der Nutsche abgetrennt werden. Er bildet nach dem Trocknen i. Vak. Exsiccator eine bröcklige, schwärzlich blaue Masse, die in Wasser, verd. Alkohol mit weniger als 30% Alkoholgehalt, in Äther, Petroläther und Benzol unlöslich ist und sich in starkem Äthanol, Methanol sowie in Essigester und Aceton nur teilweise löst. Von Chloroform wird er zu mehr als 50% bei mehrmaliger Behandlung und von einem Chloroform-Methanol-Gemisch (4+1) sogar bis auf einen geringen, rein schwarz gefärbten Rest gelöst. Schon dieses Verhalten gegenüber Lösungsmitteln wie auch die starke Grünfärbung im Filtrat des Rohfarbstoffes zeigen, daß das Reaktionsprodukt nicht einheitlich ist. Durch Adsorption an salzsäurehaltigem, sog. „saurem“ Aluminiumoxyd und nachfolgendes mehrmaliges Umfällen des Eluats mit Petroläther gelingt es aber, die blaue Hauptkomponente des Farbstoffgemisches von Nebenprodukten zu trennen. Das Chromatogramm (Abbild. 1) besteht aus 5 scharf



Abbild. 1. Chromatogramm des Rohfarbstoffes aus Fructose und Diphenylamin-Salzsäure an „saurem“ Aluminiumoxyd

<sup>7)</sup> B. 45, 2641 [1912].

abgegrenzten Zonen. Die Zone des blauen Hauptproduktes liefert aber noch kein einheitliches Eluat, sondern enthält noch merkliche Mengen der braunen Komponente, die erst durch mehrmalige Umfällung aus Chloroform und Petroläther abgetrennt werden kann.

Der so gereinigte blaue Farbstoff liefert an Aluminiumoxyd ein einheitliches Chromatogramm und bildet ein feines amorphes dunkelblaues Pulver, das oberhalb  $175^{\circ}$  sintert und sich bei etwa  $240^{\circ}$  unter Entwicklung brauner Dämpfe, ohne zu schmelzen, zersetzt. Beim Trocknen über  $100^{\circ}$  dunkelt es stark nach und verliert allmählich seine Löslichkeit. Beim Erhitzen bis zum Sintern wird es völlig unlöslich. Die Löslichkeit ist etwa die gleiche wie beim Rohfarbstoff. Nur Chloroform, Nitrobenzol, Tetrachloräthan und Pyridin vermögen reichlichere Mengen (maximal etwa 5–10 %) zu lösen. Diese tief blau gefärbten Lösungen schlagen beim Schütteln mit verd. Alkali-Lösung sofort nach Weinrot um und färben sich dann weiterhin unter leichter Trübung allmählich gelbbraun. Der Farbumschlag kann durch Zugabe von Säure wieder rückgängig gemacht werden. Der Farbstoff zeigt also indicatorähnliche Eigenschaften.

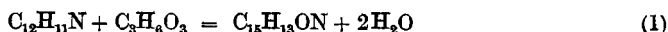
Auch beim Schütteln der Chloroform-Lösung des Farbstoffs mit Wasser tritt diese Farbänderung, wenn auch langsamer, in Erscheinung. Ja, er macht sich sogar bei längerem Stehen sehr verdünnter Lösungen in Alkohol, säurefreiem Essigester und Nitrobenzol bemerkbar, ist hier aber weniger deutlich und führt über Hellgrün meist zu einem schmutzig olivfarbenen Ton. Auch in allen diesen Lösungen kann die ursprüngliche blaue Farbe durch Säurezusatz wiederhergestellt werden. In wasser- und alkoholfreiem Chloroform ist die blaue Farbe dagegen unbegrenzt haltbar.

Das blau gefärbte Produkt enthält Chlor-Ionen und ist als ein Farbsalz anzusehen, entsprechend der sauren Form eines Säure-Basen-Indicators. Die zugehörige Farbbase, die ein grünlich-braunes, gleichfalls amorphes Pulver (Schmp.  $156\text{--}160^{\circ}$ ) darstellt, besitzt offenbar nur schwache basische Eigenschaften und wird nicht nur durch Alkali, sondern auch durch Wasser und andere Lösungsmittel mit ausgeprägtem Dipolmoment unter Abspaltung der sauren Komponente (Solvolyse) mehr oder weniger weitgehend in Freiheit gesetzt, wie es die geschilderten Farbänderungen in solchen Lösungen zeigen.

