

BURCHARD FRANCK, OTTO WOLFGANG THIELE und TILL RESCHKE

Mutterkorn-Farbstoffe, IV¹⁾

Zur Konstitution der Secalonsäure

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen

(Eingegangen am 15. November 1961)

Chrysergonsäure erwies sich als identisch mit Secalonsäure. Secalonsäure $C_{32}H_{30-34}O_{14}$ enthält je zwei C-Methyl- und aliphatische Carbomethoxy-, sowie sechs acetylierbare Hydroxygruppen, wovon zwei phenolische sauer ($pK_{DMF} 8.5$) sind. Durch UV- und IR-Spektren, Farbreaktionen, pK -Messungen, sowie Hydrolyse mit Natronlauge zum 2.6-Dihydroxy-acetophenon-Derivat wurde 3.5-Dihydroxy-chromon als konjugiertes System nachgewiesen. Hiervon sind zwei Moleküle zu einem 8.8'-Bichromonyl miteinander verknüpft, da Secalonsäure beim energischen Alkaliabbau 2.4.2'.4'-Tetrahydroxy-biphenyl liefert, im KMR-Spektrum zwei Paare benachbarter aromatischer Protonen zeigt und mit 2.6-Dibrom-benzochinon-chlorimid keinen Indophenol-Farbstoff bildet.

Kürzlich berichteten wir über die Isolierung von zwei Farbstoffen aus Roggenmutterkorn (*Claviceps purpurea*) und ihre Identifizierung als Hydroxy-anthrachinon-carbonsäuren²⁾, von denen eine mit *Endocrocin* identisch ist^{3,4)}. Es soll nun unsere Untersuchung der schon früher isolierten hellgelben Mutterkorn-Farbstoffe *Secalonsäure*⁵⁾ und *Chrysergonsäure*⁶⁾ beschrieben werden.

Auf der Suche nach den Trägern der physiologischen Wirkung isolierte F. KRAFT⁵⁾ aus dem Chloroform-Extrakt von entfettetem Mutterkorn Secalonsäure als einen in gelben Nadeln kristallisierten Farbstoff vom Schmp. 244°, dem er nach der C,H-Analyse, doch ohne Molekulargewichtsbestimmung, die Summenformel $C_{14}H_{14}O_6$ gab. Seine alkoholische Lösung reagierte sauer, wurde mit Eisen(III)-chlorid rotbraun und reduzierte Silbernitrat nicht. Auf Grund des Verhaltens gegen kalte Natriumcarbonatlösung und Alkalien sowie der Abspaltung von Kohlendioxyd und Wasser beim trocknen Erhitzen auf 260° wurden fünf Sauerstoffatome einer „ β -Hydroxylactonsäure“-Gruppierung (I oder II), das sechste einer phenolischen Hydroxygruppe zugeschrieben.



1) III. Mitteil.: B. FRANCK, O. W. THIELE und T. RESCHKE, Angew. Chem. 73, 494 [1961].

2) B. FRANCK und T. RESCHKE, Angew. Chem. 71, 407 [1959].

3) B. FRANCK und T. RESCHKE, Chem. Ber. 93, 347 [1960].

4) B. FRANCK, Planta medica 8, 420 [1960].

5) F. KRAFT, Arch. Pharmaz. 244, 336 [1906].

6) A. STOLL, J. RENZ und A. BRACK, Helv. chim. Acta 35, 2022 [1952].

Später untersuchte W. BERGMANN⁷⁾ das von C. JACOBY⁸⁾ aus Mutterkorn isolierte Ergochrysin, von dem er annahm⁹⁾, daß es mit Secalonsäure identisch sei. Nach Molekulargewichtsbestimmung verdoppelte er die Formel von KRAFT zu $C_{28}H_{28}O_{12}$, erhielt durch Zinkstaub- oder trockene Destillation ein Monophenol, $C_9H_{10}O_3$, und isolierte aus der Alkalischmelze Oxalsäure, Essigsäure, 1.3.5-Kresotinsäure, Resorcin sowie 2.4.2'.4'-Tetrahydroxybiphenyl. A. STOLL, J. RENZ und A. BRACK⁶⁾ gewannen Secalonsäure zusammen mit einem sehr ähnlichen Farbstoff, den sie als Chrysergonsäure bezeichneten, aus ungarischem bzw. schweizerischem Mutterkorn. Sie erhöhten die Formel der Secalonsäure nach ihrem Methoxylwert auf $C_{31}H_{30-32}O_{14}$ mit zwei Methoxygruppen und sechs aktiven Wasserstoffatomen. Aus der Alkalischmelze ließ sich 2.4.2'.4'-Tetrahydroxybiphenyl, Bernstein- und Methylbernsteinsäure, jedoch keine 1.3.5-Kresotinsäure isolieren. Mildere Alkalibehandlung durch kurzes Erwärmen in 50-proz. Lauge auf 125° gab nur Methylbernsteinsäure. Einwirkung von Acetanhydrid bei 100° führte bei geringem Pyridinzusatz zu einem farblosen, acetylfreien, kristallisierten Abbauprodukt, $C_{17}H_{16}O_7$, bei Pyridinüberschuß zu einem amorphen, rotbraunen Acetylierungsprodukt mit 40% Acetyl. Chrysergonsäure stimmte in diesen Befunden, wie auch im UV-Spektrum mit Secalonsäure überein und unterschied sich nur durch höheren Schmelzpunkt und geringere Löslichkeit.

ISOLIERUNG VON SECALONSÄURE UND CHRYSERGONSÄURE

Als Ausgangsmaterial zur Isolierung der Farbstoffe brauchten wir Mutterkorn einheitlicher genetischer Herkunft. Wir verwendeten deshalb durch künstliche Beimpfung gewonnenes Zuchtmutterkorn, das wir in möglichst frischem Zustande verarbeiteten, um Veränderungen durch Stoffwechselfvorgänge in dem noch lebenden Pilzmaterial zu vermeiden. In Anlehnung an die Angaben von KRAFT⁵⁾, STOLL u. a.⁶⁾ haben wir Secalonsäure bzw. Chrysergonsäure nach folgendem Schema aus Mutterkorn abgetrennt und anschließend fraktioniert umkristallisiert. Die wegen ihrer sehr geringen Löslichkeit schwierige papierchromatographische Charakterisierung der beiden Farbstoffe gelang mit dem Lösungsmittelsystem²⁾ Butanol/Triäthylamin/Pyridin/Wasser (4:4:1:6) auf 0.5 m Citratpufferpapier (pH 6.0), worin beide Farbstoffe nur eine Zone von gleicher Wanderungsgeschwindigkeit bildeten. Identisch waren sie auch nach IR- (Abbild. 1), UV-Spektrum (Abbild. 4, S. 1333), Misch-Schmelzpunkt und Analysen.

Isolierung der Farbstoffe Secalonsäure und Chrysergonsäure aus Roggenmutterkorn (Claviceps purpurea)

In zwei getrennten Ansätzen wurde durch Petroläther extrahiertes und fein gemahlenes Mutterkorn mit Chloroform und 80-proz. wäβr. Methanol extrahiert:

A. Chloroformextrakt

Extraktstückstand nacheinander mit Petroläther, Eisessig, heißem Methanol gewaschen und aus Chloroform umkristallisiert:

Secalonsäure

B. Methanolextrakt

Wäβriger Extraktstückstand zwischen verd. Salzsäure (pH 3) und Äther verteilt.

- 1) Ätherphase: *Endocrocin, Clavorubin*³⁾
- 2) Ungelöste Zwischenschicht nach Umkristallisieren aus Aceton: *Chrysergonsäure*
- 3) Saure, wäβrige Phase:

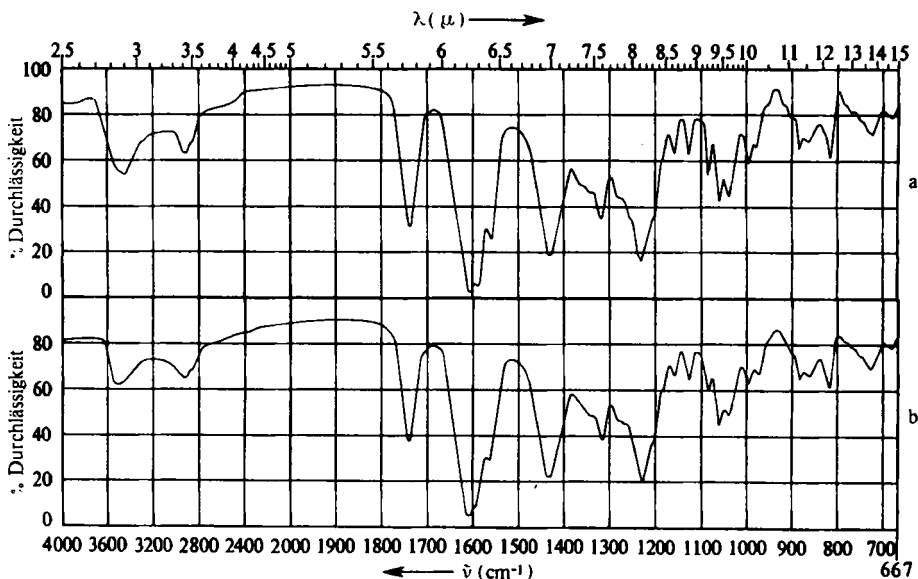
Mutterkorn-Alkaloide

⁷⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 1489 [1932].

