

## ÜBER DAS REDOXVERHALTEN DER OMMOCHROME UV/S-SPEKTREN VON 3H-PHENOXAZINONEN-(3) UND PHENOXAZINEN

W. SCHÄFER und I. GEYER

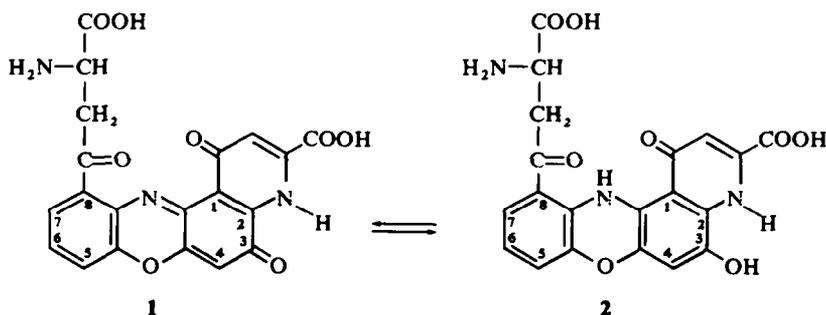
Max-Planck-Institut für Biochemie. München

(Received in Germany 26 May 1972; Received in the UK for publication 22 June 1972)

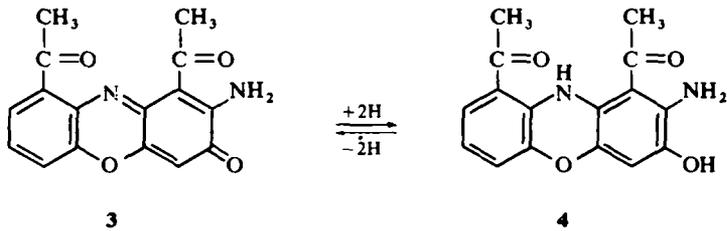
**Zusammenfassung**— Durch eine vergleichende Untersuchung der UV/S-Spektren von substituierten 3H-Phenoxazinonen-(3) und der aus ihnen bei Reduktion gebildeten Phenoxazine wird gezeigt, dass das für die bathochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande der Ommochrome und einiger Phenoxazinone bei Reduktion verantwortliche Strukturelement das 2-Amino/2-Hydroxy-/2-Methoxy-1-acetyl-3H-phenoxazinon-(3) ist.

**Abstract**— A comparative study has been made of UV/V-spectra of substituted 3H-phenoxazin-3-ones and phenoxazines which are obtained on reduction. For the bathochromic shift of the longwave absorption band of the ommochromes and of some phenoxazinones on reduction the 2-amino-/2-hydroxy-/2-methoxy-1-acetyl-3H-phenoxazinon-(3)-structure is necessary.

XANTHOMMATIN(1),<sup>1</sup> ein Vertreter der Ommochrome<sup>2</sup> zeichnet sich durch einen charakteristischen Farbwechsel bei Reduktion aus. Das gelbe Xanthommatin (Phenoxazinonsystem)— $\lambda_{\max}$  440 nm in Phosphatpuffer  $p_H$  7—geht bei Reduktion unter Aufnahme von 2 Reduktionsäquivalenten<sup>3</sup> in das rote Dihydro-xanthommatin 2 (Phenoxazinsystem)— $\lambda_{\max}$  495 nm in Phosphatpuffer  $p_H$  7—über.<sup>4</sup> (2) ist instabil und wird beim Stehen in Pufferlösung schnell zum (1) reoxydiert.



Dieser Farbwechsel ist so charakteristisch für Ommochrome, dass er bei Untersuchungen zur Verbreitung dieser Farbstoffklasse im Tierreich geradezu als Indikator bei der Prüfung auf diese Pigmente diente.<sup>5-7</sup> Bei den Arbeiten zur Konstitutionsermittlung und zur Synthese des Xanthommatins fiel bereits auf, dass 2-Amino-1,8-diacetyl-3H-phenoxazinon-(3) (3) bei Reduktion ebenfalls rot wird.<sup>3</sup>

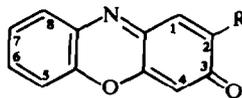


Die Deutung dieses Phänomens ist bis heute unbefriedigend, denn der Übergang vom Phenoxazinonsystem, in dem der Chromophor eben ist, zum Phenoxazinsystem, in dem die beiden C-Kerne durch den pyramidalen Stickstoff gegeneinander gewinkelt sind, vermag die bathochrome Verschiebung der langwelligen Absorptionsbande nicht zu erklären. Die Aktinomycine<sup>8</sup> und viele synthetisch gewonnenen Phenoxazinone verhalten sich normal: die langwellige Absorptionsbande wird bei Reduktion nach kürzeren Wellenlängen verschoben.

Wir haben zum Studium dieser Redox-eigenschaft die Absorptionsspektren substituierter 3H-Phenoxazinone-(3)<sup>9</sup> mit denjenigen analoger 3-Hydroxyphenoxazin-Derivate verglichen. Im ersten Teil dieser Arbeit werden die Absorptionsspektren der Phenoxazinone beschrieben, im zweiten Teil werden Darstellung und UV/S-Spektren der analogen Phenoxazine erläutert. Aus diesen Untersuchungen ergeben sich die strukturellen Voraussetzungen für den ungewöhnlichen Farbwechsel einiger Phenoxazinone und eine Deutung für das Redoxverhalten der Ommochrome.

#### I. Absorptionsspektren substituierter 3H Phenoxazinone-(3)

Die Absorptionsspektren substituierter 3-H-Phenoxazinone-(3) besitzen in der Regel vier Absorptionsbereiche, die um A 225 nm, B 275 nm, C 360 nm und D 450 nm liegen.<sup>1, 10, 11</sup> Der Grundkörper, das 3 H Phenoxazinon-(3) (5, R = H) besitzt drei

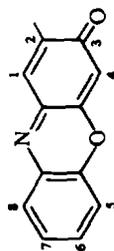


5

Banden,<sup>9</sup> A bei 247 nm, C bei 345–347 nm und die Phenoxazinonbande D bei 442–447 nm [Tab. 2, Nr. 1]\*. Im 2-Hydroxy-3H-phenoxazinon-(3) (5, R = OH) [2/2] sind die Banden C und D des unsubstituierten Heterocyclus zu einer Bande bei 403–404 nm vereinigt, die durch Säure um 5 nm hypsochrom, durch Alkali um 30 nm bathochrom verschoben wird. 2-Amino-3H-phenoxazinon-(3) (5, R = NH<sub>2</sub>) [2/19] besitzt ebenfalls nur eine Bande C + D, die gegenüber der Hydroxyverbindung um 30 nm bathochrom verschoben ist. Wie zu erwarten, wird die Bande durch Alkali nicht beeinflusst. Aus der bathochromen Verschiebung um 30 nm in Säure muss man folgern, dass die Protonierung nicht an der vinylogenen Säureamidgruppe, sondern am Heterocyclus erfolgt. Bei der Acetylierung des 2-Hydroxy-3H-phenoxazinons-(3)

