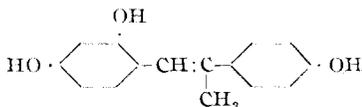


110. Fritz Wessely und Franz Prillinger: Die Konstitution des Equols.

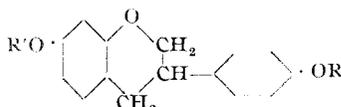
Aus d. II. Chem. Universitätslaborat. Wien.]
(Eingegangen am 13. Februar 1939.)

Das Equol wurde von Marrian¹⁾ aus Pferdeharn isoliert. Von diesem Autor stammen auch die ersten Untersuchungen über die Konstitution dieses Stoffes, die wir²⁾ in einer vor kurzem erschienenen Arbeit in einigen Punkten berichtigen konnten.

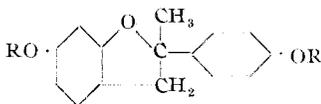
Das wesentliche Ergebnis unserer Versuche war der Nachweis, daß dem zuerst von uns bei der Kalischmelze des Equols erhaltenen primären Abbauprodukt die Konstitution I zukommt.



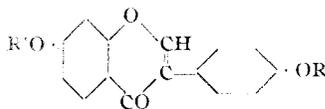
I.



- II. R = R' = H
IIa. R = CH₃ R' = H
IIb. R = R' = CH₃
IIc. R = R' = COCH₃



- III. R = H
IIIa. R = CH₃



- IV. R = R' = H
IVa. R = CH₃ R' = H
IVb. R = R' = CH₃

Es blieben somit für das Equol nur mehr die Konstitutionsformeln II und III zur Diskussion.

Am sichersten ist zwischen diesen beiden Möglichkeiten durch die Synthese der in Betracht kommenden Verbindungen zu entscheiden. Da wir, wie schon in unserer ersten Mitteilung ausgeführt, die Formel II für die wahrscheinlichste hielten, haben wir diese Verbindung zuerst synthetisiert. Einen einfachen Weg zur Gewinnung der als 3-[4-Oxy-phenyl]-7-oxy-chroman oder kürzer als 7,4'-Dioxy-isoflavan zu bezeichnenden Verbindung, die mit den bisher zur Synthese von Isoflavanderivaten angewandten Methoden nicht erhalten werden konnte, fanden wir in der katalytischen Hydrierung der Isoflavone. Über die ersten Versuche wurde kürzlich von uns berichtet³⁾. Als Katalysator verwendeten wir einen in bestimmter Weise bereiteten Palladium-Tierkohle Katalysator.

¹⁾ Biochem. Journ. **26**, 1227 [1932]; **29**, 1586 [1935].

²⁾ F. Wessely, H. Hirschel, G. Schlögl-Petziwal u. F. Prillinger, Monatsh. Chem. **71**, 215 [1938].

³⁾ F. Wessely u. F. Prillinger, Monatsh. Chem. **71**, 215 [1938]. Hr. Prillinger hat auch eine Reihe anderer Isoflavone, Flavanone und Chromone auf die gleiche Weise zu den gesättigten Verbindungen reduziert und wird demnächst darüber berichten. Kürzlich hat auch John (B. **71**, 2637 [1938]) auf ähnliche Weise Chroman-derivate erhalten.

So wurden Daidzein (IV)⁴⁾, Formononetin (IVa)⁵⁾ und Dimethyl-daidzein (IVb) zu II, IIa und IIb hydriert. Über die Konstitution der bei der Hydrierung erhaltenen Stoffe kann kein Zweifel bestehen; es müssen in ihnen Isoflavanverbindungen vorliegen. Durch Methylierung von II oder IIa wurde IIb erhalten. Die Acetylierung von II lieferte IIc. Die synthetisch erhaltenen Verbindungen II, IIb und IIc waren also mit dem Equol bzw. mit dessen Dimethyläther oder Diacetylderivat zu vergleichen. Ein direkter Vergleich ist wegen der optischen Aktivität des Equols nicht ohne weiteres möglich.

Versuche, das Equol zu racemisieren, hatten keinen Erfolg. Dann versuchten wir eine Spaltung der synthetischen Produkte in die optischen Antipoden durchzuführen, kamen aber auch hier wegen der Bildung von partiellen Racematen nicht zum Ziel. Wir wollen damit nicht sagen, daß es bei Anwendung anderer optisch aktiver Acyle, als der von uns verwendeten *l*-Menthyl-essigsäure nicht doch möglich sei, die Spaltung durchzuführen. Material- und Zeitmangel zwangen uns aber, einen anderen naheliegenden Weg einzuschlagen.

