

Der Farbstoff der gelben Dahlien

Von

LEOPOLD SCHMID und ANTON SEEBALD

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 21. Jänner 1932)

Im Zusammenhang mit den Untersuchungen über die als Anthochlor¹ bezeichneten Blütenfarbstoffe wurde von L. SCHMID und A. WASCHKAU auch der Farbstoff der gelben Dahlien in Arbeit genommen. Das gelbe Dahlienpigment setzt sich nun aus einem Gemenge von zwei Substanzen zusammen, von denen die eine sicher als Apigenin erkannt werden konnte. Gegenstand unserer folgenden Untersuchungen ist der zweite neben Apigenin vorkommende Farbstoff.

Bevor eine chemische Untersuchung überhaupt einsetzen konnte, mußte die Isolierung des Ausgangsmaterials ausgearbeitet werden. Unsere erste Aufgabe bestand darin, den Farbstoff makrochemisch kristallisiert zu fassen. Nach orientierenden Vorversuchen war festgestellt, daß, ähnlich wie bei der Isolierung des Apigenins, auch hier der Alkohol als geeignetstes Lösungsmittel in Betracht komme. Zur Extraktion gelangten zirka 1300 Blütenstände, die aus Gärtnereien Wiens bezogen worden waren. Die von Stengel und Kelch befreiten gelben Blütenblätter wurden in dünner Schicht ausgebreitet und einige Tage hindurch oberflächlich getrocknet; zu langes Lagern zwecks Trocknung war bedenklich, da Spuren einer Zersetzung zu bemerken waren. Bei der Aufarbeitung war besonders auf Fernhalten der grünen Kelchblätter zu achten, die hartnäckig den Blütenblättern anhafteten. Das Pflanzenmaterial wurde nach der oberflächlichen Trocknung einer erschöpfenden, kalten Extraktion mit Alkohol unterworfen, was ungefähr drei Wochen in Anspruch nahm. Das Ende der Extraktion war daran zu erkennen, daß der abfließende Alkohol vollständig farblos war und bei Zusatz von Lauge keine Rotfärbung ergab. Die Art der Rotfärbung mit Lauge ist eine

¹ L. SCHMID und A. WASCHKAU, *Monatsh. Chem.* 49, 1928, S. 83, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb)* 137, 1928, S. 83; L. SCHMID und W. RUMPEL, *Monatsh. Chem.* 57, 1931, S. 421, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb)* 139, 1930, S. 1087; L. SCHMID u. E. KOTTER, *Monatsh. Chem.*, bzw. *Sitzb. Ak. Wien (IIb)*, im Druck.

charakteristische Reaktion des Farbstoffes, aus deren Auftreten auf seine Anwesenheit auch in großer Verdünnung geschlossen werden kann. Die Alkoholextrakte wurden gesammelt und filtriert. Sie waren braun gefärbt und wurden bei einer Temperatur von höchstens 50° im Vakuum auf ein Viertel des Volumens eingeeengt. Diese eingeeengten Extrakte wurden mit dreifachem Volumen Wasser versetzt; dabei fiel ein gelb bis braun gefärbter amorpher Niederschlag aus und die dunkelbraune Lösung hellte sich gleichzeitig auf. Da der Alkohol beträchtliche Mengen von Farbstoff in Lösung hielt, wurde er im Vakuum vollständig entfernt, wobei das Volumen durch Wasserzusatz immer konstant gehalten wurde. Orientierende Vorversuche ergaben, daß es hier nicht wie bei den Anthozyanen möglich sei, den Farbstoff als Salz zu isolieren. Lösung und Niederschlag wurden jetzt getrennt aufgearbeitet. Insgesamt war es möglich, zirka 70 g Niederschlag durch Wasserfällung zu erhalten. Nun handelte es sich darum, dieses Gemisch, das Apigenin und den zu untersuchenden gelben Farbstoff enthielt, zu trennen.

Untersuchungen über die Löslichkeit beider Farbstoffe zeigten den Weg für das Trennungsv erfahren. Es beruht auf der Eigentümlichkeit des Apigenins, in absolutem Äther völlig unlöslich zu sein, während der zweite Farbstoff in Äther zwar schwer, aber doch so weit löslich ist, daß auf Grund dessen eine Trennung vom Apigenin möglich ist. Ein geringer Nachteil des Verfahrens liegt wohl darin, daß die Extraktion immerhin längere Zeit erfordert, doch ist es so weit geeignet, daß wir es auch als Darstellung des gelben Dahlienfarbstoffes empfehlen können. Der Vorteil des Verfahrens liegt darin, daß es doch zu hochwertigem Produkt führt, das sich im weiteren Verlauf leicht in vollständig reines überführen ließ. Um den gelben Farbstoff aus dem Substanzgemisch möglichst restlos herauszuholen, ist es nötig, erstens das Material weitgehend zu trocknen, damit es vom Äther benetzt werden könne, ferner das Rohmaterial in möglichst pulverisierter Form zur Extraktion zu bringen. Bei der Ätherextraktion ging natürlich anfänglich der Farbstoff mit einer Menge leicht löslicher, verunreinigender Begleitstoffe in Lösung. Diese ersten Auszüge waren stark grün gefärbt und mußten verworfen werden. Mit der Dauer der Extraktion traten diese Verunreinigungen immer mehr zurück, so daß die Auszüge reicher an Farbstoff waren. Zur Ätherbehandlung waren zirka 70 g herangezogen worden. Davon fanden sich im Ätherextrakt 16 g. Die Hauptmenge des in Äther