\* Tab. X. Nr. Y sei abgekürzt X/Y

TABELLE 1. UV/S-SPEKTREN VON 2-ÄTHOXYCARBONYLOXY-, 2-ACETOXY- UND 2-CHLOR-3H-PHENOXAZINONEN-(3)



Nr.	Lsm	A	B	C	D
2-Äthoxycarbonyloxy ...					
3H-phenoxazinon-(3)					
1	A	214/4-49	247/4-22	368/4-14	460/4-05
2	A	[216/4-50]	248/4-17	390/4-16	457/3-99
3	A	215/4-53	247/4-18	377/4-13	457/4-12
4	A	215/4-52	256/4-27	350/4-16	459/3-98
5	A		247/4-39	355/4-27	456/4-12
6	A	218/4-42	[247/4-31]	355/4-09	440/4-05
7	A	218/4-49	[242/4-26]	357/4-12	445/4-04
8	A		258/4-35 [285/4-23]	[350/4-02] 406/4-23	[460/4-00]
9	A		256/4-33 [270/4-29]	393/4-25	465/4-25
10	A	210/4-51	250/4-20	364/4-15	460/4-14
11	A	214/4-50	256/4-24	360/4-17	470/4-08
12	A	214/4-51	258/4-31	350/4-18	460/4-00
13	A	255/4-31	[274/3-88]	358/4-23	456/4-01
14	A		246/4-15 [272/3-78]	360/3-99	450/3-84
2-Acetoxy-... 3H-					
phenoxazinon-(3)					
15	M		245/4-18	358/4-24	442-43/4-05 <sup>10</sup>
16	A		[250/4-41]	366/4-13	450/3-93
17	A	213/4-50	248/4-23	363/4-17	460/4-07
18	A	214/4-50	250/4-22	375/4-14	460/4-05
2-Chlor ... 3H-					
phenoxazinon-(3)					
19	A	216/4-48	250/4-20	366/4-22	460/4-02
20	A	224/4-43	251/4-28	360/4-24	460/4-00
21	A	215/4-51	255/4-22	366/4-19	480/4-00
22	A	219/4-53	253/4-23	378/4-23	475/4-05
23	A		243/4-48	368/3-95	452/4-20

2-nbenzultizin-1,8-dioxy-3H-phenoxazinon-(3)





(→ 5, R = OCOCH<sub>3</sub>) erhält man das Spektrum des Grundgerüsts zurück. Beim 2-Acetamino-3H-phenoxazinon-(3) (5, R = NHCOCH<sub>3</sub>) beobachtet man dagegen eine, gegenüber dem Grundgerüst um 40–45 nm hypsochrom verschobene, Bande bei 400 nm.<sup>10</sup> Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen UV/S-Spektren substituierter 3H-Phenoxazinone-(3) sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt und seien im folgenden gemeinsam diskutiert.

**Bande A.** Bei der Einführung einer Acetyl- oder Carbomethoxygruppe an C-1 des 3H-Phenoxazinonsystems, das an C-2 OH—, NH<sub>2</sub>—, Cl—, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OCO<sub>2</sub>— oder CH<sub>3</sub>OCO-Reste trägt, bleibt die Bande A in ihrer Lage und Intensität, verglichen mit der Bande A des 2-Hydroxy-3H-phenoxazinons-(3) bei 229 nm [2/2] relativ stabil: sie

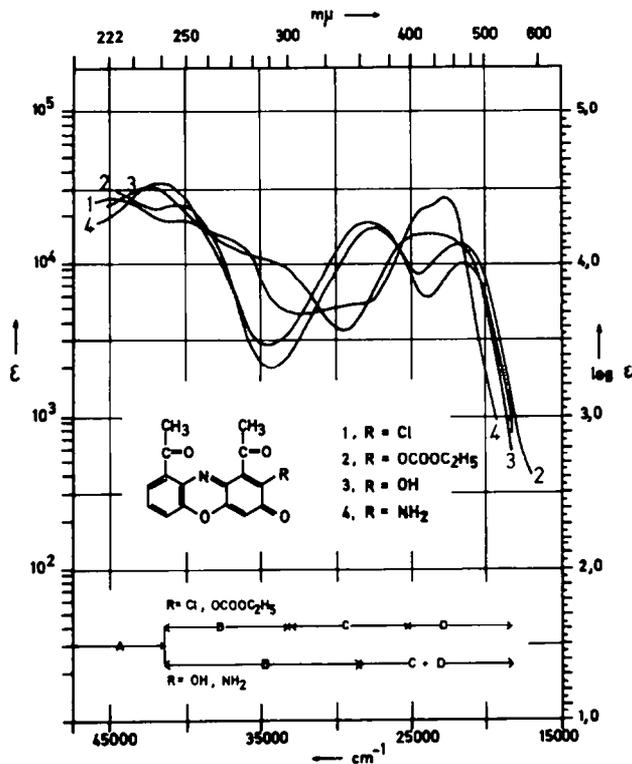


ABB 1. UV/S-Spektren von 2-Chlor-, 2-Äthoxycarbonyloxy-, 2-Hydroxy- und 2-Amino-1.8-diacetyl-3H-phenoxazinon-(3) in Äthanol.

liegt im Bereich zwischen 209 und 240 nm und wird in 5 N Salzsäure ohne erkennbare Regel um 2–3 nm, in Extremfällen um 8 nm, hypsochrom, oder bathochrom verschoben. Man erkennt, dass die Banden der 2-Hydroxy-3H-phenoxazinone-(3) [2/3–2/18] bei ca 224 nm in der Mitte des Bereichs liegen, während die Bande A der 2-Amino-3H-phenoxazinone-(3) [2/20–2/21, 2/25–2/28] um ca 10 nm bathochrom, diejenige der 2-Chlor-, 2-Acetoxy- und 2-Äthoxycarbonyloxy-3H-phenoxazinone-(3) [1/1–1/22] um ca 10 nm hypsochrom verschoben sind. Dieses Verhalten ist normal und an

aromatischen Systemen bekannt. Soweit die vorliegenden Messungen zeigen, wird die Regel bei 1,5-, 1,6- und 1,8-Diacetyl-3H-phenoxazinonen-(3) bestätigt. Bei den substituierten 2-Hydroxy-3H-phenoxazinonen-(3) (Tab. 2 Nr. 1–18) ist bemerkenswert, dass die Bande A gegenüber dem Grundkörper 5 (R = OH) bis zu 20 nm hypsochrom z.B. [2/11] verschoben sein kann.

**Bande B** Als Bande B bezeichnen wir die Folge der wenig charakteristischen Banden und Inflexionen, die zwischen der Bande A und dem Minimum vor der Bandengruppe C + D liegen. Dieses Minimum liegt bei den 2-Äthoxycarbonyloxy-, 2-Acetoxy- und 2-Chlor-3H-phenoxazinonen-(3) sehr konstant im Bereich um 290 nm ( $\log \epsilon$  3.4–3.6). Die Maxima oder Schultern sind dem absteigenden Ast der Bande A aufgesetzt und stammen von einer Absorptionsbande, deren Maximum im Bereich um 250 nm liegt.