Die Farbbase ist gleichfalls in Chloroform löslich, in Aceton und Toluol sogar sehr leicht löslich und besitzt die Formel  $[\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{ON}]_n$ . Das blaue Farbsalz hat einen gleichen C-, H-, N- und O-Gehalt wie die Farbbase. Es enthält daneben aber noch schwankende Mengen Chlorid (0.1–0.35 Mol HCl pro obigem Formelgewicht). Die kryoskopische Bestimmung des Mol.-Gewichtes in Nitrobenzol bzw. Bromoform liefert bei der Farbbase für beide Lösungsmittel übereinstimmend  $n=5$ , entsprechend einer Formel  $\text{C}_{75}\text{H}_{65}\text{O}_5\text{N}_5$ , während für das Farbsalz in Abhängigkeit von der Art des Lösungsmittels stark schwankende Werte für das Mol.-Gewicht gefunden werden.

Man findet in Nitrobenzol 810 (entspr.  $n \approx 4$ ) bzw. in Bromoform 2150 (entspr.  $n \approx 10$ ). Die Ursache dieser Unterschiede ist offenbar darin zu suchen, daß Nitrobenzol eine 8fach höhere Dielektrizitätskonstante besitzt als Bromoform (36.4:4.5), und daß das Farbsalz in den beiden Lösungsmitteln einer unterschiedlichen Dissoziation unterliegt. Es kann angenommen werden, daß das Farbsalz in Nitrobenzol weitgehend in das Farbstoff-Kation und Chlor-Ion gespalten ist. Diese Ionen des Farbsalzes verhalten sich aber osmotisch wie selbständige Teilchen und bewirken dadurch in Nitrobenzol-Lösungen eine stärkere Gefrierpunktserniedrigung als in Bromoform.

Die Bruttoformeln lassen erkennen, daß bei der Entstehung des Farbstoffes auf je 1 Mol. Diphenylamin  $\frac{1}{2}$  Mol. Hexose trifft:



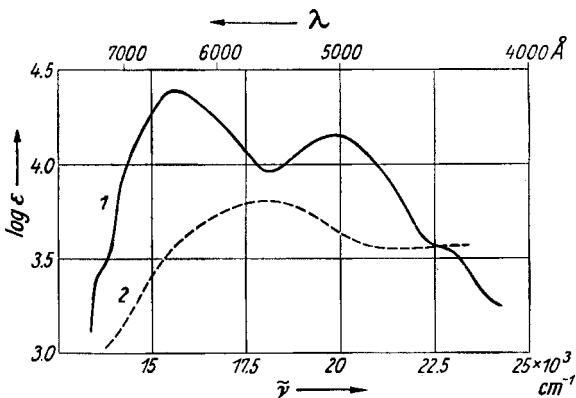
Ob hierbei das Ketosemolekül zunächst in zwei  $C_3$ -Bruchstücke gespalten wird, die dann je für sich mit dem Diphenylamin reagieren, oder ob das Kohlenstoffgerüst des Zuckers intakt bleibt, der dann mit je 2 Moll. Diphenylamin unter Austritt von  $4 H_2O$ , möglicherweise über das Oxymethylfurfural als Zwischenstufe, zum Farbstoff kondensiert wird:



kann vorläufig nicht entschieden werden.

Die Mol.-Gewichte und das sonstige Verhalten des Farbstoffes, insbesondere das Auftreten von Farbstoffanteilen unterschiedlicher Löslichkeit spricht aber dafür, daß die Farbstoffbildung durch Kondensations-Reaktionen gemäß (1) bzw. (2) allein nicht zustande kommen kann. Ihnen müssen vielmehr noch Polymerisations-Reaktionen parallel laufen oder nachfolgen, die zu Produkten unterschiedlichen Polymerisationsgrades und damit unterschiedlicher Eigenschaften trotz gleichartiger Farbe führen. Mit der Art und Höhe der Polymerisation scheint auch der Chloridgehalt des Farbsalzes eng verknüpft zu sein, denn es hat sich ergeben, daß chlorreichere Produkte weniger löslich sind als chlorarme; insbesondere nimmt aber die Löslichkeit des Salzes in Chloroform bei Zusatz von salzsäurehaltigen Lösungsmitteln stark ab.

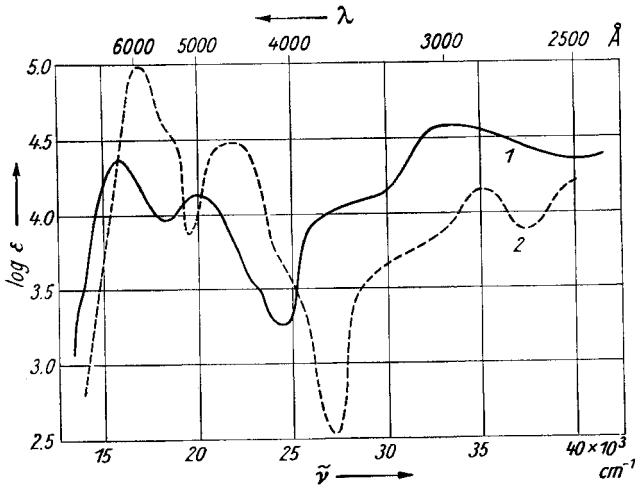
Die durch die Gleichung (1) oder (2) gegebene Entstehungsweise des Farbstoffes beweist immerhin eindeutig, daß er nicht mit dem Diphenyl-diphenochinon-diimin ( $C_{24}H_{18}N_2$ ) der Salpetersäure-Reaktion identisch sein kann. Aber



