

# Der Farbstoff der Königskerzenblüten (Flores verbasci)

Von

LEOPOLD SCHMID und ERWIN KOTTER

Aus dem II. Chemischen Universitäts-Laboratorium in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 10. Dezember 1931)

Bei den bisher bekannten Pflanzenfarbstoffen und insbesondere bei den Blütenfarbstoffen begegnet man mehreren großen Typen, die sich in ihrem chemischen Aufbau deutlich voneinander unterscheiden. Hieher gehört die große Gruppe der Anthozyane, die in vielen und schönen Arbeiten WILLSTÄTERS eine eingehende Untersuchung erfuhr, die Flavone und Flavonole, ferner die Anthrazenfarbstoffe und die verhältnismäßig spät bekannte Farbstoffreihe der natürlichen Polyene oder Karotine. Während die Anthozyane, als deren Stammkörper Pelargonidin  $C_{15}H_{11}O_5Cl$ , Zyanidin  $C_{15}H_{11}O_6Cl$  und Delphinidin  $C_{15}H_{11}O_7Cl$  anzusehen sind, und die Flavone und Flavonole, als deren wichtigste Vertreter Quercetin  $C_{15}H_{10}O_7$ , Fisetin  $C_{15}H_{10}O_6$ , Apigenin  $C_{15}H_{10}O_5$ , Chrysin  $C_{15}H_{10}O_4$ , Luteolin  $C_{15}H_{10}O_6$  und Morin  $C_{15}H_{10}O_7$  genannt zu werden verdienen, ferner die Anthrachinonfarbstoffe, wie Alizarin  $C_{14}H_8O_4$  und Morindon  $C_{15}H_{10}O_5$ , durchwegs aus Ringssystemen gebildet sind, ist das bei den Polyenen nicht der Fall. Letztere bestehen alle aus einer längeren aliphatischen Kette, an deren Ende bei manchen von ihnen, wie z. B. beim Karotin und Lykopin ein zyklischer Ring hängt. Der Farbstoffcharakter dieser letzteren Verbindungen läßt sich größtenteils auf die mehr oder weniger große Zahl von konjugierten Doppelbindungen im Molekül zurückführen. Von der Zahl der Doppelbindungen hängt auch die Farbintensität dieser Farbstoffe ab. Einige Vertreter dieser Reihe, wie Karotin, Bixin und Xanthophyll, kannte man schon seit langer Zeit, jedoch ihre Konstitution ist erst in neueren Arbeiten ermittelt worden und in vielen Fällen ist der genauere Aufbau noch nicht eingehend erforscht. Die Reindarstellung dieser Stoffe aus natürlichen Pflanzenprodukten bereitet oft ganz erhebliche Schwierigkeiten, da sich diese Substanzen vielfach sehr empfindlich gegen chemische Agenzien verhalten und bei der Isolierung sehr leicht verändern.

Während die eben angeführten Farbstoffgruppen schon seit langem Gegenstand zahlreicher chemischer Untersuchungen waren, war bis vor kurzem über die von den Botanikern mit dem Namen „Anthochlor“ bezeichneten gelben Blütenfarbstoffe noch recht wenig bekannt. Die meisten Angaben über diese Farbstoffe findet man in der botanischen Literatur: FREMY et CLOEZ<sup>1</sup>, F. HILDEBRAND<sup>2</sup>, K. PRANTL<sup>3</sup>, A. HANSEN<sup>4</sup>, A. F. W. SCHIMPER<sup>5</sup>, A. WEISZ<sup>6</sup> und COURCHET<sup>7</sup>. Nach neueren Arbeiten stellte sich nun in allen bis jetzt untersuchten Fällen von sogenanntem „Anthochlor“ heraus, daß diese Substanzen durchaus nicht eine eigene Stoffklasse bilden, sondern sich zwanglos in schon bekannte Farbstofftypen einreihen lassen. Es sei hier an die Arbeiten von WHELDALE<sup>8</sup>, L. SCHMID und A. WASCHKAU<sup>9</sup> und L. SCHMID und W. RUMPEL<sup>10</sup> hingewiesen, wo sich zeigte, daß die dort beschriebenen Farbstoffe Flavone sind.

Zu dieser „Anthochlor“ genannten Gruppe wird auch der Verbaskumfarbstoff gezählt. Es interessierte uns deshalb ganz besonders, die Gruppenzugehörigkeit des Verbaskumfarbstoffes festzulegen.

Angaben über den Verbaskumfarbstoff finden sich nur vereinzelt. DENNERT<sup>11</sup> suchte Verwandtschaftsbeziehungen des gelben Verbaskumfarbstoffes mit den Gerbstoffen nachzuweisen. TSCHIRCH<sup>12</sup> untersuchte mittels der Spektralanalyse die chemische

<sup>1</sup> Notes sur les matières colorantes des fleurs, *Journal de pharmacie et chimie* 25, 1854, S. 241.

<sup>2</sup> Anatomische Untersuchungen über die Farben der Blüten, *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1863, Bd. 3, S. 64.

<sup>3</sup> Notiz über einen neuen Blütenfarbstoff, *Bot. Ztg.* 1871, Jg. 29, S. 427.

<sup>4</sup> Die Farbstoffe der Blüten und Früchte, *Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg*, N. F. B. 18, Nr. 7, 1884.

<sup>5</sup> Untersuchungen über Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde. *Jahrb. f. wiss. Bot.* 1885, Bd. 16, S. 132.

<sup>6</sup> Über einen eigentümlichen gelösten Farbstoff in der Blüte einiger Papaverarten, *Monatsh. Chem.* 2, 1881, S. 108/109, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 90, 1881, S. 108/109.

<sup>7</sup> Recherches sur les chromoleucites, *Ann. des sciences nat.* 7, sér. botanique 7, 1888, S. 361/362.