⁸⁾ Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 39, 104 [1897].

⁹⁾ W. BERGMANN, Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 1486 [1932].

A. STOLL u. a.⁶⁾ betrachteten Secalonsäure und Chrysergonsäure als zwei sehr ähnliche, aber doch verschiedene Verbindungen, weil sich der Farbstoff aus dem Chloroformextrakt (Secalonsäure) von dem des Methanolextraktes (Chrysergonsäure) durch tieferen Schmelzpunkt, bessere Löslichkeit, etwas niedrigere Kohlenstoffwerte und spezifische Drehung in Pyridin unterschied. Diese Unterschiede könnten darauf zurückgeführt werden, daß die Aufarbeitung A (s. Schema) wie wir fanden einen zunächst weniger reinen Farbstoff liefert als B und sich Drehwerte in Pyridin nicht zum Vergleich eignen, weil Secalonsäure in diesem Lösungsmittel unter Drehungsanstieg verändert wird.



Abbild. 1. IR-Spektren von Secalonsäure (a) und Chrysergonsäure (b) in Kaliumbromid

FUNKTIONELLE GRUPPEN DER SECALONSÄURE

Secalonsäure schmilzt nach mehrfachem Umkristallisieren aus Chloroform, Dioxan und Aceton bei 268–270°, $[\alpha]_D^{20}$: + 49.5° (in Dioxan). Analysenwerte, Molekular- und Äquivalentgewichtsbestimmungen entsprechen am besten der Formel $C_{32}H_{30-34}O_{14}$ mit zwei Methoxy-, zwei C-Methyl-Gruppen und sechs aktiven Wasserstoffatomen.

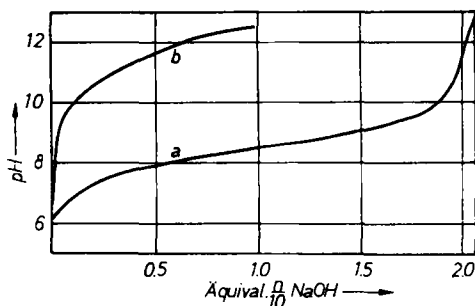
Molekular- und Äquivalentgewichtsbestimmungen der Secalonsäure $C_{32}H_{34}O_{14}$ (642.6) ergeben: 649 (kryoskop. in Phenol), 645 (ebullioskop. in Dioxan), 331 (potentiometr. Titration in 80-proz. Dimethylformamid), 326 (Methoxylbestimmung).

Die spezif. Drehung in Dimethylformamid und Pyridin verschiebt sich während 21 Tagen um 52° bzw. 22° nach positiven Werten. Durch potentiometrische Titration, wegen der geringen Wasser- und Alkohollöslichkeit in 80-proz. Dimethylformamid¹⁰⁾ ausgeführt, wurden zwei saure Gruppen vom pK_{DMF} -Wert¹¹⁾ 8.5 nachgewiesen. Diese Acidität liegt zwischen der von Benzoesäure (pK_{DMF} 7.6) und Phenolen (z. B. 2.6-

¹⁰⁾ Die Secalonsäure wurde nach der Titration unverändert zurückgewonnen.

¹¹⁾ Potentiometrisch bei 20° in 80-proz. Dimethylformamid bestimmter scheinbarer pK -Wert, der unter Berücksichtigung des Laugeverbrauchs vom reinen Lösungsmittel bis zum Wendepunkts-pH korrigiert ist.

Dihydroxy-acetophenon pK_{DMF} 10.2). Da Secalonsäure mit methanolischer Salzsäure auch in der Siedehitze nicht verestert wird, können keine freien Carboxylgruppen vorliegen. Diazomethan in Dioxan/Äther ergibt dagegen eine Dimethylsecalonsäure mit insgesamt vier Methoxygruppen, die keine sauren Gruppen mehr enthält und sich durch olivgrüne Eisen(III)-chlorid-Reaktion von Secalonsäure (rotbraun) unterscheidet. Die beiden sauren Gruppen der Secalonsäure können hiernach sauren, phenolischen Hydroxygruppen zugeschrieben werden.



Abbild. 2. Potentiometrische Titration von Secalonsäure (a) und Dimethylsecalonsäure (b) in 80-proz. Dimethylformamid

Eine IR-Frequenz der Secalonsäure bei 1738/cm ist für freies aliphatisches oder aromatisches Carboxyl zu hoch und rührt zusammen mit der Bande bei 1230/cm (Abbild. 1) von einer aliphatischen Ester- oder Lactongruppe her. Übereinstimmend verbraucht Secalonsäure bei der alkalischen Lactontitration unter Luftausschluß in 90-proz. Methanol und in Wasser zusammen mit den beiden freien sauren Gruppen 3.8–4.1 Äquiv. Lauge. Das Reaktionsprodukt der Lactontitration enthält keine Methoxylgruppen mehr und verbraucht, potentiometrisch titriert, 3.8 Äquiv. Lauge. Hieraus und aus dem Befund, daß Secalonsäure weder bei saurer, noch bei alkalisch durchgeführter Acetylbestimmung flüchtige Säuren abspaltet, folgt, daß sie zwei aliphatische Carbomethoxygruppen besitzt.

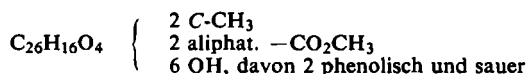
Wie früher schon festgestellt^{6, 7)}, stößt die Acetylierung der Secalonsäure wegen ihrer Empfindlichkeit gegenüber Basen und ihrer Schwerlöslichkeit auf Schwierigkeiten. In heißem Acetanhydrid/Natriumacetat oder Pyridin löst sie sich unter Acetylierung, doch zeigen Verfärbung und UV-Spektren der Acetylierungsprodukte tiefere Veränderungen am konjugierten System an. Acetanhydrid/Schwefelsäure oder Perchlorsäure liefern Produkte, deren phenolische Hydroxygruppen zufolge der noch positiven Reaktion mit Eisen(III)-chlorid und diazotierter Sulfanilsäure¹²⁾ unvollständig acetyliert sind, wobei im ersten Falle wegen teilweiser Sulfurierung die Acetatausbeute sehr gering ist. Erst mit Acetanhydrid/Pyridin während längerer Zeit in der Kälte und chromatographischer Fraktionierung des Reaktionsproduktes ist ein farbloses Secalonsäure-hexaacetat, $[\alpha]_D^{20}$: -43.3° , erhältlich, das keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion zeigt und nicht mit Diazomethan reagiert. Kochen mit

12) R. L. HOSSFELD, J. Amer. chem. Soc. 73, 852 [1951].

verd. Salzsäure gibt ein hellgelbes Verseifungsprodukt von gleicher rotbrauner Eisen-(III)-chlorid-Reaktion wie Secalonsäure. Dimethylsecalonsäure läßt sich unter denselben Bedingungen zu Dimethylsecalonsäure-tetraacetat mit je vier Methoxy- und Acetylgruppen acetylieren.

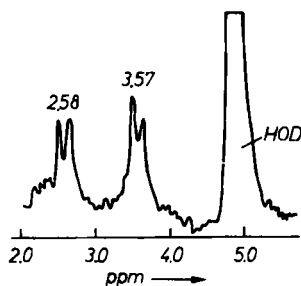
Secalonsäure nimmt mit Platin-Katalysator in Dioxan, Eisessig oder verd. Natronlauge keinen Wasserstoff auf und wird aus der Dioxan- und der Eisessiglösung unverändert zurückgewonnen. In Natronlauge setzt erst nach 25 Stdn. unter hydrolytischer Spaltung der Secalonsäure langsam Wasserstoffaufnahme ein. Eine Chinongruppierung oder leicht hydrierbare Doppelbindungen sind daher nicht vorhanden.

