

Über eine katalytische Bildungsreaktion des Resazurins

Von

H. EICHLER

(Eingegangen am 17. 12. 1936. Vorgelegt in der Sitzung am 14. 1. 1937.)

Das Resazurin bildet sich bei verfeinerter Arbeitsweise und Wahl besonderer Reaktionsbedingungen aus wäßrigen oder alkoholischen Resorcinlösungen durch Einwirkung von Schwefelsäure, Manganperoxyd und Nitritlösung in guter Reinheit an Stelle der von mir an anderem Ort¹ beschriebenen Reaktionsprodukte. Da andere Peroxyde, wie Wasserperoxyd, Bleiperoxyd, kein Resazurin bilden, ist erwiesen, daß sowohl der Ringschluß der Resorcin-Nitrit-Reaktionsprodukte zum Oxazin als auch die gleichzeitig verlaufende Sauerstoffanlagerung zum N-Oxyd eine spezifische Wirkung des Mangans darstellt, welche nur in den vielfach katalytischen Verhalten der höheren Manganoxyde begründet ist. Bei höherer Temperatur, bei welcher kein Resazurin gebildet wird, hört die katalytische Wirkung der Manganoxyde auf. Diese spezifische katalytische Wirkung der höheren Manganoxyde bei der Resazurininbildung stellt auch den einzigen Fall dar, wo der Oxazonring bereits bei Zimmertemperatur in wäßriger Lösung geschlossen wird, während dies bei den Darstellungsverfahren der übrigen Chinoxazone (Resorufin) nur durch ein wasserentziehendes Lösungsmittel (konz. Schwefelsäure) bei höherer Temperatur stattfindet. Die katalytische Resazurininbildung ist für die beiden Hydroxylgruppen des Resorcins in *m*-Stellung charakteristisch.

Das Verhalten der Chinoxazone Resazurin (7-Oxy[phenoxazon-2-N-oxyd]) und Resorufin gegenüber Reduktionsmitteln² läßt deren Wirkung in zwei Reduktionsstufen erkennen. Die Reduktion des Resazurins und Resorufins zum Hydroresorufin unter Veränderung der *p*-Chinonimidgruppierung vollziehen nur Hydrosulfite bzw. Sulfoxylate, naszierender Wasserstoff, frisch gefälltes Eisen(2)-oxydhydrat und -carbonat, nicht aber Sulfite, welche nur die erste Reduktionsstufe des Resazurins vollziehen, und zwar die

¹ J. prakt. Chem. **141** (1934) 91.

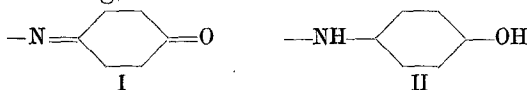
² Siehe H. EICHLER, Z. analyt. Ch. **99** (1934) 270; **96** (1934) 98.

Bildung von Resorufin durch Entfernung des N-Oxyd-Sauerstoffes; die Sulfite lassen die Chinonimidgruppierung des Resorufins unverändert. Auf der Reduktion des durch das katalytische Herstellungsverfahren leicht zugänglichen Resazurins lassen sich bequeme Herstellungsverfahren für Resorufin aufbauen.

Durch Einwirkung von einem Gramm-Mol Nitrosylschwefelsäure oder Alkalinitrit auf eine Lösung von Resorcin in konz. Schwefelsäure erhält man bei Temperaturen unter 50° das von R. NIETZKI, A. DIETZE und F. MAKLER³ als Zwischenstufe der Resorufinbildung angenommene Indophenol des Resorcins, welches die genannten Forscher jedoch nicht darstellten. Der Ringschluß dieses Indophenols erfolgt durch konz. Schwefelsäure bei höherer Temperatur.