<sup>8</sup> *Biochem. Journ.* 7, 1913, S. 87.

<sup>9</sup> *Monatsh. Chem.* 49, 1928, S. 83, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 137, 1928, S. 83.

<sup>10</sup> *Monatsh. Chem.* 57, 1931, S. 421, bzw. *Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b)* 139, 1930, S. 1087; ferner eine noch nicht veröffentl. Arbeit.

<sup>11</sup> *Chemie des Blumenblattes*, *Bot. Ztbl.* 38, 1889.

<sup>12</sup> *Ber. D. bot. Ges.* 22, 1904.

Verwandtschaft natürlicher gelber Blüten-, Blätter- und Fruchtfarbstoffe untereinander und ordnet den Verbaskumfarbstoff in die Gruppe der Xanthokarotine ein. G. KLEIN<sup>13</sup> erwähnt in seiner Arbeit auch den Verbaskumfarbstoff, den er als „Anthochlor“ bezeichnet und mikrochemisch zur Kristallisation brachte. Bei der Nachprüfung der chemischen Mikrokrystallisation mußten wir aber leider feststellen, daß die darauf bezugnehmenden Angaben KLEINs einer wiederholt durchgeführten kritischen Nachprüfung nicht standhalten konnten.

Eine makrochemische Untersuchung und konstitutionelle Aufklärung hat bisher noch nicht stattgefunden. Ehe wir die chemische Untersuchung des Verbaskumfarbstoffes in Angriff nehmen könnten, mußte daher ein Weg zur makrochemischen Isolierung und Reindarstellung gefunden werden.

Es gelangten insgesamt zirka 3 kg Blüten zur Verwendung. Nach vielen orientierenden, zum Großteil negativen Vorversuchen, auf die wir aber hier nicht eingehen können, bewährten sich folgende zwei Verfahren, die wir für die Darstellung des Verbaskumfarbstoffes angeben können. Die eine Darstellung beruht auf der leichten Löslichkeit des Farbstoffes in Eisessig und seiner Schwerlöslichkeit in Äther. Die durch tagelanges Stehen der Blüten in Eisessig erhaltenen Extrakte wurden mit dem 2½fachen Volumen Äther versetzt und der Rohfarbstoff zur Abscheidung gebracht.

Das zweite Verfahren gründet sich auf die Schwerlöslichkeit des Farbstoffes in kaltem und auf seine leichtere Löslichkeit in siedendem Alkohol. Die in Arbeit genommenen Blüten waren selbstverständlich durch längere Einwirkung von Petroläther von Fetten weitestgehend befreit worden. Sowohl mit der Rohfällung aus der Eisessig-Ätheraufarbeitung als auch mit den alkoholischen Extrakten wurden langwierige, doch vergebliche Versuche unternommen, den Farbstoff in Form seines Glukosides zu isolieren. Positiv können wir kurz zusammenfassen, daß wir das Glukosid mit Bleizucker zur Abscheidung brachten. Die ungünstigen Eigenschaften desselben in bezug auf Löslichkeit machten es unmöglich, mehr darüber auszusagen, als daß eben seine Existenz nachgewiesen werden konnte.

Unsere Problemstellung war auch nicht auf das Glukosid gerichtet, sondern auf die chemische Konstitution der Farb-

<sup>13</sup> Studien über das Anthochlor, Monatsh. Chem. 41, 1920, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 129, Heft 7/8, 1920.

komponente, ob sie als Anthochlor wirklich einen neuen Typ von Farbstoffen vorstellt oder sich in bekannte Gruppen einreihen läßt.

In der nächsten Etappe wurden sowohl das Eisessig-Ätherprodukt als auch die alkoholischen Extrakte in gleicher Weise auf den zuckerfreien Farbstoff aufgearbeitet.

Der Rohfarbstoff zeigte nach einer Behandlung mit 10%iger alkoholischer Salzsäure und ebenso nach einer solchen mit Schwefelsäure völlig veränderte Eigenschaften. Beim Verdünnen der Lösung mit Wasser fiel ein brauner Niederschlag in Flocken aus. Der Niederschlag ging beim Ausschütteln mit Äther in die ätherische Schicht und verlieh derselben eine intensiv goldgelbe Farbe. Die wässrige Schicht gab schon in der Kälte starke FEHLINGSCHE Reduktion. Diese veränderten Löslichkeiten ließen auf eine stattgefundene Hydrolyse schließen.

Sehr wertvoll war die Beobachtung, wie sich der Ätherrückstand des Farbstoffes gegen konzentrierte Schwefelsäure verhielt. Mit letzterer gab er eine intensive Blaufärbung. Diese Blaufärbung sowie die leichte Löslichkeit in den meisten organischen Lösungsmitteln war uns ein deutlicher Hinweis auf die Gruppenzugehörigkeit des Untersuchungsmaterials, denn sie ist eine allen Polyenen eigentümliche Reaktion. Damit war für die weitere Aufarbeitung der Weg gewiesen.

Wir brachten infolgedessen nicht die saure, sondern die alkalische Hydrolyse, die P. KARRER (Helv. chim. Acta X, S. 397) bei der Darstellung der Safranfarbstoffe mit Erfolg benutzt hatte, auch hier in modifizierter Form in Anwendung. In unserem Fall ergab sich, daß eine Gesamtalkalikkonzentration von 5% zweckmäßig sei.

