

*Oxydation von IV zur Säure C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>*: Eine Suspension von 0.26 g IV in 50 ccm Eisessig wird unter Rühren mit 1.4 ccm einer 5-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt. Unter weiterem Rühren löst sich IV im Verlauf von 1–2 Stdn. auf. Nach Zusatz von 2.5 ccm 10-proz. Natronlauge wird i. Vak. zur Trockene gedampft. Der Rückstand wird mit Hydrogencarbonatlösung ausgezogen. Die beim Ansäuern der Lösung mit verd. Salzsäure erhaltene Fällung wird abfiltriert und mehrmals aus Toluol umkristallisiert. Ausb. 0.17 g (58 % d. Th.), Schmp. 171 – 172° (Zers.).

C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub> (292.3) Ber. C 65.74 H 4.14 N 19.17 Gef. C 65.53 H 4.19 N 18.90

Führt man dieselbe Reaktion in der Siedehitze durch, so wird die Verbindung zu Benzoesäure abgebaut.

*Spaltung von II*: 700 mg II und 1 g roter Phosphor werden 9 Stdn. in einem Gemisch aus 20 ccm Acetanhydrid-Jodwasserstoffsäure (d 1.7) (1:1) gekocht. Nach Abfiltrieren des Phosphors werden die Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird in einigen ccm verd. Salzsäure aufgenommen. Die salzsaure Lösung wird zur Entfernung öligter Anteile von benzolartigem Geruch mit Äther ausgeschüttelt und darauf mit festem NaHCO<sub>3</sub> bis *p*<sub>H</sub> 6 versetzt, wobei 5-Phenyl-1.2.3-triazol ausfällt. Ausb. 89 mg (33 % d. Th.). Das aus Wasser umkristallisierte Triazol schmilzt bei 145° und gibt mit auf anderem Wege erhaltenem Produkt<sup>9)</sup> keine Schmelzpunktsdepression.

C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub> (145.2) Ber. C 66.17 H 4.86 N 28.94 Gef. C 65.96 H 5.07 N 28.89

In dem beim Abtrennen dieser Verbindung erhaltenen Filtrat läßt sich durch Zusatz von Lauge Ammoniak nachweisen.

## WOLFGANG GRASSMANN, HORST ENDRES, RUDOLF BROCKHAUS und KURT MERKLE

### Über die Gerbstoffe der Fichtenrinde, V<sup>1,2)</sup>

#### OXYDATIVE SPALTUNG DES GLUCOSIDES „E“

Aus dem Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung, München  
(Eingegangen am 10. Juli 1957)

In dem Glucosid „E“ aus Fichtenrindengerbstoff wird die Lage der zwei Glucosemoleküle weitgehend geklärt. Beide Moleküle sind als Monosen an zwei der fünf aromatischen Hydroxylgruppen gebunden, und zwar an zwei verschiedenen, durch die Stilbendoppelbindung getrennten aromatischen Ringen. In der einen Hälfte des Hydroxystilben-Gerüsts, die den Protocatechusäure-Rest enthält, muß die Glucose an der 3-ständigen Hydroxylgruppe angeordnet sein.

Aus dem Bast frisch gefällter Fichten kann durch Extraktion mit Essigester ein niedrigmolekulares, vollkommen farbloses Gerbstoffgemisch mit Anteilzahlen von

<sup>9)</sup> E. OLIVERI-MANDALÀ und A. COPPOLA, *Gazz. chim. ital.* **40** II, 440 [1910].

<sup>1)</sup> III. Mittel.: W. GRASSMANN, H. ENDRES, W. PAUCKNER und H. MATHES, *Chem. Ber.* **90**, 1125 [1957].

<sup>2)</sup> IV. Mittel.: H. ENDRES, *Das Leder* **8**, 222 [1957].