Die 2-Hydroxy und 2-Amino-3H-phenoxazinonen-(3) zeigen einen wellenförmigen Abfall der Intensität vom Maximum der Bande A zum Minimum vor der Bande C + D, das hier im Bereich 320–350 nm ( $\log \epsilon$  3.4–3.6) liegt. Man beobachtet bei den verschiedenen substituierten Vertretern bis zu drei Inflexionen oder Maxima, die bei Zusatz von Säure in ihrer Lage wenig verändert werden.

**Banden C + D.** (a) Bei den an C-5 bis C-8 substituierten 2-Chlor-2-Acetoxy- und 2-Äthoxycarbonyloxy-1-acetyl/carbomethoxy-3H-phenoxazinonen-(3) [1/1–1/23] sind die Banden C und D gut ausgeprägt und für das System charakteristisch. Bande C liegt im Bereich um 370 nm, D um 460 nm, beide mit einer Extinktion von 10–15,000. Die Substitution des Phenoxazinonsystems an C-5 und C-8 mit Acetyl-, Carbomethoxy- und  $\gamma$ -Oxobutenylgruppen bewirkt bei Bande C, verglichen mit der im aromatischen Kern unsubstituierten Verbindung [1/1] eine hypsochrome Verschiebung bis zu 18 nm [1/5–1/8]. Hingegen führt die Einführung einer  $\gamma$ -Oxobutenylgruppe an C-6 zu einer bathochromen Verschiebung um 25 nm [1/9].

Die Wirkung der antiauxochromen Gruppen Acetyl-, Carbomethoxy- und  $\gamma$ -Oxobutenyl- führt auch bei der Phenoxazinonbande D bei den 2-Äthoxycarbonyloxy-3H-phenoxazinonen-(3), verglichen mit dem Grundkörper [1/1] zu einer hypsochromen Verschiebung von 3–15 nm. Ausnahme ist auch hier die 1-Acetyl-6-( $\gamma$ -oxobutenyl)-verbindung [1/9], deren Bande D um 5 nm bathochrom verschoben ist.

(b) Bei der Betrachtung der Banden C und D der 2-Hydroxy- und 2-Amino-3H-phenoxazinonen-(3)-spektren muss zwischen 1-Acetyl- und 1-Carbomethoxy-phenoxazinonen unterschieden werden. Bei den 2-Hydroxy- und 2-Amino-1-acetyl-3H-phenoxazinonen werden beide Banden zu einer intensiven, breiten Bande vereinigt, deren Maximum in Äthanol 410–448 nm liegt. An der Struktur der Bande erkennt man deutlich, dass die Überlagerung der Banden C und D dadurch zustande kommt, dass die Bande C durch die chromophoren Gruppen stärker bathochrom verschoben wird als die Bande D. Der verbreiterte Bandenfuss ist eine zusätzliche Bestätigung für die Überlappung. Schliesslich beobachtet man bei den 2-Amino-3H-phenoxazinonen-(3) häufig Doppelmaxima [2/21] oder besonders in 5 N Äthanol. Salzsäure, am abfallenden Ast der Phenoxazinonbande Inflexionen und aufgesetzte Maxima [2/20, 2/23–2/25], die die Verschiebung der Bande D andeuten. In Abbildung 1 sind die Verhältnisse am Beispiel des 2-Chlor-, 2-Äthoxycarbonyloxy-, 2-Hydroxy- und 2-Amino-1,8-diacetyl-3H-phenoxazinons-(3) verdeutlicht.

Bei den 2-Hydroxy-1-acetyl-3H-phenoxazinonen-(3) ist der Einfluss weiterer Substituenten von ihrer Stellung abhängig: eine Acetylgruppe an C-5 und C-8

bewirkt gegenüber dem 2-Hydroxy-1-acetyl-3*H*-phenoxazinon-(3) [2/4] eine hypsochrome Verschiebung von 10 bzw. 11 nm, während die Acetylgruppe an C-6 ohne Einfluss ist. Die  $\gamma$ -Oxobutenylgruppe führt zu einer bathochromen Verschiebung von 4 nm an C-8 und von 21 nm an C-6. Bei den substituierten 2-Amino-1-acetyl-3*H*-phenoxazinonen-(3) bleibt die Bande C + D in ihrer Lage nahezu konstant; sie kann in zwei nahe beieinander liegende Banden gleicher Intensität aufgespalten werden.

In 5*N*-HCl ist die Bande C + D bei 2-Hydroxy- und 2-Amino-Verbindungen bathochrom verschoben; die Grösse der Verschiebung schwankt zwischen 3 und 40 nm und ist stark von Art und Stellung des zum Chromophor beitragenden Substituenten abhängig. Wie beim Grundkörper<sup>9</sup> [2/2] hat man eine Protonierung des Phenoxazinonsystems selbst anzunehmen.

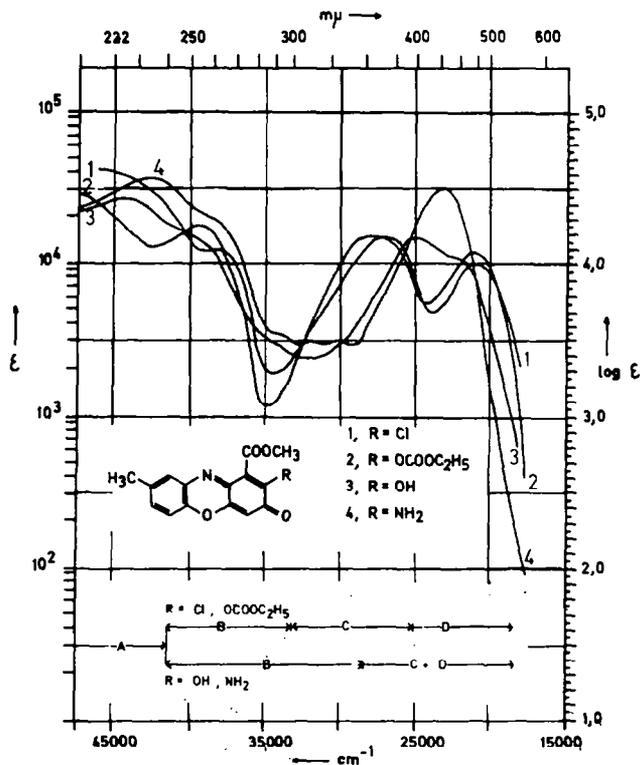


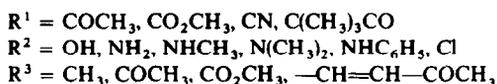
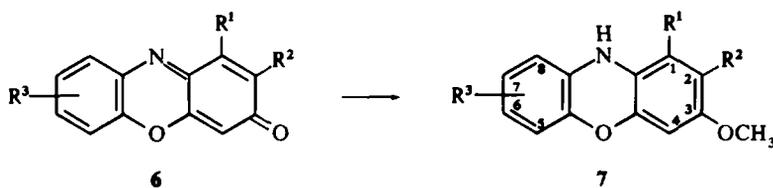
ABB 2. UV/S-Spektren von 2-Chlor-, 2-Äthoxy-carbonyloxy-, 2-Hydroxy- und 2-Amino-7-methyl-3-carbomethoxy-3*H*-phenoxazinonen-(3) in Äthanol.