Da unser Ausgangsmaterial viel Fette und Wachse enthielt, so waren naturgemäß trotz Entfettung des Materials vor der Extraktion noch immer Reste verblieben, die in den Äther- bzw. Petrolätherauszügen störend waren. Für die weitere Aufarbeitung kam uns daher der Umstand sehr zugute, daß sich das Rohfarbstoffmaterial mit Natriumbikarbonat aus der Ätherlösung ausschütteln ließ. Aus diesem Verhalten folgte, daß der Farbstoff eine Säure ist. Aus der Natriumbikarbonatlösung war nach dem Ansäuern und Ausäthern der Farbstoff meist nach ein- bis zweimaliger Behandlung schon völlig frei von fettigen Begleitstoffen. In diesem Stadium lag nach dem Abdestillieren der Ätherlösung ein kristallisiertes, ziegelrot gefärbtes Produkt in einer Ausbeute

von 3·5 g vor, wenn es sich um eine Extraktion von 1 kg Blüten mit Eisessig handelte.

Zum Vergleich sei erwähnt, daß das nach dem Alkoholverfahren aus 500 g Blüten isolierte Rohprodukt in einer Ausbeute von 1·2 g aus 500 g Blüten, d. i. 70% der Ausbeute, beim Eisessigverfahren zu fassen war, so daß dem Eisessigverfahren der Vorzug zu geben ist. Die Eisessigaufarbeitung ist auch deshalb vorzuziehen, weil nach der Ausfällung der Eisessiglösung mit Äther auch viel Pflanzenfette vom Äther in Lösung gehalten werden.

Dieses kristallisierte Rohprodukt war aber keineswegs einheitlich. Die weitere Aufgabe bestand nun darin, dieses Produkt durch Reinigungsoperationen zu zerlegen. Dazu eignete sich recht gut Benzol. Durch erschöpfende Behandlung mit diesem Lösungsmittel gelang es, ein kadmiumgelbes, lösliches Produkt von einem schwerer löslichen roten Körper abzutrennen. Die Ausbeute an diesem roten Produkt betrug 0·3 g (aus 1 kg Blüten).

Ein an diesem roten Farbstoff durchgeführter Schmelzpunkt lag bei 275°. Der Farbstoff ist löslich in Pyridin, sehr schwer löslich in Alkohol, Methanol, Azeton, Essigsäure und Essigester, unlöslich in Wasser. Zur vollständigen Reinigung kristallisierten wir ihn zweimal aus Pyridin um. Der Schmelzpunkt stieg dabei auf 284—285° (unter Zersetzung) und blieb bei nochmaligem Umkristallisieren aus Pyridin konstant. Aus diesem Lösungsmittel kristallisiert das Produkt in herrlichen, tiefrot gefärbten Blättchen, die unter dem Mikroskop metallischen Glanz zeigen.

Damit war nun die erste Aufgabe gelöst, welche darin bestand, ein Verfahren im makrochemischen Stil für die Reindarstellung des Verbaskumfarbstoffes zu finden. Als nächstes Problem galt uns jetzt, die Konstitution dieses Körpers zu ermitteln. Der hohe Schmelzpunkt, Kristallform und Löslichkeit veranlaßten uns, der Vermutung Raum zu geben, der rote Farbstoff könne mit dem von P. KARRER (Helv. chim. Acta X, S. 397) aus dem Safran und R. KUHN (Helv. chim. Acta XI, S. 716) aus dem Samen der chinesischen Gelbschoten und den Blütenblättern von *Crocus sativus* isolierten natürlichen Polyenfarbstoff  $\alpha$ -Crocetin identisch sein.

Wir studierten nun an unserem Farbstoff verschiedene Farbenreaktionen und fanden, daß er mit konzentrierter Schwefelsäure eine intensive Blauviolett färbung gab, mit konzentrierter Salpetersäure momentan Blutrot färbung, die rasch verblaßt und mit Antimonpentachlorid Violett färbung.

Alle diese Farbenreaktionen wurden von P. KARRER (Helv. chim. Acta XI, S. 1202) an  $\alpha$ -Crocetin beobachtet. Außerdem wird eine Petrolätherlösung des Farbstoffes beim Durchschütteln mit 70%igem Methanol entfärbt, während sich die Methanolschicht durch den Farbstoff gelb färbt, eine bei allen Polyenen beobachtete Erscheinung.

Nach diesen Beobachtungen war also die Wahrscheinlichkeit, daß unser roter Farbstoff  $\alpha$ -Crocetin sei, sehr groß. Zur weiteren Stütze dieser Annahme wurden mit dem Farbstoff noch weitere Reaktionen durchgeführt. Die Elementaranalyse gab folgende Werte: für Kohlenstoff 72·42% und für Wasserstoff 7·32%, während sich unter Zugrundelegung der Formel  $C_{19}H_{22}O_4$  theoretisch für Kohlenstoff 72·57% und für Wasserstoff 7·06% berechnen. Wir fanden bei der Analyse also sehr gut auf  $\alpha$ -Crocetin stimmende Werte.

Als nächstes wurde eine Bestimmung des Äquivalentgewichtes am Farbstoff durchgeführt.  $\alpha$ -Crocetin läßt sich als ungesättigte zweibasische Säure mit Lauge titrieren und so das Äquivalentgewicht berechnen. Die Mikrotitration wurde mit 1/100 *n*-Natronlauge und 1/100 *n*-Salzsäure ausgeführt. Als Indikator diente  $\alpha$ -Naphtholphthalein, das einen sehr genauen Farbumschlag von Gelb bei saurem Medium, auf Grün bei alkalischem Medium erkennen läßt. Zur Bestimmung wurde die Substanz in heißem Alkohol gelöst und in der Hitze bis zum Farbumschlag nach Gelbgrün titriert. Der theoretische Wert für das Äquivalentgewicht beträgt 157, während in guter Übereinstimmung 155, 159·1 und 162·6 gefunden wurde.

