

CHEMISCHE BERICHTE

Fortsetzung der
BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN
GESELLSCHAFT

91. Jahrg. Nr. 10

S. 2001—2252

HANS MUSSO und HORST KRÄMER

Über Orceinfarbstoffe, VIII¹⁾

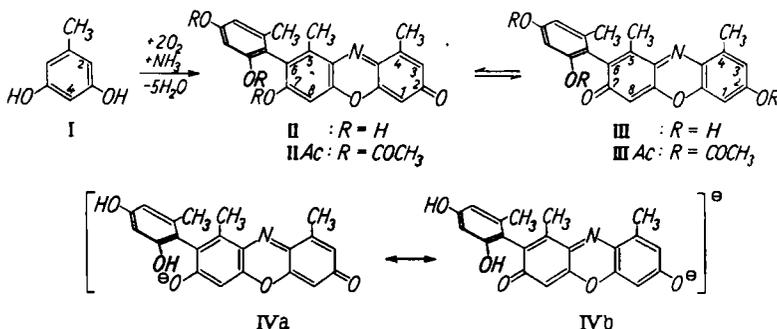
Die Konstitution der Oxy-orceine und ihrer Oxydationsprodukte

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 19. Mai 1958)

α -Oxy-orcein besitzt die tautomeren Formeln II und III, β - und γ -Oxy-orcein die Formeln V oder VI. Die Orcein-Nebenkomponenten Va und Vb, sowie VIa und VIb entstehen durch Oxydation von V und VI, wobei zuerst der eine und dann der zweite seitenständige Orcinrest zum Hydroxy-toluchinon-Rest oxydiert wird.

Orcein ist ein Gemisch aus vielen Farbstoffen, die bei der Autoxydation von Orcin (I) in wäßrigem Ammoniak entstehen und die man nach ihrer Lichtabsorption in drei Gruppen ordnen kann²⁾. Über die Konstitutionsermittlung aller Farbstoffe der ersten Gruppe: α -, β - und γ -Amino-orcein ist bereits berichtet worden³⁾. Die zweite Gruppe umfaßt die Hauptkomponenten α -, β - und γ -Oxy-orcein und die Nebenkomponenten Va und Vb sowie VIa und VIb. Für die Komponenten der zweiten Gruppe konnte spektroskopisch nachgewiesen werden, daß sie alle Derivate des 7-Hydroxy-phenoxazons-(2) sind⁴⁾. Die weitere Strukturaufklärung wird im folgenden geschildert.



1) VII. Mitt.: H. Musso, Chem. Ber. 91, 349 [1958]. In dieser Mitteilung muß folgender Fehler berichtigt werden: S. 351, 3. Absatz, 8. Zeile von oben, lies „Zersetzungsprodukten“ anstatt „Zersetzungsprodukten“.

2) H. Musso, Chem. Ber. 89, 1659 [1956].

3) H. Musso und H. Becken, Chem. Ber. 90, 2190 [1957].

4) H. Musso und H.-G. Matthies, Chem. Ber. 90, 1814 [1957].

α -Oxy-orcein ist ein 7 (bzw. 2)-Hydroxy-4.5-dimethyl-6-[4.6-dihydroxy-*o*-tolyl]-phenoxazon-(2 bzw. 7) der Formeln II \rightleftharpoons III. Die Analyse²⁾ bestätigt die Summenformel $C_{21}H_{17}NO_5$. Die Stellung der Methylgruppen ergibt sich aus der Bildungsreaktion, bei der drei Orcinmolekeln (I) durch Sauerstoff in Anwesenheit von Ammoniak oxydativ zu II verknüpft werden, bei der die *C*-Methylgruppen aber nach dem Ergebnis der KUHN-ROTH-Bestimmung unverändert bleiben.

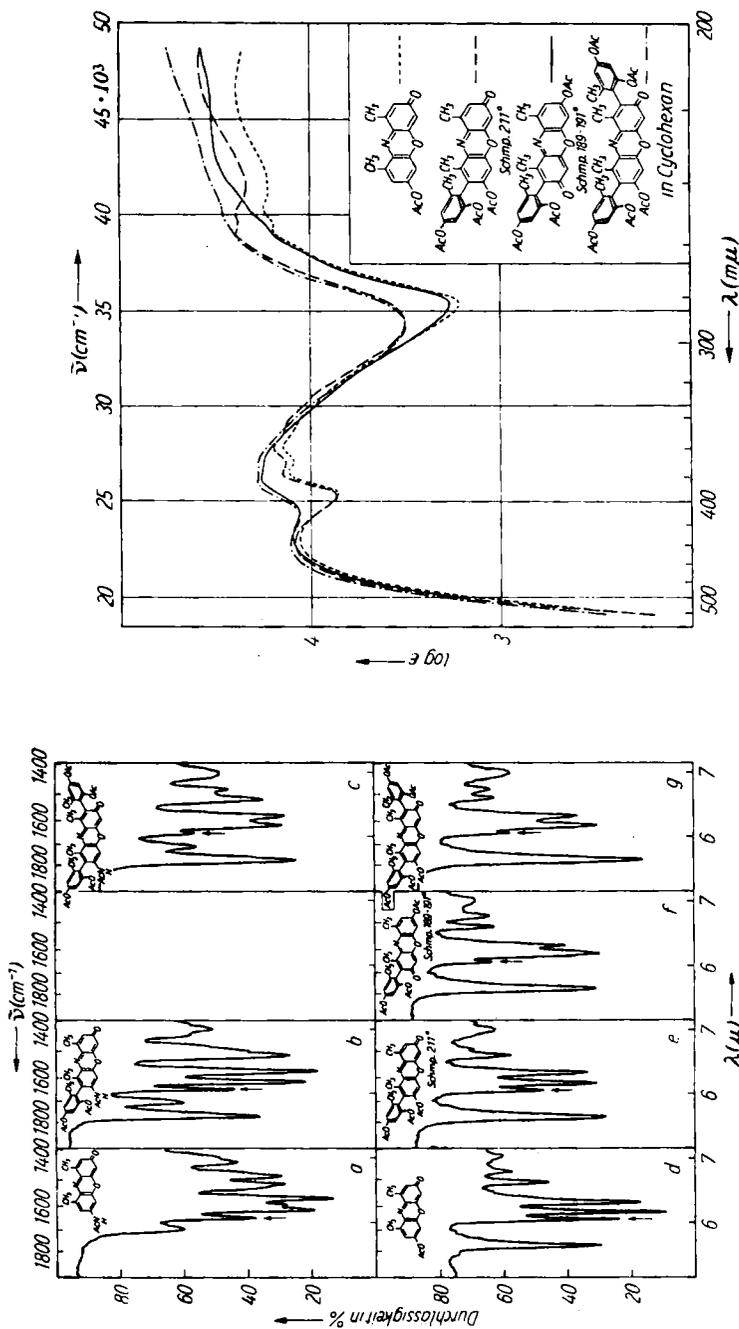
Das Vorhandensein eines Orcinrestes als weiteren Substituenten am Chromophor von II erkennt man aus der Differenz der Summenformeln von II und 7-Hydroxy-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIII). Da die sichtbaren und UV-Spektren von II und dem Modell XIII und die Spektren ihrer Acetate bis auf wenige $m\mu$ in der Bandenlage sowie in der Extinktion übereinstimmen (Tab. 1, Abbild. 1), muß dieser Orcinrest so gebunden sein, daß er die Lichtabsorption des Chromophors nicht wesentlich beeinflussen kann. Das läßt sich im vorliegenden Fall nur durch eine sterische Hinderung des Orcinrestes beim Einstellen in die Phenoxazonebene erklären. Weil die sterische Mesomeriebehinderung am stärksten ist, wenn an der Verknüpfungsstelle des Orcinrestes zwei Methylgruppen in *o*-Stellung stehen, werden von den acht Möglichkeiten für die Konstitution des α -Oxy-orceins (Verknüpfung in 1-, 3-, 6- und 8-Stellung im Phenoxazon; 2- und 4-Stellung im Orcinrest) die Formeln II und III angenommen. Eine Entscheidung zwischen den tautomeren Formeln II und III wird hinfällig, wenn man die 2- und 7-Stellung in den Formeln des mesomeren Anions IVa \leftrightarrow IVb betrachtet. Im Kristall wird nur eine Form vorliegen, in polaren Lösungsmitteln besteht ein Gleichgewicht zwischen beiden Formen, die bei der Acetylierung abgefangen werden, denn das rohe Acetylierungsgemisch läßt sich in die beiden isomeren Acetate IIaC und IIIaC trennen. Wegen der Molekülasymmetrie muß II als Racemat vorliegen.