Aus den mit dem unbewaffneten Auge wahrnehmbaren Farb- und Fluoreszenztönen der alkalischen Lösungen von Resorufin, Orcirufin (rot mit roter Fluoreszenz), Fluoreszierendem Blau, Tetrachlorresorufin, Resazurin, den Indophenolen des Phenols, Thymols, Resorcins, Kresorcins³ (blau ohne Fluoreszenz), ihren braunen Azofarbstoffen⁴ und den Leukoverbindungen der halogenierten Resorufine, der Indophenole und dem Hydroresorufin (alkalische Lösung farblos) ergaben sich die folgenden Zusammenhänge zwischen Farbe, Fluoreszenz und Konstitution bei den Indophenolen und Chinoxazonen.

1. Der *p*-Chinonimidgruppierung I kommt chromophore und fluorophore Wirkung zu, welche der *p*-Oxymingruppierung II völlig fehlen. Dieselben äußern sich nur in der Ionenform der Alkalisalze, nicht aber in der undissoziierten, negativer gefärbten Form (saure Lösung).



2. Bei den Chinoxazonen ist eine positive oder negative Farbänderung der alkalischen Formen (Alkalisalzlösungen) von einer deutlichen Verminderung, ja Vernichtung der Fluoreszenz begleitet. Eine deutliche positive Farbänderung wird durch Eintritt von Halogenen (auxochrome Substituenten zweiter Ordnung) oder durch koordinative Absättigung des Oxazonstickstoffes bei der N-Oxydbildung (Resazurin) erreicht, eine negative Farbänderung durch Eintritt von Diazoresten und Nitrogruppen

³ H. HENRICH und F. GÖTZ, Ber. dtsch. chem. Ges. 58 (1930) 1058.

⁴ H. EICHLER, J. prakt. Chem. 141 (1934) 91.

(chromophore Gruppen), während Alkyle (chromophore Gruppen 1. Ordnung) Farbe und Fluorescenz unverändert lassen.

3. Chromophore Gruppen (Nitrogruppe, Azoreste) bedingen durch ihren Eintritt in das Resorufin und in das Indophenol des Resorcins (III) eine negative Farbänderung und Vernichtung der Fluorescenz, auxochrome Gruppen zweiter Ordnung (Halogene) eine positive Farbänderung unter Vernichtung der Fluorescenz, während auxochrome Gruppen erster Ordnung (Alkyle) ohne Wirkung bleiben.

4. Der Ringschluß der entsprechenden Indophenole (III) zu den Chinoxazonen und die dadurch bedingte Einlagerung eines heterocyklischen Ringes zwischen die Hydroxyltragenden Benzolkerne bedingt eine negative Farbänderung und das Auftreten bzw. eine wesentliche Verstärkung der Fluorescenz.

Die Fluorescenz kommt nur dem Ion zu, wie aus der Tatsache hervorgeht, daß gefrorene alkalische Lösungen von Resorufin, Orcirufin, Fluorescein nicht fluorescieren, da also im festen Zustande dieser Lösungen eine Ionenbildung unmöglich ist. Eine Ausnahme bildet die von mir⁵ gefundene Lösung von Magdalarot in geschmolzenem Phenolphthalein, welche auch nach dem Erstarren zum festen Aggregat die Fluorescenz des Magdalarotes zeigt; aus diesem im festen Zustande fluorescierenden Körper wird durch Alkohol oder Eisessig Magdalarot, durch Alkalien Phenolphthalein herausgelöst.

Experimenteller Teil.

Resazurin.

Eine Lösung von 1 Gew.-Teil Resorcin und 6 Gew.-Teilen Schwefelsäure (66°Bé) in 130—160 cm^3 Wasser, in welcher 2 Gew.-Teile Manganperoxyd durch Rühren verteilt werden, wird bei 17—32° tropfenweise mit einer Lösung von 0·35 Gew.-Teilen Natriumnitrit oder 0·45 Gew.-Teilen Kaliumnitrit in 20 cm^3 Wasser versetzt. Nachdem der erste zugesetzte Tropfen Nitritlösung die Resazurinbildung eingeleitet hat (erkenntlich an der rein blauen alkalischen und intensiven roten Farbe der sauren Lösung) wird in solchen Zeitabständen, binnen welchen der erste Tropfen Nitritlösung Resazurin bildete, die übrige Nitritlösung tropfenweise zugesetzt. Während der ganzen Reaktion wird die Lösung zwecks Aufschlammung des Manganperoxydes gerührt. Nach

⁵ H. EICHLER, Chem.-Ztg. **60** (1936) 357.