Ein weiterer analytischer Befund konnte in einer Oxydation des Farbstoffes erbracht werden. Als Oxydationsmittel diente Kaliumpermanganat, wobei im Falle des vorliegenden  $\alpha$ -Crocetins drei Mole Essigsäure auf ein Mol  $\alpha$ -Crocetin zu erwarten waren. Der Farbstoff wurde in 1/10 *n*-Natronlauge gelöst und mit 4/10 *n*-Kaliumpermanganatlösung oxydiert. Nach beendeter Reaktion wurde die entstandene Essigsäure abdestilliert. Zur Titration diente Phenolphthalein als Indikator. Sechs Einzeltitrationen ergaben im Mittel 2·90 Mole Essigsäure auf ein Mol  $\alpha$ -Crocetin, während theoretisch drei Mole Essigsäure drei Methylgruppen in der Seitenkette entsprechen.

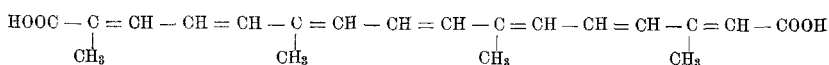
Schließlich hydrierten wir noch den Farbstoff mit Platin als Katalysator. Es war bei unserer Einwaage ein Wasserstoffverbrauch von 19·98  $cm^3$  zu beobachten. Für sieben Doppelbindun-

gen im Molekül und unter Zugrundelegung der Formel  $C_{19}H_{22}O_4$  errechnet sich ein Wasserstoffverbrauch von  $20.42 \text{ cm}^3$ .

Unser roter Farbstoff gab mit  $\alpha$ -Crocetin aus Safran keine Depression. Er stimmt auch mit  $\alpha$ -Crocetin in den Absorptionsbanden überein. Herr Prof. R. KUHN, dem wir an dieser Stelle unseren verbindlichen Dank aussprechen, hatte die Freundlichkeit, diese Absorptionsbanden ausmessen zu lassen; er fand für die optischen Schwerpunkte derselben in absolutem Alkohol: 454 und 427  $m\mu$ . Schließlich sind wir Herrn Prof. R. KUHN für die Ausführung des Mischschmelzpunktes mit  $\alpha$ -Crocetin zu Dank verpflichtet.

Da uns für weitere Versuche kein Farbstoffmaterial mehr übrigblieb, mußten wir uns mit diesen experimentellen Ergebnissen begnügen. Jedoch können wir auf Grund der bisherigen experimentellen Befunde mit Sicherheit behaupten, daß der rote, aus Verbaskum isolierte Farbstoff mit  $\alpha$ -Crocetin identisch ist.

R. KUHN (Ber. D. ch. G. 64, S. 1732), der neuerdings Untersuchungen an  $\alpha$ -Crocetin durchgeführt hatte, schlug die um  $CH_2$  reichere Formel  $C_{20}H_{24}O_4$  für  $\alpha$ -Crocetin vor. Er stützt sich auf die Feststellung, daß  $\alpha$ -Crocetin bei einer Oxydation mit Chromsäure vier Mole Essigsäure liefert, während bei der alkalischen Permanganatoxydation nur drei Mole erfaßt werden. Dieser Autor nimmt an, daß bei dieser Permanganatoxydation die vierte Methylgruppe keine Essigsäure liefert und so sich der Bestimmung entzieht, da sie in unmittelbarer Nähe der Karboxylgruppe zunächst Brenztraubensäure gibt, die für die Bildung von Essigsäure verlorengeht. Außerdem bestimmte KUHN das Äquivalentgewicht des Tetradekahydrocrocetins und die Verseifungszahl des Tetradekahydrocrocetindimethylesters und fand für die Formel mit 20 C-Atomen bessere Übereinstimmung. Eine röntgenographische Molekulargewichtsbestimmung an  $\gamma$ -Crocetin, von HENGSTENBERG vorgenommen, die sich mit  $\pm 2\%$  Genauigkeit durchführen ließ, gab haargenaue Übereinstimmung mit  $C_{20}H_{24}O_4$ . Anschließend an diese Untersuchungen stellte KUHN für  $\alpha$ -Crocetin eine neue Formel auf:



Ob nun die Formel  $C_{19}H_{22}O_4$  für  $\alpha$ -Crocetin richtiger ist oder  $C_{20}H_{24}O_4$  läßt sich nach unseren Versuchsergebnissen nicht entscheiden, da die Analysenwerte zwischen beiden Formeln nur geringe Diskrepanz zeigen. Auch die Methoxylwerte von  $\beta$ - und

$\gamma$ -Crocetin weisen bei beiden Formeln nur eine geringe, innerhalb der Versuchsfehler liegende Differenz auf. Außerdem geben die Methoxylbestimmungen bei diesen Substanzen keine zuverlässigen Werte, da z. B. beim  $\gamma$ -Crocetin die zweite  $\text{OCH}_3$ -Gruppe schwer abspaltbar ist (P. KARRER und H. SALOMON, *Helv. chim. Acta* X, S. 404). Ähnliche ungenaue Methoxylwerte gaben die Analysen des Bixins (P. KARRER, A. HELFENSTEIN, R. WIDMER und Th. v. ITTALIE, *Helv. chim. acta* XII, S. 741). Mit größerer Sicherheit könnte man diese Frage erst dann entscheiden, wenn man zahlreiche Derivate des  $\alpha$ -Crocetins, die größere Differenzen in den Werten aufweisen, analysiert. Leider konnten wir, wie schon erwähnt, mangels Farbstoffmaterials keine weiteren Untersuchungen mehr durchführen, die eine klare Stellungnahme zu dieser Frage gerechtfertigt hätten.