Die Spektren der 2-Hydroxy/Amino-1-carbomethoxy-3*H*-phenoxazinone-(3) zeigen ebenfalls deutlich die Überlagerung der Banden C und D. Man beobachtet in der Regel eine Bande hoher Intensität, die bei den 2-Hydroxy-Verbindungen im Bereich 393–408 nm liegt [2/12–2/18]. An ihrem langwelligen Intensitätsabfall ist die Phenoxazonbande als Inflexion bei 440–450 nm zu erkennen. In Säure beobachtet

man stets eine Bande bei 438–475 nm. 2-Amino-1-carbomethoxy-3H-phenoxazinonen-(3) [2/25–2/29] ist die Bande C + D im Bereich um 435 nm in Äthanol wieder deutlich ausgeprägt.

## II Reduktion von 3H-phenoxazinonen-(3) zu 3-Hydroxyphenoxazin-Derivaten

Die bei der Reduktion von 3H-Phenoxazinonen-(3) entstehenden 3-Hydroxyphenoxazine sind instabil und werden in saurer, neutraler und alkalischer Lösung schnell zu den 3H-Phenoxazinonen-(3) reoxydiert. Um für den spektroskopischen Vergleich der beiden chromophoren Systeme sichere Ergebnisse zu erhalten, wurde ein Teil der früher beschriebenen 2-Hydroxy-<sup>11</sup> und 2-Amino-3H-phenoxazinone-(3)<sup>12</sup> mit Natriumdithionit und Dimethylsulfat in Aceton-Wasser reduzierend methyliert:

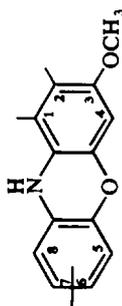


Dabei entstehen aus den 2-Hydroxy-3H-phenoxazinonen-(3) 2,3-Dimethoxyphenoxazine, aus den 2-Chlor-3H-phenoxazinonen-(3) 2-Chlor-3-methoxyphenoxazine und aus den 2-Amino-3H-phenoxazinonen-(3) 2-Amino-, 2-Methylamino- und 2-Dimethylamino-3-methoxyphenoxazine, die chromatographisch getrennt werden. Die dargestellten Verbindungen sind im experimentellen Teil (Tabelle 5) zusammengestellt, ihre UV/S-Spektren in Tabelle 3 eingetragen. Da jedoch durch die Methylierung der Substituenten an C-2 des Phenoxazinsystems, die vielleicht für den Farbwechsel bei Reduktion erforderliche Fähigkeit der Wechselwirkung (z.B. Wasserstoffbrückenbindung) mit dem Substituenten an C-1 ( $\text{COCH}_3$ ,  $\text{CO}_2\text{CH}_3$ ) verloren geht, wurden die langwelligen Absorptionsbanden der nicht geschützten Phenoxazine ermittelt, indem man die Phenoxazine in alkalischer Natriumdithionitlösung reduzierte, von der Reaktionsmischung schnell das Absorptionsspektrum oberhalb 350 nm registrierte, dann in der Küvette ansäuerte und das Spektrum der freien Hydroxyphenoxazine ermittelte. In Tabelle 4 sind die für die Deutung des Redoxfarbwechsels wichtigen langwelligen Absorptionsmaxima der 3H-Phenoxazinone-(3) mit denjenigen der entsprechenden 3-Hydroxyphenoxazin-Derivate verglichen. Dabei sind die Extinktionswerte der Dithionitredaktionen (Lösung B und C) ungenau: die leichte Reoxydation und die Instabilität der 3H-Phenoxazinone-(3) im alkalischen Milieu<sup>13</sup> machen verständlich, dass die Extinktionswerte der Phenolate (Lösung B) und der Phenole (Lösung C) stets geringer sind als diejenigen der entsprechenden Phenoläther.

Tabelle 4 lehrt im Hinblick auf eine Deutung für die Änderung des Absorptionsspektrums einiger Phenoxazine und der Ommochrome bei Reduktion folgendes:

(1) Die langwellige Absorptionsbande aller 2-Amino- und 2-Hydroxy-1-acetylphenoxazinone-(3) werden bei Reduktion bathochrom verschoben [4/1–4/7, 4/9–

TABELLE 3. UV/S-SPEKTREN VON SUBSTITUIERTEN 3-METHOXY-PHENOXAZINEN IN ÄTHANOL

 $(\lambda_{\max} \text{ log } \epsilon)$ 

Nr.	1-Acetyl- . . . . . 3-methoxy-phenoxazin						
1	-2-methoxy-	210/4.52	252/3.84	315/3.66			442/3.76
2	-2-methoxy-8-acetyl-	220/4.72	254/4.29				450/4.00
3	-2-amino-8-acetyl-	222/4.64	[260/4.17]			[435/3.78]	477/3.94
4	-2-methylamino-8-acetyl-	234/4.62	[280/3.80]	[315/3.42]		[430/3.87]	461/3.98
5	-2-dimethylamino-8-acetyl-		[250/4.16]	323/3.35		[408/3.77]	443/3.95
6	-2-chlor-8-acetyl-	222/4.73	[258/4.10]	[320/3.25]			432/3.97
7	-2-methoxy-8- $\gamma$ -oxobutenyl-	230/4.63	275/4.16				460/3.94
8	-2-methoxy-6- $\gamma$ -oxobutenyl-		[260/4.22]	288/4.33			458/4.26
9	-2-methoxy-8-carboxymethyl-		[244/4.23]				434/3.93
10	-2-dimethylamino-10-methyl-6-acetyl-		258/4.34	[275/4.34]		[335/3.72]	390/4.07
11	-2-N-phenyl-8-acetyl-	218/4.70	247/4.47				458/4.02
12	-2-N-[p-methoxy-phenyl]-8-acetyl-	220/4.70	250/4.48	[290/4.09]			462/4.01
13	-1-Cyano-2,3-dimethoxy-phenoxazin	228/4.48		314/3.66			394/3.87
14	-1-tert-Butyl-2,3-dimethoxy-phenoxazin		234/4.45	316/3.84		[400/2.78]	
15	-1-Carbomethoxy- . . . . . 3-methoxy-phenoxazin						
16	-2-methoxy-					322/3.68	397/3.67
17	-2-methoxy-7-methyl-	215/4.49	[250/3.68]			320/3.70	400/3.80
18	-2-methoxy-6-acetyl-	218/4.52	250/4.25	262/4.25			406/4.10
18	-2-methoxy-5-acetyl-	215/4.53	[255/4.22]				391/3.65