Durch die bisher nachgewiesenen funktionellen Gruppen sind gemäß folgender Teilformel zehn der vierzehn Sauerstofffunktionen aufgeklärt. Aufschluß über die Bindung der vier restlichen Sauerstoffatome gibt die Untersuchung des Grundgerüsts der Secalonsäure.

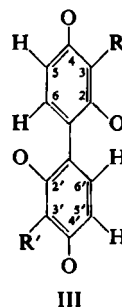


KONJUGIERTES GRUNDGERÜST DER SECALONSÄURE

Bei Alkalischmelze^{6,7)} oder Barytabbau der Secalonsäure entsteht 2.4.2'.4'-Tetrahydroxy-biphenyl (IV). Wo die übrigen Strukturteile an dieses Abbauprodukt gebunden sind, zeigt das Protonenresonanzspektrum der Secalonsäure in deuterierter Natronlauge. Zwei Dubletts bei 2.58 und 3.57 ppm entsprechen nach Lage, Intensität und Aufspaltung zwei Paaren nicht äquivalenter, benachbarter, aromatischer Protonen. Sie können sich, wie auch aus dem Vergleich mit synthetischen Modellverbindungen¹³⁾ hervorgeht, nur in den Stellungen 5,6 und 5',6' des Biphenylgrundgerüsts (III) befinden.



Abbild. 3. Protonenresonanzspektrum von Secalonsäure in *n* NaOD bei 60 MHz. Chemische Verschiebung in ppm-Einheiten, bezogen auf H₂O = 4.8 (entspr. etwa (CH₃)₄Si = 10.0)



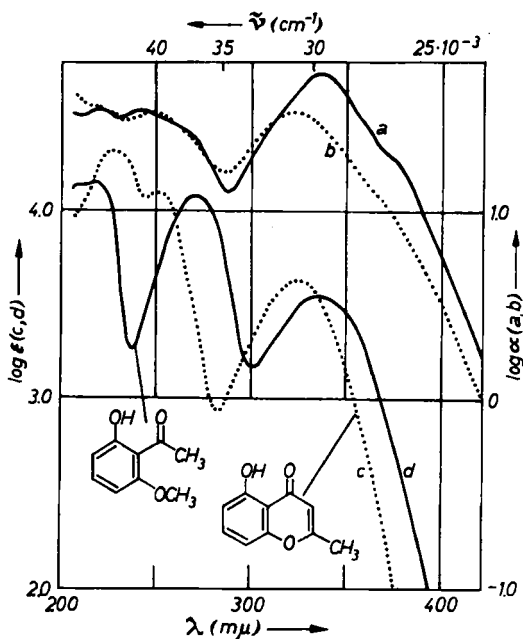
IV: R, R' = H, O = OH

In der Secalonsäure kann III daher nur über R, R' und die O-Atome mit den übrigen Teilen des Moleküls verbunden sein. Das Protonenresonanzspektrum zeigt außerdem, daß das Grundgerüst in der Umgebung der aromatischen Protonen symmetrisch,

¹³⁾ J. AHRENS, Diplomarbeit, Univ. Göttingen 1962.

also der ihnen benachbarte Teil der Substituenten R und R' gleich ist. Anderenfalls wäre die magnetische Abschirmung der Protonen 5 und 5' bzw. 6 und 6' verschieden und das Spektrum würde nicht zwei, sondern vier Dubletts von der halben Intensität zeigen.

Weitere Auskunft über das konjugierte System der Secalonsäure geben ihr UV-Spektrum und das von Dimethylsecalonsäure. Sie sind dem des 5-Hydroxy-2-methylchromons (VI)¹⁴ ähnlich (Abbild. 4).



Abbild. 4. UV-Spektren von Secalonsäure (Chrysergonsäure) (a), Dimethylsecalonsäure (b), 5-Hydroxy-2-methylchromon (c) und 2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon (d) in Methanol

Völlige Übereinstimmung der Spektren ist nicht zu erwarten, weil in der Secalonsäure zwei 5-Hydroxychromonyl nach dem KMR-Spektrum zu einem symmetrischen Biphenylderivat verknüpft sein müssen. Solche Dimerisierung bewirkt in der Regel Verschiebung nach höheren Wellenlängen und Intensitätszunahme, besonders bei den längerwelligen Absorptionsbanden^{15, 16}. In dieser Weise unterscheiden sich auch die UV-Spektren von Secalonsäure und von VI.

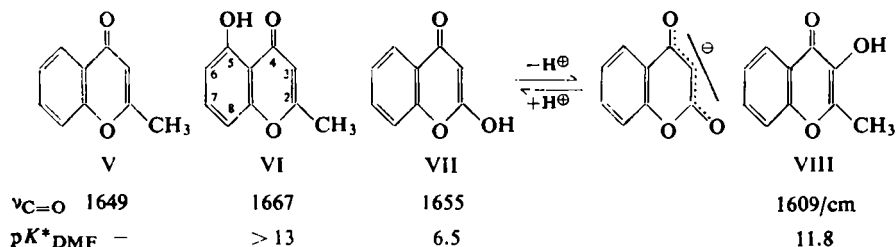
An jeder Chromonhälfte muß sich noch eine der beiden sauren phenolischen, mit Diazomethan methylierbaren Hydroxygruppen befinden. Die 5-ständige kann es nicht sein, weil sie infolge fester Wasserstoffbrückenbindung zur benachbarten Carbonylgruppe sehr schwach sauer ist und 5-Hydroxychromone nicht mit Diazomethan

¹⁴) K. SEN und P. BAGCHI, J. org. Chemistry 24, 316 [1959].

¹⁵) R. A. FRIEDEL, M. ORCHIN und L. REGGEL, J. Amer. chem. Soc. 70, 199 [1948].

¹⁶) H. A. STAAB, Einführung in die theoret. organische Chemie, Verlag Chemie, Weinheim 1959, S. 376.

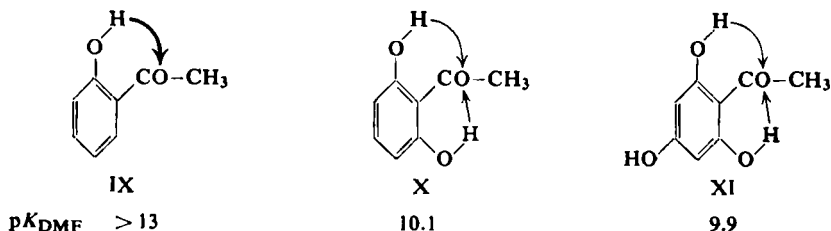
reagieren¹⁷⁾, auch nicht unter den von uns zur Methylierung der Secalonsäure angewandten Bedingungen. Andere Positionen im Phenylkern des 5-Hydroxy-chromon-Chromophors kommen für die saure Hydroxygruppe nicht in Betracht, weil diese durch die Biphenylbindung und die durch Protonenresonanz nachgewiesenen aromatischen Protonen schon besetzt sind. Somit verbleiben den sauren Hydroxygruppen nur die Kohlenstoffatome 2 oder 3 im Pyronteil von VI. Für die 3-Stellung sprechen IR-Spektren und pK_{DMF} -Werte¹¹⁾ nachstehender Modellverbindungen.



Ähnlich den Flavonen^{18, 19)} zeigen Chromone eine Carbonylfrequenz bei 1650/cm (V, VII), die sich durch eine 5-ständige Hydroxygruppe um etwa 20 Einheiten erhöht (VI). Im 3-Hydroxy-2-methyl-chromon²⁰⁾ (VIII) ist die Carbonylfrequenz um 40 Einheiten herabgesetzt und stimmt mit der von Secalonsäure (1607) überein.

Der pK_{DMF} -Wert der Secalonsäure (8.5) liegt zwischen denen von 3-Hydroxy-2-methyl-chromon (VIII, 11.8) und der vinylogenen Säure 2-Hydroxy-chromon (VII, 6.5). Zusätzlich müßten diese beiden zur Diskussion stehenden Chromone in der Secalonsäure eine Hydroxygruppe in 5-Stellung enthalten. Es ist anzunehmen, daß diese bei VII und VIII als -I-Substituent und zusätzlich bei VIII durch Schwächung der Wasserstoffbrücke zwischen dem Carbonylsauerstoffatom und der 3-ständigen Hydroxygruppe die Acidität erhöht.

Wie die Beispiele IX—XI zeigen, wird durch Anfügen einer zusätzlichen Hydroxygruppe an ein Chelat aus Carbonyl- und Hydroxygruppe (IX) dessen Acidität unter Schwächung der Wasserstoffbindung zur ersten Hydroxygruppe beträchtlich erhöht (X). Demgegenüber richtet der induktive Effekt einer dritten, nicht am Chelat beteiligten Hydroxygruppe nur wenig aus (XI).