80–89 gewonnen werden<sup>3,4)</sup>. Der so gewonnene Gerbstoff ist ein Glucosidgemisch mit etwa 30% gebundenem Zucker. Durch Auftrennung an einer Kieselgel-Cellulose-Säule haben wir fünf Komponenten erhalten, davon die mengenmäßig stärkste Fraktion „E“ (35%) in kristalliner Form<sup>3)</sup>. In gleich guter Ausbeute kann dieses Glucosid, wenn es, was nicht immer der Fall ist, in normaler Menge vorhanden ist, auch durch Animpfen des Glucosidgemisches mit Kristallkeimen von „E“ auskristallisiert werden, womit die Darstellung eine wesentliche Vereinfachung erfährt. Durch Abspaltung von 2 Glucoseresten mittels des Enzymgemisches aus *Aspergillus oryzae*<sup>5)</sup> konnte das gleichfalls kristalline „Aglucon M“ erhalten werden<sup>3)</sup>. Das gleiche Aglucon haben wir auch aus dem durch enzymatische Spaltung der Gesamtglucoside erhaltenen Aglucongemisch durch Säulenchromatographie an dem schon für die Trennung der Glucoside verwendeten System und in jüngster Zeit mit wesentlich besserem Ergebnis an einer Polyamidsäule<sup>1)</sup> erhalten.

Für das zu dem Glucosid „E“ gehörende Aglucon „M“ ergibt sich die Summenformel  $C_{18}H_{16-18}O_5$ <sup>3)</sup>. Die Darstellbarkeit von Pentaacylverbindungen, wie des Pentakis-[*p*-brom-benzoyl]-aglucons<sup>3)</sup> und des Pentaacetyl-aglucons<sup>6)</sup>, sowie das UV-spektroskopische Verhalten schließen eine Katechinnatur dieser Gerbstoffkomponente aus. Wegen der Anwesenheit einer Doppelbindung und der Ähnlichkeit des UV-Spektrums mit dem des 4,4'-Dihydroxy-3,3'-dimethoxy-stilbens<sup>7)</sup> haben wir für das Aglucon ein Hydroxystilben-Gerüst für wahrscheinlich gehalten. Durch Spaltung mit Permanganat konnte aus der Acetylverbindung nach Entacetylierung Protocatechusäure in guten Ausbeuten isoliert werden. Als zweites Spaltprodukt wurde eine weitere Phenolcarbonsäure der Formel  $C_{11}H_{10-12}O_5$  aufgefunden, die durch Decarboxylierung ein Phenol der Formel  $C_{10}H_{10-12}O_3$  bildet<sup>6)</sup>. Wir hoffen über deren Konstitution in Kürze berichten zu können.

Im Aglucon  $C_{18}H_{16-18}O_5$  war bisher nur der Charakter von drei Hydroxylgruppen durch Darstellung des Trimethoxy-glucosides mit Diazomethan als phenolisch gesichert<sup>3)</sup>. Aus den im folgenden mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß es sich auch bei den beiden restlichen Hydroxylgruppen um phenolische handelt. Zugleich erweist es sich, daß die beiden Glucosereste des Glucosids an zwei verschiedenen, durch die Stilbendoppelbindung getrennten aromatischen Kernen gebunden sind.

Das Glucosid gibt mit Diazomethan und mit Dinitrofluorbenzol (DNFB) ein Trimethoxy-glucosid bzw. ein Tris-dinitrophenyl\*)-glucosid. Aus beiden Derivaten kann durch Säurehydrolyse die Glucose abgespalten werden, und durch eine nochmalige Einwirkung von Diazomethan auf die DNP-Verbindung bzw. von DNFB auf die Methoxyverbindung erhält man das Tris-DNP-dimethoxy-aglucon, in dem

3) W. GRASSMANN, G. DEFFNER, E. SCHUSTER und W. PAUCKNER, Chem. Ber. 89, 2523 [1956].

4) E. SCHUSTER, Dissertat. Univ. München 1951.

5) W. GRASSMANN und H. RUBENBAUER, Münchener med. Wschr. 78, 1817 [1931]; W. GRASSMANN, K. MAYER und E. WALDSCHMIDT-LEITZ, Aerztl. Forsch. 4, 1/17 [1950].