Daß die Annahme der Verknüpfungsstelle des Orcinrestes richtig ist, läßt sich an den UV-Spektren von Modellverbindungen zeigen. Bei 2.2'-Dimethyl-6.6'-dihydroxydiphenyl-Derivaten setzt sich das Spektrum additiv aus den Spektren der Teilchromophore zusammen, während bei 2.6.2'.6.6'-Tetrahydroxydiphenyl-Derivaten der Charakter des Spektrums deutlich durch die Konjugation der beiden Chromophore verändert wird.

In Pyridin/Acetanhydrid entstehen aus II bei 20° zwei isomere orange, kristallisierte Triacetate, $C_{21}H_{14}NO_5(COCH_3)_3$ (489.5) vom Schmp. 189–191° und 211° (Zers.). Das Acetat vom Schmp. 189–191° läßt sich über Palladium-Bariumsulfat in Acetanhydrid zu einer farblosen Leukoverbindung hydrieren, wobei der Wasserstoffverbrauch einem Molekulargewicht von 481 entspricht. Dieses Ergebnis wird durch die ebullioskopische Bestimmung (gef. 468) und die Extinktion der längstwelligen Absorptionsbande im sichtbaren Spektrum (Tab. 1) bestätigt.

Versetzt man die Lösung der Leukoverbindung in Acetanhydrid nach der Hydrierung unter Wasserstoff mit trockenem Pyridin, so kann man nach 3 Stdn. daraus ein farbloses Leuko-tetraacetat vom Schmp. 210–212° (Zers.) isolieren, das man ebenfalls aus α -Oxy-orcein-acetat durch reduzierende Acetylierung nach H. BROCKMANN und G. BUDE⁵⁾ mit Zinkstaub in siedendem Acetanhydrid erhält, und das nach der

⁵⁾ Chem. Ber. 86, 432 [1953].



Abbild. 1. Links: IR-Spektren in KBr von a) 7-Acetamino-4,5-dimethyl-phenoxazon-(2), b) und c) α - und β -Amino-orcein-acetat sowie der unten genannten Verbindungen; rechts: sichtbare und UV-Spektren in Cyclohexan von d) 7-Acetoxy-4,5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIIIaAc), e) und f) den beiden Acetaten des α -Oxy-orceins mit den Schmp. 211° (IIaAc) und 189—191° (IIIaAc) sowie g) von β -Oxy-orcein-acetat (VAc)

Verseifung mit methanolischer Kalilauge und Oxydation mit Luftsauerstoff wieder in den Farbstoff II übergeht.

Daß es sich beim Leukoacetat um ein 2.7-Diacetoxy-4.5-dimethyl-3-[4.6-diacetoxy-*o*-tolyl]-phenoxazin handelt, in dem die NH-Gruppe des Phenoxazingerüsts nicht acetyliert ist, geht aus der Analyse und dem IR-Spektrum hervor. In Kaliumbromid ist die wenig intensive NH-Valenzschwingungsbande bei 2.93μ zu erkennen, und zwischen 5.80 und 6.10μ fehlt die Carbonylbande einer *N*-Acetylgruppe. Dieses Ergebnis stimmt mit den Erfahrungen überein, die wir bei der Acetylierung von Modellverbindungen gesammelt haben. So wird z. B. Phenoxazin in Pyridin/Acetanhydrid bei 20° in 3 Stdn. praktisch nicht acetyliert.

Die beiden isomeren Acetate des α -Oxy-orceins (IIAc und IIIAc) entstehen etwa im Mengenverhältnis 2:1 und lassen sich durch fraktionierte Kristallisation aus Benzol/Cyclohexan sowie durch Chromatographie an Gips mit Benzol/Chloroform trennen, wobei das Acetat mit dem Schmp. 211° aus den Mutterlaugen gewonnen wird und an der Säule schneller wandert als das Hauptprodukt vom Schmp. $189-191^\circ$. Beide Verbindungen liefern identische Analysen und lassen sich alkalisch und sauer zum gleichen Ausgangsmaterial (II) verseifen. Sie zeigen aber beim Misch-Schmelzpunkt eine deutliche Depression. Da nach den tautomeren Formeln II und III für α -Oxy-orcein zwei verschiedene Acetate möglich sind, muß man annehmen, daß es sich bei den beiden Acetaten um die Verbindungen IIAc und IIIAc handelt. Eine Zuordnung ist uns bisher nur auf spektroskopischem Wege möglich.

Die beiden Acetate unterscheiden sich im sichtbaren Spektrum geringfügig in der Lage und Intensität der C-Bande des Phenoxazonspektrums⁴⁾, die in Cyclohexanlösung eine deutliche Feinstruktur erkennen läßt (Tab. 1; Abbild. 1). Die Lichtabsorption dieser Verbindungen wird im sichtbaren und UV-Spektrum oberhalb von $250m\mu$ ausschließlich vom Phenoxazon-Grundgerüst bedingt, da Orcin (I) und sein Diacetat nur unterhalb von $250m\mu$ intensiv ($\log \epsilon > 3.5$) absorbieren¹⁾. Der Einfluß einer Acetoxygruppe in 7-Stellung auf das Spektrum des Grundgerüsts kann praktisch vernachlässigt werden⁴⁾. Es ist anzunehmen, daß der sterisch behinderte Orcindiacetat-Rest am benzoiden Ring (Formel IIAc) das Phenoxazonspektrum weniger verändert als in Formel IIIAc, wo er neben der Carbonylgruppe am chinoiden Teil des Phenoxazon-Grundgerüsts steht. Die IR-Spektren der beiden Acetate unterscheiden sich bei praktisch gleicher Lage der ersten drei Phenoxazonbanden⁶⁾ vor allem in der Intensität der Carbonylbande bei 6.05μ . Hier muß man annehmen, daß der Orcindiacetat-Rest in 6-Stellung die Anregungswahrscheinlichkeit der C=O-Gruppe in 7-Stellung stärker beeinflußt als in 2-Stellung. Zum Vergleich werden die Spektren von 7-Acetoxy-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIIIAc) und den Acetaten von β - und γ -Oxy-orcein (VAc und VIAc) herangezogen. Bei XIIIAc steht neben der C=O-Gruppe Wasserstoff, bei den beiden anderen Verbindungen ein Orcindiacetat-Rest. Das Acetat vom Schmp. 211° paßt übereinstimmend in beiden Spektralbereichen besser zum 7-Acetoxy-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIIIAc), es muß also neben der Carbonylgruppe ebenfalls Wasserstoff tragen und ist ein 7-Acetoxy-4.5-dimethyl-6-[4.6-di-