17) T. M. MEIJER und H. SCHMID, *Helv. chim. Acta* **31**, 1603 [1948].

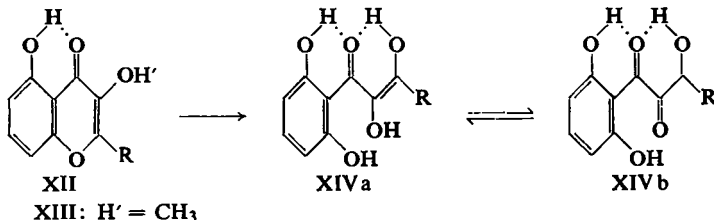
18) G. E. INGLET, *J. org. Chemistry* **23**, 93 [1958].

19) H. L. HERGERT und E. KURTH, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 1622 [1953].

20) G. WITTIG, *Liebigs Ann. Chem.* **446**, 155 [1926].

Wegen der am Stuart-Kalottenmodell erkennbaren sterischen Hinderung ist nicht wahrscheinlich, daß die Carbonylgruppe von X ganz in die Benzolebene hineingedreht und nur einer der beiden *o*-ständigen Hydroxygruppen zugewandt ist.

Berücksichtigt man diese pK_{DMF} -Herabsetzung durch die zusätzliche 5-Hydroxygruppe in VII und VIII, so kann Secalonsäure nur 3.5-Dihydroxy-chromon (XII) als konjugiertes System enthalten.



Dieser aus Carbonylfrequenzen und pK_{DMF} -Werten gezogene Schluß wird dadurch gestützt, daß Dimethylsecalonsäure dieselbe Eisen(III)-chlorid-Reaktion zeigt wie 5-Hydroxy-3-methoxy-flavone²¹⁾, die mit ihr die Gruppierung XIII gemeinsam haben.

Zur Sicherung der Chromonstruktur untersuchten wir außerdem das Verhalten der Secalonsäure beim milden Alkaliabbau und bei spezifischen Farbreaktionen. Ein 3.5-Dihydroxy-chromon (XII) würde durch Natronlauge unter Bildung eines 2.6-Dihydroxy-acetophenon-Derivates XIV hydrolysiert, dessen Seitenkette ein durch Wasserstoffbrücken stabilisiertes Redukton (XIVa und XIVb) darstellt. Wir verfolgten die Veränderung einer bei 20° gehaltenen Lösung von Secalonsäure in *n* NaOH spektroskopisch (Abbild. 5). Innerhalb von 56 Stdn. tritt vollständige Hydrolyse ein. Das Endprodukt entspricht nach Absorptionsspektrum (Abbild. 6) und seiner grünen Eisen(III)-chlorid-Reaktion dem 2.6-Dihydroxy-acetophenon und reduziert wie ein Redukton ammoniakalische Silberlösung.

Chromone geben sich ebenso wie die Flavone²²⁾ durch eine Reihe von Farbreaktionen (Tab. 1) zu erkennen, die teils auf einer Oxoniumsalzbildung (a), teils auf der

Tab. 1. Farbreaktionen von Secalonsäure und Modellverbindungen*)

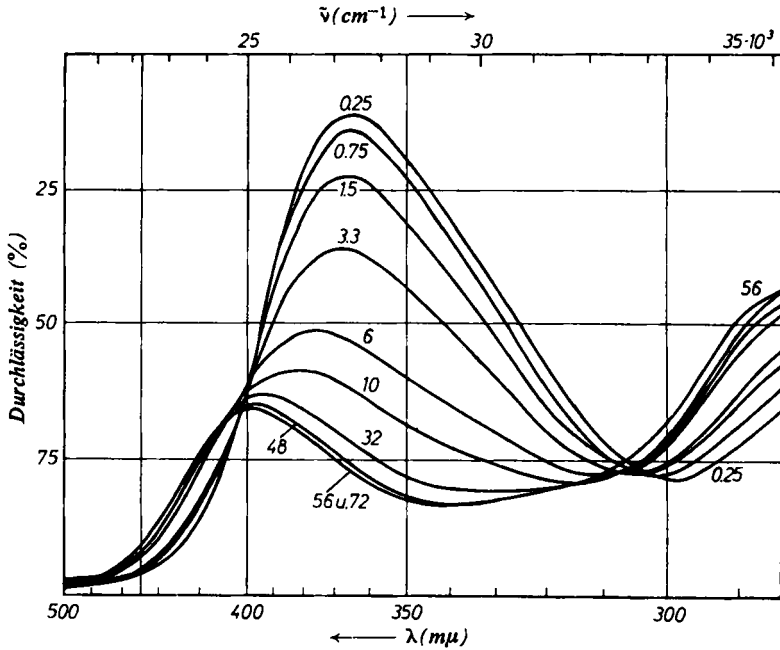
	Secalon- säure	5-Hydroxy- 2-methyl- chromon (VI)	Quercetin (XV)	2-Hydroxy- 6-methoxy- acetophenon (XVI)
a) Konz. Schwefelsäure	goldgelb (—)	hellgelb (grün)	gelb (grün)	gelb (—)
b) Eisen(III)-chlorid	rot	rotviolett	braun	rotbraun
c) Pyroboracetat	goldgelb (—)	gelb (grün)	gelb (blau)	gelb (grün)
d) WILSON-Reaktion ²³⁾	goldgelb (—)	gelb gelbgrün	gelb (—)	gelb (—)

* Fluoreszenzfarbe in Klammern

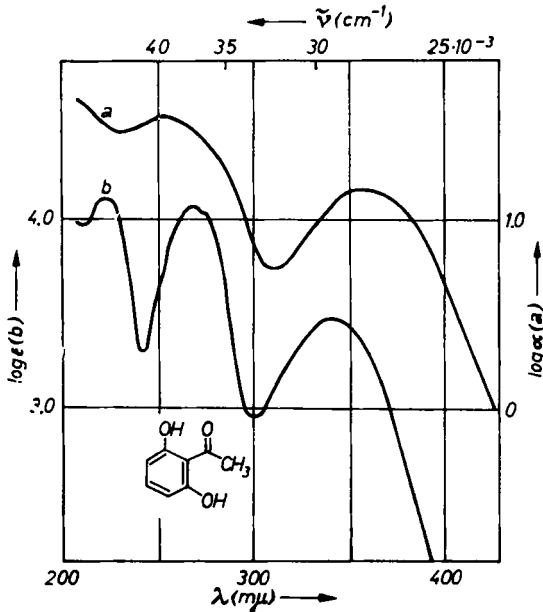
²¹⁾ L. H. BRIGGS und R. H. LOCKER, J. chem. Soc. [London] 1951, 3131.

²²⁾ Zusammenfassung bei K. VENKATARAMAN in L. ZECHMEISTER, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] 17, 12 [1959].

²³⁾ C. W. WILSON, J. Amer. chem. Soc. 61, 2303 [1939]; K. TAUBÖCK, Naturwissenschaften 30, 439 [1942].

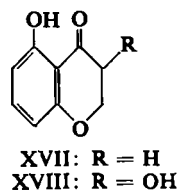
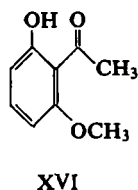
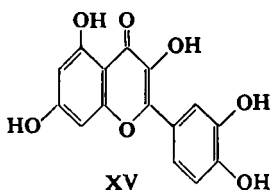
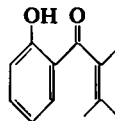


Abbild. 5. UV-Spektren von Secalonsäure in *n* NaOH bei 20° nach 0.25–72 Stdn.



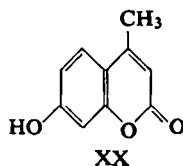
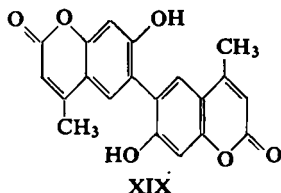
Abbild. 6. UV-Spektren von Secalonsäure, die 56 Stdn. mit *n* NaOH hydrolysiert wurde, (a) und 2.6-Dihydroxy-acetophenon (b) in Methanol.