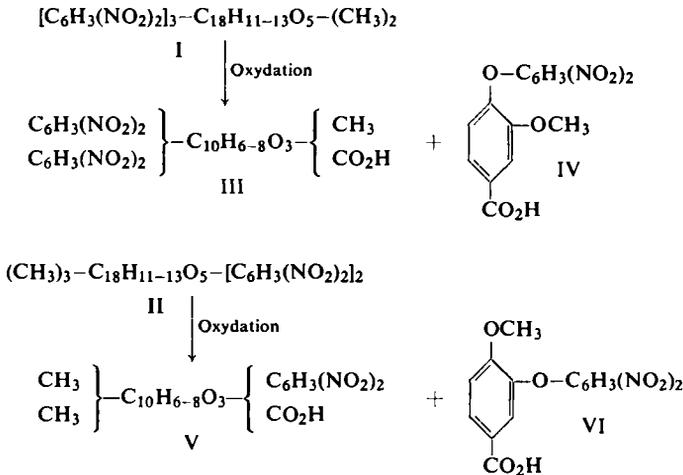
6) W. GRASSMANN, H. ENDRES und W. PAUCKNER, in Vorbereitung.

7) H. RICHTZENHAIN und C. v. HOFE, Ber. dtsh. chem. Ges. 72, 1890 [1939]; A. W. SOHN und H. MUNDER, Holzforschung 9, Heft 6, 161 [1955].

\*) Im folgenden abgekürzt DNP.

die ursprünglich freien Hydroxylgruppen dinitrophenyliert und die ursprünglich von Glucose besetzten Hydroxylgruppen methyliert sind, und das Trimethoxy-bis-DNP-aglucon, bei dem die Hydroxylgruppen im umgekehrten Sinne besetzt sind. Aus diesen Befunden ergibt sich bereits eindeutig, daß die zwei Moleküle Glucose als Monosen glucosidisch mit je einer phenolischen Hydroxylgruppe verknüpft sind. Daß sie zwei verschiedenen, durch die Doppelbindung getrennten aromatischen Ringen angehören müssen, ergibt sich aus der oxydativen Spaltung.

Durch Oxydation der teils methylierten, teils dinitrophenylierten Aglucone mit Kaliumpermanganat werden, ebenso wie bei der erwähnten Oxydation der Pentaacetylverbindung, einerseits entsprechend substituierte Derivate der Protocatechusäure, andererseits Derivate der Phenolcarbonsäure  $C_{11}H_{10-12}O_5$  erhalten. Das  $C_{11}$ -Bruchstück aus dem Tris-DNP-dimethoxy-aglucon (I) ist eine Bis-DNP-monomethoxy-carbonsäure (III), dasjenige aus dem Trimethoxy-bis-DNP-aglucon (II) eine Dimethoxy-mono-DNP-carbonsäure (V).



Das von der Protocatechusäure abgeleitete Spaltstück aus I konnte als DNP-Vanillinsäure (Schmp.  $185^\circ$ ), dasjenige aus II als DNP-Isovanillinsäure (Schmp.  $160^\circ$ ) identifiziert werden. Die Identifizierung erfolgte dabei einerseits durch Misch-Schmp. mit authentischem Material, andererseits durch Vergleich der UV-Spektren.

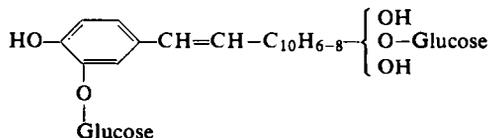
In ätherischer Lösung stimmen die UV-Spektren der DNP-Vanillinsäure und der DNP-Isovanillinsäure sowohl untereinander, wie mit den aus I und II erhaltenen Spaltstücken überein; beide haben Maxima bei  $228\text{m}\mu$  und  $280\text{m}\mu$ . Einen scharfen Unterschied zeigen jedoch die UV-Spektren im alkalischen oder sauren Medium. In beiden Medien hat das Spaltstück VI und synthet. DNP-Isovanillinsäure bei  $260\text{m}\mu$  ein starkes Maximum, während sowohl die synthetische DNP-Vanillinsäure wie auch das von uns als solche angesprochene Spaltstück IV das gleiche Spektrum aufweisen und kein hervortretendes Maximum zeigen.

Ein Versuch, die DNP-Gruppen abzuspalten und so zu Vanillinsäure und Isovanillinsäure zu gelangen, scheiterte. Selbst durch 12 stdg. Kochen in 50-proz. Kalilauge wurden die DNP-Verbindungen kaum nennenswert gespalten. Wir haben

deshalb über ein drittes, gemischt substituiertes Agluconderivat noch einen weiteren Beweis für die *m*-Stellung der Glucose in der Protocatechusäurehälfte des Aglucons erbracht.