unlöslichen Rückstandes war Apigenin. Die damit vorgenommene Reinigung durch Ätherextraktion war aber noch nicht so weit vorgeschritten, daß der Farbstoff kristallisiert zu fassen gewesen wäre. In dieser Etappe der Aufarbeitung war es naheliegend, den Farbstoff durch Überführung in ihm nahestehende Derivate und Rückgewinnung aus denselben zu fassen. Als solches Derivat eignet sich besonders das Azetylprodukt infolge der azetolytischen Einwirkung des Essigsäureanhydrids auf die Begleitstoffe². Wie weiter unten bei der Beschreibung des Verhaltens des Farbstoffes bei der Azetylierung ausgeführt werden soll, ist die Möglichkeit einer Azetylierung in diesem Falle gar nicht gegeben. Da durch Salzbildung des Farbstoffes weder mit Säuren noch mit Alkalien eine Abtrennung von noch vorhandenen Begleitstoffen möglich war, so mußten wir die mechanische Reinigung weiter fortsetzen. Die oberwähnten 16 g Ätherextrakt wurden behufs Abtrennung der in Äther leicht löslichen Begleitstoffe kurze Zeit mit Äther durchgeschüttelt. Die dunkelgrün gefärbte Ätherausschüttelung wurde abfiltriert und verworfen. Der feste Farbstoff zeigte nun ein reineres Gelb. Die weitere Veredlung des Farbstoffes erfolgte durch wiederholtes Lösen in Alkohol und Ausfällen mit Wasser. In diesem Zusammenhang sei gleichzeitig bemerkt, daß der Farbstoff mit steigendem Reinheitsgrad in Wasser immer schwerer bis praktisch unlöslich wurde, während er in den Rohfällungen in höherem Maße wasserlöslich war.

Nunmehr zeigte der Farbstoff schon das reine Gelb wie die Dahlienblätter. Für den Reinheitsgrad des Farbstoffes sprach auch sein Verhalten gegenüber Lauge; während der reine Körper mit Lauge eine ausgesprochen blutrote Färbung gibt, die mit Säure in Gelb umschlägt, gaben die weniger reinen Produkte eine mehr bräunlichrote Lösung, welche auch fluoreszierte. Nach fünfmaliger Alkohol- und Wasserbehandlung zeigte der Farbstoff beim Erhitzen im Vakuumschmelzpunktsröhrchen folgendes Verhalten: bis 315° unverändert, von 315—324° allmähliches Braunwerden, 324° beginnende Zersetzung unter Gasentwicklung. Dieses Verhalten blieb konstant auch nach den Versuchen, den Farbstoff aus anderen Lösungsmitteln, wie Azeton, Essigester, Chloroform,

² L. SCHMID und A. WASCHKAU, *Monatsh. Chem.* 49, 1928, S. 83, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 137, 1928, S. 83; L. SCHMID und K. PIETSCH, *Monatsh. Chem.* 57, 1931, S. 305, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 139, 1930, S. 971; L. SCHMID und W. RUMPEL, *Monatsh. Chem.* 57, 1931, S. 421, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 139, 1930, S. 1087.

kristallisiert zu fassen. Es ist für den Farbstoff merkwürdig, daß er aus allen untersuchten Lösungsmitteln nur in kugelförmigen Aggregaten sich ausscheidet, die wohl unter dem Mikroskop völlig homogen aussehen. Das Farbstoffmaterial in schönen Kristallnadeln zu fassen, gelang uns nur durch Sublimation im Hochvakuum. Der Zersetzungspunkt des Farbstoffes zeigte nach Hochvakuumsublimation ganz das gleiche Verhalten wie Farbstoffproben, die nach dem beschriebenen Verfahren dargestellt wurden. Ähnlich verlief der Mischschmelzpunkt des durch Sublimation und des durch Umfällen gereinigten Farbstoffes. Man darf deshalb mit Sicherheit annehmen, daß er einheitlich und nach dem beschriebenen Verfahren rein darzustellen ist. Er ist im Vergleich mit Apigenin in allen Lösungsmitteln viel leichter löslich, besonders im unreinen Zustand. Wir konnten daher nicht verzichten auf die in den Mutterlaugen der ersten Rohfällung verbliebenen Farbstoffmengen, um so mehr als diese noch deutlich die für den Farbstoff charakteristische Färbung mit Lauge zeigten. Die wässerige alkoholische Lösung, die nach Ausfällen des Farbstoffes verblieb, wurde im Vakuum am Wasserbad zur vollständigen Entfernung des Alkohols eingeengt. Dann übertrugen wir das Extraktionsverfahren mit Äther auf in der Lösung verbliebene Anteile, indem in einem Extraktionsapparat diese alkoholfreien Mutterlaugen erschöpfend mit Äther behandelt wurden. Auch bei der Ätherbehandlung der Wasserlösung ergab sich ein ähnliches Bild wie bei der Ätherbehandlung der Rohfällung. Die ersten Partien waren sehr stark grün gefärbt und auch nach mehrfacher Wiederholung der Ätherbehandlung nicht kristallisiert zu fassen, da in ihnen verunreinigende Begleitstoffe in überwiegender Mehrheit vorhanden waren. Erst in den späteren Extrakten war der Farbstoff so weit frei von Begleitstoffen zu gewinnen, daß seine Aufarbeitung auf reinen Farbstoff lohnend war. Es war möglich, rund 5 g Rohextrakt zu erhalten, aus welchem 1 g reiner Farbstoff zu gewinnen war.

Der Farbstoff hatte nach raschem Erhitzen einen Zersetzungspunkt von 324° unter Gasentwicklung. Er war erst im Hochvakuum sublimierbar; Sublimationsbeginn 165°, günstigste Temperatur 170—190°. Seine Farbe ist intensiv gelb, wie sie den gelben Dahlien eigen ist. Außer C, H, O sind keine anderen Elemente am Aufbau des Farbstoffes beteiligt. Methoxyl- und Oxy-methylengruppen waren nicht nachweisbar. Die Verbrennungen ergaben im Durchschnitt die Werte:

C 66.45, H 3.90%,

woraus sich die Bruttoformel $C_{15}H_{10}O_5$ ableitet.