Bildung von Chelatkomplexen zwischen Carbonylsauerstoff und einer 5-ständigen Hydroxygruppe beruhen (b, c, d). Die Wilson-Reaktion²³⁾, bei der etwas Substanz, in Aceton gelöst und nach Zusatz von Borsäure und Oxalsäure eingedampft, einen gelben, intensiv gelbgrün fluoreszierenden Rückstand hinterläßt, ist für die nebenstehende Gruppierung und damit für 5-Hydroxy-chromone spezifisch. Mit Pyroboracetat zeigen auch *o*-Hydroxy-acetophenone Gelbfärbung und grüne Fluoreszenz. Das Verhalten von Secalonsäure bei diesen Farbreaktionen wurde mit 5-Hydroxy-2-methyl-chromon (VI), Quercetin (XV) und 2-Hydroxy-6-methoxy-acetophenon (XVI), welches dasselbe konjugierte System wie das 5-Hydroxy-chromanon (XVII) enthält, verglichen (Tab. 1). Secalonsäure gibt ähnliche Färbungen wie VI, doch keine Fluoreszenz. In dieser Hinsicht entspricht es XVI (bzw. XVII), das bei den spezifischen Chromonreaktionen a) und d) ebenfalls nicht fluoresziert. Da Chromanone ähnliche UV-Spektren (vgl. XVI in Abbild. 4d) wie die Chromone haben und auch durch Lauge zu Hydroxy-acetophenonen hydrolysiert werden können, war somit die Möglichkeit nicht von der Hand



zu weisen, daß sich Secalonsäure vom 3.5-Dihydroxy-chromanon (XVIII) ableitet. In diesem Falle sollte sich dessen Acyloingruppierung durch Dehydrierung zum α -Diketon nachweisen lassen. Secalonsäure wird aber nach Kochen mit basischem Wismut(III)-carbonat in Glykol-monoäthyläther/Eisessig nach W. RIGBY²⁴⁾ unverändert zurückgewonnen, während sich Benzoin auf diese Weise rasch unter Bildung schwarzen, metallischen Wismuts zu Benzil dehydrieren läßt und auch 3.5-Dihydroxy-flavanone in α -Diketone bzw. die tautomeren Flavonole umgewandelt werden²⁵⁾.

Für die Chromonstruktur spricht außerdem, daß Secalonsäure beim Sättigen seiner Lösung in Dioxan mit Salzsäure wie Chromone²⁰⁾ als Oxoniumsalz ausgefällt wird. Das Fehlen der für Chromone typischen Fluoreszenz bei den Farbreaktionen braucht indessen bei einem Bichromonyl wie der Secalonsäure nicht zu verwundern, da man bei Biphenylderivaten häufig Fluoreszenzlöschung beobachtet. Wir stellten sie auch beim 4.4'-Dimethyl-7.7'-dihydroxy-6.6'-bicumarinyl (XIX)²⁶⁾ fest, während das monomere 4-Methyl-umbelliferon (XX) intensiv blau fluoresziert.



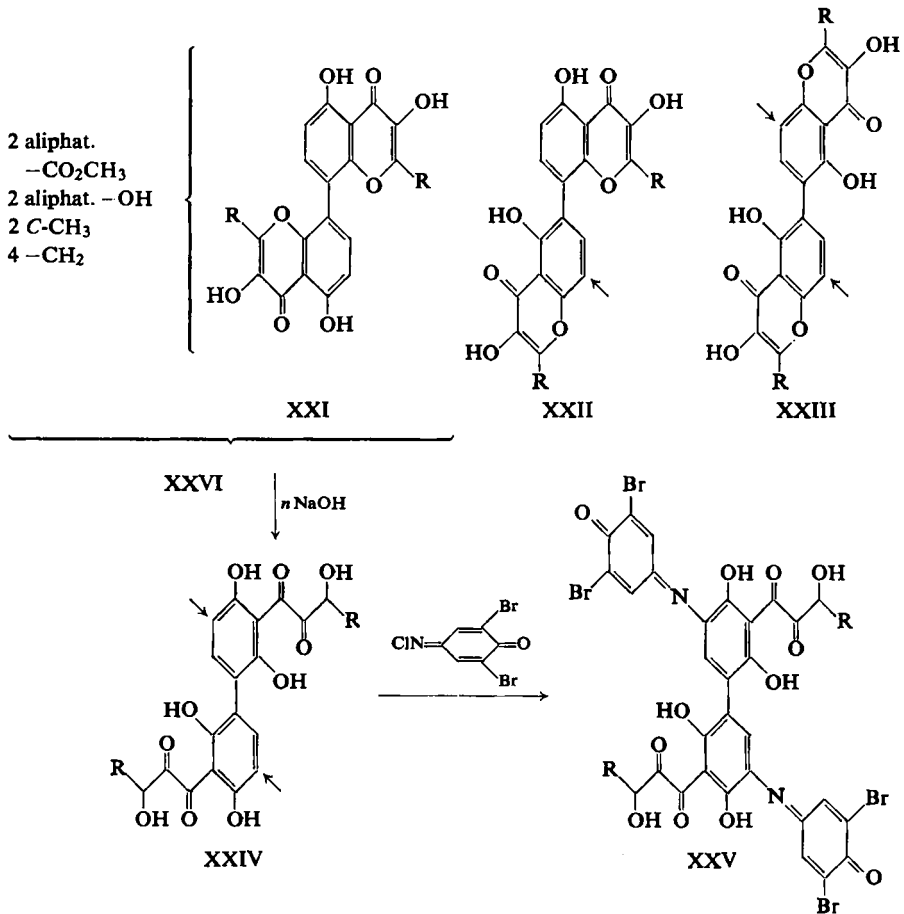
²⁴⁾ J. chem. Soc. [London] 1951, 793.

²⁵⁾ J. M. GUIDER, T. H. SIMPSON und D. B. THOMAS, J. chem. Soc. [London] 1955, 171.

²⁶⁾ G. BAUMANN, Diplomarbeit, Univ. Göttingen, voraussichtl. 1962.

Obwohl sich 2-Methyl-chromon in n NaOH zum 2-Methyl-chromanon hydrieren läßt, geht diese Hydrierung bei den Hydroxychromonen nicht und versagt somit als Methode zum Nachweis ihrer Chromonnatur.

Wir wußten nun, daß in der Secalonsäure zwei 3,5-Dihydroxy-chromonyl so miteinander verknüpft sind, daß beim energischen Alkaliabbau 2,4,2',4'-Tetrahydroxybiphenyl entsteht. Für solche Verknüpfung gibt es drei Möglichkeiten (XXI–XXIII), zu deren Unterscheidung wir die Umsetzung mit 2,6-Dibrom-benzochinon-chlorimid (Gibbs-Reaktion) nach F. E. KING, T. J. KING und L. C. MANNING²⁷⁾ in Pyridin/pH 9,2-Boratpuffer spektroskopisch untersuchten. Dieses Reagens kondensiert mit freien p -Stellungen von Phenolen und nur mit diesen unter Bildung intensiv blauer Indophenol-Farbstoffe mit Absorptionsmaximum im Bereich 500–700 μ . Von den drei möglichen Dimeren des 3,5-Dihydroxy-chromons hat XXIII zwei, XXII eine und XXI keine kupplungsfähige p -Stellung. Da Secalonsäure keinen Indophenol-Farbstoff



²⁷⁾ J. chem. Soc. [London] 1957, 563; H. D. GIBBS, J. biol. Chemistry 73, 649 [1927].

bildet (Tab. 2), liegt ihr das Bichromonyl XXI mit 8.8'-Verknüpfung zugrunde. Daß die Reaktion auch bei Chromonolen, Flavonolen und Hydroxy-acetophenonen spezifisch ist, geht aus den Beispielen von Tab. 2 hervor. Öffnet man die Chromonringe der Secalonsäure mit n NaOH bei 20°, so entsteht ein Hydrolyseprodukt (XXIV), das nun zwei freie p -Stellungen enthält und einen tiefblauen Indophenol-Farbstoff (λ_{\max} 650 $m\mu$) der Struktur XXV bildet.

Das 8.6'-Bichromonyl XXII scheidet für Secalonsäure auch nach dem KMR-Spektrum aus, weil es unsymmetrisch ist.

Tab. 2. Bildung von Indophenol-Farbstoffen mit 2.6-Dibrom-benzochinon-chlorimid (λ_{\max} in $m\mu$)

Secalonsäure	—	p -Kresol	— 27)
Secalonsäure mit n NaOH bei 20°		7-Hydroxy-5.4'-dimethoxy-flavon	— 27)
hydrolysiert	650	o -Kresol	590 27)
5-Hydroxy-2-methyl-chromon (VI)	640	5-Hydroxy-3.7.3'.4'.5'-pentamethoxy-	
2.6-Dihydroxy-acetophenon (X)	522	flavon	650 27)
2-Hydroxy-6-methoxy-			
acetophenon (XVI)	630		

Damit ist das 8.8'-Bichromonyl XXI, ein in der Natur bisher nicht aufgefundenes Grundgerüst, in der Secalonsäure nachgewiesen. Ihm sind in den Stellungen 2 und 2' aliphatische Seitenketten angegliedert, die zusammen je zwei Carbomethoxy-, Hydroxy- und C -Methyl-, sowie vier im KMR-Spektrum erkennbare Methylen-Gruppen enthalten (XXVI). Dabei lassen die bisher festgestellte Symmetrie des Moleküls und die Paarigkeit der noch anzuordnenden funktionellen Gruppen vermuten, daß es sich um zwei gleichartige Seitenketten handelt, über deren Strukturermittlung durch oxydative und alkalischen Abbau wir demnächst berichten werden.