Zusatz der gesamten Nitritlösung wird das gebildete Resazurin mit dem unverbrauchten Manganperoxyd abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Im Filtrat befindet sich die überschüssige Schwefelsäure neben Mangan- und Alkalisulfat und etwas Resazurin. Aus dem Niederschlag wird mit einer Lösung von 1 Gew.-Teil Soda in 300 cm^3 Wasser das Resazurin als Natriumsalz in Lösung genommen und von dem unverbrauchten Manganperoxyd abfiltriert. Das Resazurin wird durch Säuren aus der Lösung seines Natriumsalzes gefällt, filtriert, gewaschen und bei möglichst tiefer Temperatur getrocknet, um eine Zersetzung des Resazurins zu verhindern. Die Resazurinherstellung kann auch in methyl- oder äthylalkoholischer Lösung ausgeführt werden.

Als charakteristische Bildungsbedingungen für Resazurin ergeben sich folgende: Der als primäres Reaktionsprodukt von Resorcin und salpetriger Säure in Wasser oder Alkohol entstehende gelbbraune Farbstoff gibt nur im Entstehungszustande mit Manganperoxyd Resazurin und muß während der Reaktion in Lösung bleiben. Daher werden verdünnte Lösungen mit langsamem Nitritzusatz verwendet. Bereits kolloid ausgeschiedener Resorcinfarbstoff gibt mit Manganperoxyd kein Resazurin mehr. Die Reaktionszeit für Resazurin aus dem ersten Tropfen Nitritlösung ist bei höherer Temperatur kürzer; sie beträgt z. B. bei 18° ungefähr 2 Stunden, bei 32° eine halbe Stunde. Für die vollständige Gewinnung des Resazurins ist dem Zustande Rechnung zu tragen, daß es in alkalischer Lösung schwer lösliche Schwermetallsalze, auch ein schwer lösliches Mangansalz liefert, weshalb der obige Weg eingeschlagen wird.

Auch andere Phenole geben mit Nitriten und Manganperoxyd in schwefelsaurer Lösung farbige Reaktionsprodukte. Phenol gibt bei 15–25° nach ungefähr 20 Stunden eine rote Lösung, welche alkalisch grün ist, durch Natriumhydro-sulfit zu einer gelben, an der Luft unveränderlichen Lösung reduziert wird. Pyrogallol gibt einen in Wasser und Alkalien braun löslichen Stoff, dessen alkalische Lösung dunkelbraune Aluminiumsalze liefert. Phloroglucin und α -Naphthol geben in Alkohol wasserunlösliche Stoffe, welche sich in Alkalien mit brauner bzw. gelber Farbe lösen. Orcin gibt in alkoholischer Lösung ein in Alkalien rot lösliches Reaktionsprodukt, β -Naphthol ein alkaliumlösliches Produkt; Thymol reagiert mit Manganperoxyd, Schwefelsäure und Nitrit nicht.

Resorufin aus Resazurin

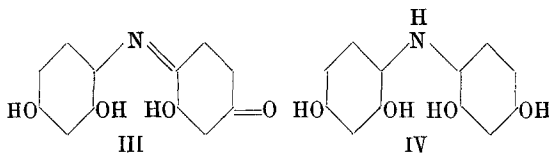
Die sodaalkalische Resazurininlösung wird bei gewöhnlicher Temperatur mit Ferrosulfatlösung bis zur vollständigen Entfärbung versetzt und das gebildete Hydroresorufin an der Luft in Resorufin übergeführt. Nach dem Ansäuern scheidet sich das Resorufin aus, welches man aus der Eisensalzlösung abfiltriert und wäscht. Die Reduktion eines Gramm-Moles Resazurin kann auch in Sodalösung mit 1,1–1,3 Gramm-Molen Natriumbisulfit oder -sulfit bei Siedetemperatur erfolgen, mit Natriumhydro-sulfit bei Zimmertemperatur.