Leicht löslich ist der Farbstoff in Methyl-, Äthylalkohol, Essigester, Eisessig, Azeton, Pyridin, in Lauge mit dunkelkirschroter Farbe, die beim Ansäuern in Gelb umschlägt; in Ammoniak löslich mit hellroter Färbung; schwer löslich in Äther; unlöslich in Wasser, Petroläther, Benzol. Mit Eisenchlorid gibt er in alkoholischer Lösung Braunfärbung, bei Natriumkarbonatzusatz keine Veränderung, mit Bleiazetat keine Reaktion, mit Bromwasser gelben Niederschlag. Die Farbe mit Lauge war blutrot und konnte, wie oben erwähnt, bei der Aufarbeitung als Indikator verwendet werden, weil sie auch in großer Verdünnung auftrat, wobei zu bemerken ist, daß in großer Verdünnung das Blutrot in ein Rötlichgelb übergeht. Die nächste Frage war nun, ob der Farbstoff als Glukosid oder zuckerfrei vorlag. Säurebehandlung des Ausgangsmaterials ließ absolut keinen Zucker erkennen, auch nicht, nachdem die Säurekonzentration auf 10% gesteigert worden war. Das spricht wohl eindeutig dafür, daß wir es nicht mit einem Glukosid zu tun haben, was auch aus dem Umstande hervorgeht, daß der Farbstoff im Hochvakuum sublimierbar ist, was bei einem Glukosid kaum zu erwarten wäre. Die Verbrennungswerte stimmten also auf eine Formel $C_{15}H_{10}O_5$, welche auf Isomerie mit Apigenin eindeutig hinweist. Daß von den Sauerstoffatomen keines als Kristallwassersauerstoffatom zu rechnen ist, konnte leicht bewiesen werden, da das Produkt beim Erhitzen im Hochvakuum bis 130° keine Gewichtsveränderung zeigte und schließlich bei $170\text{--}190^\circ$ unzersetzt sublimierbar ist. Schmelzpunktsbestimmung und Verbrennungswerte stimmten an sublimiertem und an durch Umfällen gereinigtem Produkt völlig überein, so daß ein Kristallwassergehalt oder Zersetzung bei der Sublimation nicht anzunehmen ist. Daß ein Kristallwassergehalt unwahrscheinlich ist, folgt daraus, daß die 10 Wasserstoffatome im Ring gebunden sein müssen, da eine Formulierung von C_{15} und O_4 mit 8 H-Atomen nur schwer vorstellbar wäre. Da der Farbstoff als Begleiter von Apigenin auftritt, da er ferner die gleiche Bruttoformel $C_{15}H_{10}O_5$ wie dieses besitzt, ist er mit großer Wahrscheinlichkeit ebenfalls als ein Flavon anzusprechen. Daß er Anthozyan nicht sein kann, folgt schon aus seinem Verhalten gegen Säure und Lauge. Zu denken wäre noch an das Vorliegen eines Anthrachinonfarbstoffes, der auch durch eine gleiche Brutto-

formel zum Ausdruck gebracht werden könnte. Zur Entscheidung dieser Frage wurde nun eine Zinkstaubdestillation versucht, die zu einem Destillat führte, in dem auch nicht spurenweise Anthrazenabkömmlinge zu fassen waren.

Die nächste Aufgabe bestand darin, die Funktion der fünf Sauerstoffatome zu ermitteln. Azetylierungsversuche, die zu dieser Frage Stellung nehmen sollten, zeigten aber einen ganz merkwürdigen Verlauf. Es gelang wohl, auf normale Weise durch Behandlung mit Essigsäureanhydrid ein schön kristallisiertes Produkt vom Schmelzpunkt 178° zu fassen. Dieses vermeintliche Azetylprodukt verhielt sich aber in mehrfacher Weise auffällig. Sehr überraschend war die schlechte Ausbeute, da ja die Azetylierung eine sonst überaus günstig verlaufende Operation ist. Es gelang, aus 5 g Farbstoff nur weniger als 1 g noch unreines Reaktionsprodukt zu erhalten, so daß man überhaupt zweifeln mußte; ein Azetylprodukt in Händen zu haben. Es war nicht möglich, dieses Produkt zum Ausgangsmaterial zu verseifen. Die Azetylbestimmung verlief negativ. Weiter war es merkwürdig, daß keine brauchbaren Analysenwerte zu erzielen waren, da das Produkt trotz eines verhältnismäßig brauchbaren Schmelzpunktes, den es nach mehrfachem Umkristallisieren beibehielt, jeweils nach Umkristallisieren verschiedene Verbrennungswerte ergab, aus denen stöchiometrische Beziehungen nicht abzuleiten waren. Schließlich wurde versucht, unter energischeren Bedingungen zu azetylieren, einerseits durch Ausdehnung der Azetylierungsdauer und zweitens durch Zusatz von geschmolzenem Natriumazetat. Dabei resultierte ebenfalls in nicht einmal 25%iger Ausbeute ein völlig neuer Körper, der schwach gelb war und einen Zersetzungspunkt von $345\text{--}350^{\circ}$ unter Gasentwicklung zeigte. Das Analysenergebnis dieses Reaktionsproduktes ließ auf ein einfach azetyliertes Ausgangsmaterial schließen. Das lag aber nicht vor, weil sich das Ausgangsmaterial durch Verseifen nicht zurückgewinnen ließ. Auf dem Wege der Behandlung mit Essigsäureanhydrid war also eine Ermittlung der Sauerstofffunktion nicht möglich. An ein Studium dieser Reaktion war leider deswegen nicht zu denken, weil die damit verbundenen Materialverluste enorm waren.

Da die Azetylierung keine Entscheidung über den Charakter der Sauerstoffatome zuließ, so wurde die Methylierung versucht. Als Methylierungsmittel benutzten wir Dimethylsulfat. Dabei mußte man mit dem Laugenzusatz vorsichtig verfahren, da die alkalische Reaktion in der Wärme eine Zersetzung des Farbstoffes

verursacht. Unter Zugrundelegung einer Formel von $C_{15}H_{10}O_5$ für das Ausgangsmaterial ergab sich der Methoxylwert 20·59% OCH_3 , was auf das Vorhandensein von zwei methylierbaren Hydroxylen schließen ließ. Auch die Verbrennungswerte ließen eindeutig auf ein Dimethylprodukt schließen. Daß aber tatsächlich drei und nicht zwei freie Hydroxylgruppen vorhanden sind, konnte leicht und eindeutig durch eine ZEREWITINOFF-Bestimmung bewiesen werden. Daß das dritte Hydroxyl bei Methylierung nicht in Reaktion zu bringen ist, ist deswegen nicht überraschend, weil das kein singulärer Fall ist, sondern die gleiche Erscheinung begegnet uns bei Apigenin, bei dem ja auch von drei Hydroxylen nur zwei leicht methylierbar sind, ähnlich bei Skutellarein.