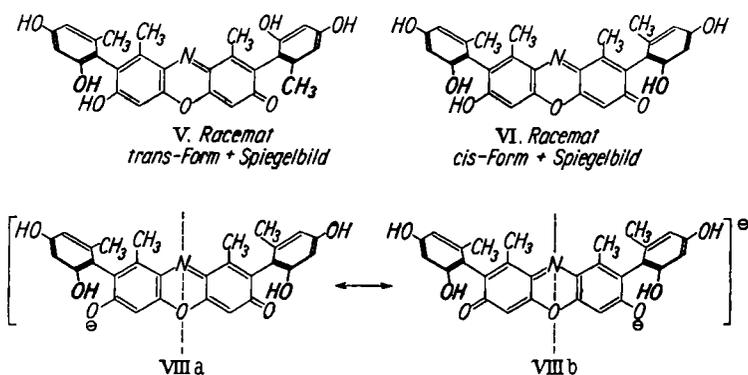
⁶⁾ Die Abweichungen liegen bei $0.01-0.02\mu$.

acetoxy-*o*-tolyl]-phenoxazon-(2) der Formel II Ac. Das Acetat vom Schmp. 189–191° deckt sich in den Spektren wiederum besser mit den Acetaten von β - und γ -Oxy-orcein und hat demnach die Formel III Ac, eines 2-Acetoxy-4.5-dimethyl-6-[4.6-di-acetoxy-*o*-tolyl]-phenoxazons-(7).

Eine Bestätigung für diese Zuordnung findet man in den IR-Spektren von 7-Acet-amino-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) und α -Amino-orcein-acetat einerseits, in dem die 6-Stellung des Orcinrestes und die 2-Stellung der C=O-Gruppe auf anderem Wege festgelegt wurde³⁾, und den Acetaten von β - und γ -Amino-orcein andererseits, die beide in 3- und 6-Stellung durch Orcinreste substituiert sind. Ihre IR-Spektren zeigen genau die gleichen Intensitätsunterschiede der Banden bei 6.06 μ , wie die Oxy-orcein-acetate (Abbild. 1).

β - und γ -Oxy-orcein (V und VI). γ -Oxy-orcein war bisher nur als Rohprodukt beschrieben worden²⁾. Durch erneute verteilungschromatographische Reinigung und Kristallisation aus wäßrigem Methanol wurde es jetzt analysenrein erhalten. Beide Verbindungen stimmen in den Summenformeln $C_{28}H_{23}NO_7$ und den IR- und UV-Spektren überein. Mit Pyridin/Acetanhydrid liefern beide kristallisierte, hellorange Pentaacetate $C_{28}H_{18}NO_7(COCH_3)_5$ (695.7) vom Schmp. 140.5–141° (VAc) und 143–147° (VI Ac), die sich nicht weiter acetylieren lassen und sauer sowie alkalisch wieder zu V bzw. VI verseift werden können. Ihre Molekulargewichte wurden durch katalytische Hydrierung (gef. 769 und 651) und ebullioskopisch (gef. 665 und 735) bestimmt und ergaben sich ferner aus der Extinktion ihrer längstwelligsten Absorptionsbande in den sichtbaren Spektren (Tab. 1; Abbild. 1).

Nach der Summenformel enthalten V und VI gegenüber II noch einen zweiten Orcinrest als Substituenten am Phenoxazongerüst. Da auch dieser Orcinrest, wie aus den Spektren zu entnehmen ist, an der Einstellung in die Phenoxazonebene sterisch stark behindert sein muß, bleibt für seine Verknüpfung aus den bei II dargelegten Gründen nur die 3-Stellung am Grundgerüst übrig. Die unsymmetrische Verknüpfung



innerhalb der Orcinreste wird weiter unten durch die thermische Isomerisierung bewiesen. Da die Orcinreste am Durchdrehen um die Verknüpfungsstelle durch die *o*-Substituenten behindert werden, können die *o*-Hydroxygruppen an den Orcinresten in *cis*- oder *trans*-Stellung zur Phenoxazonebene angeordnet sein. β - und γ -Oxy-orcein

besitzen demnach die Konstitution von *cis*- oder *trans*-7-Hydroxy-4,5-dimethyl-3,6-bis-[4,6-dihydroxy-*o*-tolyl]-phenoxazonen-(2) der Formeln V oder VI, die beide wie die entsprechenden 7-Amino-Verbindungen β - und γ -Amino-orceine³⁾ wegen der Molekülasymmetrie als Racemate vorliegen müssen. Im Gegensatz zur entsprechenden

7-Amino-Verbindung sollte sich die *cis*-Verbindung VI nicht in die Antipoden spalten lassen, da die Oxyorceine relativ stark sauer sind und das mesomere Anion VIIIa \leftrightarrow VIIIb eine Symmetrieebene besitzt, also eine *meso*-Form darstellt. Im *cis*-Acetat müssen die Antipoden aber stabil sein.

Zur Zeit lassen sich β - und γ -Oxy-orcein noch nicht den Formeln V und VI zuordnen. Es gelingt aber, die beiden Farbstoffe jeweils in ein Gemisch aus gleichen Teilen beider umzulagern, indem man sie in Glycerin 2 Std. auf 190° erhitzt (Abbild. 2), denn bei erhöhter Temperatur können die Orcinreste doch durchdrehen. Da die beiden Asymmetriezentren weit genug voneinander entfernt sind, sollten sie sich gegenseitig nicht wesentlich beeinflussen und im thermischen Gleichgewicht beide Verbindungen in etwa gleicher Menge vorliegen.

α -, β - und γ -Oxy-orcein entsprechen also in ihrer Konstitution den drei Amino-orceinen³⁾, nur daß sie statt der 7-Aminogruppe eine Hydroxygruppe tragen.

Die Nebenkomponenten Va, Vb, VIa und VIb sind ursprünglich im Orcein nur in Spuren enthalten, doch nimmt ihre Menge während der

chromatographischen Trennung und Aufarbeitung laufend zu. Mit dem chromatographisch reinen und kristallisierten β - und γ -Oxy-orcein (V und VI) läßt sich zeigen, daß die Nebenkomponenten aus V und VI durch Oxydation unter folgenden Bedingungen entstehen: 1. in alkalischer Lösung mit Luftsauerstoff, z. B. schon beim Auftragen auf ein alkalisch gepuffertes Papier zur Chromatographie²⁾; 2. mit Kaliumhexacyanoferrat(III) und 3. mit Kaliumnitroso-disulfonat⁷⁾.

