

HANS MUSSO, HANS-GEORG MATTHIES, HORST KRÄMER und PETER HOCKS

Über Orceinfarbstoffe, XI¹⁾

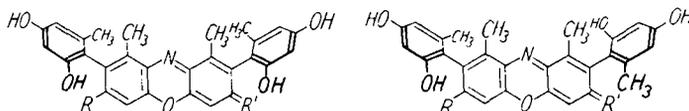
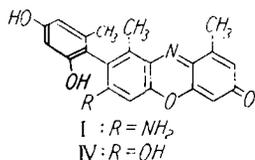
Die Konstitution der Amino-orceimine

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 21. März 1960)

β - und γ -Amino-orceimin besitzen die Formeln VII und VIII. p_K -Werte und Redoxpotentiale von Orceinfarbstoffen und Phenoxazonmodellen werden besprochen.

Orcein entsteht bei der Autoxydation von Orcin in wäßrigem Ammoniak und läßt sich verteilungschromatographisch in viele Farbstoffe trennen, die man nach den Spektren in drei Gruppen einteilen kann²⁾. Die Verbindungen der ersten Gruppe, α -, β - und γ -Amino-orcein, besitzen einen 7-Amino-phenoxazon-(2)-Chromophor und die Formeln I, II und III³⁾. Die Hauptkomponenten der zweiten Gruppe, α -, β - und γ -Oxy-orcein, sind die entsprechenden Derivate des 7-Hydroxy-phenoxazons-(2), IV, V und VI⁴⁾. Die dritte Gruppe umfaßt die Hauptkomponenten β - und γ -Amino-orceimin und die nur in sehr geringer Menge isolierte Nebenkomponente α -Amino-orceimin. Für die drei zuletzt genannten Farbstoffe konnte spektroskopisch ein 7-Amino-phenoxazim-(2)-Grundgerüst ermittelt werden⁵⁾.



II und III *cis* oder *trans*⁶⁾ : R = NH₂; R' = O
V und VI *cis* oder *trans* : R = OH; R' = O
VII und VIII *cis* oder *trans* : R = NH₂; R' = NH

Es liegt nahe, für β - und γ -Amino-orceimin die den übrigen β - und γ -Komponenten analogen *cis-trans*-isomeren Formeln VII und VIII anzunehmen. Die vorliegende Arbeit versucht, diese Annahme zu beweisen.

¹⁾ X. Mitteil.: H. MUSSO und C. RATHJEN, Chem. Ber. **92**, 751 [1959].

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

³⁾ H. MUSSO und H. BEECKEN, Chem. Ber. **90**, 2190 [1957].

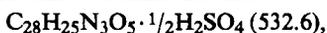
⁴⁾ H. MUSSO und H. KRÄMER, Chem. Ber. **91**, 2001 [1958].

⁵⁾ H. MUSSO und H.-G. MATTHIES, Chem. Ber. **90**, 1814 [1957].

⁶⁾ Eine *cis-trans*-Zuordnung ist für die β - und γ -Komponenten noch nicht getroffen worden.

DIE KONSTITUTION DES β - UND γ -AMINO-ORCEIMINS

β - und γ -Amino-orceimin sind im Orcein mit etwa 4 und 10% enthalten. Sie wandern bei der Chromatographie an Cellulosepulver im System Aceton/Dibutyläther/Butanol/Eisessig/Wasser (9:5:2:2:5) und an Kieselgel in Chloroform/Formamid/Pyridin (10:10:2—3) etwa gleich schnell, werden aber in Butanol/Phosphatpuffer p_H 11.75—12.25 an Cellulosepulver glatt getrennt. Durch die Kombination dieser Verteilungssysteme konnten sie von den anderen Komponenten des Orceins und voneinander abgetrennt und chromatographisch rein als tief blauviolette Sulfate isoliert werden. γ -Amino-orceimin-sulfat kristallisiert aus Butanol in kleinen blauviolettten Stäbchen mit moosgrünem Glanz, aus Butanol bei Zusatz von Chloroform in grün schillernden, kleinen, sechseckigen Blättchen. Die Analysen passen auf die für VII oder VIII berechnete Summenformel



wenn man annimmt, daß ein aus Methanol gefälltes Präparat ein Mol. Methanol und ein aus Butanol kristallisiertes Präparat ein Mol. Butanol enthält. Bei der β -Komponente blieben alle bisherigen Kristallisationsversuche erfolglos. Die katalytische Hydrierung führte zu den Molekulargewichten 532 bzw. 518. Beide Komponenten stimmen in den Elektronen- und Schwingungsspektren sowie in den p_K -Werten und Redoxpotentialen überein. In saurer und neutraler Lösung zeigen die violetten Kationen ein intensives Absorptionsmaximum bei $597 m\mu$; mit $2n$ Alkali werden die roten unbeständigen Basen freigesetzt, die bei $506 m\mu$ absorbieren.

