

Orcein und Lackmus

Von Dr. H. BEECKEN, Dipl.-Chem. E.-M. GOTTSCHALK, Dipl.-Chem. U. v. GIZYCKI, Dr. H. KRÄMER, Dipl.-Chem. D. MAASSEN, Dr. H.-G. MATTHIES, Prof. Dr. H. MUSSO¹⁾, Dipl.-Chem. C. RATHJEN und Dipl.-Chem. U. I. ZÁHORSZKY

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen und Chemisches Institut der Universität Marburg/Lahn

Orcein wurde verteilungschromatographisch in 14 Farbstoffe getrennt. Die Konstitutionsermittlung gelang vorwiegend spektroskopisch und führte zu Formeln, die sich von 7-Amino- und 7-Hydroxyphenoxazon-(2) bzw. 7-Amino-phenoxazim-(2) ableiten und die durch Synthesen bestätigt wurden. Der Hauptbestandteil des Lackmus ist polymer aus 7-Hydroxy-phenoxazon-(2)-Chromophoren aufgebaut. Der Bildungsmechanismus wird erläutert.

Orcein und Lackmus gewinnt man seit vielen hundert Jahren aus fast farblosen *Rocella*-, *Lecanora*- und *Variolaria*-Flechten durch Behandeln mit Harn oder Ammoniak und Luft; im Falle des Lackmus wird noch Kalk, Pottasche und Gips zugesetzt. Orcein²⁾ kam früher als Orseille, Archil, Cudbear, Persio oder Pourpre Française in den Handel und wurde vor allem im Mittelalter neben Alizarin und Indigo zum Färben von Seide und Wolle viel gebraucht. Da die rotvioioletten Färbungen nicht echt sind, färbt man heute damit nur gelegentlich Nahrungs- und Genußmittel und in der Histologie elastische Fasern. Die Verwendung von Lackmus ist allgemein bekannt.

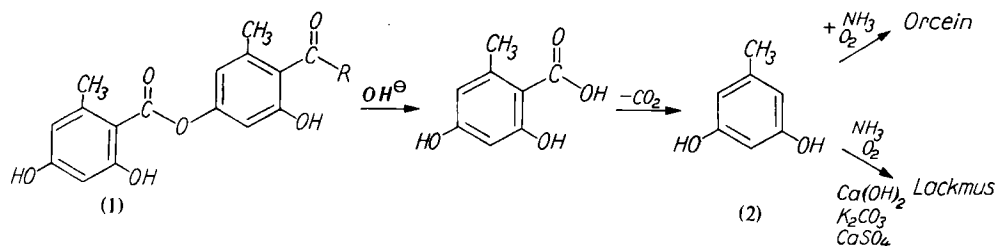
Seit 150 Jahren haben sich viele Chemiker um die Konstitutionsaufklärung dieser Farbstoffe bemüht. Aus den Arbeiten von H. Robiquet³⁾, J. v. Liebig, J. Dumas⁴⁾, R. Kane⁵⁾, J. Stenhouse, C. Liebermann⁶⁾, K. Zulkowski und K. Peters⁷⁾, J. Herzig und F. Wenzel⁸⁾, F. Henrich⁹⁾, T. Pavolini¹⁰⁾ und in neuerer Zeit von J. F. W. Mc

Omie und I. M. White¹¹⁾ sowie R. L. Engle und E. W. Dempsey¹²⁾ kann man folgendes entnehmen: Die Flechten enthalten Orsellinsäuredepside (1), die nach Hydrolyse zum farblosen Orcein (2) decarboxylieren, das unter Einbau des Ammoniaks zu den Farbstoffen oxydiert wird.

Die früheren Versuche verliefen insofern unbefriedigend, als es damals nicht gelang, aus den komplizierten Farbstoffgemischen eine einheitliche Verbindung abzutrennen.

Trennung des Orceins

Da die älteren Arbeiten offenbar an unzureichenden Trennungsmethoden gescheitert waren, erschien es reizvoll, moderne Methoden auf dieses Problem anzuwenden. Durch Verteilungschromatographie war es vor kurzem möglich, Orcein in die Komponenten zu zerlegen^{13,14)}. Wie Abb. 1 zeigt, werden im System Butanol/Phosphatpuffer an Cellulosepulver bei $p_H = 12,80$ die schnell wandernden Zonen gut



¹⁾ XV. Mittell. über Orceinfarbstoffe; XIV. Mittell. H. Musso, I. Seeger u. U. I. Záhorszky, Angew. Chem. 73, 434 [1961].

²⁾ Orcein nennt man den gereinigten Alkoholextrakt der Orseille oder das aus reinem Orcin hergestellte Präparat. Der Name stammt von der Florentiner Kaufmannsfamilie Rocela, die im 14. Jahrhundert das Monopol für die Flechtenfärberei als Geheimnis hütete und sehr reich dabei geworden ist. Durch die Lautverschiebung im Mittelalter entstand aus Rocela Orcela, franz. Orseille.

³⁾ H. Robiquet, Liebigs Ann. Chem. 15, 289 [1835].

⁴⁾ J. Dumas, ebenda 27, 140 [1838].

⁵⁾ R. Kane, ebenda 39, 25 [1841].

⁶⁾ C. Liebermann, Ber. dtsh. chem. Ges. 7, 247 [1874]; 8, 1649 [1875].

⁷⁾ K. Zulkowski u. K. Peters, Mh. Chemie 11, 227 [1890].

⁸⁾ J. Herzig u. F. Wenzel, ebenda 24, 881 [1903].

⁹⁾ F. Henrich u. W. Herold, Ber. dtsh. chem. Ges. 61, 767, 2343 [1928]. F. Henrich u. W. Meyer, Z. Farben- u. Textil-Chemie 7, 595, 599 [1902].

¹⁰⁾ T. Pavolini, Atti Congr. naz. Chím. pura appl. 4, 557 [1933]; Chem. Zbl. 1934, 11, 256.

getrennt, unterhalb $p_H = 11,75$ die langsamer wandernden. Im System Formamid/Chloroform/Pyridin (5:5:1) ist an Kieselgel die Reihenfolge der Zonen eine andere, und es werden diejenigen Zonen glatt getrennt, die im ersten System überlappen, z.B. IV und BIII. Dibutyläther/Butanol/Aceton/Eisessig/Wasser (5:2:9:2:5) liefern an Cellulosepulver wieder eine andere Zonenfolge. Chromatographiert man die Zonen des Orceins nach der ersten Trennung im Phosphatpuffer-System anschließend in einem der bei-

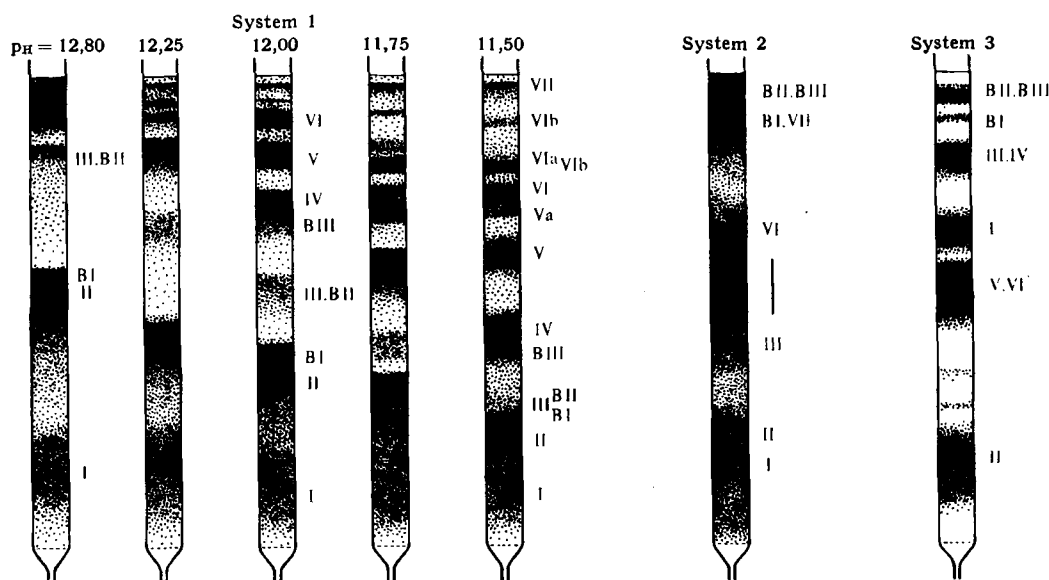
¹¹⁾ J. F. W. McOmie u. I. M. White, J. chem. Soc. [London] 1955, 2619.

¹²⁾ R. L. Engle u. E. W. Dempsey, J. Histochem. Cytochem. 2, 9, [1954].

¹³⁾ H. Musso, Naturwissenschaften 42, 513 [1955]; Chem. Ber. 89, 1659 [1956].