Oxydiert man mit einem Unterschuß an Oxydationsmittel, so entstehen aus V viel Va und Vb und wenig einer rotbraunen Substanz, die bei der chromatographischen Trennung am Kopf der Cellulosepulversäule sitzen bleibt und früher als Zone VII bezeichnet wurde. Aus VI entstehen entsprechend VIa und VIb und ebenfalls VII. Mit einem Überschuß an Oxydationsmittel findet man nur noch Vb bzw. VIb und VII. Die Nebenkomponenten Va und VIa sind also Zwischenprodukte auf dem Wege von V und VI zu Vb und VIb.

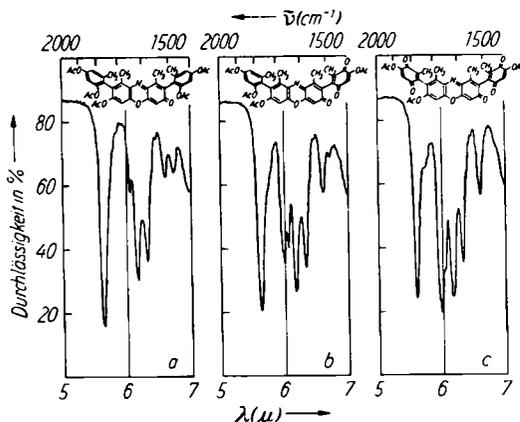


Abbild. 2. Chromatographische Analyse von V und VI vor und nach \rightleftharpoons der Isomerisierung an Cellulosepulversäulen 0,9 \times 20 cm; n-Butanol/0,2 m Phosphatpuffer, p_H 11,50

⁷⁾ H.-J. TEUBER und G. JELLINEK, Chem. Ber. 85, 95 [1952].

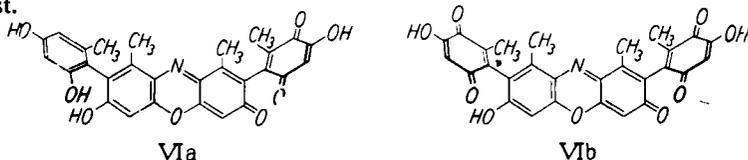
Die Verbindung Vb haben wir bei der ersten Auftrennung des Orceins nicht finden können, da sie an der Cellulosepulversäule bei p_H 11.75 mit VIa überlappt (vgl. Tab. 3).

Um die Konstitution dieser Nebenkompenten zu ermitteln, wurden VIa und VIb präparativ verteilungschromatographisch an Cellulosepulver im System n-Butanol/Phosphatpuffer bei p_H 12.00, 11.50 und 11.25 bis zur chromatographischen Einheitlichkeit gereinigt. Diese Verbindungen besitzen keine Schmelzpunkte, sie lassen sich aber durch die R -Werte im Chromatogramm charakterisieren (vgl. Tab. 3). Die sichtbaren- und UV-Spektren von VIa und VIb stimmen mit VI überein (Tab. 1), das Phenoxazon-Grundgerüst muß also bei der Oxydation erhalten geblieben sein. Nach den Analysen der amorphen Produkte enthält VIa ein und VIb zwei Sauerstoffatome mehr als VI. Die mit sehr geringen Mengen durchgeführten Molekulargewichtsbestimmungen nach BARGER-RAST zeigen, daß die Molekülgröße von VIa und VIb ungefähr mit VI übereinstimmt, daß also bei der Oxydation keine Dimeren oder Polymeren entstehen. Im IR-Spektrum von VIa und VIb erkennt man im Gegensatz zu VI eine neue Bande bei 6.02μ , deren Intensität von VIa zu VIb zunimmt und die in ihren Acetaten bei 6.00μ noch deutlicher zu sehen ist (Abbild. 3). Danach kann man an-



Abbild. 3. IR-Spektren der Acetate von a) γ -Oxy-orcein VI und den Nebenkompenten b) VIa und c) VIb

nehmen, daß bei VI zuerst der eine seitenständige Orcinrest und dann der zweite zum 6-Hydroxy-toluchinon-Rest⁸⁾ oxydiert wird, wie es in den Formeln VIa und VIb angezeigt ist.

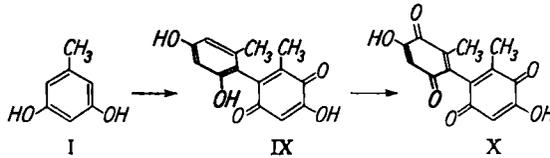


In den sichtbaren und UV-Spektren von VIa und VIb sind die Chinonreste nicht zu erkennen, da die Absorptionsmaxima des 6-Hydroxy-toluchinons¹⁾ in neutraler und

⁸⁾ Die Carbonylbande des 6-Hydroxy-toluchinons und der Chinone IX und X liegt ebenfalls bei 6.02μ (l. c.¹⁾).

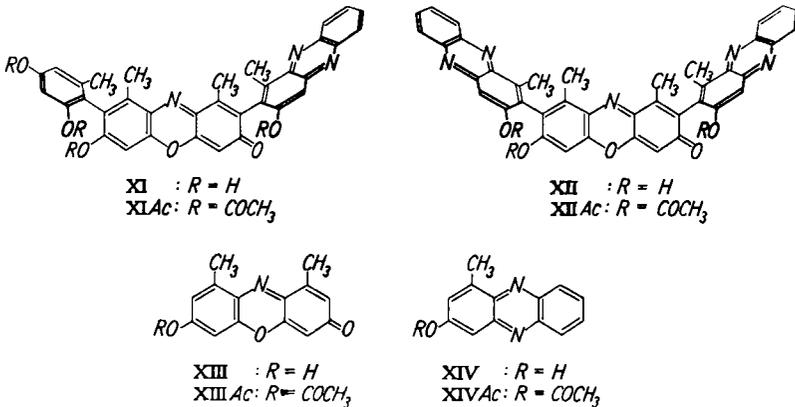
alkalischer Lösung viel weniger intensiv sind und bei Wellenlängen liegen, wo sie von den sehr intensiven Phenoxazonbanden vollständig überlagert werden.

Die Oxydation von β - und γ -Oxy-orcein verläuft also analog der Autoxydation von Orcein in wäßrigem Alkali bei Abwesenheit von Ammoniak, bei der die Chinone IX und X entstehen¹⁾.