Mit Pyridin/Acetanhydrid erhält man amorphe, braune Acetate, deren IR-Spektren an den *O*-Acetylbanden bei $1773/cm$ und den *N*-Acetylbanden bei $1698/cm$ zeigen, daß β - und γ -Amino-orceimin acetylierbare Hydroxy- und Aminogruppen enthalten.

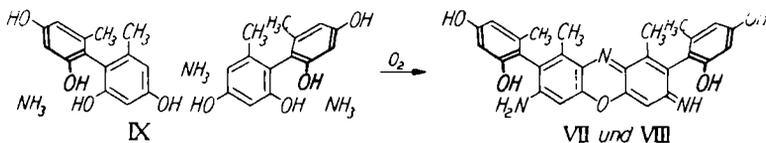
Bei Raumtemperatur können die seitenständigen Orceinreste in den Verbindungen VII und VIII wegen der sterischen Hinderung durch die Substituenten in *o*-Stellung zur Verknüpfung am Grundgerüst nicht um die Verknüpfungssachse durchdrehen. Erhitzt man aber reines β - und γ -Amino-orceimin jedes für sich in Glycerin eine Stunde auf 215° , so erhält man jeweils ein Gemisch aus beiden Verbindungen, in dem das Ausgangsmaterial noch etwas überwiegt (Abbild.). Es gelingt hier nicht wie bei den β - und γ -Komponenten der Amino- und Oxy-orceine, die Einstellung des thermischen Gleichgewichtes 1:1 durch längere Reaktionszeit zu erreichen, denn bei β - und γ -Amino-orceimin wird diese Umlagerung von einer so starken Zersetzung begleitet, daß nach zwei Stunden im Chromatogramm keine Zonen mehr zu erkennen sind.



Chromatogramme von β - und γ -Amino-orceimin (VII oder VIII) vor und nach \rightleftharpoons der Isomerisierung an Cellulosepulversäulen 0.9×20 cm; n-Butanol/ $0.2 m$ Phosphatpuffer p_H 12.00

Somit enthalten β - und γ -Amino-orceimin ebenso wie die anderen β - und γ -Komponenten des Orceins zwei seitenständige unsymmetrisch gebundene Orcinreste, deren Hydroxygruppen in *cis*- bzw. *trans*-Stellung zueinander stehen (VII, VIII).

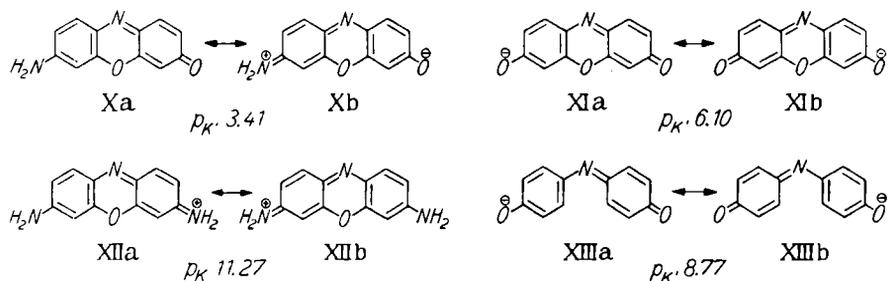
Diese Konstitution und vor allem die Verknüpfungsstellen der Orcinreste am Grundgerüst werden durch die folgende Synthese von β - und γ -Amino-orceimin bestätigt. Oxydiert man 4.6.4'.6'-Tetrahydroxy-bitolyl-(2.2')⁷⁾ (IX) in wäßrigem Ammoniak in Gegenwart von Reduktionsmitteln wie Resorcin oder Natriumdithionit mit Luft-sauerstoff, so erhält man ein Gemisch aus allen β - und γ -Komponenten des Orceins, II, III, V, VI und VII, VIII⁸⁾.