¹⁴⁾ H. Musso u. H. Beecken, ebenda 90, 1808 [1957].

wie die Spektren zahlreicher Modellverbindungen zeigen, für ein Phenoxazon-(2) charakteristisch sind. Die Acetyl-Derivate aller Komponenten zeigen ferner Banden von Acetoxy-Gruppen (1773 cm^{-1}) und die der Komponenten aus der 1. und 3. Gruppe zusätzlich noch Banden von Acetamino-Gruppen (1704 cm^{-1}). Deshalb muß es sich bei allen Orceinfarbstoffen um Amino- und Hydroxy-Derivate des Phenoxazons handeln, in denen zunächst die Positionen



VII sind in frischem Orcein nur in sehr geringer Menge vorhanden, ihr Anteil nimmt im Laufe der Zeit und vor allem während der Trennung auf Kosten der Hauptkomponenten zu. In manchen Orcein-Präparaten findet man ferner in Spuren noch zwei gelbbraune, stickstoff-freie Verbindungen, auf die später eingegangen wird.

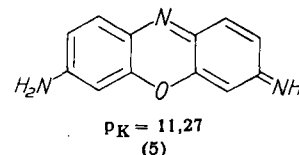
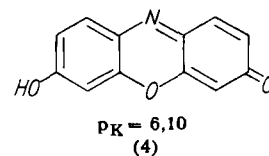
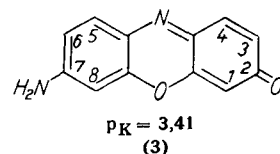
dieser Substituenten festzulegen sind. Die Verschiebung der Absorptionsmaxima in den sichtbaren Spektren der acetyl-freien Verbindungen mit Säure und Alkali läßt sich nur deuten, wenn man die Substitution in 7-Stellung des Phenoxazon-Grundgerüsts annimmt. Dann erhält man nämlich drei Farbstofftypen, deren einfachste Vertreter

Fraktion	Verbindung	% im Orcein	Farbe in Lösung			Summenformel	p _K *)					
			neutral	sauer	alkal.							
1. I	α-Amino-orcein	10	} rot-violett	rot	tief-violett	C ₂₁ H ₁₅ O ₄ N ₂	4.06					
Gruppe III	β-Amino-orcein	6				C ₂₈ H ₂₄ O ₈ N ₂	4.03					
IV	γ-Amino-orcein	12										
2. Gruppe II	α-Oxy-orcein	10	} rot-orange	rot	tief-violett	C ₂₁ H ₁₇ O ₅ N	6.88					
V	β-Oxy-orcein	15				C ₂₈ H ₂₃ O ₇ N	7.17					
VI	γ-Oxy-orcein	10				C ₂₈ H ₂₁ O ₈ N	?					
Va	Nebenkomponenten	1—2										
VIa												
Vb												
VIb												
VII												
3. BI		< 1	} tief-violett	tief-violett	rot-braun	?	13.4**)					
Gruppe B II	β-Amino-orceimin	4				C ₂₈ H ₂₆ O ₅ N ₂ 1/2 H ₂ SO ₄						
B III	γ-Amino-orceimin	10										

*) In 50-proz. Methanol. **) in Wasser.

Mit Hilfe der Schwingungs- und Elektronenspektren und des charakteristischen Farbwechsels mit Säure und Alkali konnte das farbgebende Grundgerüst dieser Verbindungen erkannt werden¹⁵⁾. Die IR-Spektren der Hauptkomponenten und ihrer Acetylderivate zeigen intensive Banden bei 1653, 1613 und 1575 cm^{-1} , die man konjugierten C=O, C=N und C=C-Doppelbindungen zuordnen kann und die.

^{1b)} H. Musso u. H.-G. Matthies, ebenda 90, 1814 [1957].

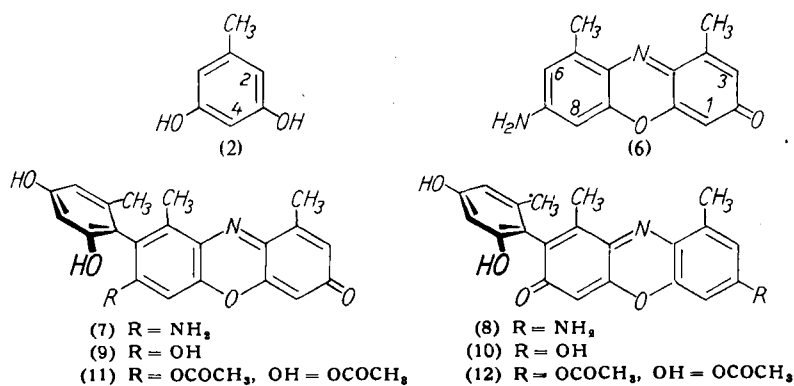


(3), (4) und (5) nicht nur qualitativ im Farbwechsel mit Säure und Alkali, sondern auch quantitativ in der Bandenlage bis auf wenige $m\mu$ mit den drei Gruppen der Orceinfarbstoffe übereinstimmen¹⁵⁾.

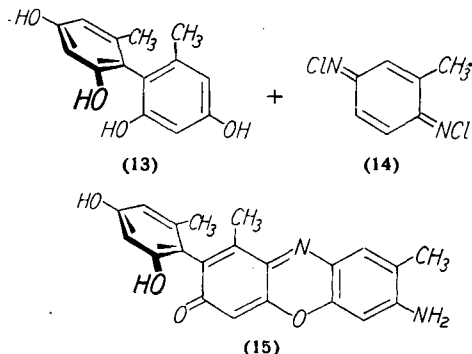
Demnach sind die Farbstoffe der ersten Gruppe α -, β - und γ -Aminoorcein, Derivate des wegen der säureamid-artigen Mesomerie schwach basischen 7-Amino-phenoxazons-(2) (3); die der zweiten Gruppe, α -, β - und γ -Hydroxy-orcein leiten sich vom relativ stark sauren, carboxylsäurevinyloglen 7-Hydroxy-phenoxazon-(2) (4) ab; β - und γ -Amino-orceimin

enthalten einen 7-Amino-phenoxazim-Chromophor (5) und sind als vinyloge Amidine gegen Alkali empfindliche, starke Basen.

Die Anwesenheit von zwei Methyl-Gruppen in 4.5-Stellung bei allen Orceinfarbstoffen ergibt sich aus der *Kuhn-Roth*-Bestimmung und der Bildung dieser Farbstoffe aus Orcin unter so milden Reaktionsbedingungen, daß ein Platzwechsel dieser Gruppen nicht in Frage kommt. Aus der Differenz der Summenformeln von α -Amino-orcein und dem Modell 7-Amino-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) (6) erkennt man einen $C_7H_7O_2$ -Rest, offenbar einen Orcin-Rest, als weiteren Substituenten am Chromophor, für dessen Verknüpfung es acht Möglichkeiten gibt: vier am Chromophor (1-, 3-, 6- und 8-Stellung) und zwei am Orcin-Rest (2- und 4-Stellung.) Die Übereinstimmung in den Spektren von (6) und α -Amino-orcein zeigt, daß zwischen dem Orcinrest und dem Chromophor keine mesomere Wechselwirkung vorhanden ist.



Da die sterische Mesomeriebehinderung bei Biphenyl-Derivaten am stärksten ist, wenn die größten Substituenten, hier zwei Methyl-Gruppen, in o-Stellung zur Verknüpfung stehen, können zwei von den acht Möglichkeiten bevorzugt werden. Um zwischen der 3- und 6-Stellung, also zwischen den Formeln (7) und (8), sicher zu entscheiden, wurde durch Kondensation von 4.6.4'.6'-Tetrahydroxybitolyl (13) und Toluchinon-dichlor-diimid (14) ein Iso- α -amino-orcein (15) dargestellt. Die Unterschiede im chromatographischen Verhalten und in den Schwingungsspektren zeigten eindeutig, daß im α -Amino-orcein (7) der Orcin-Rest neben der Amino-Gruppe steht, und daß die 3-Stellung neben der Carbonyl-Gruppe nicht substituiert ist^{16,17}.



Im Acetat des α -Amino-orceins ist die Carbonyl-Bande bei 1653 cm^{-1} , wie bei allen in 3-Stellung nicht substituierten Phenoxazonen, sehr intensiv, während sie bei allen in 3-Stellung durch Methyl-, Hydroxy-, Amino- und Orcin-Reste substituierten Phenoxazonen viel schwächer ausgeprägt ist. Ein Vergleich zwischen 7-Amino-4.5- und 4.6-dimethyl-phenoxazon-(2) zeigt, daß diese Zuordnung durch die verschiedene Stellung der zweiten Methyl-Gruppe in (7) und (15) nicht gestört wird^{17,18}.