Es wurden die U.-V.-Absorptionsspektren der vergleichbaren synthetischen und natürlichen Verbindungen aufgenommen⁶⁾. Beim Vergleich des synthetischen und natürlichen Equols zeigte sich keine völlige Identität der Kurven. Die Maxima und Minima lagen wohl bei den gleichen Wellenlängen, jedoch waren die log K %, die die Stärke der Absorption darstellen, nicht genau gleich groß. Das hat sicherlich seinen Grund in einer schwer zu entfernenden Verunreinigung, worauf auch der Schmelzpunkt und die Analyse des synthetischen Equols hindeuten. Die Dimethyl- und Diacetylderivate sind leichter zu reinigen und bei diesen Verbindungen zeigt sich auch (Abbild. 1 u. 2) völlige Identität der Absorptionskurven. Es war also schon auf Grund der Absorptionsspektren mit der größten Wahrscheinlichkeit für das Equol die Formel II anzunehmen. Im folgenden führen wir noch Versuche an, die ebenfalls Beweise für diese Formel darstellen.

Wir unterwarfen das natürliche Equol und die Verbindung IIIa der Chromsäureoxydation nach R. Kuhn und Roth⁷⁾. Die Verbindung III, 2-Methyl-2-[4-oxy-phenyl]-6-oxy-cumaran, entsteht, wie wir gefunden haben²⁾, als Racemat beim Erhitzen des Stilbenderivates I. Nur eine Gruppierung, wie sie IIIa in Stellung 2 aufweist, kann bei der Chromsäureoxydation Essigsäure liefern. Wir überzeugten uns vorerst davon, daß *p*-Methoxy-acetophenon, ein mögliches Zwischenprodukt bei der Oxydation von IIIa, zum Unterschied von Acetophenon quantitativ ein Mol. Essigsäure liefert. Der weitere Befund, daß nach der Methode von Kuhn und Roth das natürliche Dimethylequol keine Essigsäure liefert, während die Verbindung IIIa quanti-

⁴⁾ Konst.-Aufklärung: E. Walz, A. 489, 118 [1931]. Synthese: W. Baker, R. Robinson u. N. M. Simpson, Journ. chem. Soc. London 1933, 274; F. Wessely, L. Kornfeld u. F. Lechner, B. 66, 685 [1933].

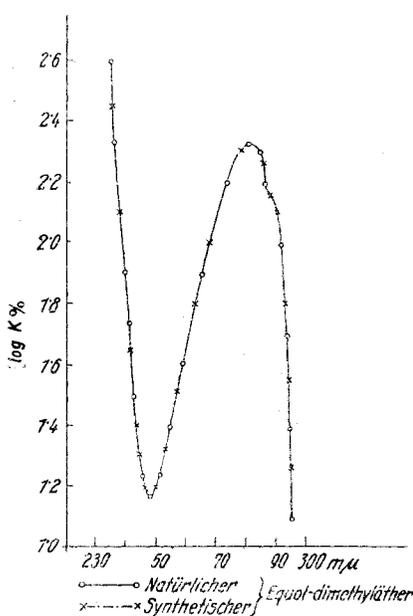
⁵⁾ Konst.-Aufklärung: F. Wessely, F. Lechner u. K. Dinjaski, Monatsh. Chem. 63, 201 [1933]. Synthese: F. Wessely, L. Kornfeld u. F. Lechner, l. c.

⁶⁾ Wir verdanken die Aufnahmen der Freundlichkeit der HHrn. Dozent Dr. Fuchs u. Magister Siersch vom Pharmakognost. Institut Wien.

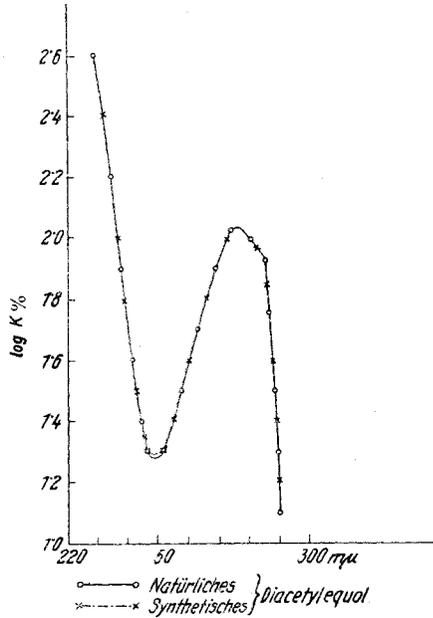
⁷⁾ B. 66, 1274 [1933].

tativ ein Mol. davon ergab, erlaubt daher die Formel III für das Equol auszuschließen.