Zusammenfassend läßt sich nun sagen, daß wir für die Darstellung des Verbaskumfarbstoffes zwei Verfahren ausarbeiten konnten, von denen das eine auf der Extraktion mit Eisessig und Fällung mit Äther beruht, während das zweite durch eine Extraktion mit Alkohol möglich ist. Der Farbstoff ist ein Glukosid. Die Farbkomponente ist identisch mit dem Polyenfarbstoff  $\alpha$ -Crocetin, was durch den Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt, ferner durch eine Verbrennung, eine spektroskopische Untersuchung, durch Farbenreaktionen und schließlich durch eine Oxydation mit Kaliumpermanganat und Hydrierung bewiesen werden konnte.

Nun kann mit Berechtigung die Forderung aufgestellt werden, daß der Name „Anthochlor“ aus der Literatur gestrichen werde, da auch das Verbaskumgelb sich ohne Schwierigkeit in schon bekannte Gruppen einreihen läßt.

### Experimenteller Teil.

#### Darstellung der Bleiverbindung des Farbstoffglukosids und Zuckernachweis.

Zu nachfolgenden Versuchen gelangten Verbaskumblüten zur Verwendung, die aus Mönchdorf in Oberösterreich stammten. 100 g an der Luft getrocknete und zu grobem Mehl zerriebene Blüten wurden in 1 kg Eisessig gebracht und darin eine Woche bei Zimmertemperatur liegen gelassen. Der intensiv braun gefärbte Extrakt wurde nach dem Filtrieren und Auspressen der Blüten mit 2 l Äther versetzt. Nach dem Umschütteln schied sich sofort ein gelb gefärbter flockiger Niederschlag in reichlicher Menge ab, der sich alsbald am Boden des Gefäßes festsetzte. Nach



mehrständigem Stehen wurde die überstehende Lösung dekantiert, die Rohfällung mehrmals mit Äther gewaschen und durch Überleiten von Luft getrocknet. Hierauf fügten wir 100  $cm^3$  destilliertes Wasser hinzu. Nach kräftigem Schütteln war fast alles in Lösung gegangen und nur von einer geringen Abscheidung dunkel gefärbter Begleitstoffe mußte filtriert werden. Die klare, braune, wässrige Lösung wurde mit Barytwasser zur Neutralisation der Pflanzensäuren und sodann mit 100  $cm^3$  gesättigter Bleiazetatlösung versetzt. Es fiel sofort ein grünlichgelber, reichlicher Niederschlag der Bleiverbindung des Farbstoffglukosides aus. Nach dem Absetzen des Niederschlages wurde filtriert und das Filtrat mit FEHLINGSCHER Lösung geprüft. Diese gab sofort eine starke  $Cu_2O$ -Abscheidung. Der Bleiniederschlag wurde daher gründlich mit heißem Wasser ausgewaschen, bis das abtropfende Filtrat keine FEHLINGSCHER Reduktion mehr gab. Die Ausbeute betrug 1·5 g.

Zum Nachweis des Zuckers nach der Hydrolyse wurden 0·5 g der Bleiverbindung in 100  $cm^3$  warmem Eisessig gelöst und zunächst zur Abspaltung des Bleis mit 5  $cm^3$  10%iger Salzsäure in der Kälte versetzt. Das abgeschiedene Bleichlorid wurde filtriert und mit Eisessig nachgewaschen. Das Filtrat enthielt nun das freie Farbstoffglukosid in essigsaurer Lösung. Wir versetzten dasselbe hierauf mit 25  $cm^3$  10%iger Salzsäure und erwärmten zur Hydrolyse eine Viertelstunde auf 50—60°. Nach dem Abkühlen der Lösung wurde diese mit 500  $cm^3$  destilliertem Wasser verdünnt und vom ausgefallenen Niederschlag des Farbstoffaglukons filtriert. Das Filtrat wurde in mehreren Versuchen mit FEHLINGSCHER Lösung geprüft und jedesmal schon in der Kälte eine starke Reduktion erhalten, was auf den abgespaltenen Zucker nach der Hydrolyse deutlich hinweist.

Die Reindarstellung des Farbstoffglukosides gelang trotz eingehender und zahlreicher Versuche nicht. Auch bei der Darstellung des Aglukons traten Schwierigkeiten auf. Nach den bereits eingangs erwähnten negativen Versuchen bewährten sich folgende zwei Aufarbeitungsverfahren, die wir in folgender Form zur Darstellung des Farbstoffes angeben können.

#### Isolierung des Verbaskumfarbstoffes durch Extraktion mit Eisessig.

1 kg Verbaskumblüten wurden von grünen Pflanzenteilen und dunkelbraun gefärbten Partien durch Auslesen sorgfältig getrennt und durch lockeres Aufbreiten auf Filtrierpapier mehrere

Tage lang an der Luft getrocknet. Das trockene Material, das sich nun leicht zerreiben ließ, wurde in einer Mühle zu grobem Mehl vermahlen und sodann zwecks Befreiung von Fetten und Wachsen portionenweise in einem 1-l-Soxleth-Extraktionsapparat mit Petroläther (Fraktion unter 100°) erschöpfend entfettet. Diese Behandlung erfolgte so lange, bis der abfließende Petroläther, zum Verdampfen gebracht, keinen sichtbaren Rückstand von Fett hinterließ.

Die Petrolätherauszüge gaben nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels ein grünbraun gefärbtes Öl, das nach und nach zu einer wachsartigen Masse von ranzigem Geruch erstarrte. Beim Erhitzen dieses Fettes entwickelten sich stechend riechende Dämpfe von Akrolein.