Abbild. 2. Absorptionsspektren der Farbstoffe aus Fructose und Diphenylamin-Salzsäure (Kurve 1) bzw. aus Diphenylamin-Salpetersäure (Kurve 2)

auch die Absorptionsspektren der beiden Farbstoffe im sichtbaren Spektralbereich (Abbild. 2) zeigen so große und eindeutige Unterschiede auf, daß keine Anzeichen für eine Übereinstimmung gemäß der Annahme Radlbergers bestehen. Das Absorptionsspektrum des blauen Farbstoffes (Abbild. 3, Kurve 1) besitzt bei  $\tilde{\nu} = 15600, 20000$  und  $34000 \text{ cm}^{-1}$  drei ausgeprägte Adsorptionsmaxima. An den Grenzen des sichtbaren Spektrums findet sowohl im lang-

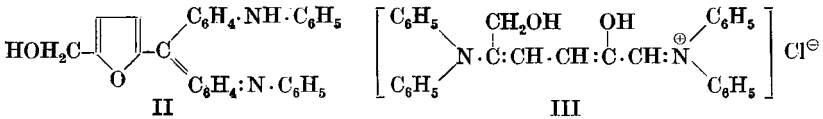
welligen als auch im kurzwelligen Bereich ein steiler Abfall der Adsorption statt, der bei  $\nu = 24400 \text{ cm}^{-1}$  zur Ausbildung eines kräftigen Minimums führt, während sich ein zweites flacheres Minimum bei  $\tilde{\nu} = 18200 \text{ cm}^{-1}$  befindet. Außerdem tritt noch eine ausgedehnte Inflexion bei  $\nu = 26000 \text{ cm}^{-1}$  auf<sup>8)</sup>.



Abbild. 3. Absorptionsspektren des Farbstoffes aus Fructose und Diphenylamin-Salzsäure (Kurve 1) bzw. des Methoxymalachitgrüns (Kurve 2)

Die Konstitution des Farbstoffes steht vorläufig noch nicht fest. Es sind zwei Möglichkeiten zu diskutieren:

1.) Es kann sich um ein Produkt nach Art der Triarylmethanfarbstoffe von der Formel II ( $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{N}_2$ ) handeln. Auf diese Möglichkeit deutet u. a. eine gewisse Ähnlichkeit



des Absorptionsspektrums mit demjenigen anderer asymmetrisch substituierter Triphenylmethanfarbstoffe, wie z. B. des Methoxymalachitgrüns (Abbild. 3, Kurve 2) hin. Auffällig ist bei beiden Spektren das Auftreten zweier Maxima im sichtbaren Spektralbereich sowie die gleichartige Form der beiden Kurven im kurzwelligen UV mit je einer auffälligen Inflexion bei  $\tilde{\nu} = 26000$  bzw.  $27500 \text{ cm}^{-1}$ .

2.) Es besteht eine Analogie zu den Polymethin-Farbstoffen aus Furfurol und Arylaminen, insbesondere Anilin nach H. Schiff<sup>9)</sup>, Th. Zincke<sup>10)</sup> und W. König<sup>11)</sup>. Dem Farbstoff würde dann die Formel  $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{N}_2 \cdot \text{HCl}$  (III) zukommen. Welche Möglichkeit zutrifft, werden weitere Versuche zeigen müssen.

<sup>8)</sup> Die Möglichkeit zur Aufnahme des Gesamtspektrums des gereinigten Farbstoffes ist dem Entgegenkommen von Hrn. Prof. Dr. G. Scheibe (Physikal.-chem. Institut der Techn. Hochschule München) zu verdanken. Für die Anleitung zur Messung und Auswertung der Absorptionsspektren sind wir Hrn. Dr. A. Schöntag zu besonderem Dank verpflichtet. <sup>9)</sup> A. 201, 355 [1880], 239, 349 [1887].

<sup>10)</sup> Th. Zincke u. G. Mühlhausen, B. 38, 3824 [1905].

<sup>11)</sup> Journ. prakt. Chem. [2] 72, 555 [1905].