Zu dem gleichen Ergebnis führt die Tatsache, daß die Verbindung III eine geringere Stabilität als das Equol besitzt. Während dieses im Hochvakuum unzersetzt sublimierbar ist, erhält man bei demselben Vorgehen aus III immer einen geringen Bruchteil Resorcin und einen noch nicht genau untersuchten Rückstand.



Abbild. 1.



Abbild. 2.

Außerdem wird die Formel II für das Equol noch gestützt durch den Vergleich des natürlichen Diacetyluols mit der synthetischen Verbindung IIc. Beide Verbindungen schmelzen bei 128⁰ und ergeben in der Mischung keine Depression.

Bei der Konstitutionsbestimmung der Isoflavane wird es also in Zukunft genügen, auf Grund der sichergestellten Konstitution des Stilbenderivates, das entsprechende Isoflavon zu hydrieren. Dann ist nur das U.-V.-Spektrum des so erhaltenen synthetischen, racemischen Isoflavans mit dem wahrscheinlich optisch aktiven Naturstoff zu vergleichen. Die Berechtigung dazu ergibt sich nicht nur aus den hier mitgeteilten Ergebnissen, sondern auch aus Messungen über die U.-V.-Spektren vergleichbarer Chroman- und Cumaranderivate, über die später berichtet wird. Sie zeigen, daß, wenn auch nicht bedeutende, so doch außerhalb der Fehlergrenzen liegende Unterschiede in den U.-V.-Spektren dieser beiden Verbindungsklassen vorliegen. Ähnliches hat auch E. John⁸⁾ im Laufe seiner Untersuchungen über das Vitamin E gefunden. P. Karrer⁹⁾

⁸⁾ B. 71, 2637 [1938]. Ztschr. physiol. Chem. 257, 173 [1939]. Erschienen nach Absendung dieser Arbeit. ⁹⁾ Helv. chim. Acta 21, 942 [1938]

gibt allerdings an, daß „Cumaran- und Chromanverbindungen analoger Struktur praktisch identische Absorptionsspektren besitzen“.

Das Equol ist der erste aus einem natürlichen Vorkommen isolierte Vertreter der Isoflavane. Wir wissen allerdings nicht, ob das Equol nicht erst im Tierkörper durch Hydrierung des entsprechenden Isoflavons Daidzein entstanden ist.

Beschreibung der Versuche.

Die zur Hydrierung verwendeten Präparate von Daidzein, Formononetin und Dimethyl-daidzein wurden nach den Angaben von F. Wessely und Mitarb.⁴⁾ synthetisch dargestellt. Die Hydrierungen wurden, wie in der ersten Arbeit angegeben³⁾, mit einem bestimmten Palladium-Tierkohle-Katalysator ausgeführt und auf die gleiche Weise aufgearbeitet. Im folgenden geben wir bei den Hydrierungen nur die Menge der Substanz, des Lösungsmittels und des Katalysators an. Ferner den berechneten und beobachteten Verbrauch an Wasserstoff. (Die Angaben beziehen sich auf 0° und 760 mm.)

Hydrierung des Daidzeins.

0.0652 g Sbst., 0.05 g Pd-Tierkohle, 30 ccm Eisessig. Ber. 17.39 ccm Wasserstoff. Gef. 16.54 ccm Wasserstoff (Hydrierungsdauer 2 Stdn. 45 Min.). Bei der Destillation in sehr gutem Vakuum ging die Substanz bei 190° als farbloses, langsam krystallisierendes Öl über. Aus verd. Alkohol umgelöst, schmilzt sie bei 158° (Sintern ab 156.5°).

5.277 mg Sbst.: 14.440 mg CO₂, 2.840 mg H₂O.
C₁₅H₁₄O₃. Ber. C 74.35, H 5.83. Gef. C 74.64, H 6.02.

Wie aus der Analyse und aus dem Absorptionsspektrum hervorgeht, war die Substanz nicht völlig rein. Es wurden deshalb das Dimethyl- und Diacetylderivat hergestellt, die sich beide leicht reinigen lassen.

10 mg des obigen Hydrierungsproduktes wurden mit überschüss. Diazomethan versetzt und 2 Tage stehen gelassen. Nach der Entfernung des nicht methylierten Teils mit 1-n. NaOH und Destillation des neutralen Rückstandes in sehr gutem Vakuum schmolz der Dimethyläther, aus Alkohol umgelöst, bei 116°, Sintern ab 114°. Mit dem Hydrierungsprodukt von Dimethyl-daidzein wurde keine Depression des Schmp. beobachtet.