Die Arbeit wurde von der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT, dem FONDS DER CHEMISCHEN INDUSTRIE und den FARBENFABRIKEN BAYER, WERK ELBERFELD, unterstützt. Die DR. SCHWARZ ARZNEIMITTELFABRIK, Monheim, überließ uns wertvolles Drogenmaterial. Herrn Priv.-Doz. Dr. H. STREHLOW, Max-Planck-Institut für Physikalische Chemie, Göttingen, danken wir für Aufnahme und Diskussion von Protonenresonanzspektren. Frau S. OHAGE, Herrn M. SPRINGORUM und Herrn K.-H. SCHULMEYER danken wir für die Messung von UV- und IR-Spektren, Frau I. USDOWSKI für geschickte experimentelle Mitarbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Papierchromatographie: Für die Ringpapierchromatogramme (25 cm Durchm., Schleicher & Schüll 2043 b) wurden nachstehende Lösungsmittelsysteme verwendet. Die Bereitung des pufferimprägnierten Papiers ist in der II. Mitteil.³⁾ beschrieben. 1) n -Butanol/Triäthylamin/Pyridin/Wasser (4:4:1:6) auf Citratpufferpapier, pH 6, das unmittelbar vor dem Chromatographieren mit der Unterphase besprüht wurde. 2) Wassergesätt. n -Butanol auf Phosphatpufferpapier³⁾, pH 7. 3) Tetralin/90-proz. Essigsäure (1:1). Papier mit Unterphase besprüht²⁸⁾. 4) Xylol/90-proz. Essigsäure (1:1). Papier mit Unterphase besprüht. 5) n -Propanol/25-proz. Ammoniak (7:3)²⁹⁾.

²⁸⁾ H. BROCKMANN und W. MÜLLER, Chem. Ber. 91, 1920 [1958].

²⁹⁾ F. A. ISHERWOOD und C. S. HANES, Biochem. J. 55, 824 [1953].

Reagenzien für Farbreaktionen

1) *Eisen(III)-chlorid*: 5-proz. in Methanol. 2) *Diazotierte Sulfanilsäure*¹²⁾: 0.1 g, in 20 ccm 10-proz. wäßr. Natriumcarbonatlösung unmittelbar vor der Verwendung gelöst. 3) *Pyroboracetat*³⁰⁾: 0.5 g wasserfreie Borsäure, in 10 ccm siedendem Acetanhydrid gelöst. 4) *Wilson-Reagens*²³⁾: 0.1 g Borsäure + 0.4 g Oxalsäure, gelöst in 100 ccm Methanol. 1–2 mg der zu prüfenden Substanz wurden mit 2 ccm der Lösung in einem Kristallisierschälchen zur Trockne eingedampft. Bei positivem Ausfall erhält man einen gelben, gelbgrün fluoreszierenden Rückstand. 5) *Gibbs Reagens*²⁷⁾: Frisch bereitete Lösung von 0.2 g 2.6-Dibrom-benzochinon-chlorimid in 100 ccm Pyridin. 2 mg des Phenols in 1 ccm Pyridin schüttelte man mit 5 ccm des Reagens + 20 ccm Boratpuffer, pH 9.2, und maß nach 15 Min. die Absorption zwischen 500–750 m μ .

Isolierung von Secalonsäure: In Anlehnung an KRAFT⁵⁾ wurden 5 kg grob zerkleinertes, mit Petroläther entfettetes Mutterkorn in einer Alpine-Schlagkreuzmühle fein gemahlen und sechs- mal 4–5 Tage in einem 25-l-Steinzeugperkolator mit je 5 l kaltem Chloroform bei 20° extrahiert. Die vereinigten, braun gefärbten Extrakte (28 l) dampfte man bei 40° i. Vak. ein, wobei 1.5 l braunes, sedimenthaltiges Öl zurückblieben, nahm in 5 l Petroläther (Sdp. 40°) auf, zentrifugierte den Rückstand ab und wusch ihn noch fünfmal mit je 1 l Petroläther. So erhielt man 76 g graugelbes Pulver, das zum Entfernen von Alkaloiden fünfmal mit je 30 ccm kaltem Eisessig digeriert und abzentrifugiert wurde, bis sich der letzte Extrakt nur noch schwach braun färbte. Nach Trocknen i. Vak. über konz. Schwefelsäure kochte man den immer noch etwas fettigen Rückstand (24 g) zur Abtrennung von Ergosterin u. ä. zweimal mit 50 bzw. 25 ccm Methanol aus und extrahierte ihn dann (22 g) erschöpfend mit siedendem Chloroform. Der gelbe Rückstand des Chloroformextraktes (6.1 g = 0.12%, bez. auf Mutterkorn; Schmp. 255–260°) wurde aus Chloroform, die Spitzenfraktion (600 mg; Schmp. 265–268°) noch einmal aus Dioxan und zweimal aus Aceton umkristallisiert (250 mg; Schmp. 268–270°).

Secalonsäure ist mäßig löslich in Pyridin, Dimethylformamid, Phenol, Dioxan (1.2%), 0.1 n NaOH (1%) und konz. Schwefelsäure, wenig löslich in Aceton, Eisessig und Methanol. IR-Banden (KBr): 3430 m, 2900 w, 1738 s, 1607 s, 1588 m, 1562 m, 1435 s, 1317 w, 1230 m, 1158 w, 1126 w, 1082 w, 1061 m, 1039 m, 998 w, 883 w, 820 m/cm. UV-Absorption (Methanol): λ_{\max} 338 (α 54.3), 242 (α 33.5), 220 (α 34.8) m μ . R_F -Werte: 0.71 (System 1), 0.00 (Systeme 2–5). Sublimation bei 275° i. Hochvak. ergibt ein hellgelbes Produkt, das im Papierchromatogramm (System 1) nur Spuren unveränderter Secalonsäure neben einer langsamer und einer schneller laufenden Zone erkennen läßt.

$C_{30}H_{30}O_{13}$ (598.5) Ber. C 60.20 H 5.05 O 34.75 $2OCH_3$ 10.37

$C_{34}H_{34}O_{15}$ (682.6) Ber. C 59.82 H 5.02 O 35.16 $2OCH_3$ 9.09

$C_{32}H_{30}O_{14}$ (638.6) Ber. C 60.19 H 4.74 O 35.07 $2OCH_3$ 9.72

$C_{32}H_{34}O_{14}$ (642.6) Ber. C 59.81 H 5.33 O 34.86 $2OCH_3$ 9.66 $2C-CH_3$ 4.68 6 akt. H 0.95

Gef. *) C 60.10 H 4.79 O 35.25 OCH_3 9.65 $C-CH_3$ 4.1 akt. H 1.11

Gef. *) C 60.05 H 4.81 O 34.89 OCH_3 9.40 $C-CH_3$ 3.0

Gef. ⁶⁾ C 59.73 H 5.19 OCH_3 9.85

^{*)} 8 Stdn. bei 110° i. Hochvak. getrocknet.

Weder bei der sauren (1:2 verd. Schwefelsäure, 3 Stdn. 100°) noch bei der alkalischen (2 n NaOH, 90 Min. 130° unter Stickstoff) Acetylbestimmung spaltete Secalonsäure flüchtige Säuren ab.

Molekulargewichtsbestimmung: $C_{32}H_{34}O_{14}$ Ber. 642.6.

a) Kryoskop. in Phenol Gef. 673; 625 ($c = 1.68; 1.75$).

b) Ebullioskop. in Dioxan Gef. 645 ($c = 0.98$).

³⁰⁾ O. DIMROTH, Liebigs Ann. Chem. 446, 97 [1926].