Aus dem Trimethoxy-glucosid läßt sich nach Abspaltung des Zuckers und darauf folgender Acetylierung das Trimethoxy-diacetyl-aglucon darstellen. Nach Oxydation und Entacetylierung haben wir papierchromatographisch Isonavillinsäure nachweisen können, wie dies zu erwarten war, wenn die Glucose in *m*-Stellung verknüpft ist.

Nach dem jetzigen Stand unserer Untersuchungen können wir für das Glucosid folgende Formel angeben:



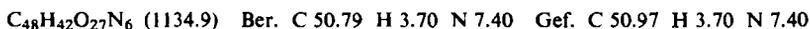
Die Aufklärung der Konstitution des C<sub>11</sub>- bzw. des C<sub>10</sub>-Spaltstückes und der Lage des zweiten Glucosemoleküls ist Gegenstand weiterer Arbeiten.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Darstellung des Glucosidgemisches erfolgte nach den früher gemachten Angaben<sup>3)</sup>.

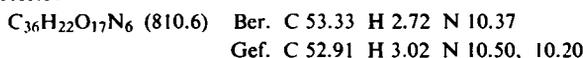
*Direktkristallisation des Glucosides „E“:* 10 g von Essigester befreites Rohprodukt wurde in 10 ccm siedendem Wasser gelöst. Das Wasser war zuvor 20 Min. gekocht worden; während dieser Zeit wurde langsam ein Strom von Kohlendioxyd durchgeleitet, der vorher eine mit leicht angefeuchtetem Natriumhydrogensulfit beschickte Waschflasche passiert hatte und demzufolge Spuren von Schwefeldioxyd enthielt. Nach dem Abkühlen wurden einige Kristallkeime verrührt. Nach einigem Stehenlassen schied sich ein dicker Niederschlag ab, der mit wenig eiskaltem Wasser verrührt, in der Kältezentrifuge bei 0° abzentrifugiert und, wie beschrieben, umkristallisiert wurde. Ausb. 3.52 g (35.2 % des eingesetzten Rohextraktes). Schmp. 227°. Der Misch-Schmp. mit dem durch Säulentrennung erhaltenem Glucosid zeigte keine Depression.

*Tris-DNP-glucosid:* 1 g *Glucosid E* wurde in 20 ccm warmem Wasser gelöst und mit 150 ccm 1-proz. alkohol. DNFB-Lösung und 30 ccm gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Das bereits nach wenigen Minuten ausgefallene Produkt wurde 3 Stdn. unter häufigem Umschütteln stengelassen, abgenutscht und der Niederschlag mit Eisessig und Alkohol zur Beseitigung von Natriumhydrogencarbonat und überschüssigem DNFB gewaschen. Ausb. 1.43 g (80 % d. Th.). Zur weiteren Reinigung wurde in Essigester gelöst und soviel Alkohol zugegeben, bis gerade eine Trübung entstand. Nach weitgehendem Verjagen des Lösungsmittels i. Vak. wurden blaßgelbe Kristalle erhalten, die in Essigester, Aceton, Dioxan und Tetrahydrofuran gut, in Alkohol, Eisessig und Äther schwer löslich sind. Nach zweimaliger Umkristallisation wurde ein Schmp. von 155° gefunden, der sich bei nochmaliger Umkristallisation nicht erhöhte. Analyse berechnet auf 3 DNP-Reste:

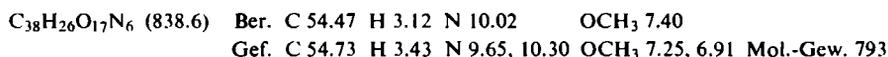


*Tris-DNP-aglucon:* 1 g *dinitrophenyliertes Glucosid* wurde in 500 ccm Eisessig in der Hitze gelöst, 450 ccm 2.5-proz. Salzsäure zugegeben und weitere 3 Stdn. erhitzt. Beim Abkühlen fiel das Produkt aus, es konnte nicht kristallin erhalten werden. Ausb. 710 mg (99 % d. Th.)

eines beige gefärbten, in Aceton und Dioxan leicht, in Eisessig und Äther schwer löslichen, in Wasser unlöslichen amorphen Produktes. Mit Eisen(III)-chlorid schwach grüne Färbung. Bei nochmaligem Verseifen konnte kein Zucker nachgewiesen werden. Analyse berechnet auf drei DNP-Reste:



*Tris-DNP-dimethoxy-aglucon (1)*: 1 g *Tris-DNP-aglucon* wurde in 100 ccm Tetrahydrofuran gelöst und mit 100 ccm äther. *Diazomethan*-Lösung, aus 10 g Nitrosomethylharnstoffentwickelt, versetzt. Nach zweitägigem Stehenlassen wurde i. Vak. zur Trockne eingedampft. Zur Umkristallisation wurde in wenig Tetrahydrofuran gelöst und langsam ein großer Überschuß von Äther zugegeben. Das methylierte Produkt fiel als braunroter krist. Niederschlag aus, der nach zweimaliger Umkristallisation einen Schmp. von 200–210° (Zers.) aufwies. Ausb. 986 mg (95.3 % d. Th.).



*Oxydative Spaltung der Tris-DNP-dimethoxy-Verbindung*: 500 mg der DNP-Methoxyverbindung wurden in 300 ccm Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 500 mg Kaliumpermanganat in 300 ccm Eisessig versetzt. Nach zehnmütigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurden das überschüssige Permanganat und das gebildete Mangandioxyd durch Zugabe von Natriumpyrosulfit zerstört. Die klare hellgelbe Lösung wurde i. Vak. zur Trockne gebracht und der Rückstand mit 10 ccm 25-proz. Salzsäure aufgenommen und mit Äther, Essigester und Dioxan erschöpfend ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge wurden über Natriumsulfat getrocknet, i. Vak. zur Trockne gebracht und der gelbbraune Rückstand 24 Stdn. über Kaliumhydroxyd getrocknet. Ausb. 500 mg.

*Trennung der Oxydationsprodukte*: Die Isolierung der Oxydationsprodukte konnte auf zwei verschiedenen Wegen erreicht werden.

1. *Säulenchromatographische Trennung*. Verwendet wurde eine gepufferte Celite-Säule ( $p_H$  6), die nach der Vorschrift von J. PERRONE<sup>8)</sup> hergestellt wurde. Füllhöhe 30 cm, Durchmesser 13 mm. 500 mg der zu trennenden Substanz wurden in 5 ccm Essigester gelöst und, mit 10 ccm Chloroform versetzt, auf die Säule gegeben. Beim Eluieren mit Chloroform wanderte eine gelbe Fraktion mit einem  $R_F$ -Wert von 0.7, während an der Auftragstelle eine braune Substanz sitzen blieb, die nach Elution der 1. Fraktion mit Essigester ausgewaschen werden konnte. Ausb. der Fraktion 1: 175 mg (94.6 % d. Th., bezogen auf DNP-Methoxyprotocatechusäure). Durch Lösen in Chloroform und langsames Einengen des Lösungsmittels wurden lange hellgelbe Nadeln vom Schmp. 185° erhalten. Fraktion 2: 267 mg (78 % d. Th., bezogen auf eine Bis-DNP-monomethoxy-Verb. mit einem Stammkörper  $\text{C}_{11}\text{H}_{10-12}\text{O}_5$ ).

2. *Trennung auf Grund von Löslichkeitsunterschieden*. 500 mg Oxydationsprodukt wurden in 70 ccm 0.1*n* NaOH gelöst und die Lösung mit konz. Salzsäure bis  $p_H$  2 versetzt. Es fiel ein rotbrauner amorpher Niederschlag aus, der abfiltriert und mehrmals mit 20-proz. Salzsäure gewaschen wurde. Ausb. 250 mg. Das hellgelbe Filtrat wurde auf 20 ccm eingeeengt und von dem entstandenen Niederschlag, der mit dem ersten vereinigt wurde, nochmals abfiltriert und dann zur Trockne gebracht.

Aus dem gelben, mit Natriumchlorid verunreinigten Rückstand des Filtrates konnten durch Lösen in Chloroform, Abfiltrieren und langsames Einengen des Lösungsmittels lange hellgelbe Nadeln vom Schmp. 185° erhalten werden, die mit Fraktion 1 der säulenchromato-

<sup>8)</sup> Nature [London] **167**, 513 [1951].

graphischen Trennung identisch waren. Ausb. 155 mg (79.4 % d. Th.). Die Analyse wurde auf DNP-Monomethoxy-protocatechusäure berechnet.