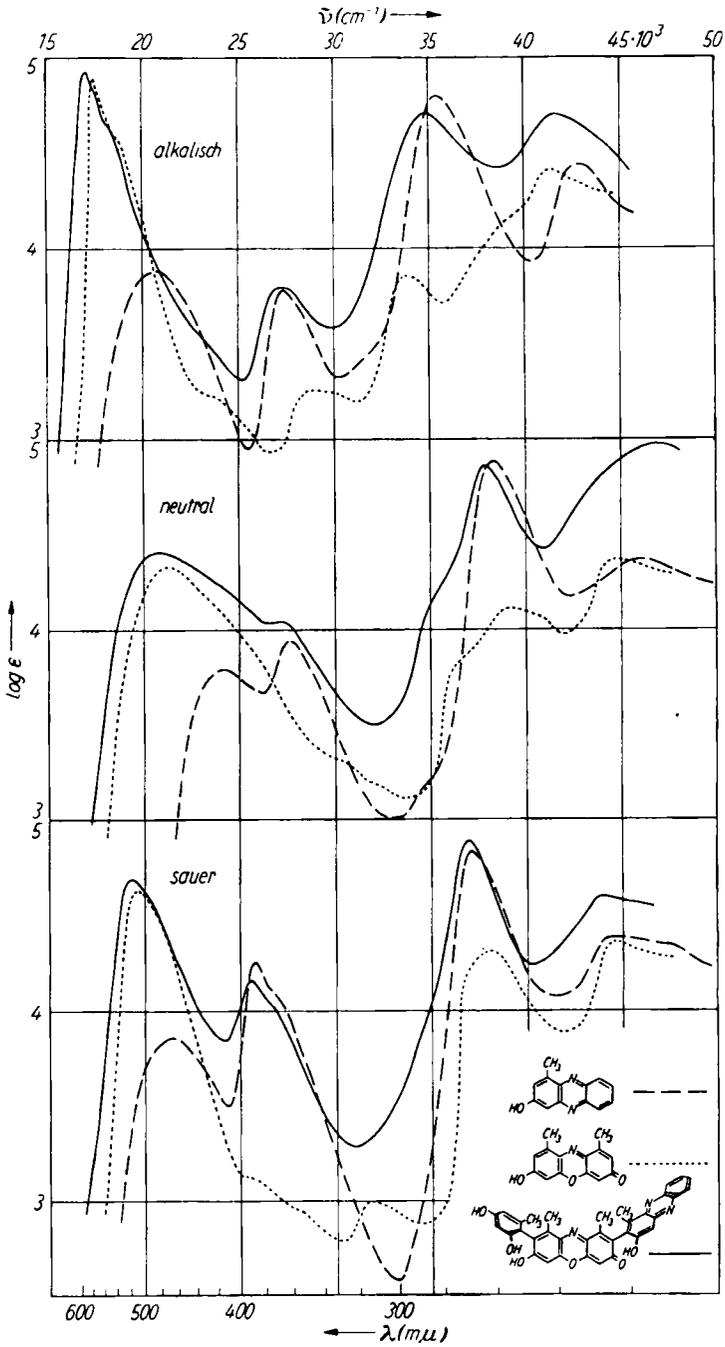


Um dieses Ergebnis noch auf anderem Wege zu bestätigen, wurden die Nebenkomponenten VIa und VIb katalytisch bis zur Entfärbung hydriert, wobei, wie die Formeln es verlangen, VIa 2 Moll. und VIb 3 Moll. Wasserstoff verbrauchten, während V und die Acetate von V und VI nur 1 Mol. aufnahmen.

Ferner gelang es, aus VIa und VIb mit *o*-Phenylendiamin in Eisessig die Phenazin-Derivate XI und XII darzustellen, die sich ebenfalls chromatographisch reinigen lassen (Tab. 3) und deren Konstitution durch die Lichtabsorption bewiesen wird. Beide Teilchromophore 7-Hydroxy-4,5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIII) und 3-Hydroxy-1-methyl-phenazin (XIV) besitzen im sichtbaren und UV-Spektrum intensive Maxima bei verschiedenen Wellenlängen, die durch Säure und Alkali in charakteristischer Weise verschoben werden^{1,4)}. Durch die sterische Mesomeriebehinderung in XI und XII sollten die chromophoren Phenoxazon- und Phenazingruppen unabhängig von-

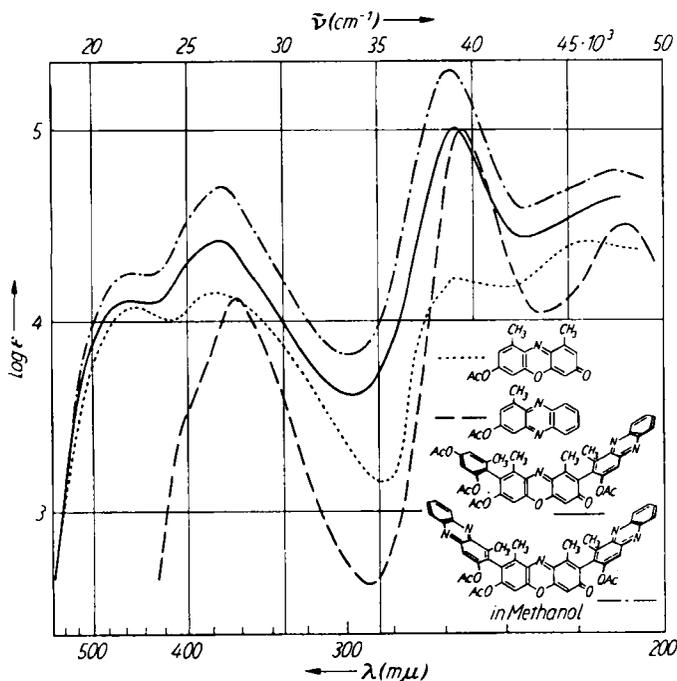


einander absorbieren. Das ist tatsächlich der Fall, denn die Spektren von XI und XII setzen sich bei allen p_{H} -Verschiebungen aus den Maxima von XIII und XIV im erwarteten Intensitätsverhältnis zusammen. In Tab. 1 und Abbild. 4 erkennt man am Spektrum von XI, daß die gegenseitige Substitution von XIII und XIV die Banden nur um 5 bis 10 $m\mu$ langwellig verschiebt, wie es von nichtmesomeriefähigen Gruppen, z. B. Alkylgruppen, her bekannt ist.



Abbild. 4. Spektren von 7-Hydroxy-4,5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIII), 3-Hydroxy-1-methyl-phenazin (XIV) und dem Phenazinderivat XI; oben: in 0,2 n methanol. KOH; Mitte: in Methanol; unten: in 0,2 n methanol. HCl

Aus den Phenazinderivaten XI und XII erhält man in Pyridin/Acetanhydrid ihre kristallisierten Acetate XI_{Ac} und XII_{Ac}, deren Spektren sich ebenfalls, wie es aus Tab. 1 und Abbild. 5 zu entnehmen ist, durch Addition der Spektren von den acetylierten Teilchromophoren XIII_{Ac} und XIV_{Ac} ergeben.



Abbild. 5. Spektren der Acetate von den Phenazinderivaten der Nebenkomponenten VI a (XI_{Ac}) und VI b (XII_{Ac}), 7-Acetoxy-4,5-dimethyl-phenoxazon-(2) (XIII_{Ac}) und 3-Acetoxy-1-methyl-phenazin (XIV_{Ac}) in Methanol

Die hier beschriebenen Versuche an den Nebenkomponenten VI a und VI b wurden z. T. an den Nebenkomponenten Va und Vb wiederholt und führten zum gleichen Ergebnis, so daß für die Oxydationsprodukte von β -Oxy-orcein (V) die entsprechenden *cis-trans*-isomeren Formeln gelten.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danken wir für eine Sachbeihilfe und den CHEMISCHEN WERKEN HÜLS für größere Mengen Butanol. Den Herren J. H. MANEGOLD und W. LENK danken wir für die Hilfe beim Messen der Spektren.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Alle Schmp. wurden unter dem KOFLER-Heizmikroskop bestimmt und sind korrigiert. Die IR-Spektren wurden im Perkin-Elmer 21, die UV-Spektren im Zeiss-Spektralphotometer M4Q II gemessen. Die Acetylbestimmungen lieferten beim Verseifen mit WENZELSCHE Schwefelsäure (120 Min.) um 1–2 % zu niedrige Werte, beim Verseifen mit methanol. Kalilauge (60 Min.) bis 1 % zu hohe Werte.