Aus der mit Eisen(2)-salzen oder Natriumhydrosulfit erhaltenen Lösung kann das Hydroresorufin⁶ durch Ansäuern abgeschieden werden.

Indophenol des Resorcins.

1 Gew.-Teil Resorcin wird langsam in eine Nitrosylschwefelsäurelösung, welche man durch Lösen von 0'32 Gew.-Teilen Natriumnitrit oder 0'40 Gew.-Teilen Kaliumnitrit in 9 Gew.-Teilen Schwefelsäure (66°Bé) erhält, bei Zimmertemperatur eingetragen und gelöst, wobei die Temperatur nicht über 50° steigen darf. Nach einer Stunde verdünnt man mit Eiswasser, wäscht, reinigt durch Lösen in Sodalösung und Umfällen mit Salzsäure und trocknet im Vakuum. Man kann auch eine Lösung von 2 Gew.-Teilen Resorcin in 18 Gew.-Teilen konz. Schwefelsäure mit 0'65 Gew.-Teilen Natriumnitrit (0'80 Gew.-Teilen Kaliumnitrit) versetzen. Es tritt zuerst Rot-, dann Blaufärbung ein (Nitrosoresorcin und Indophenol). Die Struktur des Indophenols des Resorcins siehe R. NIETZKI, A. DIETZE und H. MÄKLER⁶ (III).

Das Indophenol des Resorcins löst sich mit blauer Farbe in konz. Schwefelsäure, welche Lösung beim Erwärmen auf ca. 70° Resorufin liefert. Seine intensiv blaue sodaalkalische Lösung zeigt nur eine schwache braune Fluoreszenz, gibt mit Schwermetallsalzen Niederschläge und wird durch Natriumhydrosulfit, Ferrocyanat oder -oxydhydrat, nicht aber durch Sulfite zu einer farblosen Leukoverbindung reduziert, deren alkalische Lösung an der Luft wieder die des ursprünglichen Indophenols liefert. Die Leukoverbindung, wahrscheinlich ein Hydroindophenol (IV), konnte in analysenreinem Zustand nicht erhalten werden, so daß ihre Strukturaufklärung unterbleiben mußte. Das Indophenol des Resorcins gibt unter den gleichen Bedingungen wie Resorufin⁷ dunkelbraune, schwerlösliche Azofarbstoffe. In Ätzalkalien zersetzt sich das Indophenol des Resorcins



Tetrabromresorufin und das ihm entsprechende Tetrachlorresorufin⁸ geben mit Natriumhydrosulfit oder Ferrosulfat in Alkalien Leukoverbindungen, welche leicht in ihre Ausgangsprodukte übergehen und daher nicht analysenrein erhalten werden können. Es dürfte sich wahrscheinlich um Tetrahalogenhydroresorufine handeln.

⁶ Ber. dtsch. chem. Ges. 22 (1889) 3020.

⁷ Z. analyt. Chem. 99 (1934) 348.

⁸ Z. analyt. Chem. 99 (1934) 272.

Das Indophenol des Resorcins, Tetrabromresorufin und Tetrachlorresorufin kann als Säure-Basenindicator verwendet werden (alkalischblau, sauer orange oder braun), am zweckmäßigsten als alkoholische Lösung. Die katalytische Bildung von Resazurin und dessen Reduktion zu Resorufin (mittels Natriumhydrosulfit) erlaubt es, Nitrite, Nitrosylschwefelsäure, Resorcin in Gegenwart von Nitraten spezifisch nachzuweisen. Der Nachweis des Resorcins ist in Gegenwart anderer Phenole leicht infolge seiner Wasserlöslichkeit auszuführen. Die Reaktion zeigt noch 0'02 g NaNO_2 pro Liter an.