[ ] = Inflexion

4/10]. Damit verbunden ist die Abnahme der Extinktion. Die Grösse der Verschiebung ist von der Substitution im aromatischen Kern und von der Substitution an C-2 des Phenoxazinonsystems abhängig: Die Verschiebung beträgt beim Übergang vom 2-Hydroxy-1-acetyl-3H-phenoxazinon-(3) zum 2,3-Dimethoxy-1-acetylphenoxazin 21 nm [4/1]. Ein das chromophore System beeinflussender Substituent im aromatischen Kern des Phenoxazinongerüsts ist demnach für die bathochrome Verschiebung nicht erforderlich; er verstärkt gegebenenfalls den Effekt. So bewirken beim Übergang Phenoxazinon  $\rightarrow$  Phenoxazin [4/2] eine Acetylgruppe oder eine  $\gamma$ -Oxobutenylgruppe an C-8 [4/5] eine grössere Verschiebung als die analogen Substituenten an C-6 [4/6]. Eine Aminogruppe an C-2 des Phenoxazinons bewirkt bei Reduktion zum Phenoxazin eine um 10 nm stärkere bathochrome Verschiebung als die Hydroxylgruppe [4/2-4/3]. Xanthommatin 1 besitzt an der C-1 entsprechenden Stelle seines Pyridino-3H-phenoxazinon-(3)-skeletts ebenfalls eine Carbonylgruppe und an der C-2 entsprechenden Stelle eine sekundäre Aminogruppe; beide Gruppen entstehen hier durch die Tautomerie der 4-Hydroxypyridinstruktur.

(2) Die langwellige Absorptionsbande der 2-Hydroxy-3H-phenoxazinon-(3) die an C-1 eine Carbomethoxy-, Cyano- oder t-Butylcarbonylgruppe tragen, werden bei der reduktiven Methylierung um *ca* 40 nm hypsochrom verschoben [4/11-4/15].

(3) Wird, wie am Beispiel des 2-Amino-1,6-diacetyl-3H-phenoxazinons-(3) gezeigt

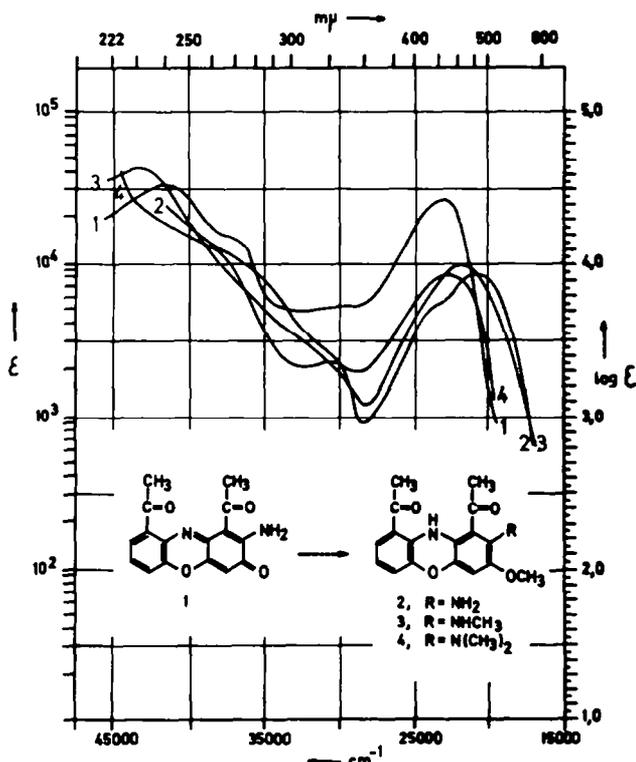
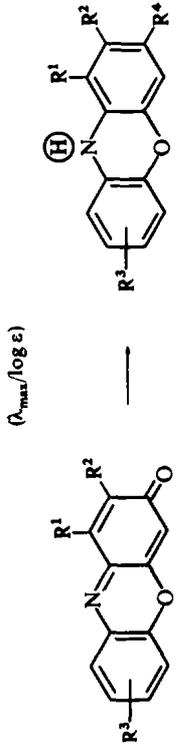


ABB 3. UV/S-Spektren von 2-Amino-1,8-diacetyl-3H-phenoxazinon-(3), 2-Amino-, 2-Methylamino- und 2-Dimethylamino-3-methoxy-1,8-diacetyl-phenoxazine in Äthanol.

TABELLE 4. LANGWELIGE ABSORPTIONSMAXIMA VON 2-HYDROXY-, 2-AMINO- UND 2-CHLOR-3H-PHENOXAZINONEN-(3) UND IHRER REDUKTIONSPRODUKTE



R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	Lsgm.	3H-phenoxazinon-(3)	Phenoxazin
1	COCH <sub>3</sub> OH → OCH <sub>3</sub> OH → O <sup>-</sup>	H	OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup>	A B*	421/419	442/3-76 480/3-56
2	COCH <sub>3</sub> OH → OH OH → OCH <sub>3</sub> OH → O <sup>-</sup>	8-COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup>	C* A B	411/422	453/3-55 450/4-00 514/3-74
3	COCH <sub>3</sub> OH → OH NH <sub>2</sub> → NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> → NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> → NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> NH <sub>2</sub> → NHCH <sub>3</sub> NH <sub>2</sub> → N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup>	C A B C	430/442	474/3-74 477/3-94 520/3-53 454/3-70
4	COCH <sub>3</sub> Cl → Cl Cl → Cl Cl → Cl	8-COCH <sub>3</sub>	OH OCH <sub>3</sub> OCH <sub>3</sub> OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup>	C A A A B	460/400	461/3-98 443/3-95 432/3-97 473/3-94
5	COCH <sub>3</sub> OH → OCH <sub>3</sub> OH → O <sup>-</sup> OH → OH	8-CH=CH-COCH <sub>3</sub>	OH OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup> OH	C A B C	425/422	441/3-85 460/3-94 510/3-50 475/3-70