Die präparative Trennung von 18.4 g Orcein durch Verteilungschromatographie an Cellulosepulver im System n-Butanol/0.2*m* Phosphatpuffer wurde nach dem bereits beschriebenen verbesserten Verfahren^{2,3)} durchgeführt. Nach der ersten Trennung bei p_H 12.00 waren alle Rohfraktionen noch durch die Nachbarzonen verunreinigt. Die Fraktionen V bis VIb ergaben nach der zweiten Trennung bei p_H 11.50 reinere Produkte, die nur noch geringe Mengen ihrer Oxydationsprodukte enthielten; V enthielt noch etwas Va, Vb und VII, Va etwas Vb und VII usw. Die Hauptkomponenten V und VI wurden anschließend an Kieselgel im System Chloroform/Formamid/Pyridin (4:4:1) chromatographiert und konnten danach kristallisiert werden. Die Nebenkomponten Va und VIa und VIb fielen nach der dritten Trennung bei p_H 11.25 als chromatographisch einheitliche amorphe Produkte an und erwiesen sich als so empfindlich, daß auf weitere Reinigungs- und Kristallisationsversuche verzichtet werden mußte. Die Ausbeuten bei den einzelnen Stufen zeigt Tab. 2. Bei diesen Trennungen wurde ferner festgestellt, daß die Mengen der Nebenkomponten um so mehr auf Kosten von V und VI zunahmen, je länger die Lösungen von V und VI im alkalischen Puffersystem mit Sauerstoff in Berührung kamen.

Tab. 2. Ausbeuten bei der präparativen Isolierung der Oxy-orceine in g

Komp.	1. Trennung p_H 12.00	2. Trennung p_H 11.50	p_H 11.25	3. Trennung an SiO ₂	krist.
II	1.271				0.508
V	2.800	0.528		0.220	0.165
Va		0.490	0.039		
VI	1.645	0.308		0.182	0.035
VIa	1.542	1.610	0.192		
VIb	0.910	0.730	0.102		

α-Oxy-orcein (II): 1.272 g rohes II von der ersten Trennung ergaben nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol 0.508 g krist. und chromatographisch reines II mit den früher beschriebenen Eigenschaften²⁾.

α-Oxy-orcein-acetat (IIAc und IIIAc): Die rote Lösung von 90.1 mg II in 1 ccm trockenem Pyridin färbte sich nach Zusatz von 2 ccm eisessigfreiem Acetanhydrid bei 20° in 5 bis 10 Min. tiefgelb und wurde nach 20 Stdn. i. Vak. eingedampft. Nach dreimaligem Abdampfen des Rückstandes mit wenig Benzol i. Vak. wurde dieser aus Benzol an einer 2 × 25-cm-Säule aus Gips chromatographiert, wobei die gelbe Hauptzone mit 3 % Essigester enthaltendem Benzol oder mit Chloroform eluiert werden konnte und geringe Mengen orangebrauner Verunreinigungen am oberen Säulenende hängenblieben. Bei der fraktionierten Kristallisation des Rückstandes (100 mg) aus der i. Vak. eingedampften Hauptfraktion resultierten zwei kristallisierte Acetate: 1. 43.1 mg (31 % d. Th.) IIIAc, derbe orange Prismen aus Benzol, die beim Trocknen bei 100° i. Hochvak. ein Mol. Kristallbenzol verloren (ber. 13.75 %; gef. 13.39, 14.03 %) und getrocknet nach Sintern bei 180° zwischen 189 bis 191° unter Zers. schmolzen. 2. Aus den Mutterlauge erhielt man aus Benzol/Cyclohexan 20.0 mg (17% d. Th.)

IIAc in orangegelben Stäbchen vom Schmp. 211° (Zers.), die meist in Büscheln oder Drusen angeordnet waren und beim Trocknen i. Hochvak. kein Gewicht verloren. Misch-Schmp. *IIAc* + *IIIAc* 175–196° (Zers.).

$C_{21}H_{14}NO_5(COCH_3)_3$ (489.5)	Ber. C 66.25 H 4.74 N 2.86 CH_3CO 26.4
<i>IIAc</i>	Gef. C 66.50 H 4.83 N 2.89 CH_3CO 24.6*), 27.4**)
<i>IIIAc</i>	Gef. C 66.33 H 4.83 N 2.87 CH_3CO 25.4, 27.9
	Mol.-Gew. <i>IIIAc</i> 468 (ebullioskop.) in Chloroform
	481 (katalyt. Hydrierung)

*) sauer **) alkalisch verseift

Die saure und alkalische Hydrolyse wurden bei allen in dieser Arbeit aufgeführten Acetaten in der beim α -Amino-orcein-acetat³⁾ beschriebenen Weise ausgeführt und lieferten in allen Fällen die erwarteten Orceinfarbstoffe zurück.

Bei einigen Acetylierungsversuchen mit unreinem II oder bei längerem Stehenlassen der Ansätze konnte aus dem Gemisch neben diesen beiden Acetaten noch eine schwerlösliche, aus Benzol in farblosen Rhomben kristallisierende stickstofffreie Verbindung vom Schmp. 177.5–179° (bis zu 17 % d. Th.) isoliert werden, die wir als Acetat eines Abbauproduktes von II ansehen.

α -Oxy-orcein-leukoacetat: a) Die siedende Mischung aus 27.6 mg *IIIAc*, 100 mg Zinkstaub, 20 mg wasserfreiem Natriumacetat und 1.5 ccm Acetanhydrid entfärbte sich in 15 Min. und wurde noch 45 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Kühlen und Absaugen wurde die sich hellrosa färbende Lösung i. Vak. abgedampft und der z. T. krist. Rückstand an Gips aus Benzol chromatographiert. Der Rückstand aus dem i. Vak. verdampften Benzol-eluat lieferte bei wiederholter Kristallisation aus Benzol/Cyclohexan 6.3 mg (21 % d. Th.) fast farblose Kristalle vom Schmp. 210–212° (Zers.).

b) Eine Lösung von 45.7 mg *IIIAc* in 3.5 ccm Acetanhydrid wurde über 58.2 mg 5 % Palladium auf Bariumsulfat bei 25° hydriert, wobei sich die Lösung in 20 Min. bei einem Wasserstoffverbrauch von 2.13 ccm (korr.) entfärbte. Die Lösung wurde unter Wasserstoff mit 2 ccm Pyridin versetzt, nach 3 Stdn. vom Katalysator abfiltriert und i. Vak. verdampft. Aus dem rosa gefärbten Rückstand konnten durch dreimaliges Umkristallisieren aus Benzol 21 mg (42 % d. Th.) farblose, viereckige Plättchen vom Schmp. 207–209° (Zers.) erhalten werden, die im Misch-Schmp. und IR-Spektrum mit dem nach a) erhaltenen Präparat übereinstimmten und sich in Lösung an der Luft unter Verseifung und Rückoxydation wieder in II verwandeln ließen. Zur Analyse wurde bei 50° i. Hochvak. getrocknet.