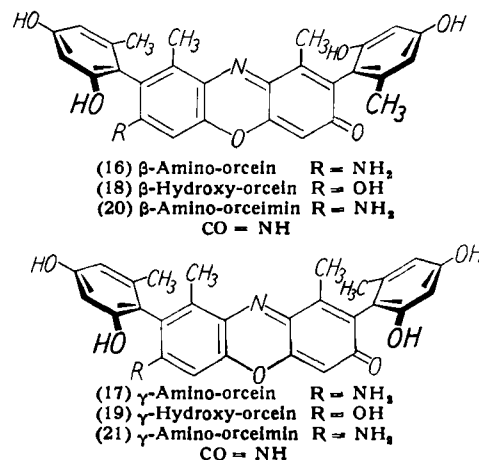
¹⁶) H. Musso u. H. Beecken, Chem. Ber. 90, 2150 [1957].

¹⁷) H. Musso u. S. P. Mannsfeld, ebenda 94 [1961], im Druck.

¹⁸) H. Musso u. P. Wager, ebenda 94 [1961], im Druck.

Entsprechend erhält man für α -Hydroxy-orcein die Formeln (9) und (10). Hier braucht jedoch zwischen der 3- und 6-Stellung nicht entschieden zu werden, denn durch die Mesomerie im Anion werden sie gleichberechtigt. In Lösung liegt ein Gleichgewicht zwischen (9) und (10) vor, und bei der Acetylierung erhält man zwei sehr ähnliche isomere Acetate vom Fp 211 bzw. 189–191 °C, denen man auf Grund der geringen Unterschiede in den Spektren die Formeln (11) und (12) zuordnen kann¹⁹.

β - und γ -Amino-orcein stimmen in den Spektren und Analysen überein. Das sichtbare Spektrum ist dem des α -Amino-orceins sehr ähnlich, nur ist die spezifische Extinktion geringer. Aus der Differenz der Summenformeln zum α -Amino-orcein erhält man wieder einen $C_7H_7O_2$ -Rest, also einen zweiten Orcin-Rest, als weiteren Substituenten für β - und γ -Amino-orcein, für dessen Verknüpfung am Grundgerüst nach den Spektren und dem eben Gesagten nur die 3-Stellung übrig bleibt. β - und γ -Amino-orcein sind also beide 7-Amino-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) mit asymmetrisch verknüpften Orcin-Resten in 3-Stellung und 6-Stellung, die aber wegen der sterischen Hinderung durch die Methyl-Gruppen bei Zimmertemperatur nicht um die Verknüpfungsachse durchdrehen können. Man muß also annehmen, daß es sich um die *cis-trans*-isomeren Verbindungen (16) und (17) handelt, die beide wegen der Molekülasymmetrie als Racemate vorliegen müssen; beim *cis*-Racemat (17) stehen beide Hydroxy-Gruppen an den Orcin-Resten vor oder hinter der Phenoxazon-Ebene, beim *trans*-Racemat (16) sind sie auf verschiedenen Seiten angeordnet¹⁶.



Mit steigender Temperatur aber wird die Torsionsschwingung der seitenständigen Orcin-Reste so stark angeregt, daß sich diese Reste an den o-Methyl-Gruppen vorbeidrehen können.

Erhitzt man die β - und γ -Komponenten jede für sich in Glycerin auf 200 °C, so erhält man in beiden Fällen Gemische aus gleichen Teilen beider. Diese Isomerisierung gelingt mit demselben Erfolg bei den β - und γ -Komponenten der 2. und 3. Gruppe; β - und γ -Hydroxy-orcein besitzen also die Formeln (18) und (19), β - und γ -Amino-orceimin die Formeln (20) und (21)²⁰.

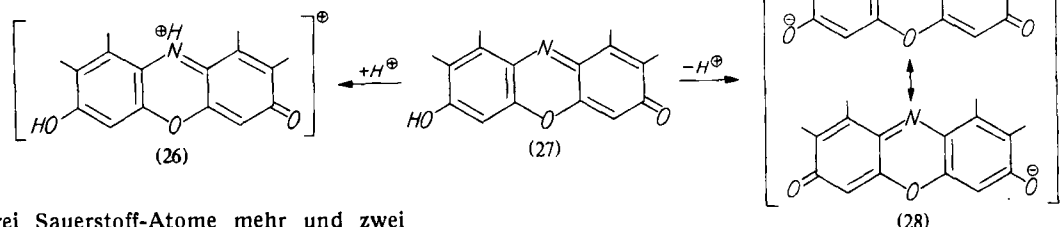
Damit ist auch die Verknüpfungsstelle innerhalb der Orcin-Reste bewiesen, denn läge diese symmetrisch zwischen den Hydroxy-Gruppen (4-Stellung in Formel (2)), so wären Isomerie und Umlagerung nicht möglich.

¹⁹) H. Musso u. H. Krämer, ebenda 97, 2001 [1958].

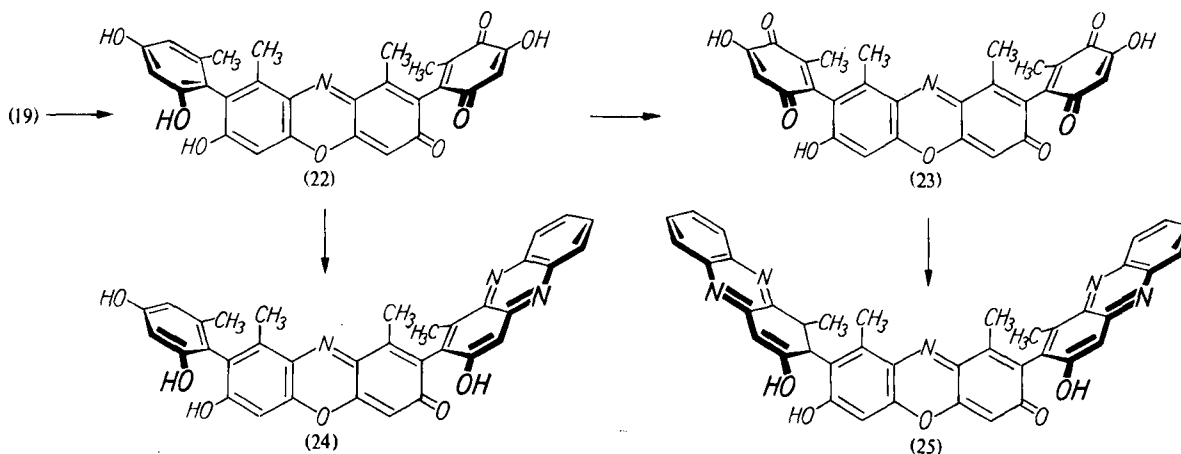
²⁰) H. Musso, H.-G. Matthies, H. Krämer u. P. Hocks, ebenda 93, 796 [1960].

Die NebenkompONENTEN

Die mit a und b bezeichneten NebenkompONENTEN in der 2. Gruppe erhält man aus β - und α -Hydroxy-orcein in der angegebenen Reihenfolge bei der Oxydation mit Luft, Eisen-(III)-chlorid oder Kalium-nitroso-disulfonat in alkalischer Lösung. Daneben entsteht stets die Zone VII, auf die beim Lackmus noch hingewiesen wird. Die a-KompONENTEN enthalten ein Sauerstoff-Atom mehr und eine acetylierbare Hydroxygruppe weniger als die Hauptkomponenten; die



b-KompONENTEN zwei Sauerstoff-Atome mehr und zwei acetylierbare Hydroxy-Gruppen weniger, das Molekulargewicht und der Chromophor sind aber erhalten geblieben. Die IR-Spektren der Acetate zeigen bei 1667 cm^{-1} eine neue Bande, deren Intensität von a zu b zunimmt, und die Chinon-carbonylen zugeordnet wird. Die NebenkompONENTEN entstehen also aus β - und γ -Hydroxy-orcein, indem zuerst der eine und dann der zweite seitenständige Orcin-Rest zum Chinon oxydiert wird, wie es die Formeln (22) und (23) angeben¹⁹⁾.



Dementsprechend nehmen die a-NebenkompONENTEN (22), bei der katalytischen Hydrierung 2 Mole und die b-NebenkompONENTEN (23) 3 Mole Wasserstoff auf, während die Hauptkomponenten (z.B. (19)) nur ein Mol verbrauchen. Ferner erhält man mit o-Phenylendiamin die Phenazin-Derivate (24) und (25), deren Spektren sich in neutraler, alkalischer und saurer Lösung additiv aus den Spektren der Teilchromophore 7-Hydroxy-4,5-dimethyl-phenoxazon und 3-Hydroxy-1-methyl-phenazin im erwarteten Intensitätsverhältnis zusammensetzen¹⁹⁾.

Es liegt nahe, für die NebenkompONENTE BI der 3. Gruppe eine den α -KompONENTEN der 1. und 2. Gruppe analoge Konstitution mit einem Orcin-Rest anzunehmen. Sie kommt aber im Orcein nur in sehr geringer Menge vor, und ihr Stickstoffgehalt ist nicht groer als bei den β - und γ -Amino-orceimininen mit zwei Orcin-Resten, so daß man in dieser Zone Zersetzungsprodukte der Hauptkomponenten der 3. Gruppe annehmen mu²⁰⁾.