Es läge ferner auf der Hand, für α -Amino-orceimin eine den anderen α -Komponenten I und IV analoge Konstitution mit nur einem Orcinrest anzunehmen. Hierfür gibt es aber keinen Anhaltspunkt, denn es wurden aus 14 g Orcein nur 20 mg isoliert, deren Stickstoffgehalt nicht größer war, als bei β - und γ -Amino-orceimin. Bei einer Wiederholung der Trennung mit frisch vorbereitetem Orcein konnte diese Komponente nicht nachgewiesen werden. Es handelt sich bei α -Amino-orceimin um ein Zersetzungsprodukt, das bei der langwierigen Trennung und Aufarbeitung aus β - und γ -Amino-orceimin entsteht, und in dem der Chromophor erhalten geblieben ist (vgl. hierzu die Oxydationsprodukte der Oxy-orceine⁴⁾).

p_K -WERTE UND REDOXPOTENTIALE VON ORCEINFARBSTOFFEN UND MODELLVERBINDUNGEN

7-Amino-phenoxazon-(2) (X) ist mit einem p_K -Wert von 3.41 wegen der „Säureamid-Mesomerie“ $Xa \leftrightarrow Xb$ schwach basisch, und die Anlagerung des ersten



Protons erfolgt am Carbonylsauerstoffatom. 7-Hydroxy-phenoxazon-(2) (XI) verhält sich wie eine vinyloge Carbonsäure und ist nach dem p_K -Wert 6.10 vergleichbar mit Essigsäure (p_K in 54-proz. Methanol 5.80⁹⁾). 7-Amino-phenoxazim-(2) (XII) ist wie

⁷⁾ H. Musso, Chem. Ber. 91, 349 [1958].

⁸⁾ Über die Einzelheiten und den Mechanismus dieser Reaktion soll bald berichtet werden.

⁹⁾ A. L. BACARELLA, E. GRUNWALD, H. P. MARSHALL und E. LEE PURLEE, J. phys. Chem. 62, 856 [1958].

ein Amidin eine starke Base mit dem p_K -Wert 11.27¹⁰⁾. Die mesomeren Ionen mit den symmetrischen Grenzstrukturen XIa \leftrightarrow XIb und XIIa \leftrightarrow XIIb sind durch den Gewinn der Mesomerieenergie bei der Abspaltung bzw. Anlagerung des Protons über einen relativ großen p_H -Bereich stabil.

Zwei Methylgruppen in 4.5-Stellung erhöhen durch den induktiven Effekt die p_K -Werte von X und XI um etwa 0.4 Einheiten (vgl. die Tab.). Die sterisch verdrillten Orcinreste wirken auf die p_K -Werte der Orceinfarbstoffe I, IV, V und VI in der gleichen Richtung und Stärke wie die Methylgruppen. Bei β - und γ -Amino-orcein II und III wird dieser Einfluß des zweiten Orcinrestes durch einen anderen Effekt, vielleicht eine Wasserstoffbrücke von der Hydroxygruppe des Orcinrestes zum Basizitätszentrum, kompensiert. Auffallend ist jedoch die starke Erhöhung der Basizität des 7-Amino-phenoxazim-Grundgerüsts um zwei Zehnerpotenzen im β - und γ -Amino-orceimin VII

p_K -Werte und Redoxpotentiale von Orceinfarbstoffen und Phenoxazonmodellen

	$p_{K^{**}}$ ± 0.05	Δp_K	E_0 (mV) ⁽¹¹⁾	
			± 2	ΔE_0
7-Amino-phenoxazon-(2) (X)	3.41		+448	
7-Amino-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2)	3.84	+0.43	+400	-48
α -Amino-orcein, I	4.06	+0.22	+365	-35
β - und γ -Amino-orcein, II und III	4.03	-0.03	+347	-18
7-Hydroxy-phenoxazon-(2) (XI)	6.10		+448	
7-Hydroxy-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2)	6.47	+0.37	+398	-50
α -Oxy-orcein, IV	6.88	+0.41	+376	-22
β - und γ -Oxy-orcein, V und VI	7.17	+0.29	+365	-11
7-Amino-phenoxazim-(2) (XII)	11.27*)		+475	
β - und γ -Amino-orceimin, VII und VIII	13.4*)	+2.1	+374	
Phenol-indophenol XIII	8.77			

*) p_K in $H_2O \pm 0.2$.