Isolierung von Chrysergonsäure: Nach A. STOLL u. a.⁶⁾ wurden 3.5 kg wie oben entfettetes und zerkleinertes Roggenmutterkorn ungarischer Herkunft dreimal 24 Stdn. mit je 7 l 80-proz. wäßr. Methanol in einem Perkulator extrahiert. Die vereinigten Methanolauszüge dampfte man bei 30° i. Vak. auf 1.3 l ein, brachte diesen wäßrigen Rückstand mit verd. Salzsäure auf pH 3, extrahierte dreimal mit je 1 l Äther und nahm die dabei als Zwischenschicht auftretende, feinkörnige graue Fällung, welche die schwerlösliche *Chrysergonsäure* enthält, mit in die tiefroten Ätherauszüge. Nach 24 Stdn. saugte man die Fällung der vereinigten Ätherauszüge, welche sich in dieser Zeit noch vermehrt hatte, ab und wusch sie nacheinander mit Äther und heißem Methanol. Aus dem äther. Filtrat wurden *Endocrocin* und *Clavorubin* isoliert³⁾. Das hellgelbe Pulver (3.9 g) wurde, vermischt mit 20 g Quarzsand p. a., 40 Stdn. im Soxhlet-Apparat mit 300 ccm trockenem Aceton extrahiert, wobei man alle 8 Stdn. unterbrach, den in gelben Nadeln auskristallisierten Farbstoff absaugte und das Filtrat erneut zur Extraktion verwendete. 2.98 g gelbe Nadeln, die nach Umkristallisieren aus Dioxan/Äther (1 : 4) bei 264–266° schmolzen. Misch-Schmp. mit Secalonsäure 264–266°. Der Farbstoff war nach IR- und UV-Spektrum (Abbild. 1 und 4), Löslichkeit, Farbreaktionen und Papierchromatogramm mit *Secalonsäure* identisch.

$C_{32}H_{30}O_{14}$ (638.6) Ber. C 60.19 H 4.74 $2OCH_3$ 9.72

$C_{32}H_{34}O_{14}$ (642.6) Ber. C 59.81 H 5.33 $2OCH_3$ 9.66

Gef. *) C 59.98 H 4.81 OCH_3 8.80

Gef. ⁶⁾ C 60.01 H 5.28 OCH_3 9.50

*) 5 Stdn. bei 120° i. Hochvak. getrocknet.

Untersuchung der Secalonsäure

Potentiometrische Titration: 19.86 mg, 20.09 mg *Secalonsäure* verbrauchten in 80-proz. wäßr. Dimethylformamid bis zum Wendepunkt 0.596, 0.612 ccm 0.1 *n* NaOH, den Äquiv.-Gew. 333, 328 oder 1.93, 1.96 sauren Gruppen entsprechend. $pK_{DMF}^{11)}$ 8.4 und 8.5. Tab. 3 zeigt Laugeverbrauch und pK_{DMF} -Werte von Modellverbindungen.

Tab. 3. Laugeverbrauch und pK_{DMF} -Werte von Modellverbindungen

	Äquivv. NaOH	pK_{DMF}
Benzoessäure	0.97	7.6
2-Hydroxy-chromon (VII)	1.04	6.5
3-Hydroxy-2-methyl-chromon (VIII)		11.8
2-Methyl-5.7-dihydroxy-chromon	1.03	9.1
2-Methyl-5-hydroxy-7-methoxy-chromon	—	>13
<i>o</i> -Hydroxy-acetophenon (IX)	—	>13
2.6-Dihydroxy-acetophenon (X)	0.97	10.2
2.4.6-Trihydroxy-acetophenon (XI)	0.91	9.7

Um auszuschließen, daß bei der Titration leicht hydrolysierbare Estergruppen verseift werden, wurden Lösungen von 20.5, 20.2 mg *Secalonsäure* in je 15 ccm 80-proz. Dimethylformamid 24 Stdn. bei 20° gehalten und erst dann titriert. Der Laugeverbrauch entsprach 1.99, 1.87 Äquivv. Außerdem vereinigte man die vier Titrationslösungen, verdünnte mit 250 ccm Wasser, säuerte mit 2 *n* HCl an und extrahierte mit Chloroform. Der Chloroformrückstand erwies sich durch Papierchromatogramm (System 1), IR-Spektrum und Analysenwerte nach Umkristallisieren aus Aceton als identisch mit *Secalonsäure*.

$C_{32}H_{34}O_{14}$ (642.6) Ber. C 59.81 H 5.33 $2OCH_3$ 9.66 Gef. C 59.80 H 4.86 OCH_3 9.04

Oxoniumsalzbildung: Beim Sättigen einer 0.4-proz. Lösung von *Secalonsäure* in Dioxan mit trockenem Chlorwasserstoff wurde unter leichter Farbvertiefung ein gelbes Oxoniumsalz ausgefällt. Um es zu identifizieren, saugte man ab, wusch den Rückstand mehrfach mit Dioxan, hydrolysierte ihn durch Eintragen in Wasser und filtrierte. Im Filtrat ließen sich Chlorionen nachweisen. Ebenso wie *Secalonsäure* verhielt sich *2-Methyl-5-hydroxy-chromon* (VI), während *2-Hydroxy-6-methoxy-acetophenon* (XVI), mit dem konjugierten System des *5-Hydroxy-chromanons* (XVII), kein Oxoniumsalz bildete.

Spezif. Drehung. a) *In Dioxan:* $[\alpha]_D^{20}$: + 49.5° ($c = 0.412$). Drehwert war nach 48 Stdn. unverändert (49.8°).

b) *In Dimethylformamid und Pyridin:* Es trat folgender Drehungsanstieg ein, der nach drei Wochen noch keinen Endwert erreicht hatte:

Zeit (Stdn.)	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 2.038$, in Dimethylformamid)	$[\alpha]_D^{20}$ ($c = 2.016$, in Pyridin)
0.5	+ 13.1°	- 3.3°
3	+ 22.7°	- 0.8°
7	+ 24.7°	- 4.6°
21.5	+ 34.5°	- 1.7°
45	+ 42.7°	- 0.7°
70	+ 45.8°	- 0.5°
95.5	+ 45.2°	+ 0.8°
151	+ 55.4°	+ 7.4°
222	+ 55.4°	+ 12.0°
319	+ 63.0°	+ 12.8°
504	+ 64.9°	+ 18.3°
	+ 51.7° ($c = 1.83$)	+ 20.7° ($c = 1.43$)

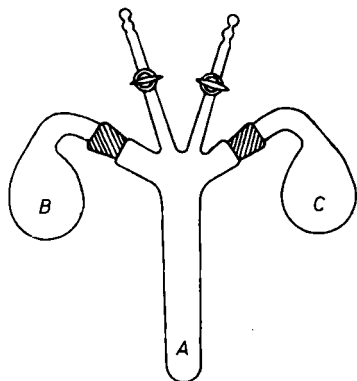
Im Anschluß an die MeBreihen wurden die Lösungen je für sich mit 100 ccm Wasser versetzt, mit verd. Salzsäure angesäuert, mit Chloroform extrahiert und die mit Natriumsulfat getrockneten Extrakte eingedampft. Die Rückstände gaben im Papierchromatogramm (System 1) dieselbe Zone wie *Secalonsäure* und die in der letzten Zeile der Tabelle angeführten α -Werte.

Potentiometrische Lactontitration. a) *Mit methanol. NaOH:* 20.62 mg, 20.99 mg *Secalonsäure* wurden in zwei verschlossenen Schließstopfenröhrchen von 6 ccm Inhalt mit genau 2 ccm methanol., kohlendioxidfreier 0.1 n NaOH, 10% Wasser enthaltend, 4 Stdn. auf 60° erwärmt. Zur Bestimmung des Leerwertes wurden zwei weitere Röhrchen mit methanol. NaOH, jedoch ohne *Secalonsäure* gleichartig behandelt. Anschließend titrierte man in den alkalischen Lösungen nach Zusatz von 8.5 ccm Methanol und 4.5 ccm Wasser die unverbrauchte Lauge potentiometrisch mit wäßr. 0.1 n HCl zurück. Der Laugeverbrauch als Differenz gegenüber dem Leerwert betrug 1.29, 1.30 ccm, entspr. 4.02, 3.99 Lacton- oder freien sauren Gruppen, bezogen auf $C_{32}H_{34}O_{14}$ (642.6).

b) *Mit wäßr. NaOH:* 19.82 mg, 20.70 mg *Secalonsäure*, gelöst in je 3 ccm wäßr. kohlendioxidfreier 0.1 n NaOH, wurden wie unter a) bei 60° verseift und der Laugeverbrauch potentiometrisch titriert: 1.17, 1.31 ccm, entspr. 3.79, 4.07 Lacton- oder freien sauren Gruppen.

Untersuchung des Reaktionsproduktes der Lactontitration: Zur Darstellung dieses Hydrolyseproduktes unter Luftausschluß gab man in A des Hydrolysegefäßes (Abbild. 7) 99.5 mg *Secalonsäure*, in B 15 ccm 0.1 n NaOH und in C 2 ccm n HCl.