Infolge der Formulierung von $C_{15}H_{10}O_5$, der Existenz von drei Hydroxylgruppen, infolge des Ausbleibens der Karbonylreaktionen war es zwar nicht bewiesen, doch auch nicht ausgeschlossen, daß wir es mit einem Flavon zu tun haben. Es schien uns daher der alkalische Abbau der weitere gegebene Weg, in die Konstitution des Farbstoffes Klarheit zu bringen; um so mehr als Vorversuche mit Mengen von 0·02 g erkennen ließen, daß dabei verschiedene kristallisierbare Körper zu fassen waren. Bei diesem Kaliabbau entstand in der Hauptsache ein saurer Bestandteil und eine Reihe von phenolischen. Diese waren teils durch fraktionierte Vakuumsublimation, teils durch Natriumbikarbonat-ausschüttelung getrennt worden.

Die Analysen der sauren Verbindung stimmten deutlich auf $C_7H_6O_3$. Ferrichlorid gab einen gelben, amorphen Niederschlag. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit synthetischer *p*-Oxybenzoesäure führte zur Identifizierung dieser Verbindung.

Bei der Aufarbeitung der phenolischen Anteile stellten sich aber unerwartete Schwierigkeiten ein. Es lag nämlich ein Phenolgemisch vor, das der Reihe nach von 70—100° im Vakuum überging. Trennungsversuche durch fraktionierte Kristallisation führten bei dem geringen Materialvorrat auch nicht zum Ziel. Die einzelnen Fraktionen zeigten keinen scharfen Schmelzpunkt, sondern nur ein Schmelzintervall und lieferten stöchiometrisch nicht auswertbare Analysen. Durch verschiedene, hier nicht ausgeführte Trennungsversuche war das vorrätige Material schließlich so weit zusammengeschrumpft, daß eine Identifizierung der Phenole nicht mehr vorgenommen werden konnte.

Die schlechte Ausbeute an Phenol nach dem Abbau des ursprünglichen Farbstoffes bestimmte uns, den Kaliabbau nun-

mehr am methylierten Farbstoff vorzunehmen. Die Spaltung erfolgte mit 20%iger wässriger Kalilauge durch 8stündiges Erhitzen am Wasserbad. In diese Lösung wurde zur Absättigung von Kalilauge Kohlendioxyd eingeleitet. Dabei schied sich eine amorphe Substanz aus, die in Äther aufgenommen wurde. Die Untersuchung dieses Anteiles bereitete aber infolge der Uneinheitlichkeit ähnliche Schwierigkeiten wie die des phenolischen Anteiles nach der Kalischmelze des ursprünglichen Farbstoffes.

Unter den sauren Spaltprodukten war eine Karbonsäure in guter Ausbeute zu isolieren. Löslichkeitsversuche zeigten leichte Löslichkeit in Äther, Alkohol, heißem Wasser, geringe Löslichkeit in kaltem Wasser und Benzol. Nach Umkristallisieren aus Wasser und Sublimieren resultierte ein Produkt vom konstanten Schmelzpunkt 184°. Da nun bei der Kalischmelze des Ausgangsmaterials *p*-Oxybenzoesäure eindeutig nachgewiesen werden konnte, so war die Vermutung nicht unbegründet, daß an dieser Stelle nunmehr deren Methyläther, also die Anissäure vorliege. Schmelzpunkt, Methoxylbestimmung, Verbrennung und Mischschmelzpunkt brachten den schließlichen Beweis dafür.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß der Farbstoff der gelben Dahlienblüten ein Gemenge von zwei Farbstoffen vorstellt. Der eine dieser beiden ist als das Apigenin aufzufassen. Für die Isolierung des zweiten Farbstoffes konnte ein Weg ausgearbeitet werden. Der Farbstoff kommt zuckerfrei in den Blüten vor. Seine Bruttoformel beträgt $C_{15}H_{10}O_5$. Er ist frei von Kristallwasser und frei von Methoxyl. Die Funktion von zwei Sauerstoffen konnte durch die Darstellung des entsprechenden Methylproduktes als eine phenolische erkannt werden. Auf Grund der Bestimmung der Hydroxylgruppen nach ZEREWITINOFF wurde das Vorhandensein von drei Hydroxylen festgelegt. Durch den Abbau des Farbstoffes konnte der Beweis erbracht werden, daß der Rest der *p*-Oxybenzoesäure am Aufbau dieses Körpers beteiligt ist. Dieser Befund konnte noch dadurch gestützt werden, daß der alkalische Abbau des Methylfarbstoffes zur entsprechenden methylierten *p*-Oxybenzoesäure, zur Anissäure geführt hat. Betreffend die Nomenklatur sind wir der Meinung, daß es nach den bisherigen Versuchen von L. SCHMID und A. WASCHKAU, nach denen der eine Dahlienfarbstoff als ein Flavon erkannt wurde, weiters nach den Erfahrungen an unserem Farbstoff, ferner nach Versuchen von L. SCHMID und KOTTER und L. SCHMID und RUMPEL überflüssig ist, für diese Farbstoffe den Namen *Anthochlor* beizubehalten, über-

flüssig aus dem Grunde, weil sich diese Farbstoffe als Vertreter von Farbstoffgruppen erweisen, deren Stammringsysteme ja seit langem bekannt sind.

Diese Ergebnisse sollen jetzt schon mitgeteilt werden, da die Beschaffung von Pflanzenmaterial und die Aufarbeitung desselben längere Zeit in Anspruch nehmen dürfte.

Beschreibung der Versuche.

Isolierung des Ausgangsmaterials.