$C_{21}H_{14}NO_5(COCH_3)_5$ (575.6)	Ber. N 2.44 CH_3CO 37.4
$C_{21}H_{15}NO_5(COCH_3)_4$ (533.5)	Ber. N 2.63 CH_3CO 32.4 Gef. N 2.60 CH_3CO 32.7**)

β -Oxy-orcein (V): Nach der dritten Trennung an Kieselgel wurden durch Umkristallisieren aus Methanol 165 mg kleine rote verfilzte Nadeln erhalten, die sich beim Einwerfen in den auf 340° vorgeheizten Block unter Aufschäumen zersetzten und zur Analyse bei 150° i. Hochvak. getrocknet wurden.

$C_{28}H_{23}NO_7$ (485.5)	Ber. C 69.27 H 4.78 N 2.89 O 23.07 4 C- CH_3 12.6
	Gef. C 68.89 H 5.08 N 2.93 O 22.87 C- CH_3 10.2
	Mol.-Gew. 455 (katalyt. Hydrierung)

β -Oxy-orcein-acetat (VAc): 70 mg V lieferten mit Pyridin/Acetanhydrid in 10 Min. bei 20° nach dem Abdampfen i. Vak. und anschließender Chromatographie des Rückstandes an saurem Kieselgel mit Chloroform und Chloroform/Essigester (7:3) ein orangegelbes Acetat, von dem aus Toluol bei längerem Aufbewahren 85 mg (76 % d. Th.) kristallisiert

erhalten wurden. Es verliert beim Trocknen i. Hochvak. bei 100° 1 Mol. Toluol (ber. 11.8 %; gef. 12.0 %) und schmilzt nach Sintern ab 132° bei 140.5–141° unter Zersetzung.

$C_{28}H_{18}NO_7(COCH_3)_5$ (695.7) Ber. C 65.50 H 4.78 N 2.02 $COCH_3$ 30.9
 Gef. C 65.80 H 4.92 N 1.94 $COCH_3$ 28.7 *)
 Mol.-Gew. 735 (ebullioskop.) in Trichloräthylen
 769 (katalyt. Hydrierung)

β-Oxy-orcein-leukoacetat: Aus 57.1 mg VAc wurden wie bei IIac nach Methode b) 25.3 mg (42 % d. Th.) farblose Kristalle vom Schmp. 130–134° (Zers.) erhalten, deren IR-Spektrum wie beim Leukoacetat von II die Anwesenheit einer NH-Gruppe und das Fehlen einer $>N-CO-CH_3$ -Gruppe anzeigte.

γ-Oxy-orcein (VI): Nach der dritten Trennung an Kieselgel konnten aus 182 mg durch Umkristallisieren aus 10 ccm Methanol unter Zusatz einiger Tropfen Wasser 34.7 mg rotbrauner Stäbchen und Platten erhalten werden. Die Mutterlauge ergab nach dem Einengen i. Vak. noch 145 mg weniger reines VI. Bei einem zweiten Ansatz ließen sich aus der gleichen Menge Orcein 130 mg kristallisiertes VI gewinnen, wobei nach der ersten Trennung an Cellulosepulver bei p_H 11.75 gleich an Kieselgel im Chloroform/Formamid/Pyridin-System und zuletzt wieder an Cellulosepulver im System Butanol/Eisessig/Aceton/n-Dibutyläther/Wasser (2:2:9:5:5) chromatographiert wurde. Die reine Verbindung ist in Methanol besser löslich als V, und färbt sich beim langsamen Erwärmen ab 250° schwarz ohne zu schmelzen, zersetzt sich aber unter Aufschäumen beim Einwerfen in den auf 330° vorgeheizten Block. Zur Analyse wurde bei 150° i. Hochvak. getrocknet.

$C_{28}H_{23}NO_7$ (485.5) Ber. C 69.27 H 4.78 N 2.89 $4C-CH_3$ 12.6
 Gef. C 68.53 H 5.04 N 2.81 $C-CH_3$ 11.6

γ-Oxy-orcein-acetat (VIac): 120 mg VI ergaben wie bei VAc aus Benzol bei längerem Stehenlassen 170 mg (92 % d. Th.) orangefelbe Nadeln, die beim Trocknen i. Hochvak. bei 100° 7.2 % ihres Gewichts verloren (1 Mol. Benzol, ber. 10.1 %) und nach Sintern bei 132° zwischen 143 und 147° unter Zersetzung schmolzen.

$C_{28}H_{18}NO_7(COCH_3)_5$ (695.7) Ber. C 65.50 H 4.78 N 2.02 $COCH_3$ 30.9
 Gef. C 65.62 H 5.19 N 1.93 $COCH_3$ 28.9 *)
 Mol.-Gew. 665 (ebullioskop.) in Trichloräthylen
 651 (katalyt. Hydrierung)

Die *thermische Isomerisierung* von V und VI wurde wie bei den Amino-orceinen ausgeführt³⁾. Die Umlagerung ist bei 185° nach einer Stde. bereits sehr weit fortgeschritten, und bei 200° hat sich das Gleichgewicht zwischen V und VI 1:1 vollständig eingestellt. Bei den Nebenkomponenten Va und VIa sowie Vb und VIb ließ sich eine Isomerisierung nicht nachweisen, da sich die Verbindungen beim Erhitzen in Glycerin vollständig zersetzen.

Die *Nebenkomponenten VIa und VIb* wurden nach der dritten Trennung als chromatographisch einheitliche rotbraune amorphe Pulver erhalten, die sich bei schnellem Erhitzen zwischen 250 und 300° schwarz färbten, ohne zu schmelzen oder aufzuschäumen. Sie lösen sich besser in Methanol und Aceton als V und VI und zersetzen sich in Lösung wesentlich schneller zu VII. Ihre relativen Wanderungsgeschwindigkeiten (*R*-Werte) bei der Chromatographie zeigt Tab. 3. Zur Analyse wurde bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

VIa	$C_{28}H_{21}NO_8$ (499.5)	Ber. C 67.33	H 4.24	N 2.80	$4C-CH_3$ 12.3
		Gef. C 67.36, 67.01	H 5.42, 5.39	N 2.15, 2.40	$C-CH_3$ 9.6
VIb	$C_{28}H_{19}NO_9$ (513.4)	Ber. C 65.50	H 3.73	N 2.73	$4C-CH_3$ 11.9
		Gef. C 64.55, 66.51	H 4.62, 4.96	N 2.66, 1.95	$C-CH_3$ 11.1

Die zu hohen Wasserstoffwerte in den Analysen führen wir auf sehr fest anhaftendes Lösungsmittel und Verunreinigungen aus dem Cellulosepulver zurück.

Acetate der Nebenkomponten VIa und VIb: Die Acetylierung von 66.8 mg VIa in Pyridin/Acetanhydrid ergab nach Chromatographie und Trocknen bei 100° i. Hochvak. 59.0 mg (67 % d. Th.) eines orangen Pulvers vom Schmp. 96–101° und von 49.5 mg VIb analog 57.7 mg (94 % d. Th.) mit der gleichen Farbe und einem Schmp. von 119–122°.