$C_{14}H_{10}O_8N_2$  (334.2) Ber. C 50.32 H 3.02 N 8.38  $OCH_3$  9.29  $CO_2H$  13.1

Gef. C 50.56 H 3.03 N 8.33  $OCH_3$  8.74  $CO_2H$  13.0 Mol.-Gew. 360

Die Verbindung ist gut löslich in Aceton und Essigester. Der Misch-Schmp. mit synthetischer *DNP-Vanillinsäure (IV)*, dargestellt aus Vanillinsäure und DNFB, wie beim Tris-DNP-glucosid beschrieben, zeigte keine Depression. Der Misch-Schmp. mit synthetischer DNP-Isovanillinsäure zeigte eine Depression. Die Isovanillinsäure wurde nach der Vorschrift von E. FISCHER und K. FREUDENBERG<sup>9)</sup> dargestellt und, wie beschrieben, mit DNFB umgesetzt.

Das zweite Oxydationsprodukt, der rotbraune Niederschlag, identisch mit der Fraktion 2 der säulenchromatographischen Trennung, konnte aus Essigester umkristallisiert werden und ergab rotbraune Kristalle vom Schmp. 112°. Ausb. 250 mg (73 % d. Th.). Analyse berechnet auf ein Bis-DNP-monomethoxy-Derivat eines Grundkörpers der Formel  $C_{11}H_{12}O_5$ .

$C_{24}H_{18}O_{13}N_4$  (570.4) Ber. C 50.56 H 3.18 N 9.83  $OCH_3$  5.44  $CO_2H$  7.89

Gef. C 50.86 H 3.42 N 9.59  $OCH_3$  5.54  $CO_2H$  7.90 Mol.-Gew. 555

*Trimethoxy-glucosid*: 600 mg *Glucosid E* wurden, wie beschrieben<sup>3)</sup>, methyliert. Das *Trimethoxy-glucosid* ist löslich in Methanol, Äthanol, Tetrahydrofuran und Aceton, unlöslich in Wasser und Äther.

*Trimethoxy-aglucon*: 600 mg *Trimethoxy-glucosid* wurden in 125 ccm Methanol gelöst und mit 15 ccm 10-proz. Salzsäure 5 Stdn. auf dem Wasserbad unter Sauerstoffausschluß gekocht. Nach dieser Zeit wurden weitere 15 ccm 10-proz. Salzsäure zugegeben und nochmals 5 Stdn. erhitzt. Die Lösung war nach dem Verseifen rosa gefärbt. Nach dem Verjagen des Lösungsmittels hinterblieb das *Trimethoxy-aglucon* als glasartige rote Masse, die nach dem Trocknen über Kaliumhydroxyd gepulvert werden konnte und leicht löslich in Methanol, Äthanol, Aceton und Tetrahydrofuran, unlöslich in Wasser ist. Ausb. 370 mg (97 % d. Th.). Die Substanz ist frei von gebundenem Zucker.

$C_{21}H_{22}O_5$  (354.4) Ber. C 71.24 H 6.26  $OCH_3$  26.29 Gef. C 70.97 H 6.48  $OCH_3$  26.34

*Trimethoxy-bis-DNP-aglucon (II)*: 370 mg *Trimethoxy-aglucon* wurden in 50 ccm Äthanol gelöst und mit 1.5 g DNFB in 150 ccm Äthanol versetzt. Nach Zugabe von 50 ccm gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wurde 3 Stdn. unter häufigem Umschütteln stengelassen und dann mit 300 ccm 2-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung versetzt. Dabei fiel ein gelber Niederschlag aus, der abgesaugt und mit Wasser gewaschen wurde. Zur weiteren Reinigung wurde in 40 ccm Aceton gelöst und mit Wasser ausgefällt. Durch Lösen in Aceton und langsames Einengen des Lösungsmittels wurden hellgelbe Kristalle vom Schmp. 158° erhalten, die löslich in Äthanol, Aceton, Tetrahydrofuran und Eisessig, unlöslich in Wasser sind. Ausb. 450 mg (86 % d. Th.).

$C_{33}H_{26}O_{13}N_4$  (688.6) Ber. C 57.74 H 3.74 N 8.16  $OCH_3$  13.57

Gef. C 57.91 H 3.70 N 8.60  $OCH_3$  13.41

*Oxydative Spaltung der Trimethoxy-bis-DNP-Verbindung*: Wurde mit 400 mg, wie bei der Tris-DNP-dimethoxy-Verbindung beschrieben, durchgeführt.