Es gelangten rund 1300 Blütenstände von gelben Dahlien, die Skagerrak genannt werden, welche aus Wiener Gärtnereien bezogen wurden, zur Verwendung. Nachdem sie von Stengeln und Kelchblättern befreit waren, wurden sie behufs oberflächlicher Trocknung auf Filtrierpapier ausgebreitet und einige Tage an der Luft trocknen gelassen. Die so vorgetrockneten Blüten wurden in vier Glasstutzen von zirka 10 l Inhalt mit Alkohol übergossen und unter häufigem Umrühren eine Woche stehen gelassen. Das Rühren war zur Zerreißen der Zellengewebe erforderlich, weil dadurch das Eindringen des Alkohols erleichtert wurde. Der Alkoholextrakt war gelbbraun gefärbt. Dieser wurde abgegossen und der dem Rückstande noch anhaftende Alkohol von den Blüten abfiltriert. Diese wurden dann noch dreimal auf gleiche Weise mit Alkohol behandelt, wobei schließlich der dritte Extrakt nur mehr schwach gefärbt war, auch die Blüten erschienen nur mehr schwach gelb. Um die letzten Farbstoffreste hieraus zu gewinnen, wurden alle Blütenrückstände mit 25 l Alkohol versetzt und in einem großen Extraktionsapparat durch fünf Tage mit heißem Alkohol extrahiert. Die nach Abfiltrieren des Alkohols verbliebenen Blütenrückstände zeigten sich nun nahezu farblos. Nach Abdestillieren der Hauptmenge Alkohol wurden auch die durch die letzte erschöpfende Extraktion gewonnenen alkoholischen Farbstofflösungen mit allen übrigen vereinigt. Das Gesamtvolumen aller vereinigten Alkoholextrakte betrug etwa 10 l. Diese wurden nun partienweise im Vakuumwasserbad bei einer Temperatur von 40—50° auf ein Viertel des ursprünglichen Volumens eingeengt. Die 2½ l wurden in fünf Chargen in einer Vakuumabdampfvorrichtung nach folgender Vorschrift weiterverarbeitet. Die dunkle alkoholische Lösung wurde mit der dreifachen Menge Wasser versetzt, wobei zunächst tiefbraune, später gelbe Schichten von Farbstoff ausfielen. Gleichzeitig hellte sich die Lösung auf. Die wässrige alkoholische Lösung wurde durch

Abdampfen im Vakuum vom Alkohol größtenteils befreit, wobei durch Zutropfenlassen von Wasser das Volumen gleichgehalten wurde. Die wässrige Lösung, welche gelbbraun war, wurde von den ausgefallenen Farbstoffmengen durch Filtration befreit. Diese Rohfällungen von Farbstoff wurden im Vakuum getrocknet. Die Filtrate, welche noch alkoholhaltig waren, wurden auf ein kleineres Volumen eingengt. Dabei fielen noch Reste von Farbstoff aus, von denen wieder filtriert wurde. Diese Fraktionen wurden mit den ersten Fällungen vereinigt. Vor und nach der Fällung der alkoholischen Lösung mit Wasser benutzten wir zur Indikation auf Anwesenheit des Farbstoffes sein Verhalten gegenüber Alkalilauge. Es ist nämlich eine charakteristische Eigenschaft des Farbstoffes, in alkalischen Lösungen je nach seiner Konzentration eine intensiv dunkelkirschrote bis in großen Verdünnungen orangegelbe Färbung zu geben. Die wässrigen Mutterlaugen wurden einer gesonderten Behandlung unterworfen. Der durch Wasserfällung erhaltene Rohfarbstoff wurde im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. Seine Ausbeute betrug rund 70 g. Sie war dunkelgelb bis braun. Von diesen 70 g war aber der größere Teil Apigenin neben Verunreinigungen. Das wurde bereits in der Arbeit von L. SCHMID und A. WASCHKAU³ erwähnt.

Der nunmehr zu isolierende Farbstoff bildete nur den kleineren Teil des Gemenges, wie sich später zeigte nur rund ein Fünftel davon. Da weder Salzbildung noch Fällungsreaktionen des unbekanntes Farbstoffes seine Abtrennung vom Apigenin und von den Begleitstoffen ermöglichte, untersuchten wir die Löslichkeitsverhältnisse des Gemenges. Es zeigte sich bei Vorversuchen, daß ein Teil des Gemenges nach längerem Durchschütteln mit absolutem Äther doch in Lösung ging. Die abfiltrierte Äthermenge aber hinterließ einen grüngelben Rückstand, der die starke Laugenreaktion gab, die für den gesuchten gelben Dahlienfarbstoff charakteristisch ist. Diese Beobachtung wurde nun zur Trennung des gelben Dahlienfarbstoffes vom Apigenin benützt. Die Farbstoffmengen der Wasserfällung wurden möglichst fein pulverisiert und in Partien von je 15 g in Soxhletextraktionsapparaten, die $\frac{1}{2}$ l faßten, mit absolut trockenem Äther kalt extrahiert. Die Extraktion einer solchen Partie dauerte bei ganztäglichem Arbeiten rund fünf Wochen. Um Feuchtigkeitszutritt zu ver-

³ Monatsh. Chem. 49, 1928, S. 83, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (IIb) 137, 1928, S. 83.

meiden, wurde ein Chlorkalziumrohr auf den Kühler gesetzt. Da das in der Soxhlethülse vorhandene Material allmählich sich zusammenballte, so wurde es von Zeit zu Zeit herausgenommen und immer wieder zerrieben. Die jeweils zuerst ablaufenden Ätherextrakte waren stark grün gefärbt und wurden nach zirka einstündiger Extraktion wegen der zahlreichen Begleitstoffe als unverwendbar entfernt. Die später erhaltenen Extrakte waren auch noch schwach grünlich. Mit der Dauer der Extraktion steigerte sich die Reinheit des Farbstoffes, bis schließlich ziemlich gelbe Partien als Ätherrückstände zu erhalten waren. Die Ätherextrakte wurden durch Destillation vom Äther befreit und alle Rückstände vereinigt. Die ätherunlöslichen Rückstände waren dunkelbraun, wogen zirka 54 g und zeigten noch immer zwar schwache Rotfärbung mit Lauge. Die extrahierten gelben Farbstoffmengen hatten hingegen noch grünlichen Stich und wogen 16 g. Sie wurden zur Entfernung der Verunreinigungen, welche die Grünfärbung bewirkten, einmal mit 1 l Äther durchgeschüttelt und nach dem Absetzen des Farbstoffes, was ungefähr fünf Minuten dauerte, davon filtriert. Die grüne Ätherlösung wurde verworfen. Der verbliebene, schon ziemlich reingelbe Farbstoff wog rund 15 g. Er zeigte im Vakuumschmelzpunktsröhrchen bei 300° Veränderung unter Braunwerden, bei 310° beginnende Zersetzung mit Gasentwicklung. Zur Erzielung eines noch größeren Reinheitsgrades wurde dieses Produkt, das gegenüber den ersten Partien schon schwerer in Alkohol löslich war, in heißem Alkohol gelöst, bis zur beginnenden Trübung mit warmem Wasser versetzt und abgekühlt. Die so zuerst ausfallenden Partien waren rein hellgelb wie die Dahlienblüten und hatten, nachdem die Fällungen fünfmal wiederholt wurden, einen solchen Reinheitsgrad, daß Schmelzpunktskonstanz erreicht war. Die alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum unter Erwärmung auf 50° vom Alkohol befreit, wobei durch eine Kapillare Luft durchgesaugt wurde. Dabei fiel der restliche Farbstoff zum größten Teil aus, der allerdings nicht mehr die ganz reingelbe Farbe der ursprünglichen Dahlienblüten zeigte. Die im Wasser verbleibenden, geringen Farbstoffreste, welche auch noch Unreinigkeiten enthielten, wurden der Ätherextraktion unterzogen, um den restlichen Farbstoff noch zu gewinnen.