VIa-Acetat $C_{28}H_{17}NO_8(COCH_3)_4$ (667.6) Ber. C 64.76 H 4.38 N 2.10

Gef. C 64.57 H 5.22 N 1.97

VIb-Acetat $C_{28}H_{16}NO_9(COCH_3)_3$ (639.6) Ber. C 63.84 H 3.94 N 2.19

Gef. C 63.32 H 4.80 N 2.15

Die Molekulargewichte der Nebenkomponten VIa und VIb sowie ihrer Acetate wurden nach der BARGER-RAST-Methode mit Azobenzol als Vergleichssubstanz in Konzentrationen von 0.01 und 0.02 Mol/l bestimmt. In mehreren Versuchen wurden für VIa und VIb in Aceton im Mittel Werte von $500 \pm 30\%$ und für die Acetate in Benzol Werte von $700 \pm 30\%$ gefunden.

Tab. 3. R_{II} -Werte der Oxy-orceine an Cellulosepulversäulen im System n-Butanol/0.2 m Phosphatpuffer bei verschiedenem p_H , bezogen auf α -Oxy-orcein bei 17°

Komponente	p_H 12.25	p_H 12.00	p_H 11.75	p_H 11.50
α -Oxy-orcein (II)	1.00	1.00	1.00	1.00
β -Oxy-orcein (V)	0.10	0.22	0.31	0.47
Nebenkomp. Va	0.07	0.14	0.18	0.19
Nebenkomp. Vb	0.035	0.05	0.08	0.08
γ -Oxy-orcein (VI)	0.05	0.11	0.16	0.28
Nebenkomp. VIa	0.035	0.07	0.08	0.11
Nebenkomp. VIb	0.03	0.03	0.03	0.03
Phenazin von VIa (XI)		0.62	0.65	
Phenazin von VIb (XII)		1.23	1.11	

Tab. 4. Einzelheiten und Ergebnisse der katalytischen Hydrierungen

Substanz	IIAc	VAc	VIaC	V	VIa	VIb
Lösungsmittel	Acet- anhydrid	Acet- anhydrid	Acet- anhydrid	Eisessig	Eisessig	Eisessig
ccm	3.5	4	4	4	4	4
Einwaage mg Subst.	45.7	57.1	70.4	50.1	25.4	10.4
Katalysator	58.2	42.4	52.0	54.5	50.1	52.3
Temp. °C	24.8	22.5	22.5	22.2	22.2	23.0
Druck Torr	745	741	747	742	750	742
Zeit in Min. bis zur Entfärbung	20	750*)	360	35	45	20
Wasserstoffverbr. ccm	2.37	1.84	2.66	2.74	2.30	1.60
Mol. H ₂ pro Mol. Subst.	1.02	0.90	1.07	1.06	1.84	3.19
Mol.-Gew.						
ber.	489	696	696	485	499	513
gef.	481	769	651	455	540	486

*) noch nicht vollständig entfärbt

Die Molekulargewichte von V, VIa, VIb, VAc und VIAc ließen sich ferner durch katalytische Hydrierung über 5 % Palladium auf Bariumsulfat ermitteln, wobei die Abweichung vom theoretischen Wert in keinem Fall mehr als 10 % betrug. Die Einzelheiten sind Tab. 4 zu entnehmen.

Phenazinderivat der Nebenkomponente VIa (XI) und dessen Acetat (XIAc): Eine Lösung von 290 mg rohem VI, das wenig VIa und VIb enthält, in 10 ccm 0.2*m* Phosphatpuffer, p_H 11.6, und 10 ccm *n*-Butanol wurde mit 150 mg Kaliumnitrosodisulfonat (1 Mol.) 5 Min. geschüttelt, mit verd. Schwefelsäure angesäuert, die Butanolphase mit Wasser neutral gewaschen und i. Vak. verdampft. Nach der chromatographischen Analyse des Rückstandes war dabei alles VI zu viel VIa, etwas weniger VIb und sehr wenig VII oxydiert worden. Die Lösung des Rückstandes in 50 ccm Eisessig wurde mit 120 mg *o*-Phenylendiamin kurz aufgekocht, nach 12 Std. zwischen Wasser und *n*-Butanol verteilt, die organische Phase mit Wasser neutral gewaschen und i. Vak. zur Trockne eingedampft. Bei der Verteilungschromatographie des Gemisches der Phenazinderivate an Cellulosepulver im System 0.2*m* Phosphatpuffer p_H 11.75/*n*-Butanol wurden drei rotviolette Zonen erhalten. Zone 1 ($R_{II} = 1.11$) enthielt das Phenazinderivat der Nebenkomponente VIb (39 mg XII), Zone 2 ($R_{II} = 0.65$) das der Nebenkomponente VIa (105 mg XI) und Zone 3 ($R_{II} = 0.45$) enthielt wenige mg einer Substanz, die bei erneuter Umsetzung mit *o*-Phenylendiamin in XII überging, bei der es sich also um das Oxydationsprodukt von XI handelt, in dem der noch nicht angegriffene Orcinrest durch den Luftsauerstoff zum 6-Hydroxy-toluchinon-Rest oxydiert worden ist. Das rohe XI lieferte bei einer weiteren Chromatographie an Cellulosepulver im System *n*-Butanol/Eisessig/Aceton/*n*-Dibutyläther/Wasser (2:2:9:5:5) 60 mg reines XI als dunkelroten Lack.

Eine Lösung von 17 mg dieses Lackes in 1 ccm Pyridin und 0.5 ccm Acetanhydrid wurde nach 10 Min. i. Vak. verdampft und der Rückstand an 20 Min. bei 120° aktiviertem Kieselgel mit Chloroform/Essigester (7:3) chromatographiert. Aus dem Rückstand (15 mg) des i. Vak. eingedampften Eluates wurden beim Umkristallisieren aus einem Tropfen Benzol 3.8 mg gut ausgebildete orangebraune Kristalle erhalten, die sich zwischen 263–265° dunkelbraun färbten und von 275 bis 280° unter Zersetzung schmolzen. Zur Analyse wurde bei 100° i. Hochvak. getrocknet.

$C_{42}H_{33}N_3O_{10}$ (739.8) Ber. N 5.68 Gef. N 5.62 (Einwaage 1.5 mg)

Phenazinderivat der Nebenkomponente VIb (XII) und dessen Acetat (XIIAc): 60 mg reines, kristallisiertes VI wurden analog mit 220 mg Kaliumnitrosodisulfonat (7 Moll.) oxydiert, wobei neben wenig VII nur VIb entstand. Nach Umsetzung mit *o*-Phenylendiamin und chromatographischer Reinigung erhielt man 75 mg einheitliches XII als dunkelroten Lack. 67 mg davon wurden acetyliert und ergaben nach zweimaliger Chromatographie an Kieselgel 32 mg oranges Acetat, von dem aus 2 ccm absol. Äthanol 21 mg kristallisiert werden konnten. Die eingeengte Mutterlauge lieferte noch 5 mg. Die erste Fraktion schmolz nach vorherigem Sintern zwischen 214 und 216° zu einer zähen orangefarbenen Flüssigkeit und wurde zur Analyse bei 110° i. Hochvak. getrocknet.

$C_{46}H_{33}N_5O_8$ (783.8) Ber. C 70.49 H 4.24 N 8.94 Gef. C 70.03 H 4.28 N 8.65