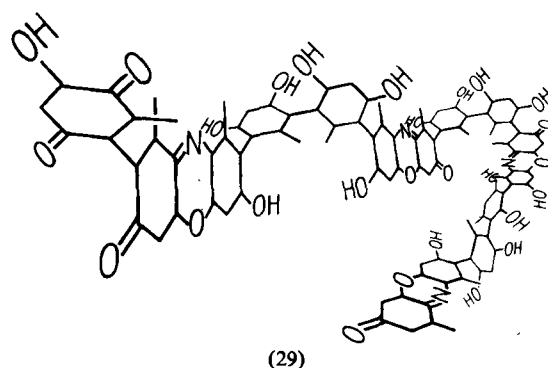
Der Lackmusfarbstoff

Lackmus und Orcein werden aus den gleichen Flechtenarten nach ähnlichen Verfahren hergestellt; man darf also im Lackmus eine ähnliche Zusammensetzung vermuten. Der rohe Lackmus-Extrakt stimmt in den Elektronenspektren in neutraler, saurer und alkalischer Lösung mit den

Hydroxy-orceinen überein. Die Hauptbestandteile besitzen somit ebenfalls einen 7-Hydroxy-phenoxazon-Chromophor (27), der in saurer Lösung ein Proton zum roten Kation (26) anlagert und oberhalb $p_H = 7$ ein Proton zum mesomeren, blauvioletten Anion (28) abspaltet. Damit ist gezeigt, welcher Chromophor dem Lackmus die Eigenschaft eines Säure-Alkali-Indikators verleiht²¹⁾.

Chromatographisch erkennt man im Lackmus in geringer Menge alle Orcein-KompONENTEN der 1. und 2. Gruppe; die gegen Alkali besonders empfindlichen 7-Amino-phenoxazine der 3. Gruppe fehlen. α -Hydroxyorkein wurde aus Lackmus isoliert, das kristallisierte Acetat stimmt mit dem Präparat aus Orcein in allen Eigenschaften überein. Die anderen Zonen wurden chromatographisch und spektroskopisch identifiziert²²⁾.

Der Hauptbestandteil des Lackmus ist im Orcein als Zone VII nur in geringer Menge enthalten. Aus ihr konnte bisher noch keine kristallisierte Verbindung abgetrennt werden, denn die Chromatographie ergab nur eine sehr



verwaschene Zone. Das mittlere Molekulargewicht dieser Fraktion wurde durch Dialyse zu 3300 bestimmt. Da bei der Oxydation von β - und γ -Hydroxy-orcein zu den NebenkompONENTEN a und b stets eine Fraktion entsteht, die mit

²¹⁾ H. Musso u. C. Rahtjen, ebenda 92, 751 [1959].

²²⁾ C. Rathjen, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1959.

dem Hauptbestandteil des Lackmus chromatographisch übereinstimmt, kann man dafür Formel 29 (s. S. 668) vorschlagen, in der im Mittel fünf bis sechs Hydroxy-orcin Einheiten an den seitenständigen Orcin-Resten miteinander verknüpft sind²³⁾. Durch die vielen asymmetrischen Verknüpfungen wird die Zahl der diastereomeren Formen groß und die Trennung in sterisch einheitliche Fraktionen erschwert.

Die Autoxydation von Resorcin-Derivaten

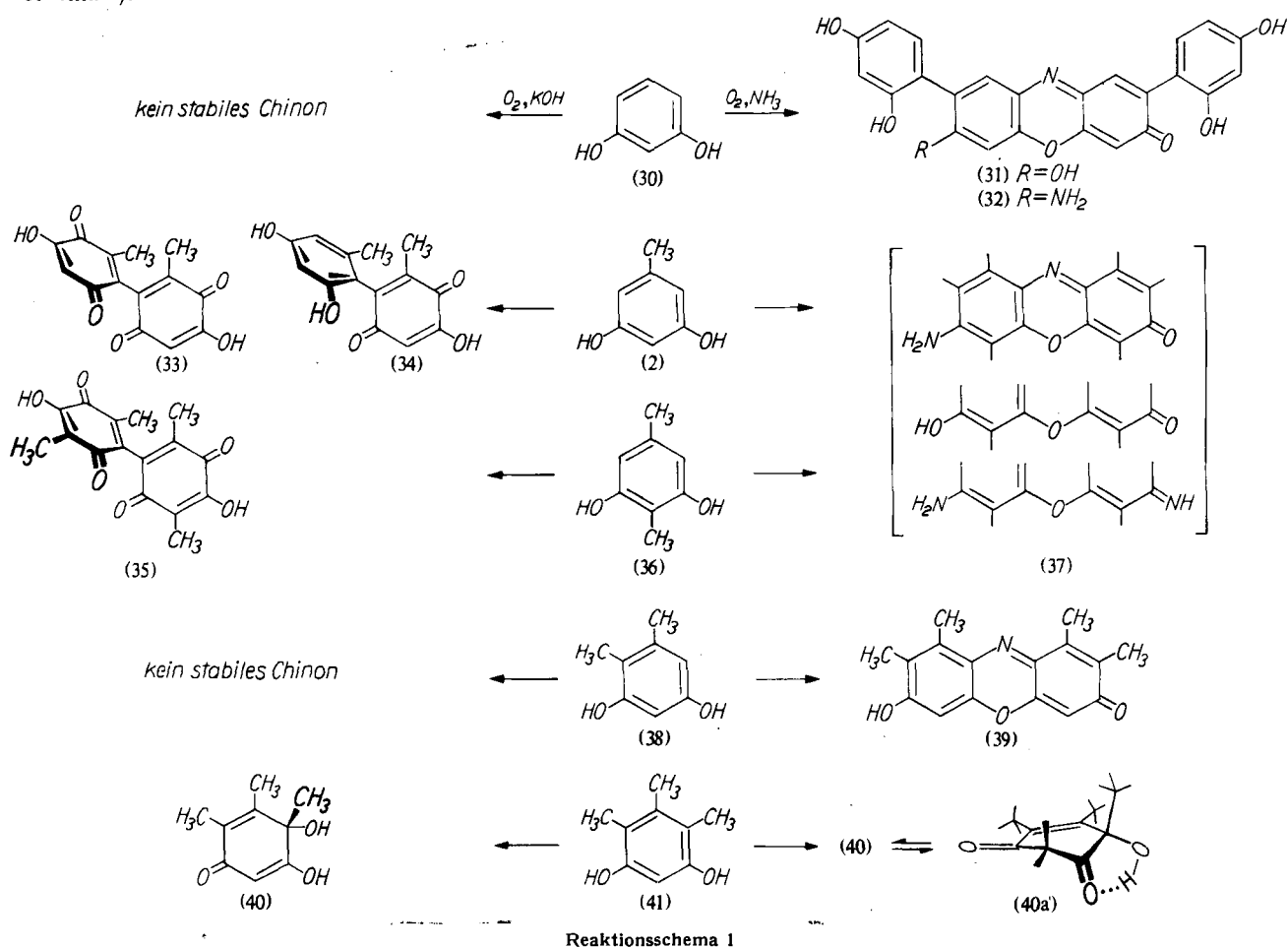
In den Formeln aller Orceinfarbstoffe ((7), (9), (16) bis (23)) erkennt man eine solche Verknüpfung der seitenständigen Orcin-Reste, bei der beide Methyl-Gruppen in o-Stellung zur Verknüpfung stehen. Es sind aber auch Farbstoffe mit einer Verknüpfung der Orcin-Reste zwischen den Hydroxy-Gruppen denkbar. Deshalb wurde bei der Trennung des Orceins in allen Mutterlaugen und Nebenfraktionen nach weiteren Komponenten gesucht, allerdings ohne Erfolg (was kein Beweis dafür ist, daß es sie nicht gibt). Um zu prüfen, ob auch andere Verknüpfungen auftreten können, wurde die Autoxydation verschieden methyl-substituierter Resorcine untersucht (Reaktionsschema 1).

zusammengesetzt ist übrigens auch der Indikator Lackmoid, der durch Zusammenschmelzen von Resorcin und Nitrit hergestellt wird²⁵⁾.

Aus Orcin (2) entstehen in Lauge die beiden Chinone (33) und (34) im Mengenverhältnis 3:7 in etwa 50% Ausbeute²⁶⁾. Aus p-Xylorcin (36) erhält man analoge Produkte wie aus Orcin; in Lauge das stabile, dimere Chinon (35)²⁷⁾ und in Ammoniak ebenfalls ein Gemisch aus 7-Amino- und 7-Hydroxy-phenoxazonen und 7-Amino-phenoxazinen (37)²⁸⁾.