Die Aufarbeitung der wässerigen Mutterlaugen, die knapp 1 g Farbstoff ergab, soll nicht weiter beschrieben werden.

Somit hatten wir insgesamt rund 15 g umgefällten Farb-

stoff aus 1300 Dahlienblütenständen isoliert; das entspräche pro Blütenstand einer Menge von rund 0·01—0·02 *g*, pro Blüte zirka 0·0001—0·0002 *g*, wobei eine getrocknete Blüte von mittlerer Größe rund 0·01 *g* wog.

Eigenschaften.

An dem reinen Produkt wurden Kristallisations-, Löslichkeitsversuche, Farb- und Fällungsreaktionen unternommen, die folgendes ergaben. Der Farbstoff ist leicht löslich in Methyl- und Äthylalkohol, Azeton, Essigester, Eisessig, Pyridin, in Lauge mit dunkelkirschroter Farbe, in Säure mit Gelbfärbung, in Ammoniak mit hellroter Farbe; schwer löslich in Äther, unlöslich in Wasser, Petroläther, Benzol. Mit Eisenchlorid gibt er Braunfärbung, bei Natriumkarbonatzusatz keine Veränderung; mit Bleiazetat keine Reaktion, mit Bromwasser gelben Niederschlag. Aus den zur Kristallisation herangezogenen Lösungsmitteln schied sich der Farbstoff immer nur in kugelförmigen, mikroskopisch kleinen Gebilden ähnlich wie Apigenin ab. Diese lagen oft in Aggregaten dicht aneinander. Das Bild unter dem Mikroskop zeigte homogenes Aussehen. Schmelzpunkt war nicht zu beobachten, sondern eine Zersetzung mit folgendem Verhalten: bis 315° keine Veränderung, zwischen 315 und 324° allmähliches Braunwerden, bei 324° beginnende Zersetzung unter Gasentwicklung. Weiteres Umfällen aus Alkohol mit Wasser änderte dieses Verhalten nicht mehr. In makroskopischen Kristallen konnte der Farbstoff nur durch Sublimation erhalten werden. Dies gelang am besten im Hochvakuum bei 0·01 *mm* Druck und einer Temperatur von 170—180°. Die Sublimation beginnt schon bei 165° und läßt sich ohne Zersetzung bis 210° steigern. Für die Ausbildung schöner Kristalle ist sehr langsame Sublimation bei 180° am günstigsten. Es ergaben sich büschelartig angeordnete, hellgelbe Kristallnadeln von gleichem Schmelzpunktsverhalten wie oben.

Analyse des durch Umfällen aus Alkohol mit Wasser gereinigten Produktes.

3·935 *mg* Substanz ergaben 9·564 *mg* CO₂, 1·414 *mg* H₂O.

Ber. für C₁₅H₁₀O₅: C 66·64, H 3·73%.

Gef.: C 66·29, H 4·02%.

Analyse des im Hochvakuum sublimierten Produktes.

4·010 *mg* Substanz ergaben 9·799 *mg* CO₂, 1·362 *mg* H₂O.

Ber. für C₁₅H₁₀O₅: C 66·64, H 3·73%.

Gef.: C 66·65, H 3·80%.

Analyse des im Kohlensäurestrom sublimierten
Produktes.

4·243 *mg* Substanz ergaben 10·335 *mg* CO₂, 1·480 *mg* H₂O.

Ber. für C₁₅H₁₀O₅: C 66·64, H 3·73 %.

Gef.: C 66·43, H 3·90 %.

Bei Prüfung auf Kristallwasser bei 130° im Hochvakuum bei 0·02 *mm* Druck blieb die durch Umfällen gereinigte Substanz ohne Gewichtsverlust.

Eine Methoxylbestimmung ergab kein OCH₃.

Azetylierungsversuch unter milden Bedin-
gungen.

Je 0·5 *g* Farbstoff wurden in 30 *cm*³ Essigsäureanhydrid gelöst und am Rückflußkühler zwei Stunden erhitzt. Nach Abdestillieren des Essigsäureanhydrides auf ein Fünftel der Menge wurde der Rückstand mit Alkohol versetzt. Das Auskristallisieren ging langsam vor sich, es dauerte zirka eine Woche, bis die letzten brauchbaren Mengen aus der Mutterlauge zu erhalten waren. Die verschiedenen entsprechenden Fraktionen der Kristallisation wurden vereinigt und neuerdings aus Alkohol umkristallisiert. Erst nach annähernd zehnmalem Umkristallisieren war ein grauweißes Produkt zu erhalten, das aber noch immer den unscharfen Schmelzpunkt von 172—174° zeigte. Weiteres Umkristallisieren steigerte ihn schließlich auf 178°. Das Produkt war reinweiß und zeigte nadelartige Kristalle. 0·1 *g* dieses erhaltenen Azetylproduktes wurden in heißem Benzol gelöst und durch Petroläther ausgefällt. Es bildeten sich dabei prachtvolle, lange Nadeln. Der Vorgang wurde zweimal wiederholt. Das erhaltene Produkt zeigte auch den Schmelzpunkt von 178°. Ein Teil wurde in heißem Toluol gelöst. In der Kälte fiel das Produkt in schönen Nadeln aus. Der Schmelzpunkt des so gewonnenen Produktes lag wieder bei 178°. Die Mutterlauge des Toluols enthielt noch viel Azetylprodukt.