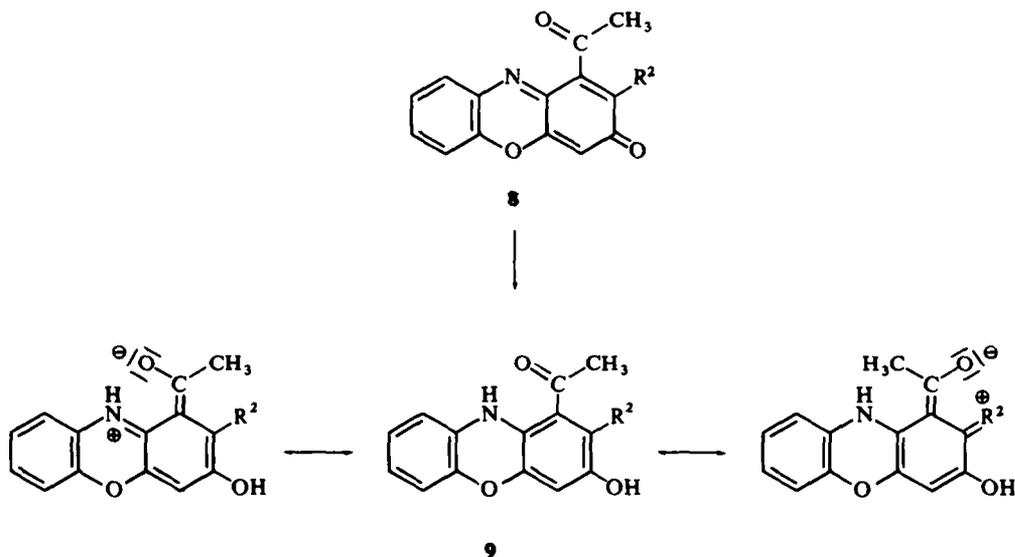
6	COCH <sub>3</sub>	OH → OCH <sub>3</sub> OH → O <sup>-</sup>	6-CH=CH-COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup>	A B	442/4-29 [466/4-25]	458/4-26 524/3-92
7	COCH <sub>3</sub>	OH → OH OH → OCH <sub>3</sub> OH → O	8-COOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub> O <sup>-</sup>	A B	450/3-68	476/3-95 434/3-93 484/3-49
8	COCH <sub>3</sub>	OH → OH NH <sub>2</sub> → N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	6-COCH <sub>3</sub> *	OH OCH <sub>3</sub>	C A	423/4-51 443/4-51	450/3-52 390/4-07
9	COCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub> → NH <sub>2</sub>		O <sup>-</sup>	B		480/3-73
10	COCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub> → NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>		OH	C		400/3-76
11	CN	NH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> → NH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	A	442/4-39	458/4-02
12	C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> -CO	NH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -POCH <sub>3</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	A	462/4-01	441/4-33 [525/3-82]
13	COOCH <sub>3</sub>	OH → OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	A	406/4-33	394/3-87
		OH → OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	A	398/4-36	316/3-84 [400/2-78]
		OH → O <sup>-</sup>	H	OCH <sub>3</sub>	A	[450/4-12]	397/3-67
		OH → OH	H	O <sup>-</sup>	B		428/3-70
		OH → OCH <sub>3</sub>	H	OH	C		426/3-70
14	COOCH <sub>3</sub>	OH → O <sup>-</sup>	6-COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	A	[450/4-10]	406/4-10
		OH → OH		O <sup>-</sup>	B		462/4-01
		OH → OCH <sub>3</sub>		OH	C		445/3-97
15	COOCH <sub>3</sub>	OH → OCH <sub>3</sub>	7-CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	A	[440/4-11]	400/3-80
		OH → O <sup>-</sup>		O <sup>-</sup>	B		427/3-68
		OH → OH		OH	C		430/3-67

\* A = Äthanol, B = 2.6 mg Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 3.9 mg K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/ml Wasser-Aceton 1:1, C = Lösung A mit 2 Tropfen N HCl angesäuert, [ ] = Inflexion.  
 † Der Phenoxazinstickstoff ist mit Methyl substituiert.

ist [4/8], im Zuge der reduktiven Methylierung der Phenoxazonstickstoff methyliert, so wird die langwellige Absorptionsbande hypsochrom verschoben.

Die Abb 3 und 4 zeigen zur Erläuterung die UV/S-Spektren der 2-Amino-1,8-diacetyl- und 2-Amino-1,6-diacetyl-3*H*-phenoxazinone-(3) und ihrer Reduktionsprodukte in Äthanol.

Die Abb 3 und 4 zeigen zur Erläuterung die UV/S-Spektren der 2-Amino-1,8-der Phenoxazinonbande D bei Reduktion:



In den bei Reduktion von 2-Hydroxy-/2-Amino-1-acetyl-3*H*-phenoxazinonen-(3) entstehenden 1-Acetyl-phenoxazinen besitzen die dipolaren Strukturen, sofern sie nicht die tatsächlichen Strukturen sind, einen hohen Anteil am Grundzustand. 1-Acetyl-phenoxazine sind mit den von *Dähne* und Mitarbeitern<sup>12</sup> beschriebenen Quadrupolmerocyaninen zu vergleichen. Wir fanden, dass auch im 2,5-Bisdimethylamino-3-acetyl-benzochinon-(1,4) die Acetylgruppe vollständig in die Resonanz des Merocyanins einbezogen ist.<sup>13</sup> Die Resonanz zwischen den dipolaren Grenzstrukturen ermöglicht die Einebnung des Ringsystems. Damit wäre eine Lage des Absorptionsmaximums ähnlich derjenigen der Phenoxazinonbande D verständlich. Darüber hinaus liegt bei den 2-Hydroxy- bzw. 2-Methoxy-1-acetyl-phenoxazinen ein Resonanzsystem zwischen den auxochromen Gruppen —NH—, OH, OCH<sub>3</sub> und der antiauxochromen Acetylcarbonylgruppe vor. Bei den 2-Amino-, 2-Methylamino- und 2-Dimethylamino-1-acetyl-phenoxazinen fungieren eine sekundäre Arylamino- und eine primäre, sekundäre oder tertiäre Alkylamino-Gruppe als Auxochrome.

Diese zusätzliche Resonanz in den Phenoxazinen erklärt somit qualitativ die bathochrome Verschiebung der Phenoxazinonbande bei Reduktion. Eine vergleichbare Resonanz zwischen dem Phenoxazinonstickstoff oder der vinylogenen Säureamidgruppe an C-2 des Phenoxazinonsystems und der Acetylgruppe ist nicht möglich.

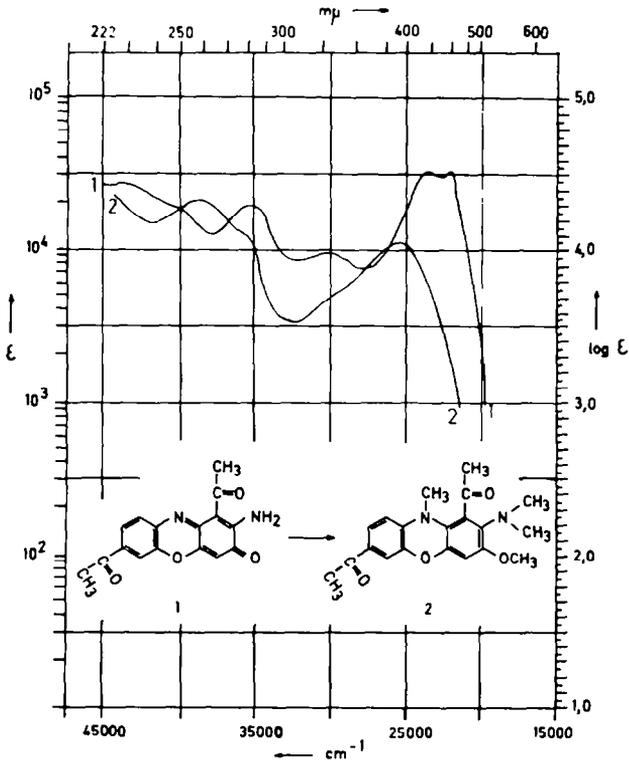


ABB 4. UV/S-Spektren von 2-Amino-1.6-diacetyl-3H-phenoxazinon-(3) und 2-Dimethylamino-10N-methyl-3-methoxy-1.6-diacetylphenoxazin in Äthanol.