Das entfettete Blütenmaterial wurde vom anhaftenden Petroläther durch Trocknen an der Luft befreit und sodann in einer geräumigen Flasche mit 5 kg Eisessig überschichtet. Von Zeit zu Zeit wurde, um ein Eindringen des Lösungsmittels in die Zellen zu erleichtern, kräftig durchgeschüttelt. Nach einer Woche wurde der dunkelbraun gefärbte Extrakt filtriert und die Blüten zunächst oberflächlich ausgepreßt. Schließlich wurden aus dem Blütenmaterial durch Auspressen in einer Filterpresse die letzten Reste an Extrakt gewonnen. Die Blüten waren nach dieser Behandlung nur mehr ganz unbedeutend gefärbt. Die vereinigten Eisessiglösungen (4.2 l) wurden mit dem 2½fachen Volumen Äther (10.5 l) versetzt, worauf nach kräftigem Umschütteln ein dichter Niederschlag ausfiel. Der Niederschlag hatte anfangs hellgelbe Farbe und flockiges Aussehen, ballte sich jedoch rasch zu dicken dunkelbraunen Klumpen zusammen, die sich an Boden und Wänden des Gefäßes festsetzten. Nach zwölfstündigem Stehen wurde die überstehende grünlichgelbe Flüssigkeit abgegossen. Die zähbraune Rohfällung wurde sodann mehrmals mit Äther gewaschen, bis der Geruch nach Eisessig verschwunden war, dann durch Überleiten von Luft getrocknet und schließlich mit 1000 cm<sup>3</sup> destilliertem Wasser versetzt. Nach häufigem Umschütteln ging fast alles in Lösung. Eine geringe Menge dunkel gefärbter Begleitstoffe wurde durch Filtration abgetrennt. Die nunmehr klare, dunkelbraune, wässrige Lösung wurde zur Hydrolyse mit 330 cm<sup>3</sup> 20%iger Kalilauge versetzt, so daß eine Gesamtalkalikonzentration von 5% erreicht wurde und hernach unter Umschütteln auf dem Wasserbad eine halbe Stunde lang auf 50° erwärmt. Sodann wurde langsam erkalten und über Nacht stehen gelassen. Am

nächsten Tage säuerten wir mit Salzsäure 1 : 1 vorsichtig unter Eiskühlung an, bis ein dichter braun gefärbter Niederschlag ausgefallen war und Lackmus deutlich saure Reaktion anzeigte. Es wurde sodann sofort portionenweise mit Äther ausgeschüttelt. Dies gestaltete sich als ziemlich unangenehme Operation, da sich eine Trennungsschicht zwischen Äther und wässriger Lösung erst nach mehrstündigem Stehen bildete und an der Grenzschicht starke Emulsionen auftraten. Um diesem Übelstand beizukommen, wurden die Emulsionen gesondert mit viel Äther durchgeschüttelt und durch Zentrifugieren rascher abgetrennt. Im ganzen mußte jede Charge zehn- bis zwölfmal mit Äther ausgeschüttelt werden, bis die ätherische Schicht nur mehr ganz schwach gelb gefärbt war. Die wässrigen Lösungen wurden zur Gewinnung der letzten Farbstoffreste in einem Ätherextraktionsapparat für Flüssigkeiten erschöpfend ausgezogen. Der Äther wurde durch Abdestillieren und Einengen der Lösungen stets zurückgewonnen. Auf diese Weise erhielten wir zirka 6 l ätherische Rohfarbstofflösung. Zwecks Reinigung von letzten Resten an Fetten und Wachsen wurde diese Ätherlösung mit 2000  $cm^3$  einer bei Zimmertemperatur gesättigten Natriumbikarbonatlösung ausgeschüttelt. Nach vier- bis fünfmaligem Ausschütteln war die ätherische Schicht nur mehr schwachgelb gefärbt. Sie gab nach dem Abdestillieren des Äthers ein braunes fettiges Produkt. Die vereinigten Bikarbonat-Auszüge wurden unter Eiskühlung und Umschütteln mit Salzsäure 1 : 1 schwach angesäuert. Jetzt schied sich ein orange gefärbter flockiger Niederschlag ab. Dieser wurde nun durch mehrmaliges Ausschütteln mit Äther in Lösung gebracht. Die goldgelbe Ätherlösung wurde zur Vervollständigung der Reinigung nochmals erschöpfend mit gesättigter Bikarbonatlösung ausgeschüttelt, die erhaltene alkalische Farbstofflösung schwach angesäuert und mit Äther ausgezogen. Die jetzt resultierende Ätherlösung wurde mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Als Rückstand verblieb ein ziegelrotes Kristallpulver in einer Ausbeute von 3·5 g.

Um den roten Farbstoff aus diesem Gemisch abzutrennen, wurde eine Extraktion mit Benzol vorgenommen. Das ziegelrote Pulver wurde in eine Soxhletsche Extraktionshülse gebracht und im siedenden Wasserbad eine Woche lang mit Benzol ausgezogen. Mit fortschreitender Extraktion färbte sich der Rückstand immer mehr und mehr rot. Bei dieser Behandlung bleibt der schwer lösliche rote Farbstoff ungelöst in der Extraktionshülse zurück,

während der Benzolextrakt durch die in Lösung gegangene geringe Menge des roten Farbstoffes gelb gefärbt war. Die Ausbeute an rotem Farbstoff betrug 0.3 g.

#### Darstellung des Farbstoffes durch Extraktion mit Alkohol.

In einer zweiten Aufarbeitung, in der wir durch Extraktion mit Alkohol das Aglukon isolieren konnten, interessierte es uns, die Ausbeute nach diesem Verfahren festzustellen.