4.5-Dimethyl-resorcin (38) liefert in Lauge keine Chinone und in Ammoniak in geringer Menge nur 7-Hydroxy-3.4.5.6'-tetramethyl-phenoxazon-(2) (39). 4.5.6-Trimethyl-resorcin (41) dagegen reagiert nicht mit Ammoniak, denn in beiden Fällen entsteht das gleiche relativ stark saure ($p_K = 5,55$) Chinol (40)²⁹⁾, das nach den IR-Banden bei 3521, 1733 und 1678 cm^{-1} in Tetrachlorkohlenstoff vollständig in der 1.3-Diketoform, und zwar in der Konstellation (40a) mit annähernd axialer Methylgruppe, vorliegt.

Gemische von Phenoxazonen mit angeknüpften aromatischen Resten werden nur aus solchen Resorcin-Derivaten



Resorcin (30) liefert in wäßriger Lauge ein Gemisch von z. T. fluoreszierenden Verbindungen, aber kein stabiles dimeres Chinon; in wäßrigem Ammoniak Resorcinblau, in dem als Hauptbestandteil ein 7-Hydroxy-phenoxazon-(2) der Formel (31) und in geringer Menge die entsprechende 7-Amino-Verbindung (32) enthalten sind^{24, 25)}. Genau so

gebildet, in denen beide p-Stellungen zu den Hydroxy-Gruppen frei sind; die Biphenyl-Verknüpfung erfolgt also nur dort und nicht zwischen den Hydroxy-Gruppen. Damit ist eine Sicherheit dafür gegeben, daß bei der Trennung des Orceins alle Komponenten gefunden wurden.

²³⁾ E.-M. Gottschalk, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1961.

²⁴⁾ H. Musso, I. Seeger u. U. I. Záhorszky, Angew. Chem. 73, 434 [1961].

²⁵⁾ U. I. Záhorszky, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1961.

²⁶⁾ H. Musso, Chem. Ber. 91, 349 [1958].

²⁷⁾ H. Musso, unveröffentlicht.

²⁸⁾ C. Rathjen u. H. Musso, unveröffentlicht.

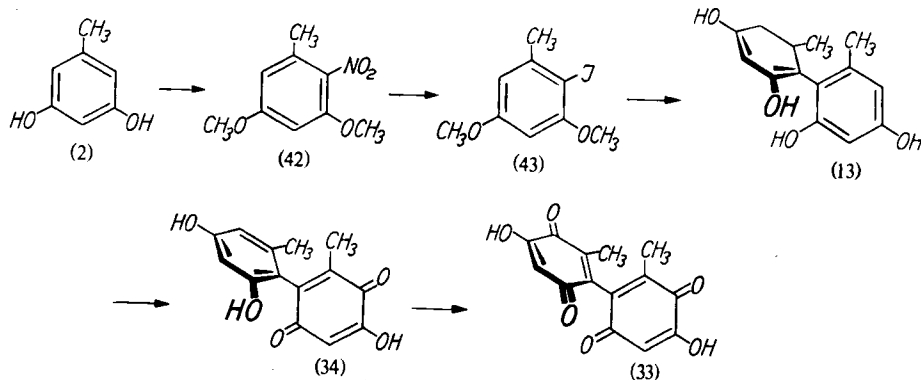
²⁹⁾ D. Maaßen, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1961.

Konstitutionsbeweis durch Synthesen

Für die Verknüpfungsstellen der Orcin-Reste am Chromophor wurde bei der Konstitutionsermittlung kein zwingender Beweis geliefert. Die Synthese dieser Farbstoffe muß also von Vorstufen ausgehen, in denen die Verknüpfung der Orcin-Reste eindeutig auf folgende Weise vorgenommen wird:

mit 2-Amino-orcin (44) in Eisessig. Das kristallisierte Produkt stimmt in den Spektren und im Mischschmelzpunkt der Acetate mit den aus Orcein und Lackmus isolierten Präparaten überein³¹⁾.

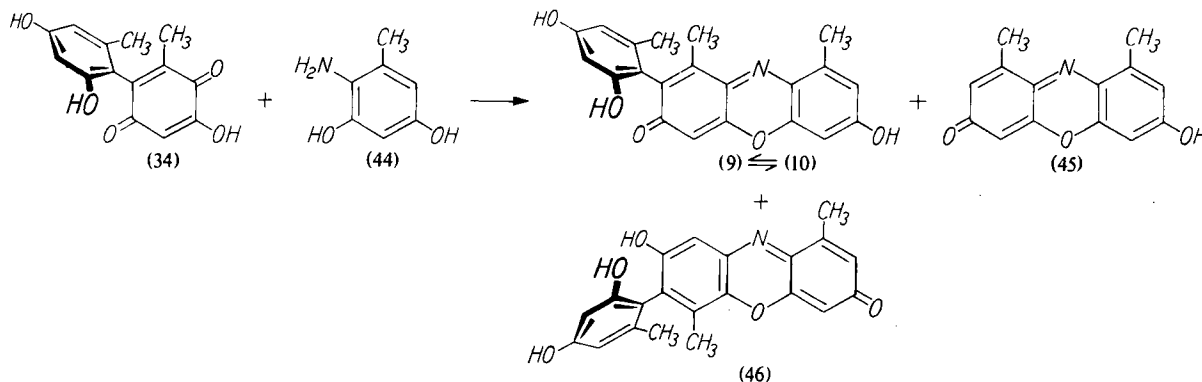
Bei dieser Reaktion entstehen als Hauptprodukte 30 % 7-Hydroxy-4,5-dimethyl-phenoxazon-(2) (45) und zu 38 % ein roter, mit α -Hydroxy-orcein isomerer Farbstoff,



Aus Orcin (2) erhält man über 2-Nitro-orcin-dimethyläther (42) und 2-Jod-orcin-dimethyläther (43) nach der Ullmann-Reaktion und Ätherspaltung in guter Ausbeute 4.6.4'.6'-Tetrahydroxy-bitolyl-(2.2') (13), dessen Teuber-Oxydation mit Kalium-nitroso-disulfonat die gleichen Chinone (33) und (34) im Verhältnis 2:8 ergibt, wie die Autoxydation des Orcins in Lauge²⁸⁾. (33) und (34) sind die beiden vorhin erwähnten stickstoff-freien Verbindungen, die man in sehr geringer Menge in manchen Orcein-Präparaten nachweisen kann³⁰⁾.

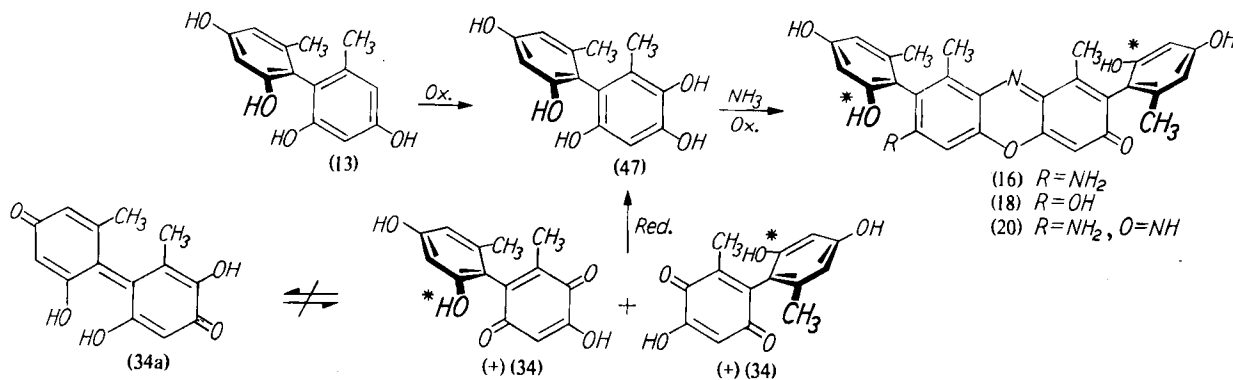
ψ , α -Hydroxy-orcein, dem nach den Analysen und Spektren die Konstitution (46) zukommt³¹).

Die Bildung von (46) bei der Reaktion von (34) mit (44) zeigt an, daß die *Kehrmannsche* Phenoxazon-Synthese³², d. h. die Kondensation von Hydroxy-chinonen mit o-Aminophenolen, nicht wie bisher angenommen³³ mit einer Wasser-Abspaltung zwischen der Carbonyl-Gruppe und der Amino-Gruppe zu einem Chinoanil-Derivat beginnt, sondern mit einer Verdrängung der Hydroxy-Gruppe des Chinons durch das Amin zu einem Anilinochinon-Derivat. Versuche an einfachen Modellen bestätigen diesen Mechanismus^{34, 31, 35}).



Die Synthese des α -Hydroxy-orceins (9) \rightleftharpoons (10) gelingt mit geringen Ausbeuten auf mehreren Wegen, am besten mit 13% d.Th. durch Kondensation des Monochinons (34)

Die β - und γ -Komponenten des Orceins (16) bis (21) erhält man gemeinsam als Gemisch, wenn man Tetrahydroxy-bitolyl (13) in wäßrigem Ammoniak langsam in



⁸⁰⁾ *H. Krämer*, Dissertation, Univers. Göttingen 1959.