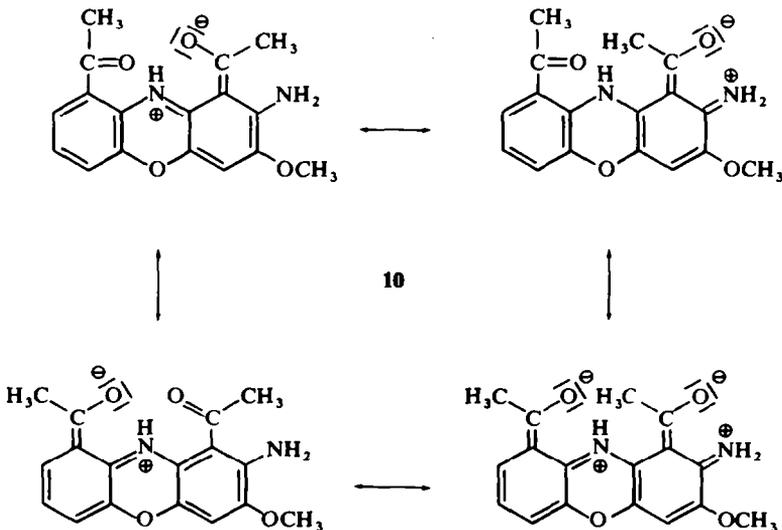
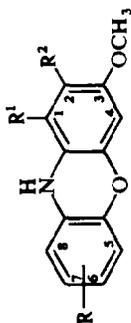


TABELLE 5. SUBSTITUIERTE 3-METHOXY-PHENOXAZINE

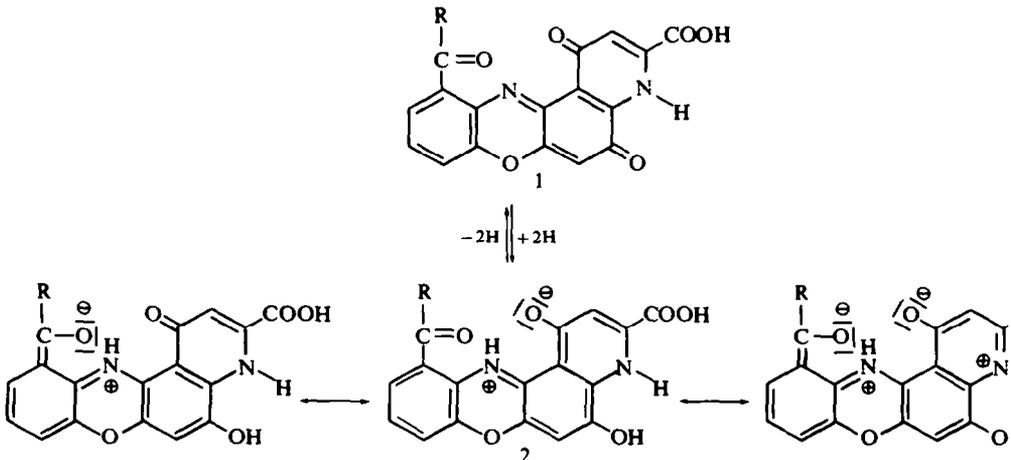
Nr	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Fp	Summenformel MG	C	H	N	Analyse C H N Cl
1	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	74	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub> (285.3)	67.36	5.30	4.91	
2	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	155	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> (327.3)	66.05	5.24	4.28	
3	COCH <sub>3</sub>	NH <sub>2</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	116	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (312.2)	65.38	5.16	8.97	
4	COCH <sub>3</sub>	NHCH <sub>3</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	139	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (326.3)	66.24	5.56	8.59	
5	COCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	138	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (340.4)	67.04	5.92	8.23	
6	COCH <sub>3</sub>	Cl	8-COCH <sub>3</sub>	181	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>4</sub> Cl (331.7)	61.54	4.24	4.22	10.69
7	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	8-CH=CH-COCH <sub>3</sub>	157	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub> (353.4)	67.98	5.42	3.96	10.84



8	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6-CH=CH-COCH <sub>3</sub>	123	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>5</sub> (353-4)	67-98	5-42	3-96
9	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	8-COOCH <sub>3</sub>	131	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub> (343-3)	68-22	5-24	3-84
10	COCH <sub>3</sub>	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	6-COCH <sub>3</sub> *	171	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (354-4)	62-97	4-99	4-08
11	COCH <sub>3</sub>	NH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	224	C <sub>23</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> (388-4)	62-37	5-22	3-83
12	COCH <sub>3</sub>	NH-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -pOCH <sub>3</sub>	8-COCH <sub>3</sub>	208	C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (418-4)	67-77	6-26	7-91
13	CN	OCH <sub>3</sub>	H	178	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (268-3)	67-60	6-21	7-71
14	COOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	115	C <sub>16</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub> (301-3)	71-12	5-19	7-21
15	COOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	7-CH <sub>3</sub>	127	C <sub>17</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>5</sub> (315-3)	71-23	5-10	7-12
16	COOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	6-COCH <sub>3</sub>	123	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub> (343-3)	68-89	5-30	6-70
17	COOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5-COCH <sub>3</sub>	91	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>6</sub> (343-3)	69-08	5-35	6-82
						67-15	4-51	10-44
						67-12	4-49	10-42
						63-78	5-02	4-65
						63-53	4-87	4-71
						64-75	5-43	4-44
						64-51	5-41	4-53
						62-97	4-99	4-08
						63-10	5-03	3-95
						62-97	4-99	4-08
						62-97	5-08	3-97

\* Zusätzlich Methyl am Phenoxazinstickstoff.