500 g Blütenmehl war zunächst in einem Soxhletschen Extraktionsapparat erschöpfend mit Petroläther (Fraktion unter 100°) entfettet worden. Sodann wurde das getrocknete Material in einem großen Rundkolben mit 3 l siedendem Alkohol mehrere Stunden lang extrahiert. Nach dem Filtrieren wurden die Blüten stets mit frischem Alkohol bedeckt und wieder ausgekocht. Dies geschah im ganzen sechsmal, bis der Extrakt nur mehr ganz schwach gelb gefärbt war. Die vereinigten goldgelben Alkoholauszüge wurden im Vakuum bei 50° auf ein Fünftel des ursprünglichen Volumens eingeengt. Hierbei wurde nach und nach destilliertes Wasser zugefügt, bis die letzten Reste Alkohol durch Destillation entfernt waren, wobei das Flüssigkeitsvolumen stets konstant gehalten wurde. Die wässrige Flüssigkeit (3 l) wurde nun mit 1000 cm<sup>3</sup> 20%iger Kalilauge auf eine Gesamtalkalikonzentration von 5% gebracht. Zur Hydrolyse wurde eine halbe Stunde am Wasserbad erwärmt und sodann abkühlen gelassen. Wir säuerten nun unter Eiskühlung mit 20%iger Salzsäure an. Die auf Lackmus sauer reagierende Flüssigkeit wurde erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. Dabei zeigte sich, daß die Ätherlösung durch beigemengte Begleitstoffe nach dem Ausschütteln grün gefärbt war. Zur weiteren Reinigung wurde die Ätherlösung, wie oben bei der Eisessigextraktion angegeben, mit Natriumbikarbonatlösung ausgeschüttelt. Nur wurde diese Behandlung diesmal zum Unterschied gegen früher im ganzen dreimal vorgenommen, u. zw. in der Weise, daß die Natriumbikarbonatauszüge nach dem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure und nachfolgendem Ausäthern noch zweimal dieser Behandlung unterzogen wurden. Nach dem Abdestillieren der zuletzt erhaltenen ätherischen Lösung resultierte ein noch fettiges Rohprodukt von rotbrauner Farbe. Die letzten fettigen Verunreinigungen mußten durch zweimaliges Digerieren mit je 25 cm<sup>3</sup> Chloroform herausgelöst werden, was immerhin einen

Verlust an Farbstoff bedeutete. Nach dieser Behandlung mit Chloroform verblieb als Rückstand ein ziegelrotes, kristallinisches Produkt in einer Ausbeute von 1·2 g. Die Ausbeute nach diesem Verfahren war also bedeutend geringer, sie betrug etwa 70% derselben. Das rote Gemisch wurde wie bei der ersten Aufarbeitung mit Benzol extrahiert und der rote Farbstoff abgetrennt. Die Ausbeute an rotem Farbstoff betrug hier 0·08 g.

#### Reinigung des Farbstoffes und Eigenschaften.

Das nach der Benzolextraktion in der Soxhlehülse zurückgebliebene Produkt stellt ein dunkelrotes amorphes Pulver dar. Der Schmelzpunkt beträgt 275°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus je 15 cm<sup>3</sup> Pyridin schmilzt der Farbstoff konstant bei 284—285° (korr.) unter Zersetzung. Er kristallisiert in schönen, metallglänzenden, tiefrot gefärbten Kristallen. Löslichkeitsversuche zeigten: der Farbstoff ist schwer löslich in Alkohol, Methylalkohol und Azeton, mäßig löslich in Äther, Petroläther und Eisessig, leicht löslich in Pyridin und praktisch unlöslich in allen anderen organischen Lösungsmitteln. In Wasser ist der Farbstoff vollkommen unlöslich. ½—2%ige Lauge löst ihn ziemlich gut. In 5%iger Lauge ist er sehr schwer löslich und fällt als Natriumsalz aus. Durch Mineralsäuren läßt sich der Farbstoff aus den alkalischen Lösungen in Flocken ausfällen.

#### Analyse, Mischschmelzpunkt und spektroskopischer Befund.

Zur Analyse wurde der Farbstoff vorher im Hochvakuum eine Stunde lang bei 70° über Phosphorpentoxyd getrocknet.

3·695 mg Substanz gaben 9·812 mg CO<sub>2</sub> und 2·417 mg H<sub>2</sub>O.

Ber. für C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>: C 72·57, H 7·06%.

Ber. für C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>: C 73·13, H 7·37%.

Gef.: C 72·42, H 7·32%.

Der Farbstoff gab mit  $\alpha$ -Crocetin aus Safran (F. P. 285°) keine Depression. Die spektroskopische Untersuchung zeigte die optischen Schwerpunkte der Absorptionsbanden in absolutem Alkohol bei 454, 427  $\mu$ .

#### Farbenreaktionen.

Der Farbstoff gibt  
mit konzentrierter Schwefelsäure: intensive Blauviolett-färbung, die nach einiger Zeit in Braunrot umschlägt;

mit rauchender Salpetersäure: intensive Rotfärbung, die momentan verblaßt;

mit konzentrierter Salpetersäure: Blaufärbung, die über Rot nach Braun umschlägt;

mit Antimonpentachlorid, in Eisessig gelöst: Violett färbung, bald verlassend.

Petroläther-Methanolprobe: Beim Durchschütteln einer Petrolätherlösung des Farbstoffes mit 70%igem Methanol wird die Petrolätherschicht entfärbt, während die Methanolschicht gelb gefärbt wird.

#### Bestimmung des Äquivalentgewichtes.

Zur Bestimmung des Äquivalentgewichtes wurde im Mittel 10 mg Farbstoff, welcher vorher im Vakuum bei 70° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet worden war, verwendet. Nach Hinzufügen von 25 cm<sup>3</sup> Alkohol wurde die Substanz in der Wärme gelöst. Die Titration erfolgte mit 1/100 *n*-Natronlauge aus einer Mikrobürette. Als Indikator verwendeten wir  $\alpha$ -Naphtholphthalein und titrierten auf Gelbgrün. Eine Verwendung von Phenolphthalein als Indikator war deshalb ausgeschlossen, weil die gelbe Farbe der Crocetinlösung den Farbumschlag nach Rot viel schwerer erkennen läßt. Der Endpunkt ließ sich durch Titration in der Hitze mit einer Genauigkeit eines halben Tropfens feststellen. Der Titer der 1/100 *n*-Natronlauge war vor den Bestimmungen auf 1/100 *n*-Salzsäure mit  $\alpha$ -Naphtholphthalein eingestellt worden.