²¹⁾ H. Musso u. H. Beecken, Chem. Ber. 94, 585 [1961].

³²⁾ F. Kehrman, Ber. dtsch. chem. Ges. 28, 353 [1885], und spätere Arbeiten.

³³⁾ D. E. Pearson, in R. C. Elderfield: Heterocyclic Compounds, John Wiley, New York, Bd. 6, S. 691, 1957.

³⁴⁾ A. Butenandt, E. Biekert u. W. Schäfer, Liebigs Ann. Chem. 632, 134 143 [1960].

⁸⁵⁾ H. Beecken u. H. Musso, Chem. Ber. 94, 601 [1961].

Gegenwart eines Reduktionsmittels wie Natrium-dithionit, Resorcin oder Hydrochinon mit Luft oder ohne Reduktionsmittel mit einem nur wenige Prozente Sauerstoff enthaltenden Stickstoff-Sauerstoff-Gemisch oxydiert. Bietet man das Oxydationsmittel rasch und in großer Menge an, so entsteht nur das Monochinon (34), und es wird kein Stickstoff eingebaut.

Reduziert man aber 34 zuerst zum Hydrochinon 47 und oxydiert man es dann vorsichtig in Ammoniak, so entsteht das gleiche Gemisch aller β - und γ -Komponenten, wie aus 13³⁰⁾.

Da die Verknüpfungsstelle der Benzolringe in den Vorstufen (34) und (13) durch die vorhin geschilderte Ullmann-Reaktion festliegt, beweisen diese Versuche die Konstitutionsformeln aller Orcein- und Lackmusfarbstoffe bis auf die des α -Amino-orceins (7), dessen Synthese noch aussteht.

cis-trans-Zuordnung der β - und γ -Komponenten

Mit der Synthese der β - und γ -Komponenten aus (34) hat man die Möglichkeit, die β - und γ -Komponenten eindeutig den *cis-trans*-isomeren Formeln (16): (17), (18): (19) und (20): (21) zuzuordnen. Chromatographiert man 1 g des Monochinons (34) in wäßrigem Phosphatpuffer bei $p_H = 7,0$ an Kartoffelstärke³⁶⁾, so erhält man in der Spitzenfraktion den rechtsdrehenden Antipoden von (34) und in der Schlußfraktion den linksdrehenden³⁶⁾. Reduziert man die ersten 100 mg, die aus der Stärkesäule austreten, zum Hydrochinon und oxydiert sie zu Orceinfarbstoffen, so entstehen nur die β -Komponenten (16), (18), (20) in optisch aktiver Form³⁷⁾. Treten zwei Molekeln des gleichen Antipoden von (34) zum Orceinfarbstoff zusammen, so können nur die Komponenten entstehen, bei denen die Hydroxy-Gruppen an den seitenständigen Orcin-Resten in *trans*-Stellung zueinander, also auf entgegengesetzten Seiten der Phenoxazon-Ebene, stehen.

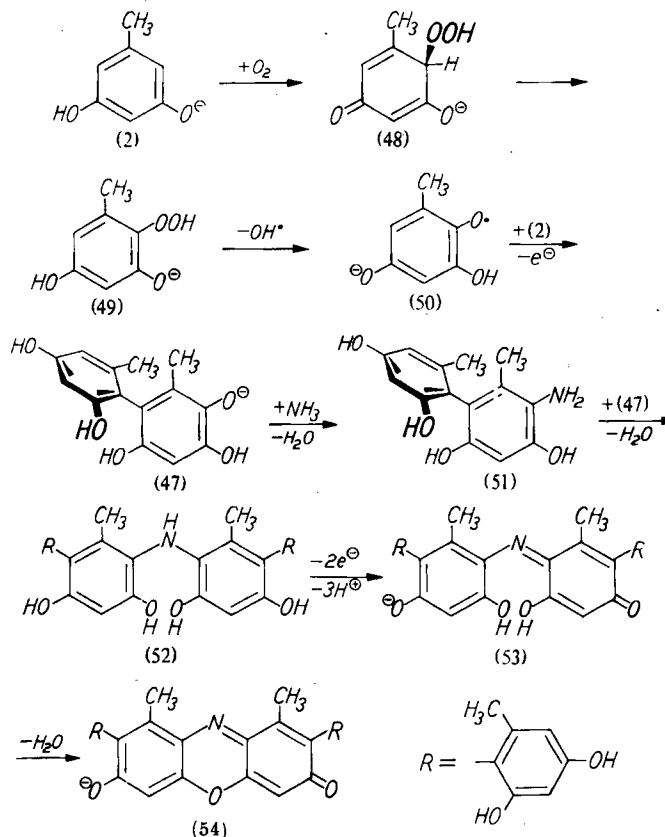
Damit ist bewiesen, daß in den β -Komponenten die Hydroxy-Gruppen *trans* und in den γ -Komponenten *cis* zueinander stehen, und bei der Chromatographie des Monochinons (34) an Stärke in der Spitzenfraktion der reine Antipode enthalten ist. Ferner ist bewiesen, daß die molekular-asymmetrische Verbindung (34) nicht, auch nicht in verschwindend geringer Menge, im Gleichgewicht die ebene und symmetrische tautomere Diphenochinon-Form (34a) einnehmen kann, die früher für diese Verbindung angegeben wurde³⁸⁾, die aber wegen des hohen Redoxpotentials und der sterischen Hinderung durch die Substituenten an der Verknüpfungsstelle nicht zutreffen konnte²⁶⁾.

Zum Bildungsmechanismus

Die gleichzeitige Bildung aller Hauptkomponenten des Orceins aus Orcin in wäßrigem Ammoniak mit Luftsauerstoff bei Raumtemperatur läßt vermuten, daß hierbei Reaktionen durchlaufen werden, die noch nicht bekannt sind. Deshalb wurden Versuche angestellt, die den Mechanismus der Orcein-Reaktion aufklären sollten und die bisher zu dem im Reaktionsschema 2 grob skizzierten Weg geführt haben.

Orcin wird als Anion (2) durch Luftsauerstoff über das Chinol (48) ins Hydroperoxyd (49) überführt, und (49) zerfällt in das Semichinon-Radikal (50) des 6-Hydroxy-

toluchinons und OH-Radikale. Das Radikal (50) reagiert mit Orcin unter Abgabe eines Elektrons zum Hydrochinon (47), das in Abwesenheit von Ammoniak zum Monochinon (34) dehydriert wird. Der Einbau des zentralen Stickstoffs erfolgt nun in einer nucleophilen Substitution der einen Hydroxy-Gruppe des Hydrochinons (47) zum Amin (51),



das mit weiterem (47) oder mit sich selbst unter Ammoniak-Abspaltung in ein 2.4.2'.4'-Tetrahydroxy-diphenylamin-Derivat (52) übergeht. Anschließend wird zum Indophenol (53) oxydiert, und der Phenoxazon-Ring schließt sich unter Austritt von Wasser zum Orceinfarbstoff (54).

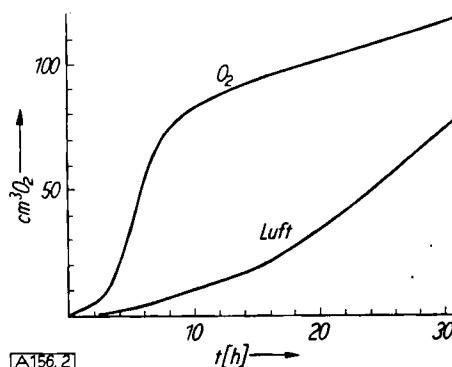


Abb. 2. Sauerstoff-Aufnahme einer alkalischen Orcin-Lösung

Folgende Experimente stützen diesen Mechanismus:

1. Die Geschwindigkeit der Sauerstoff-Aufnahme ist bei $p_H = 11$, wo die Mehrzahl der Orcin-Molekeln als Monoanion vorliegen, am größten. In Abwesenheit von Ammoniak muß der erste Reaktionsschritt geschwindigkeitsbestimmend sein, denn man erkennt zum Beginn der Reaktion spektroskopisch nur die Endprodukte (33) und (34). Die Reaktion durchläuft zuerst eine Induktionsperiode (Abb. 2), die sich durch Zusatz von Wasserstoffperoxyd aufheben läßt³⁰⁾.

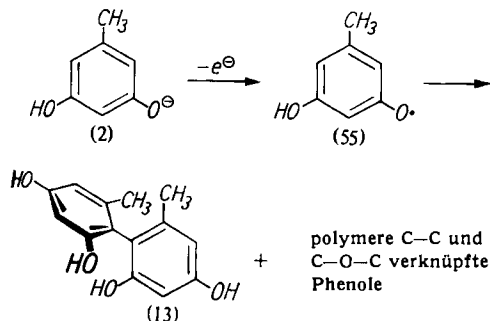
³⁶⁾ Die partielle Aktivierung von Racematen durch Chromatographie an Kartoffelstärke ist zuerst von H. Krebs, J. A. Wagner u. J. Diwald, Angew. Chem. 67, 705 [1955], Chem. Ber. 89, 1875 [1956], angegeben worden.