In Übereinstimmung mit dieser Annahme beträgt die bathochrome Verschiebung beim 2-Amino-3-methoxy-1,8-diacetyl-phenoxazin (10) gegenüber dem 2-Amino-1,8-diacetyl-3*H*-phenoxazinon-(3) 47 nm [4/3]. Sie ist hier besonders gross, weil die Acetylgruppe an C-8 zusätzlich zur dipolaren Struktur beitragen kann. In 2-Methylamino- und 2-Dimethylamino-3-methoxy-1,8-diacetylphenoxazin beträgt die bathochrome Verschiebung nur 31 bzw. 13 nm [4/3]. Bei Studien an Stuart-Briegleb-Kalotten erkennt man, dass die Methylamino- und die Dimethylaminogruppe die Acetylgruppe an C-4 in steigendem Masse aus der Resonanzebene des Chromophors herausdrängen. Wird die Einebnung des Phenoxazinsystems durch die Methylierung am Phenoxazinstickstoff, ebenfalls aus sterischen Gründen, verhindert, so beobachtet man, wie oben gezeigt, eine hypsochrome Verschiebung. Die Deutung des Redoxfarbwechsels als Wirkung einer zusätzlichen Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Phenoxazinstickstoff und der Acetylgruppe halten wir für ungenügend. Eine Wasserstoffbrückenbindung ist bereits in den 2-Amino- und den 2-Hydroxy-1-acetyl-carbomethoxy-3*H*-phenoxazinonen-(3) vorhanden. Die in den 2-Amino- und 2-Hydroxy-phenoxazinen hinzukommende H-Brücke zwischen dem Phenoxazinstickstoff und der CO-Gruppe müsste quantitativ die gleiche Wirkung haben, wie der oben beschriebene aus der Dipolstruktur folgende Resonanzeffekt und die Einebnung des Ringsystems zusammen. Eine H-Brücke sollte zu einer Ester- oder Amidcarbonylgruppe ebenfalls möglich sein; würde die bathochrome Verschiebung durch sie alleine hervorgerufen, wäre zwischen den 1-Acetyl-, 1-Carbomethoxy- und den 1-Carbonamido-phenoxazinen nur ein quantitativer Unterschied der Verschiebung zu erwarten. Tatsächlich zeigen die 2-Amino/Hydroxy-1-carbomethoxy-3*H*-phenoxazinone-(3) [4/13-4/15] wie die Actinomycine als 1,8-Dicarbonamido-3*H*-phenoxazinone-(3) bei Reduktion eine hypsochrome Verschiebung der langwellige Absorptionsbande. Es ist verständlich, dass die Ester- und Amidgruppe wegen ihrer inneren Resonanz zur Ausbildung einer dipolaren Struktur weniger befähigt sind als eine Alkylcarbonylgruppe. In Übereinstimmung mit dieser Annahme fanden wir, dass im 2,5-Bis-dimethylamino-3-carbomethoxy-benzochinon-(1,4), im Gegensatz zum entsprechenden 3-Acetylbenzochinon (sh. oben) die Estergruppe nicht in die Resonanz des Quadrupolmerocyanins einbezogen ist.<sup>13</sup> Die Cyangruppe ist zu



Ausbildung eines Dipols ungeeignet und die t-Butylcarbonylgruppe ist aus sterischen Gründen aus der Ebene des Resonanzsystems herausgedreht, so dass weder eine H-Brückenbindung, noch eine Resonanz möglich ist. Entsprechend der Erwartung wird in diesen Fällen die Phenoxazinonbande D bei Reduktion der entsprechenden 3H-Phenoxazinone-(3) hypsochrom verschoben [4/11–4/12]. Diese Überlegungen schliessen nicht aus, dass die Wasserstoffbrückenbindung die Verschiebung quantitativ beeinflusst, wie das für Indigo beschrieben wurde.<sup>14</sup>

Nachfolgende Untersuchungen werden die weitere Reduzierung des chromophoren Systems zeigen und über die Bindung des Phenoxazinwasserstoffs zwischen dem Stickstoff und der Acetylcarbonylgruppe Auskunft geben.

Das Redoxsystem Xanthommatin—Dihydroxanthommatin sollte im Sinne 1 → 2 formuliert werden.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

Die Mikroanalysen wurden ausgeführt von I. Beetz, Mikroanalytisches Laboratorium, Kronach und von A. Bernhardt, Mikroanalytisches Laboratorium, Elbach. Die UV-Spektren wurden aufgenommen mit dem UV-Spektralphotometer DK-2 von Beckmann und dem UV-Spektralphotometer Leitz-Unicam SP.800.

*Reduktive Methylierung von 2-Amino- und 2-Hydroxy-1-acetyl-3H-phenoxazinonen-(3).* In einem 500 ml Dreihalskolben mit Röhren, Tropftrichter, Rückflusskühler und Stickstoffzuführung werden jeweils 1 mMol des substituierten 1-Acetyl-3H-phenoxazinons-(3) in der Mischung von 130 ml Aceton, 66 ml Wasser und 2.6 g Natriumdithionit bei Raumtemperatur suspendiert. Man tropft unter Rühren und Stickstoff in 30 Min. die Lösung von 3.9 g Kaliumcarbonat in 20 ml Wasser zu, wobei die Lösung tiefrot wird. Anschliessend tropft man in 45 Min. 6.5 ml Dimethylsulfat zu, rührt eine Std. nach und erhitzt dann 30 Min. am Rückfluss. Im Verlauf der Reaktion wird die Lösung hellrot. Nach Abdestillieren des Acetons i. Vak. wird der Ansatz mit 3 × 30 ml Chloroform extrahiert, dann die organische Phase mit 3 × 10 ml Wasser gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Den Rückstand dieser Lösung chromatographiert man mit Chloroform oder mit Benzol-Essigester (4:1) über 150 g Kieselgel (Merck unter 0.08 mm, desaktiviert mit 14% Wasser). Aus der Hauptbande eluiert man die Phenoxazine, die aus Benzol-Petroläther umkristallisiert werden. Für die analytischen Daten sh. Tabelle 5.

*Reduktive Methylierung von 2-Amino- und 2-Hydroxy-1-carbomethoxy-3H-phenoxazinonen-(3).* Vorschritt analog oben. Die Reaktionsansätze werden bei Reduktion orangerot bis gelb. Nach Zusatz von Dimethylsulfat und Nachrühren wird ohne Erhitzen aufgearbeitet. Analytische Daten sh. Tabelle 5.

*Danksagungen*—Herrn Prof. Dr. A. Butenandt und Herrn Prof. Dr. H. Dannenberg danken wir herzlich für die Förderung der Arbeit und viele Diskussionen, Frau I. Bürger und Fräulein E. Seifert für die Messung der UV/S-Spektren.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup> A. Butenandt, U. Schiedt, E. Biekert und R. Jan T. Cromartie, *Liebigs Ann.* **590**, 75 (1954)
- <sup>2</sup> A. Butenandt, *Angew. Chem.* **69**, 16 (1957)
- <sup>3</sup> A. Butenandt, U. Schiedt und E. Biekert, *Liebigs Ann.* **588**, 106 (1954)
- <sup>4</sup> A. Butenandt, U. Schiedt, E. Biekert und P. Kornmann, *Ibid.* **586**, 217 (1954)
- <sup>5</sup> A. Butenandt und G. Neubert, *Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem.* **301**, 109 (1958)
- <sup>6</sup> B. Linzen, *Ibid.* **314**, 12 (1959)
- <sup>7</sup> A. Butenandt, E. Biekert, H. Kübler und B. Linzen, *Ibid.* **319**, 238 (1960)
- <sup>8</sup> H. Brockmann, in L. Zechmeister, *Fortschritte Chem. org. Naturst.* **18**, 1 (1960)
- <sup>9</sup> W. Schäfer und H. Schlude, *Tetrahedron* **27**, 4721 (1971)
- <sup>10</sup> H. Musso und H. Matthies, *Chem. Ber.* **90**, 1814 (1957)
- <sup>11</sup> A. Butenandt, E. Biekert und W. Schäfer, *Liebigs Ann.* **632**, 132 (1960)
- <sup>12</sup> S. Dähne und D. Leupold, *Angew. Chem.* **78**, 1029 (1966)
- <sup>13</sup> W. Schäfer, I. Geyer und A. Aguado, to be published
- <sup>14</sup> M. Klessinger und W. Lüttke, *Chem. Ber.* **99**, 2137 (1966)