16·554 mg	Substanz	verbrauchten	10·41 cm <sup>3</sup>	1/100 <i>n</i> -NaOH
13·902 mg	„	„	8·55 cm <sup>3</sup>	1/100 <i>n</i> -NaOH
5·016 mg	„	„	3·24 cm <sup>3</sup>	1/100 <i>n</i> -NaOH.

Ber. für C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>: 157.

„ „ C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>: 164.

Gef.: 159·1, 162·6, 155.

#### Hydrierung.

0·04 g Farbstoff, auf Gewichtskonstanz getrocknet, wurden zur Hydrierung in 50 cm<sup>3</sup> Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur mit Platin hydriert. Der Wasserstoffverbrauch schritt anfangs schnell vorwärts, wurde aber allmählich geringer, bis am Ende der Reaktion die Lösung vollkommen entfärbt war. Die Dauer der Hydrierung betrug vier Stunden.

Der Katalysator wurde folgendermaßen bereitet: 0.02 g Platinchlorid ( $\text{PtCl}_2$ ) wurden in wenig Wasser gelöst und 0.2 g Absorptionskohle hinzugefügt. Nach Zusatz einer Spur festen Natriumazetats, einiger  $\text{cm}^3$  Formalinlösung und einiger Tropfen Natronlauge wurde bis zur Entfärbung aufgeköcht, sodann filtriert und getrocknet.

0.0409 g Substanz verbrauchten  $19.98 \text{ cm}^3 \text{ H}_2$  ( $0^\circ$ , 760 mm).

Ber. für  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_4$  und 7 Doppelbindungen:  $20.42 \text{ cm}^3 \text{ H}_2$  ( $0^\circ$ , 760 mm).

„ „  $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4$  „ 7 „ „  $19.57 \text{ cm}^3 \text{ H}_2$  ( $0^\circ$ , 760 mm).

#### Oxydation mit Kaliumpermanganat.

Der Farbstoff war zur Bestimmung im Hochvakuum bei  $60^\circ$  getrocknet worden. 0.1204 g Substanz wurden in  $15 \text{ cm}^3 \frac{1}{10} n$ -Natronlauge bei  $50^\circ$  gelöst und sodann die Lösung auf  $0^\circ$  abgekühlt. Hierauf wurden  $100 \text{ cm}^3 \frac{4}{10} n$ . ( $12.7 \text{ g KMnO}_4 + 34 \text{ g Na}_2\text{CO}_3$  im Liter gelöst) Kaliumpermanganatlösung zugefügt. Nach einstündigem Stehen im Eis wurde die Lösung herausgenommen und 16 Stunden bei Zimmertemperatur reagieren gelassen. Nach dieser Zeit war die Lösung noch gefärbt. Sie wurde bis zum Verschwinden der Permanganatfarbe 2 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Jetzt war die Flüssigkeit vollkommen farblos geworden. Wir säuerten dann mit  $15 \text{ cm}^3$  Phosphorsäure ( $d = 1.75$ ) an und zerstörten den dicken ausgeschiedenen Niederschlag von Braunstein durch Zufügen einiger Tropfen Perhydrol. Die farblose Lösung wurde nun filtriert und zur Vertreibung der meisten Kohlensäure eine Stunde auf dem Wasserbad in einem Rundkolben unter Rückfluß auf  $60^\circ$  erwärmt. Die Flüssigkeit wurde dann in einen  $\frac{1}{2}$ -l-Rundkolben gespült und die bei der Oxydation gebildete Essigsäure unter Verwendung eines Göckel-Siedeaufsatzes zur Vermeidung des Überspritzens von Phosphorsäure unter gewöhnlichem Druck abdestilliert. Die Destillation wurde so lange durchgeführt, bis sich nach mehrmaligem Zusatz von je  $50 \text{ cm}^3$  destilliertem Wasser im ganzen zirka  $500 \text{ cm}^3$  Destillat in der Vorlage gesammelt hatte. Hiebei konnten wir bemerken, daß eine nicht unbedeutende Menge scheinbar durch die Oxydation entstandener wasserdampflicher Produkte mit der Essigsäure mit überdestillierten. Deswegen wurden die gesammelten Destillate in einen 1 l fassenden Meßkolben filtriert. Der Meßkolben wurde bis zur Marke mit destilliertem Wasser aufgefüllt und zur Titration der Essigsäure je  $50 \text{ cm}^3$  Lösung herauspipettiert.

Die Destillation der Essigsäure im kohlenstofffreien Luftstrom war für die Bestimmung nicht notwendig, da die einzelnen Titrationen ohnedies in der Hitze ausgeführt wurden. Als Indikator kam Phenolphthalein zur Verwendung.

Ber. für  $C_{19}H_{22}O_4$  und 3 Methylgruppen in der Seitenkette: 3 Mole Essigsäure.

Gef.: 50  $cm^3$  Lösung (entsprechend 6·020  $mg$  Farbstoff) verbrauchten:

a)	5·46 $cm^3$ 1/100 $n$ -NaOH . . . .	2·86 Mole Essigsäure
b)	5·25 $cm^3$ 1/100 $n$ -NaOH . . . .	2·74 " "
c)	5·66 $cm^3$ 1/100 $n$ -NaOH . . . .	2·96 " "
d)	5·63 $cm^3$ 1/100 $n$ -NaOH . . . .	2·94 " "
e)	5·71 $cm^3$ 1/100 $n$ -NaOH . . . .	2·98 " "
f)	5·49 $cm^3$ 1/100 $n$ -NaOH . . . .	2·97 " "

---