32 mg Sbst. wurden mit 0.5 ccm trockenem Pyridin und 1 ccm Essigsäure-anhydrid bei Zimmertemperatur 2 Tage stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung und 2-maligem Umlösen aus Alkohol wurden 32 mg des Diacetylproduktes erhalten, das scharf bei 128° schmolz. Mit dem natürlichen Diacetyl-equol gleichen Schmelzpunktes ergab es keine Depression.

Hydrierung des Dimethyl-daidzeins.

0.2099 g Sbst., 0.08 g Pd-Tierkohle, 35 ccm Eisessig. Ber. 50.1 ccm Wasserstoff. Gef. 49.0 ccm Wasserstoff (Hydrierungsdauer 2 Stdn. 25 Min.). Nach der Destillation im sehr guten Vakuum bei 140–150° Badtemperatur

und Umlösen aus Alkohol wurden glänzende Blättchen erhalten, die bei 117° schmelzen, Sintern ab 116°.

5.405 mg Sbst.: 14.96 mg CO₂, 3.24 mg H₂O. — 1.909 mg Sbst.: 2.54 ccm *n*₃₀-Thiosulfat.

C₁₇H₁₈O₃. Ber. C 75.52, H 6.72, OCH₃ 22.97. Gef. C 75.49, H 6.71, OCH₃ 22.95.

C-Methylgruppen-Bestimmung.

Zunächst wurde das *p*-Methoxy-acetophenon auf sein Verhalten bei der C-Methylgruppen-Bestimmung nach Kuhn und Roth geprüft, da Acetophenon selbst dabei nur 10% der berechneten Menge Essigsäure liefert. Es zeigte sich aber, daß aus der erstgenannten Substanz quantitativ 1 Mol. Essigsäure gebildet wird.

p-Methoxy-acetophenon.

4.536 mg Sbst.: 3.21 ccm *n*₁₀₀-NaOH.

C₉H₁₀O₃. Ber. CH₃ 10.00. Gef. CH₃ 10.62.

Verbindung IIIa.

8.091 mg Sbst.: 2.69 ccm *n*₁₀₀-NaOH.

C₁₇H₁₈O₃. Ber. CH₃ 5.55. Gef. CH₃ 5.00.

Natürlicher Equol-dimethyläther.

8.920 mg Sbst.: 0.27 ccm *n*₁₀₀-NaOH.

C₁₇H₁₈O₃. Ber. CH₃ 5.55. Gef. CH₃ 0.46.

Entmethylierung von Equol-dimethyläther.

Es wird vielleicht für spätere Konstitutionsbestimmungen der Isoflavane von Wert sein, unsere Versuche über die Entmethylierung von Equol-dimethyläther mitzuteilen. Wir haben die verschiedensten Reagenzien (HJ, HBr, AlCl₃, AlBr₃) ohne Erfolg durchprobiert, bis wir in den Grignardschen Verbindungen ein geeignetes Reagens für die Entmethylierung fanden¹⁰).

0.1 g natürlicher Equol-dimethyläther wurde mit einer Grignard-Lösung versetzt, die aus 0.036 g Mg + 0.23 g Äthyljodid in 10 ccm absol. Äther bereitet worden war. (Auf 1 Mol. Dimethyläther wurden 4 Mol. Grignard-Reagens angewandt.) Der Äther wurde unter Feuchtigkeitsausschluß abgedampft und der Rückstand langsam im Metallbad auf 180° erhitzt. Anfangs blähte sich die Masse stark auf und fiel dann zusammen; die Temperatur wurde so lange auf 180° gehalten, bis keine Gasentwicklung mehr zu sehen war (etwa 1/4 Stde.). Nach dem Erkalten wurde mit Ammoniumchlorid-Lösung zersetzt und ausgeäthert. Die phenolischen Anteile wurden daraus mit 10-proz. NaOH ausgeschüttelt; es blieben noch 50 mg des unveränderten Ausgangsmaterials zurück. Der Laugenauszug wurde mit HCl angesäuert, wobei eine milchige Trübung entstand, aus der sich bald spießige Krystalle ausschieden. Nach dem Ausschütteln mit Äther wurde der Rückstand im sehr guten Vakuum destilliert. Nach einem ganz geringen Vorlauf ging die Hauptmenge bei 170—180° als farbloses Öl über. Dieses ließ sich aus Alkohol unter Wasserzusatz in rein weißen Krystallen erhalten. Ausb. 35 mg; Schmp. 192° (Sintern ab 190°). Mit Equol ergab dieses Entmethylierungsprodukt keine Depression des Schmelzpunktes.

¹⁰) E. Späth, Monatsh. Chem. **35**, 319 [1914].