*Trennung der Oxydationsprodukte*: Die klare hellgelbe Oxydationslösung wurde weitgehend eingengt, salzsauer gemacht und mit Äther bis zum Endpunkt ausgeschüttelt. Beim Einengen der Ätherlösung kristallisierten hellgelbe Nadeln vom Schmp. 160° aus, die löslich

<sup>9)</sup> Liebigs Ann. Chem. **384**, 236 [1911].

in Äther, Chloroform, Essigester, Aceton und Äthanol, wenig löslich in Wasser sind. Ausb. 155 mg (79.9 % d. Th., bezogen auf DNP-Isovanillinsäure (VI)).

$C_{14}H_{10}O_8N_2$  (334.2) Ber. C 50.32 H 3.03 N 8.38  $OCH_3$  9.29  $CO_2H$  13.1  
Gef. C 50.63 H 3.31 N 8.45  $OCH_3$  9.50  $CO_2H$  12.8

Der Misch-Schmp. mit synthetischer *DNP-Isovanillinsäure* zeigte keine, der mit synthetischer DNP-Vanillinsäure eine erhebliche Depression.

Die wäßrige Phase wurde mit Essigester erschöpfend ausgeschüttelt. Nach Verjagen des Lösungsmittels hinterblieb eine braune Substanz, löslich in Essigester, Aceton und Tetrahydrofuran, schwer löslich in Chloroform und unlöslich in Wasser, die nicht kristallin erhalten werden konnte. Ausb. 230 mg (94 % d. Th., bezogen auf eine Dimethoxy-mono-DNP-Verbindung des Grundkörpers  $C_{11}H_{12}O_5$ ).

$C_{19}H_{18}O_9N_2$  (418.4) Ber. C 54.35 H 4.34 N 6.70  $OCH_3$  14.84  $CO_2H$  10.4  
Gef. C 53.99 H 4.43 N 6.66  $OCH_3$  12.50  $CO_2H$  9.6 Mol.-Gew. 410

*Trimethoxy-diacetyl-aglucon*: 100 mg *Trimethoxy-aglucon* wurden in 35 ccm Pyridin gelöst, mit 60 mg *Acetanhydrid* versetzt, geschüttelt und 12 Stdn. stengelassen. Nach Verjagen des Lösungsmittels i. Vak. wurde das zurückgebliebene Öl in der Hitze in Methanol gelöst. Beim Abkühlen fiel ein weißer amorpher Niederschlag aus, löslich in Aceton, Essigester, schwer löslich in Methanol, unlöslich in Wasser. Ausb. 85 mg (68.6 % d. Th.).

$C_{25}H_{28}O_7$  (440.5) Ber. C 68.23 H 6.40  $OCH_3$  12.51 Acetyl 19.54  
Gef. C 67.98 H 6.12  $OCH_3$  12.34 Acetyl 20.33

*Oxydative Spaltung des Trimethoxy-diacetyl-aglucons*: Wurde mit 85 mg, wie bei der Tris-DNP-dimethoxy-Verbindung beschrieben, durchgeführt.

*Abspaltung der Acetylgruppen*: 83 mg des Oxydationsproduktes wurden in 50 ccm 1 n NaOH 10 Min. unter Durchleiten von Stickstoff auf 80° erhitzt. Nach dem Ansäuern wurde zweimal mit 25 ccm Äther und einmal mit 25 ccm Essigester ausgeschüttelt. Die vereinigten Auszüge wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel verjagt. Papierchromatographisch konnte in dem Lösungsmittel Methanol-Wasser (4:1) *Isovanillinsäure* durch Mitlaufen der synthetischen Vergleichssubstanz identifiziert werden.  $R_F$ -Werte in den angegebenen Lösungsmitteln auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b: Vanillinsäure 0.90. Isovanillinsäure 0.77. Die Isovanillinsäure zeigt im UV-Licht eine hellblaue Fluoreszenz. Im Gegensatz zur Vanillinsäure, die sich mit 1-Phenyl-2.3-dimethyl-4-amino-pyrazolon,  $K_3[Fe(CN)_6]$  und Ammoniak leuchtend rot anfärbt, wird Isovanillinsäure mit diesem Reagenz nicht sichtbar.