Ein Sublimationsversuch des aus Alkohol umkristallisierten Azetylproduktes zeigte insofern sehr ungünstige Ergebnisse, als das Produkt nur unter teilweiser Zersetzung flüchtig ist. Der Schmelzpunkt ergab nur 176°, wohl deshalb, weil die Substanz unter Sublimation litt.

Analyse des durch Azetylierungsversuch gewonnenen Produktes, welches

I. aus Alkohol umkristallisiert wurde:

4·694 *mg* Substanz gaben 10·710 *mg* CO₂, 1·840 *mg* H₂O.
Gef.: C 62·23, H 4·39%.

II. aus Benzol mit Petroläther ausgefällt wurde:

4·398 *mg* Substanz gaben 10·102 *mg* CO₂, 1·655 *mg* H₂O
3·695 *mg* " " 8·534 *mg* CO₂, 1·335 *mg* H₂O.
Gef.: C 62·64, 62·99; H 4·21, 4·04%.

Verseifungsversuche.

0·2 *g* umkristallisiertes Azetylprodukt wurden zuerst mit 150 *cm*³ 10%iger alkoholischer HCl gelöst und am Wasserbad mit Rückflußkühler sechs Stunden zur Verseifung gekocht. Die Lösung färbte sich hellgelb, doch zeigte der negative Ausfall der Laugenreaktion an, daß durch die Verseifung der ursprüngliche Farbstoff nicht erhalten worden war. Auch nach zweitägigem Verseifungsversuch mit 20%iger HCl zeigte sich, daß keine Verseifung zum ursprünglichen Farbstoff erreicht wurde.

Eine Mikroazetylbestimmung ergab die Abwesenheit von Azetylgruppen.

Azetylierungsversuche unter verschärften Bedingungen.

Nun wurde das gesamte Azetylprodukt von rund 0·5 *g* in 250 *g* Essigsäureanhydrid gelöst, das mit 10 *g* geschmolzenem Natriumazetat versetzt wurde. Nach vierstündigem Kochen wurde die Lösung auf ein Fünftel eingeengt, mit doppelter Menge Alkohol versetzt. In der Kälte kristallisierte nach mehreren Tagen ein Teil des erhaltenen Produktes aus. Dieses war gelb und zeigte verändertes Verhalten. Sein Zersetzungspunkt lag oberhalb 335°. Nach öfterem Umkristallisieren stieg dieser auf ein Intervall von 345—350° unter Gasentwicklung und änderte sich nach weiterem Umkristallisieren nicht mehr.

Analyse des unter verschärften Bedingungen azetylierten Produktes.

4·335 *mg* Substanz gaben 10·400 *mg* CO₂, 1·515 *mg* H₂O
4·275 *mg* " " 10·250 *mg* CO₂, 1·525 *mg* H₂O.
Gef.: C 65·43, 65·39; H 3·91, 3·99%.

Eine Azetylbestimmung war neuerdings negativ.

Zinkstaubdestillation.

0·1 *g* durch Umfällen aus Alkohol mit Wasser haltener

und getrockneter Farbstoff wurde mit zehnfacher Menge Zinkstaub gut verrieben und im Kohlensäurestrom einer Destillation unter langsamer Temperatursteigerung unterzogen. Hiezu wurde die Substanz in ein 60 *cm* langes, schwer schmelzbares Glasrohr eingeführt, welches auf der Eintrittsstelle des Kohlensäurestromes mit Glaswolle versehen war. Der getrocknete Kohlensäurestrom wurde langsam durchgeleitet. Behufs genauer Beobachtung des Destillationsproduktes wurden in das Glasrohr zwei lange, schmale Glasstreifen derart eingeschoben, daß der zweite Glasstreifen quer auf dem anderen in T-Form lag und so das destillierte Produkt jederzeit nach Herausnehmen der Glasstreifen im Mikroskop betrachtet werden konnte. Es zeigte sich nun, daß sich bei einer Temperatur von 200—210° ein hellgelbes Sublimat ansetzte, welches schöne Kristallnadeln darstellte. Schmelzpunkt und Verbrennungsergebnisse zeigten Übereinstimmung mit unverändertem im Hochvakuum sublimiertem Farbstoff. Bei Temperaturerhöhung bis zu beginnender Rotglut erfolgte Zersetzung des Farbstoffes mit Gasentwicklung. Unter den Spaltprodukten waren auch nicht spurenweise Anthrazenabkömmlinge zu fassen.

Methylierung des Farbstoffes.

Die Methylierung des Farbstoffes wurde mit Dimethylsulfat durchgeführt. Zunächst wurde 1 *g* Farbstoff in möglichst wenig, heißem Alkohol gelöst und bei Siedehitze mit 2·4 *g* Dimethylsulfat und 1·8 *g* 40%iger heißer Natronlauge versetzt und am Wasserbad am Rückflußkühler eine Stunde gekocht. Nach dem Erkalten wurde die Lösung mit dem dreifachen Volumen Wasser versetzt und zwölf Stunden stehen gelassen. Es zeigte sich ein Niederschlag, von dem filtriert wurde. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol wurde ein schwach gelbes, in büschelartigen Nadeln kristallisiertes Produkt erhalten. Dieses zeigte noch unscharfen Schmelzpunkt von 168—170°, der nach weiterem fünfmaligen Umkristallisieren auf 175½° stieg und konstant blieb. Insgesamt konnten von 5 *g* Farbstoff rund 0·5 *g* reines Methylprodukt erhalten werden. Der Methylfarbstoff ist löslich in Methyl- und Äthylalkohol, Essigester und Azeton, etwas schwerer in Äther.

3·959 *mg* Substanz gaben 6·170 *mg* AgJ
 2·601 *mg* „ „ 4·050 *mg* AgJ.
 Ber. für C₁₇H₁₄O₅: OCH₃ 20·81%.
 Gef.: OCH₃ 20·59, 20·57%.

4·000 mg Substanz gaben 9·989 mg CO₂, 1·774 mg H₂O
 4·190 mg „ „ 10·503 mg CO₂, 1·870 mg H₂O.
 Ber. für C₁₇H₁₄O₅: C 68·43, H 4·73%.
 Gef.: C 68·11, 68·36; H 4·96, 4·99%.

Hydroxylgruppenbestimmung nach ZEREWITINOFF.