³⁷⁾ H. Musso, unveröffentlicht.

³⁸⁾ F. Henrich, S.-B. physik.-med. Soz. Erlangen 70, 5 [1938].

2. Beim 4.5.6-Trimethyl-resorcin (41) bleibt die Autoxydation wie bei anderen sterisch behinderter Phenolen³⁹⁾ auf der Stufe des Chinols (40) stehen²⁰⁾.

3. Freie Orcin-Radikale (55) können in der Autoxydationslösung nicht nachgewiesen werden. Erzeugt man sie hingegen durch Oxydation von Orcin (2) mit Kalium-hexacyanoferrat(III) oder durch Dehydrieren mit Benzophenonen und Licht, so erkennt man papierchromatographisch stets ihr Dimerisierungsprodukt, Tetrahydroxy-bitolyl (13), in der Reaktionslösung. Bei der Autoxydation von Orcin (2) in Ammoniak oder Kalilauge kann (13) in keiner Phase der Reaktion nachgewiesen werden, und da (13) mit Sauerstoff nicht schneller reagiert als (2) und (2) bis zum Ende der Reaktion gefunden wird, darf (13) kein Zwischenprodukt bei der Reaktion von (2) zu den Chinonen (33) oder (34) oder zu den Orcin-farbstoffen sein, obwohl man daraus (33) und (34) sowie die β - und γ -Komponenten (16)–(21) herstellen kann³⁰⁾.



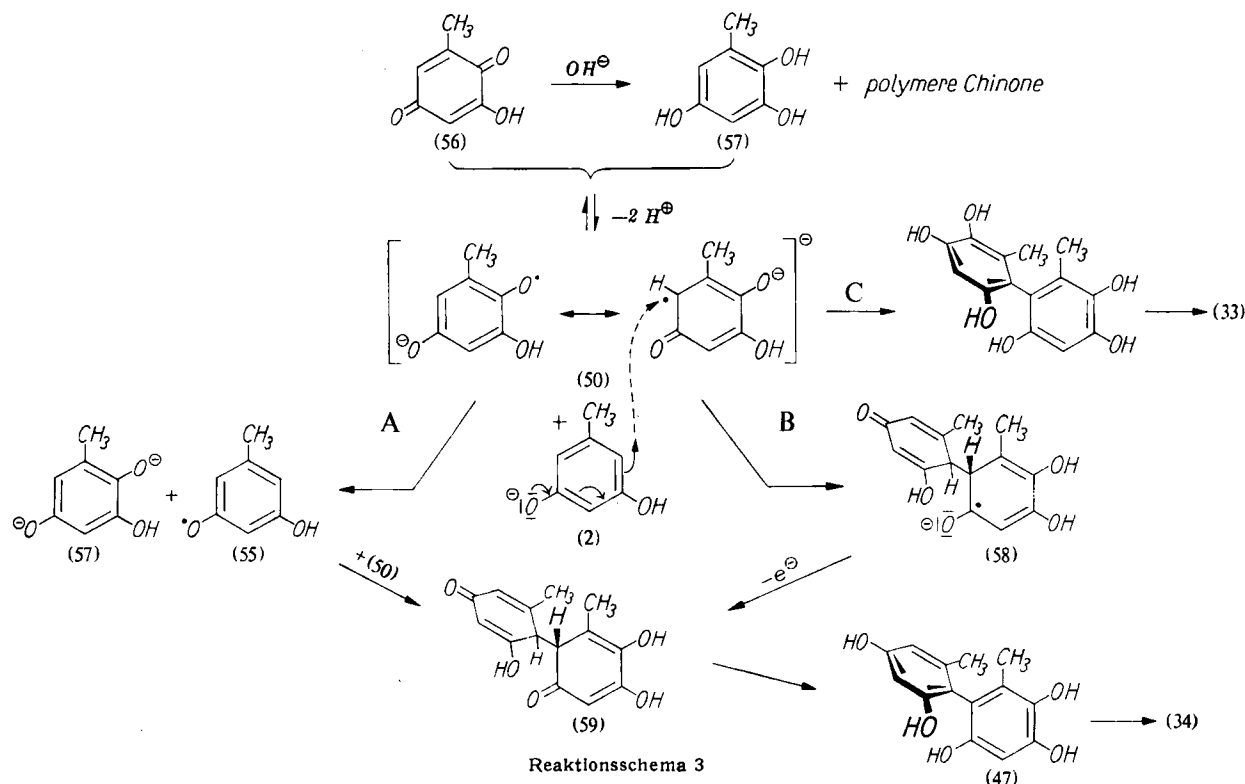
4. Trägt man 6-Hydroxy-toluchinon (56) in die Lösung eines zehnfachen Orcin-Überschusses bei $pH = 11$ bis 12 ein, so isoliert man nach einer Stunde in Gegenwart von Luftsauerstoff nur 33 %

seher Lösung sehr rasch ein⁴²⁾. Trägt man dagegen das Hydrochinon (57) von (56) in Gegenwart von Luft in eine alkalische Orcin-Lösung ein, so isoliert man 65 %, also doppelt so viel, Monochinon (34), denn jetzt durchlaufen alle Moleküle von (57) die Radikalstufe (50). Oxydiert man (56) oder (57) in Gegenwart von (2) bei Anwesenheit oder Ausschluss von Sauerstoff mit der entsprechenden Menge Kalium-hexacyanoferrat(III), so erhält man nur wenig (34), und jetzt kann man auch Orcin-Radikale (55) indirekt am Auftreten von Tetrahydroxy-bitolyl (13) und den polymeren Phenolen in der Reaktionslösung nachweisen. Sauerstoff reagiert mit dem Hydrochinon (57) viel schneller als mit Orcin (2), Kalium-hexacyanoferrat(III) oxydiert auch Orcin sehr rasch.

Diese Versuche erlauben die Folgerung, daß die C-C-Verknüpfung bei der Autoxydation des Orcins, wie es Weg B im Reaktionsschema 3 angibt, durch einen nucleophilen Angriff des Orcin-Anions (2) auf das Radikal (50) zum Radikal (58) erfolgt und offenbar nicht nach Weg A, in dem das Orcin-Anion (2) vom Radikal (50) zum Orcin-Radikal (55) dehydriert wird, das dann mit einem weiteren Radikal (50) zum Zwischenprodukt (59) dimerisiert⁴⁰⁾. Ein anderer Mechanismus, bei dem keine freien Orcin-Radikale auftreten, erscheint mit diesen Befunden kaum vereinbar. Die Umwandlung (59) \rightarrow (47) erfolgt leicht in polaren Lösungsmitteln⁴³⁾.

In Abwesenheit von Orcin (2) isoliert man beim Eintragen von (56) bzw. (57) in Alkali neben polymeren Chinonen über Weg C das Dichinon (33) mit 17 bzw. 38 % Ausbeute. In Gegenwart von Orcin sind die Ausbeuten an (33) gering⁴⁰⁾.

5. 7-Amino- und 7-Hydroxy-4.5-dimethyl-phenoxazon-(2) (6) und (45) sowie Iso- α -Amino-orcin (8) lassen sich bei der Autoxy-



Reaktionsschema 3

des Monochinons (34)⁴⁰⁾, denn etwa die Hälfte des Chinons (56) geht bei der Disproportionierung in das Hydrochinon (57) und polymere Chinone⁴¹⁾ in Form der Polymeren für die Reaktion zu (34) verloren (Reaktionsschema 3). Das Gleichgewicht zwischen einem Chinon und seinem Hydrochinon einerseits und zwei Molekülen Semichinon-Radikalanion andererseits stellt sich in alkali-

ation von Orcin (2) in wäßrigem Ammoniak auch in Spuren nicht nachweisen; setzt man (6) und (45) während der Reaktion zu, so isoliert man sie unverändert wieder.

6. Brenzkatechin, Resorcin, Hydrochinon und Phloroglucin reagieren in wäßriger Lösung bei Raumtemperatur in 30 min nicht mit Ammoniak. Aus Hydroxy-hydrochinon (60) erhält man aber in guter Ausbeute über Aminoresorcin (61) 2.4.2'.4'-Tetrahydroxydiphenylamin (62). Bei Luftzutritt wird die Lösung sofort tiefblau, und man erkennt am Absorptionsmaximum bei 615 m μ das

³⁹⁾ Vgl. A. F. Bickel u. H. R. Gersmann, Proc. chem. Soc. [London] 1957, 231; J. chem. Soc. [London] 1959, 2711; K. Ley, Angew. Chem. 70, 74 [1958]; J. J. Conradi u. G. A. McLaren, J. Amer. chem. Soc. 82, 4745 [1960].