## Beschreibung der Versuche

1.) Darstellung des blauen Farbstoffes: 100 g Saccharose werden in 200 ccm Wasser gelöst und mit 1250 ccm Salzsäure (d 1.19) und einer Lösung von 50 g Diphenylamin in 1250 ccm Methanol während 15 Min. im Wasserbad unter Rückfluß im schwachen Sieden gehalten. Das Gemisch, das mit steigender Temperatur nach Durchlaufen einer orangegelben und tiefroten Färbung rasch tiefblau und undurchsichtig wird, wird dann abgekühlt und vorsichtig solange mit Wasser (etwa 2500 ccm) versetzt, bis die über dem ausfallenden Niederschlag stehende Flüssigkeit gerade eine schwache weißliche Opaleszenz von ausfallendem, nicht umgesetztem Diphenylamin zu zeigen beginnt. Zu starke Verdünnung ist hier zu vermeiden, da größere Mengen des mitfallenden Diphenylamins die Weiterverarbeitung des Rohfarbstoffes erheblich erschweren. Der voluminöse, schaumige Niederschlag wird abgesaugt und mit Wasser säurefrei gewaschen. Die ersten Anteile des Filtrates besitzen stark grüne Färbung. Der mit einem Pistill gut ausgepreßte Niederschlag wird lufttrocken gesaugt und zur Entfernung von anhaftendem Diphenylamin mit Petroläther gewaschen. Er bildet nach vorsichtigem Trocknen eine schwarzblaue, bröckelige Masse, die sich leicht zu einem feinen Pulver zerreiben läßt; Ausb. 50–55 g Rohfarbstoff.

2.) Reinigung des Farbstoffes: 50 g Rohfarbstoff werden in 250 ccm kaltem alkoholfreiem Chloroform gelöst. Die filtrierte Lösung wird auf eine mit Salzsäure vorbehandelte sog. „saure“ Aluminiumoxydsäule<sup>12)</sup> von etwa 50 cm Länge und 1.6 cm Dicke gebracht. Der Farbstoff lagert sich zunächst ohne erkennbare Zonenbildung in dem oberen Teil der Säule ab. Durch Waschen mit 500 ccm Chloroform, dem 2% Methanol zugesetzt sind, kann aber leicht ein sich über fast die ganze Säule erstreckendes Chromatogramm mit 5 scharf begrenzten Zonen (Abbild. 1) entwickelt werden. Die Säule wird nunmehr in üblicher Weise entsprechend der Zonenbildung mechanisch in Teilstücke zerlegt, die jeweils mit einer Mischung aus 5 Tln. Chloroform und 1 Tl. Methanol eluiert werden.

Das Eluat der braunen Hauptzone, etwa 250 ccm, das neben dem blauen Farbstoff noch beträchtliche Mengen der im Chromatogramm darunter liegenden braunen Komponente enthält, wird zur weiteren Reinigung unter Umschütteln in das doppelte Vol. Petroleumbenzin (Sdp. 120°) eingegossen. Der blaue Farbstoff fällt dabei ziemlich grobkörnig aus, die überstehende Lösung ist grün gefärbt. Der ausgefällte Farbstoff ist aber noch nicht einheitlich. Er wird drei- bis viermal nach jedesmaligem Lösen in etwa 100 ccm methanolhaltigem Chloroform mit der doppelten Menge Petroleumbenzin umgefällt, bis die überstehende Lösung, deren Farbton bei der Umfällung mit fortschreitender Reinigung von Grün über Oliv nach Gelblich wechselt, völlig farblos bleibt. Der so gereinigte Farbstoff wird trockengesaugt und im Vak.-Exsiccator nachgetrocknet. Er stellt ein feines, blaues Pulver dar; Ausb. etwa 2 g.

3.) Darstellung der Farbbase: 1.0 g gereinigter Farbstoff wird in 20 ccm Chloroform gelöst und mit 20 ccm Kalilauge (5-proz.) durchgeschüttelt. Dabei färbt sich die Chloroform-Lösung zunächst rot und weiterhin langsam braun unter schwacher Trübung. Sie wird mit Wasser gewaschen, mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet und schließlich in Petroläther eingegossen. Dabei scheidet sich die freie Base als feiner flockiger Niederschlag ab und bildet nach dem Trocknen ein grünlich-braunes amorphes Pulver.

$(C_{15}H_{13}ON)_5$ (1116.5)	Ber. C 80.68 H 5.87 N 6.27
Blauer Farbstoff*)	Gef. C 80.60 H 6.10 N 6.27
Farbbase	Gef. C 80.33 H 5.34 N 6.00 Mol.-Gew. 1160 (kryoskop. nach Beckmann)

\*) Ber. als HCl-freies Produkt.

<sup>12)</sup> G. Hesse, Adsorptionsmethoden im chem. Laboratorium, Verlag W. de Gruyter u. Co., Berlin 1943, S. 42.