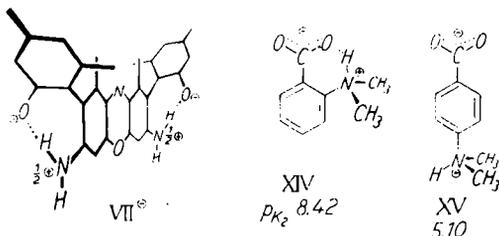
**) in 50-proz. Methanol.

und VIII, wobei nur eine Zehnerpotenz durch die Substituenten in VII und VIII hervorgerufen werden kann. Die zweite kann so erklärt werden, daß bei den Kationen von VII und VIII durch Alkali zuerst die Protonen von den *o*-Hydroxygruppen der Orcinreste abgelöst werden, denn diese dürften einen ähnlichen p_K -Wert wie Orcin ($p_K = 9.60$) besitzen. Die Protonen an den Stickstoffatomen werden dann, wie es in Formel VII^o angedeutet ist, durch eine stark polare H-Brücke zwischen den positivierten Aminogruppen und den negativ geladenen Sauerstoffatomen festgehalten, wodurch die Abtrennung eines Protons vom Chromophor deutlich erschwert sein sollte.

¹⁰⁾ L. MICHAELIS und S. GRANIK, J. Amer. chem. Soc. 63, 1636 [1941], haben den p_K -Wert von XII in Wasser auf etwa 10.7 geschätzt. Für Thionin gibt S. WOISLAWSKI, J. Amer. chem. Soc. 75, 5201 [1953], in 50-proz. Alkohol 11.2 an.

¹¹⁾ Standardpotentiale 25° 1 Atm. p_H 0; vgl. M. v. STACKELBERG, in Methoden der Organ. Chemie (Houben-Weyl), Bd. III, 2, S. 260, Verlag Georg Thieme, Stuttgart 1955.

Ein ähnlicher Fall liegt bei der *N,N*-Dimethyl-*o*-amino-benzoesäure (XIV) vor, deren zweiter p_K -Wert um 3.3 Einheiten größer ist als bei der *p*-Verbindung XV¹²⁾. In diesem Fall ist der Effekt etwa dreimal stärker, weil sich die positive Ladung an der Dimethyl-ammonium-Gruppe nur auf ein Proton konzentriert und die sterischen und polaren Verhältnisse andere sind.



Die um 2.7 Einheiten geringere Acidität des Phenol-indophenols XIII ($p_{K'} = 8.77$)¹³⁾ gegenüber dem ebenen 7-Hydroxy-phenoxazon-(2) (XI, $p_{K'} = 6.10$) ist auf die gleiche Ursache zurückzuführen wie die p_K -Differenz zwischen Acetylaceton ($p_K = 8.24$) und Dihydroresorcin ($p_K = 5.25$), die nach G. SCHWARZENBACH und K. LUTZ¹⁴⁾ folgendermaßen zu deuten ist. Die hohe Acidität des ebenen und starren 7-Hydroxy-phenoxazons-(2) und Dihydroresorcins wird durch den relativ großen Gewinn an Mesomerieenergie beim Übergang in die mesomeren Ionen hervorgerufen (vgl. XIa ↔ XIb; XIIIa ↔ XIIIb). Im Phenol-indophenol XIII ist die Rotation des Phenylrestes nur wenig behindert. Bei den beweglichen Molekeln XIII und Acetylaceton benötigt man Energie, um eine annähernd ebene Konstellation, die für die Mesomerie notwendig ist, gegen die Wärmebewegung anzustreben. Dieser Entropieverlust verringert den Energiegewinn durch Mesomeriezunahme bei der Ionisierung und erhöht den p_K -Wert um mehrere Einheiten.

Die Redoxpotentiale von 7-Amino- und 7-Hydroxy-phenoxazon-(2) (X und XI) sind gleich groß, der Übergang zum 7-Amino-phenoxazim-(2) (XII) erhöht das Potential um 27 mV, also etwas weniger als man es nach den Messungen von L. F. FIESER¹⁵⁾ am Benzochinonimid und -diimid ($\Delta E_0 = 50$) erwarten sollte. Der Einfluß von Methylgruppen und Orcinresten auf das Redoxpotential der Phenoxazonderivate ist normal. Beide Substituenten üben einen vergleichbar großen Effekt in derselben Richtung aus. Sie erhöhen beide die Elektronendichte im Redoxsystem, wodurch die Aufnahme von Elektronen erschwert und somit das Redoxpotential erniedrigt wird. Aus der Differenz von 101 mV zwischen den Potentialen von 7-Amino-phenoxazim-(2) (XII) und β - und γ -Amino-orceimin VII und VIII erkennt man, daß beide Orcein-farbstoffe zwei Orcinreste als Substituenten enthalten müssen.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE danken wir für die Unterstützung.