Durch wiederholtes Umfällen aus Alkohol mit Wasser gereinigtes Produkt wurde im Hochvakuum bei 0·01 mm Druck und einer Temperatur von 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Als Lösungsmittel für die magnes.-org. Verbindung und für die zu untersuchende Substanz wurde Pyridin verwendet. Zur Ausführung der Bestimmung der Hydroxylgruppen wurden zu nachfolgenden Substanzmengen jedesmal 20 cm³ Pyridin und 5 cm³ CH₃MgJ in der hiezu bestimmten Apparatur nach ZEREWITINOFF in Reaktion gebracht.

Barometerstand 744 mm, Temperatur 23°.

0·1343 g Substanz gaben 34·6 cm³ CH₄.
 Ber. für C₁₅H₁₀O₅: OH 18·89%.
 Gef.: OH 17·27%.

Barometerstand 744 mm, Temperatur 23°.

0·0922 g Substanz gaben 25·5 cm³ CH₄.
 Ber. für C₁₅H₁₀O₅: OH 18·89%.
 Gef.: OH 18·41%.

Alkalischer Abbau des Farbstoffes.

Diese Operation wurde viermal mit je 0·5 g Farbstoff, der durch Umfällen aus Alkohol gereinigt worden war, vorgenommen. Je 0·5 g Farbstoff wurden in eine auf 100° vorgewärmte Lösung von 8 g Ätzkali in 3 cm³ Wasser eingetragen, im Wasserstoffstrom rasch auf 220° erhitzt und durch drei Minuten auf dieser Temperatur gehalten. Bei zirka 200° tritt lebhaftes Aufschäumen und Verschwinden der Rotfärbung der Masse ein. Die Schmelze wurde rasch abgekühlt, alle vier Schmelzprodukte vereinigt und dann mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Die angesäuerte Lösung wurde mit Äther fünfmal ausgeschüttelt, dann mit festem Kochsalz bis zur Sättigung versetzt und neuerlich mit Äther erschöpfend ausgezogen. Der Ätherauszug wurde nun mit je 3 cm³ einer gesättigten Natriumbikarbonatlösung im Scheidetrichter sechsmal ausgezogen. Dieser Bikarbonatauszug wurde nun mit 10%iger HCl angesäuert und mit Äther wieder erschöpfend extrahiert. Nach Abdunsten des Äthers wurde ein leicht gelb gefärbter Körper gewonnen. Dieser wurde im Vakuum bei 120° bis

130° sublimiert. Das kristallisierte Sublimat zeigte unscharfen Schmelzpunkt von 165—170°. Insgesamt wurden aus allen Kalischmelzen von zirka 5 g Farbstoff rund 0.4 g Rohprodukt an Säure gewonnen. Nach zehnmalem Umkristallisieren aus Benzol, verbunden mit dreimaligem Sublimieren, erhielten wir einen Körper, der schließlich einen Schmelzpunkt von 210° zeigte; dieser blieb nach wiederholtem Sublimieren und Kristallisieren konstant.

A n a l y s e :

4.165 mg Substanz gaben 9.304 mg CO₂, 1.520 mg H₂O

3.945 mg „ „ 8.820 mg CO₂, 1.358 mg H₂O.

Ber. für C₇H₆O₃: C 60.65, H 4.36%.

Gef.: C 60.92, 60.97; H 4.08, 3.85%.

Ein Mischschmelzpunkt der Abbausäure mit einer synthetisch dargestellten *p*-Oxybenzoesäure, die durch Umkristallisieren aus Benzol und Vakuumsublimation gereinigt worden war, ergab keine Depression.

Schließlich sei eine Analyse erwähnt, welche eine Phenolfraction betrifft, die ein Schmelzpunktsintervall von 85—95° zeigte:

4.430 mg Substanz gaben 11.120 mg CO₂, 2.704 mg H₂O.

Gef.: C 68.46, H 6.83%.

Eine zweite, die ein solches von 103—108° aufwies, gab:

4.570 mg Substanz gaben 11.223 mg CO₂, 2.655 mg H₂O.

Gef.: C 66.98, H 6.50%.

Da die Versuche zur Identifizierung der bei dem Kaliabbau entstandenen Phenole zu keinem positiven Ergebnis führten, so wird auch von einer Beschreibung derselben Abstand genommen.

A b b a u d e s m e t h y l i e r t e n F a r b s t o f f e s .

Für den Abbau des zur Verfügung stehenden Methylfarbstoffes von 0.5 g wurden die in der Arbeit von HERZIG (Ber. D. chem. Ges. 42, S. 156) ausgearbeiteten milden Bedingungen gewählt. Die 0.5 g Substanz wurden mit 50 g alkoholischem Kali von 20% durch acht Stunden auf dem Wasserbad erwärmt. Die Lösung wurde mit Wasser versetzt und der Alkohol abdestilliert. Die noch vorher zur Reinigung ausgeätherte Lösung wurde durch Kohlensäureeinleiten neutralisiert. Der Phenolanteil wurde mit Äther ausgezogen, während die in Lösung gebliebene Säure nach Ansäuern mit HCl durch neuerliches Ausäthern gewonnen

wurde. Substanzmangel verhinderte die weitere Untersuchung des Phenols.

Der Säureanteil, welcher nach Ansäuern der phenolfreien Lösung durch Ausäthern gewonnen wurde, ergab eine verhältnismäßig gute Ausbeute an Rohprodukt von 0.1 g. Nach einmaliger Sublimation ergab sich ein unscharfer Schmelzpunkt von 167 bis 172°, der bei weiterem fünfmaligen Umkristallisieren aus Benzol, aus Wasser und darauffolgendem zweimaligen Sublimieren bis 184° stieg und dann konstant blieb. Durch Mischschmelzpunkt mit synthetischer Anissäure, der keine Depression ergab, konnte die Identität des vorliegenden Körpers erwiesen werden. Die Methoxybestimmung ergab:

2.387 mg Substanz gaben 3.634 mg AgJ.

Ber. für $C_8H_8O_3$: OCH_3 20.40%.

Gef.: OCH_3 20.11%.

Verbrennungswerte.

4.213 mg Substanz gaben 9.712 mg CO_2 , 2.056 mg H_2O .

Ber. für $C_8H_8O_3$: C 63.13, H 5.30%.

Gef.: C 62.87, H 5.46%.