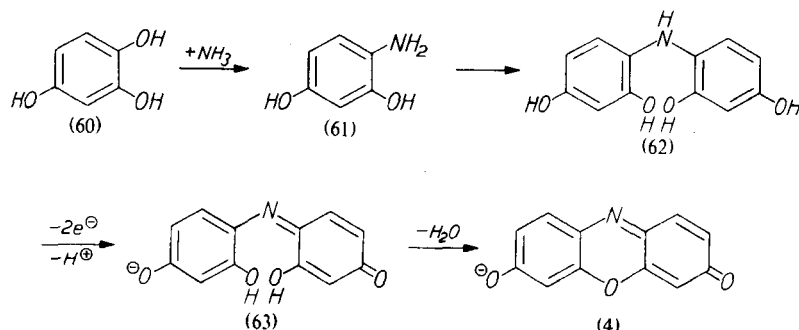
⁴⁰⁾ U. v. Gizecki, Diplomarbeit, Univers. Göttingen 1961.

⁴¹⁾ Analog der Zersetzung von Benzochinon-(1.4) in Alkali, vgl. H. Erdman, Z. Pflanzenernährung, Düngung und Bodenkunde 69, 38 [1955].

⁴²⁾ M. Eigen u. P. Matthies, Dissertation P. Matthies, Univers. Göttingen 1961.

⁴³⁾ M. S. Kharash u. B. S. Joshi, J. org. Chemistry 22, 1439 [1957]; K. Ley, E. Müller, R. Mayer u. K. Scheffler, Chem. Ber. 91, 2670 [1958]; H. S. Blanchard, J. org. Chemistry 25, 264 [1960].

Indophenol als Anion (63); beim Neutralisieren taucht unterhalb $pH = 10$ im Spektrum ein neues Maximum bei $574 m\mu$ auf, das dem Anion des 7-Hydroxy-phenoxazon-(2) (4) angehört²⁶). Löst man (4) in Alkali, so kann man die reversible Ringöffnung (4) \rightleftharpoons (63) spektroskopisch gut verfolgen; die Reaktion ist in bezug auf die Konzentration von (4) und OH^\ominus von erster Ordnung²³).



Reaktionsschema 4

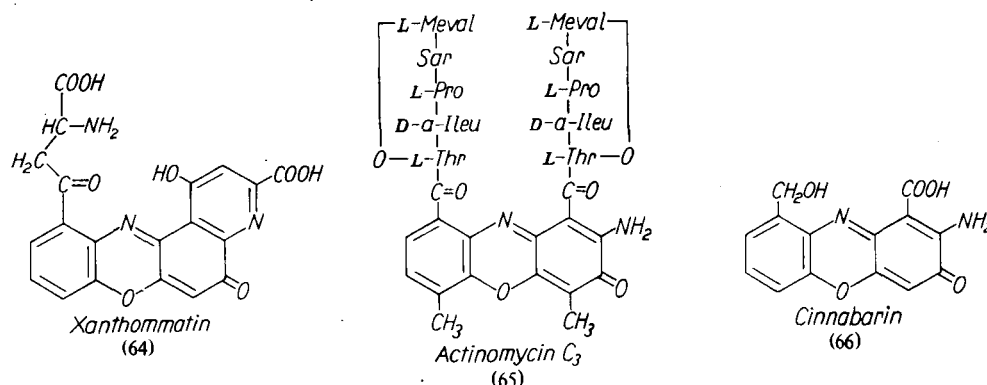
Die Versuche zur Aufklärung der Orcein-Reaktion sind noch nicht beendet, sie haben aber zur Entdeckung von zwei unerwarteten Reaktionen geführt (Reaktionsschemata 3 und 4), die auch präparatives Interesse besitzen. In der ersten Reaktion erfolgt eine C-C-Verknüpfung zwischen einem Semichinon-Radikal und einem Phenolat-Ion. Die zweite Reaktion, die leichte Substitution der ersten Hydroxy-Gruppe im Hydroxy-hydrochinon durch Ammoniak und Amine, ist kürzlich auch von R. Lantz und E. Michel⁴⁴) gefunden worden.

Erwähnt seien die erfolgreichen Versuche bei der Usninsäure⁴⁹), Picrolichninsäure⁵⁰), Asterinsäure⁵¹), beim Griseofulvin^{52, 53}) und Diploicin⁵⁴).

Ferner fällt auf, daß alle bisher bekannten natürlichen Phenoxazon-Farbstoffe, die Ommochrome (z.B. (64)) im Arbeitskreis von A. Butenandt⁵⁵), die Actinomycine (65) von H. Brockmann und seinen Mitarbeitern⁵⁶) und das Cinnabarin (66) von J. Gripenberg⁵⁷) und G. W. K. Cavill⁵⁸) erst kürzlich fast gleichzeitig und unabhängig voneinander als Derivate des Phenoxazons erkannt wurden. Die Bildung der Ommochrome und Actinomycine führt wie bei den Orcein- und Lackmusfarbstoffen zu komplizierten Gemischen, die sich nur durch Verteilungsverfahren in ihre Komponenten zerlegen

lassen. Die rasche Entwicklung der modernen Trennungsmethoden⁵⁹) in den letzten Jahren lieferte auch hier die Voraussetzung für die erfolgreiche Konstitutionsermittlung.

Zum Schluß mag man sich fragen, ob Orcein und Lackmus Naturfarbstoffe sind oder nicht. Eigentlich sind sie es nicht, denn sie werden von selbst weder in einer lebenden noch toten Zelle gebildet. Man ist also nur dann berechtigt, sie auch weiterhin, wie es in vielen Büchern geschah, als Naturstoffe zu führen, wenn man den Vorgang,



Schluß

Es ist historisch interessant, wie sich im vorigen Jahrhundert aus der Suche nach den farblosen Chromogenen der Orcein- und Lackmusfarbstoffe in den Flechten — man vermutete etwas ähnliches wie beim Indigo — die umfangreiche Chemie der Flechteninhaltsstoffe⁴⁵) entwickelt hat, ohne daß die Konstitution der Farbstoffe bekannt wurde, denen ursprünglich die Aufmerksamkeit gegolten hatte.

Flechteninhaltsstoffe sind bis heute ein reizvolles Forschungsgebiet geblieben⁴⁶). Durch Versuche, die Synthese dem angenommenen biologischen Bildungsweg^{47, 48}) mit Hilfe der Phenol-Oxydation geeigneter Vorstufen nachzuahmen, hat dieses Gebiet neue Anregungen bekommen.

⁴⁴) R. Lantz, C. R. hebdomadaire Séances Acad. Sci. 251, 2045 [1960]; R. Lantz u. E. Michel, ebenda 251, 2185, 2984 [1960].

⁴⁵) Y. Asahina u. S. Shibata: Chemistry of Lichen Substances, Tokyo 1954.

⁴⁶) C. H. Wachtmeister, Svensk chem. Tidskr. 70, 3 [1958].

⁴⁷) D. H. R. Barton u. T. Cohen, Festschrift Arthur Stoll, Birkhäuser-Verlag, Basel 1957, S. 117.

⁴⁸) H. Erdman u. C. A. Wachtmeister, ebenda, S. 144.

bei dem eine Orseille-Flechte z. B. mit Harn in Berührung kommt, als einen natürlichen bezeichnet.

Diese Arbeiten wurden mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Fonds der Chemischen Industrie ausgeführt, für die wir sehr herzlich danken.

Eingegangen am 19. Juni 1961 [A 156]

⁴⁹) D. H. R. Barton, A. M. Deflorin u. O. E. Edwards, J. chem. Soc. [London] 1956, 530.

⁵⁰) T. A. Davidson u. A. I. Scott, Proc. chem. Soc. [London] 1960, 390.

⁵¹) R. F. Curtis, C. H. Hassel, D. E. Jones u. T. W. Williams, J. chem. Soc. [London] 1960, 4838.

⁵²) A. C. Day, J. Nabney u. A. I. Scott, Proc. chem. Soc. [London] 1960, 284.

⁵³) C. H. Kuo, R. D. Hoffsommer, H. L. Slates, D. Taub u. N. L. Wendler, Chem. and Ind. 1960, 1627.

⁵⁴) C. J. Brown, D. E. Clark, W. D. Ollis, P. L. Veal, Proc. chem. Soc. [London] 1960, 393.

⁵⁵) A. Butenandt, Angew. Chem. 69, 16 [1957].

⁵⁶) H. Brockmann, ebenda 72, 939 [1960], 66, 1 [1954].

⁵⁷) J. Gripenberg, Acta chem. scand. 12, 603 [1958].

⁵⁸) G. W. K. Cavill, P. S. Clezy, J. R. Tetaz u. R. L. Werner, Tetrahedron 5, 275 [1959].

⁵⁹) Zusammenfassung: H. Musso, Naturwissenschaften 45, 97 [1958].