¹²⁾ J. T. EDSALL und J. WYMAN, J. Amer. chem. Soc. **57**, 1964 [1935].

¹³⁾ G. SCHWARZENBACH, H. MOHLER und I. SORGE, Helv. chim. Acta **21**, 1636 [1938], fanden in Wasser 8.1.

¹⁴⁾ Helv. chim. Acta **23**, 1162 [1940]; G. SCHWARZENBACH, K. LUTZ und H. SUTER, ebenda **23**, 1191 [1940].

¹⁵⁾ J. Amer. chem. Soc. **52**, 4915, 5204 [1930].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

IR-Spektren: Perkin Elmer 21 in Kaliumbromid; UV-Spektren: Zeiß PMQ II. Cellulosepulver: Schleicher & Schüll Nr. 123 gereinigt zur Säulenchromatographie.

Die p_K -Werte wurden spektroskopisch in 50-proz. Methanol, die p_K -Werte in Wasser an etwa $2 \cdot 10^{-5}$ *m* Lösungen in den von H. H. PERKAMPUS und H. KÖHLER¹⁶⁾ angegebenen Puffern bestimmt.

Bei der Bestimmung der Redoxpotentiale hydrierte man die Substanzen zunächst in 50-proz. Methanol, das 0.1 *n* HCl und 0.2 *n* LiCl enthielt, mit Wasserstoff über Palladium-Bariumsulfat. Anschließend wurde der Wasserstoff durch Stickstoff verdrängt und mit 0.01 *n* K₂Cr₂O₇ in Wasser titriert. Das Potential wurde dabei zwischen Platin- und Silber-Silberchlorid-Elektroden, der p_H -Wert mit einer Glaselektrode und beide an dem Radiometer-Potentiometer bestimmt. Die wie üblich aus der Titrationskurve entnommenen Redoxpotentiale rechnet man auf Standardpotentiale für $p_H = 0$ um.

β - und γ -Amino-orceimin VII und VIII: Die bereits früher beschriebenen Produkte BII und BIII²⁾ wurden weiter gereinigt. 263 mg rohes VII (BII) chromatographierte man an zwei 4×40 -cm-Cellulosepulversäulen mit Butanol/0.2 *m* Phosphatpuffer p_H 12.25. Die blauviolette Hauptzone wurde aus der Säule herausgeschnitten, mit verd. Schwefelsäure und Butanol verrührt und die Butanollösung mit Wasser neutralgewaschen. Aus der filtrierten und i. Vak. auf 7 ccm eingeeengten Lösung schieden sich 58 mg als feiner, amorpher, dunkelblauer Niederschlag ab. Die Mutterlauge lieferte beim Abdampfen i. Vak. noch 52.6 mg blauvioletten Lack. Die erste Fraktion löste man heiß in etwa 10 ccm Methanol, filtrierte und engte auf 3 ccm ein, wonach 20.1 mg dunkelblaue Krümel ausfielen. Aus der Mutterlauge erhielt man durch Zusatz des doppelten Volumens Benzol weitere 25.0 mg. Die i. Vak. verdampfte Mutterlauge hinterließ 35.9 mg kantharidenglänzenden violetten Lack.

Analog wurden 1.045 g rohes VIII (BIII) an 8 Säulen gereinigt. Die neutral gewaschene Butanollösung (1.3*D*) engte man i. Vak. auf 150 ccm ein und kühlte die filtrierte Lösung auf 6°. Nach 24 Stdn. isolierte man durch Zentrifugieren, Absaugen und Waschen mit Butanol 158.5 mg kleine violette Stäbchen mit moosgrünem Oberflächenglanz. Aus der i. Vak. auf 20 ccm eingeeengten Mutterlauge fielen in zwei Tagen noch 78.8 mg dunkelblaue Krümel aus; die letzte Mutterlauge hinterließ beim Abdampfen i. Vak. 102 mg violetten Lack. Eine Probe der zweiten Fraktion wurde wie bei VII aus Methanol umgefällt. Eine kalte gesättigte Butanollösung von VIII versetzte man warm mit dem doppelten Vol. Chloroform. Nach 24 Stdn. hatten sich 20% des gelösten VIII in kleinen sechsseitigen, grau violetten Blättchen mit grünem Oberflächenglanz ausgeschieden. VII und VIII zersetzen sich beim langsamen Erwärmen ab 200° ohne bis 350° deutlich zu schmelzen.

Alle gefällten Präparate von VII und VIII zeigten im Chromatogramm nur Spuren von violetten Verunreinigungen am Säulenkopf. Die bei 150° i. Hochvak. bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Präparate des amorphen VII und kristallisierten VIII stimmten in der Bandenlage der Schwingungs- und Elektronenspektren überein. Die Extinktion war bei VII etwa um 10% geringer.

IR in KBr ($\bar{\nu}/\text{cm}$): 3333 breit, 1647 Schulter, 1621, 1590, 1538, 1471, 1404 Schulter, 1379, 1339, 1274, 1192, 1152, 1072, 1049, 975, 887, 838 breit.

$\lambda(\text{m}\mu)$ in Methanol ($\epsilon \cdot 10^{-3}$)	597 (176)
0.2 <i>n</i> methanol. HCl	597 (177)
2 <i>n</i> KOH, 60-proz. Methanol	506 (55)

¹⁶⁾ Z. Elektrochem., Ber. Bunsenges. physik. Chem. 61, 836 [1957].

$C_{28}H_{25}N_3O_5 \cdot \frac{1}{2}H_2SO_4$ (532.6)	Ber. C 63.14	H 4.92	N 7.88	
mit 1 Mol. CH_3OH (564.6)	Ber. C 61.69	H 5.35	N 7.44	4 C- CH_3 10.6
VIII aus Methanol	Gef. C 62.03, 62.08	H 5.71, 5.69	N 7.43, 7.03	C- CH_3 9.0
mit 1 Mol. C_4H_9OH (606.7)	Ber. C 63.35	H 5.98	N 6.94	S 2.64
VIII aus Butanol	Gef. C 63.25, 62.92	H 6.04, 6.08	N 6.54, 7.03	S 2.11
VII aus Butanol	Gef. C 64.87	H 6.23	N 6.37	

Bei der katalytischen Hydrierung von 49.8 mg VII und 49.4 mg VIII (aus Methanol) über 50 mg 5-proz. Palladium auf Bariumsulfat in 4 ccm Eisessig wurden bei 25° und 744 Torr in 20 und 15 Min. 2.29 und 2.33 ccm Wasserstoff aufgenommen. Mol.-Gew. gef.: VII 532, VIII 517. Die blauviolette Farbe der Lösungen machte nach etwa 7 Min. einer hell-gelblichbraunen Platz, die auch nach längerem Schütteln unter Wasserstoff nicht verschwand. An der Luft färbten sich die Lösungen sofort wieder tief blauviolett.

Acetate: Eine Lösung von 29.2 mg VII in 1.5 ccm Pyridin versetzte man mit 1 ccm Acetanhydrid, verdampfte die braune Lösung i. Vak. zur Trockne und chromatographierte den über Phosphorpenoxyd und Ätzkali i. Vak. getrockneten Rückstand (43.0 mg) an neutralem Kieselgel mit Chloroform/Essigester (1 : 1). Aus der mit Chloroform/Essigester (1 : 3) eluierten roten Hauptzone isolierte man nach Abdampfen i. Vak. durch Fällen aus Benzol mit Cyclohexan 10.8 mg orangebraunes Pulver. Aus 176 mg VIII erhielt man analog 41.8 mg. Beide Präparate kristallisierten nicht, zeigten bei erneuter Chromatographie wieder schnell laufende und am Säulenkopf zurückbleibende Zersetzungsprodukte und wurden für die IR-Spektren bei 60° i. Hochvak. getrocknet.

IR in KBr ($\bar{\nu}/cm$): 3390, 1773, 1698, 1618, 1587, 1515, 1481, 1429, 1368, 1295, 1198, 1126, 1073, 1047, 1019, 990, 901, 860 breit.

Die thermischen Isomerisierungen wurden wie früher³⁾ durchgeführt. Nach einer Stde. bei 200° war die Umlagerung gerade nachweisbar, nach einer Stde. bei 215° deutlich (Abbild.), nach einer Stde. bei 225° sowie nach zwei Stdn. bei 215° war neben blauen Zersetzungsprodukten im Chromatogramm keine Zone mehr zu erkennen. Beim Erwärmen der reinen Amino-orceimine in Glycerin unter Stickstoff färbten sich die blauvioletten Lösungen schmutzig braunviolett, doch trat nach dem Öffnen der Gläschen die blauviolette Farbe wieder auf. Offenbar werden die Farbstoffe durch das Glycerin z. T. reduziert.