Nachdem durch abwechselndes Evakuieren und Einlassen von Wasserstoff die Luft aus dem Gefäß entfernt war, löste man die Secalonsäure in der aus B zugefügten Lauge und erwärmte durch Eintauchen von A in ein Wasserbad 4 Stdn. auf 60°. Innerhalb von 20 Min. trat wie bei der Lactontitration Farbumschlag von Gelb nach Gelborange ein. Nach dem Erkalten säuerte man an durch Schwenken von Gefäß C, wobei weder Farbänderung noch eine Fällung eintrat. Man extrahierte den Farbstoff mit zweimal 50 ccm Essigester erschöpfend, wusch den Extrakt mit wenig gesätt. Natriumsulfatlösung neutral, trocknete ihn und dampfte i. Vak. ein. 89 mg orangefarbiger Rückstand von smaragdgrüner Eisen(III)-chlorid-Reaktion.



Abbild. 7. Hydrolysengefäß

Leicht löslich in Methanol, Aceton, Essigester, Wasser, sehr wenig löslich in Benzol und Chloroform. Im Papierchromatogramm (System 2) trennte sich das Produkt in mehrere Zonen auf, von denen keine mit 2.4.2'.4'-Tetrahydroxy-biphenyl identisch war. Auch Methylbernsteinsäure ließ sich nicht nachweisen (System 5). IR-Spektrum (Kaliumbromid): 1707 (aliph. CO₂H), 1616 (ν_{C=O}, C=C). UV-Absorption (Methanol): λ_{max} 360, 255 mμ. Gef. OCH₃ 2.3 (Secalonsäure OCH₃ 9.65).

Potentiometrische Titration: 6.130 mg, 6.697 mg des Hydrolysenproduktes verbrauchten in 50-proz. wäbr. Methanol bis zum Wendepunkt 0.368, 0.398 ccm 0.1 n NaOH, entspr. den Äquiv.-Gew. 167, 168 oder 3.8, 3.8 sauren Gruppen, bezogen auf das Mol.-Gew. 640.

Mildeste alkalische Entmethylierung: In einem Vorversuch wurden einer bei 20° gehaltenen Lösung von 88.6 mg Secalonsäure in 30 ccm 0.1 n NaOH nach 0.5, 1, 2, 3.5, 7, 23 Stdn. 5-ccm-Proben entnommen, der darin enthaltene Farbstoff nach Ansäuern mit Chloroform extrahiert und papierchromatographisch (System 1) untersucht. Dabei zeigte sich, daß Secalonsäure nach 3.5 Stdn. vollständig in ein langsamer laufendes Produkt (R_f-Wert 0.3, bez. auf Secalonsäure) gleicher Färbung umgewandelt ist. Dieselbe Zone zeigten auch die nach längerer Laugeneinwirkung erhaltenen Proben, nur ließ bei ihnen eine Änderung der Eisen(III)-chlorid-Reaktion von Braun (3.5 Stdn.) nach Olivgrün (23 Stdn.) vermuten, daß zusätzlich hydrolytische Veränderungen am Chromophor erfolgt sind.

Zur Untersuchung des ersten Alkaliumwandlungsproduktes beließ man eine Lösung von 300 mg Secalonsäure in 100 ccm 0.1 n NaOH 3.5 Stdn. bei 20°, säuerte dann mit verd. Salzsäure an, extrahierte dreimal mit je 50 ccm Essigester, dampfte die vereinigten und getrockneten Auszüge bei 20° i. Vak. ein und trocknete den gelben, feinkörnigen Rückstand bei 50° i. Hochvak. Im Ringpapierchromatogramm mit System 4 trennte er sich in zwei beieinanderliegende Hauptzonen und eine schwache Vorlaufzone auf, von gleicher sichtbarer Farbe und Färbung mit diazotierter Sulfanilsäure. UV-Absorption (Methanol): 334, 246 mμ. Gef. OCH₃ 2.68 (Secalonsäure OCH₃ 9.65).

Milde alkalische Chromonhydrolyse: Das UV-Spektrum einer bei 20° gehaltenen Lösung von 0.95 mg *Secalonsäure* in 100 ccm *n* NaOH wurde nach 0.25, 0.75, 1.5, 3, 6, 10, 32, 48, 56 und 72 Stdn. gemessen. Nach 56 Stdn. war eine Verschiebung der in Lauge gemessenen Banden von 254, 364 nach 281, 396 μ beendet, und das Spektrum änderte sich dann nicht mehr (Abbild. 5). Das aus einem 72-Stdn.-Ansatz mit 100 mg *Secalonsäure* isolierte orangefarbige Hydrolysenprodukt gab wie 2.6-Dihydroxy-acetophenon eine grüne Eisen(III)-chlorid-Reaktion und reduzierte ammoniakalische Silberlösung. UV-Absorption (Methanol): λ_{\max} 252, 358 μ (Abbild. 6). IR-Spektrum (Kaliumbromid): $\nu_{\text{C=O}}$ 1613/cm.

Protonenresonanzspektrum der Secalonsäure: Da *Secalonsäure* in allen organischen Lösungsmitteln einschließlich Deuterotrifluoressigsäure sehr wenig löslich ist, kam nur schwere Natronlauge für die Messung in Betracht, worin jedoch die Carbomethoxy- und die Chromongruppen hydrolysieren. Von einer unter Stickstoff bereiteten und 56 Stdn. bis zur vollständigen Hydrolyse bei 20° gehaltenen Lösung von 100 mg *Secalonsäure* in 1 ccm *n* NaOD/D₂O wurde ein H¹-Spektrum mit einem 60MHz-Varian-Kernresonanz-Spektrographen aufgenommen (Abbild. 3).

Energischer Alkaliabbau der Secalonsäure: 42.8 mg *Secalonsäure* wurden mit 1 g Ba(OH)₂ · 8H₂O und 2 ccm Wasser im Einschlußrohr 7 Stdn. auf 140° erhitzt. Die dabei gebildete rotbraune Lösung mit graubraunen, ungelösten Partikeln säuerte man mit Salzsäure an, extrahierte nacheinander erschöpfend mit Äther und Essigester und dampfte die Extrakte ein. 17.3 mg Ätherextrakt, 11.7 mg Essigesterextrakt. Beide Fraktionen sind ein in gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung vollständig lösliches, braunes Pulver mit brauner Eisen(III)-chlorid-Reaktion. Papierchromatographisch ließen sich 2.4.2'.4'-Tetrahydroxy-biphenyl (System 4) und Methylbernsteinsäure (System 5) darin nachweisen.

Katalyt. Hydrierung. a) In *Dioxan*: Lösungen von 31.87 mg, 31.29 mg *Secalonsäure* in je 5 ccm frisch gereinigtem *Dioxan* wurden in einer Mikrohydrierapparatur mit der vorhydrierten Suspension von 50 mg Platindioxyd in 1 ccm *Dioxan* 2 Stdn. hydriert. Die Wasserstoffaufnahme von 0.11 und 0.14 ccm war nicht höher als der bei Hydrierung ohne *Secalonsäure* ermittelte Blindwert (0.12 ccm). Man filtrierte die vereinigten beiden Lösungen vom Katalysator ab, verdünnte das Filtrat mit 100 ccm Wasser, säuerte mit 2*n* HCl auf pH 2 an, zentriifugierte den ausgefällten, hellgelben Farbstoff ab, wusch mit Wasser neutral, trocknete ihn und kristallisierte aus 12 ccm *Dioxan*/Äther (1 : 5) um. Er war nach Schmp., Misch-Schmp., Papierchromatogramm (System 1), IR-, UV-Spektrum und Analysen mit *Secalonsäure* identisch.

C₃₂H₃₄O₁₄ (642.6) Ber. C 59.81 H 5.33 Gef. C 60.25 H 4.96

18.2 mg *Cumarin*, unter denselben Bedingungen in *Dioxan* hydriert, nahmen in 140 Min. 2.99 ccm Wasserstoff (0°, 760 Torr), entspr. 1.07 Mol auf.

b) In 95-proz. Eisessig: Eine Lösung von 130.3 mg *Secalonsäure* in 500 ccm 95-proz. Eisessig wurde mit der vorhydrierten Suspension von 300 mg Platindioxyd in 10 ccm desselben Lösungsmittels 7 Stdn. unter Wasserstoff geschüttelt. Keine Wasserstoffaufnahme. Auch hier war das Reaktionsprodukt mit *Secalonsäure* identisch.

c) In *n* NaOH: 19.9 mg *Secalonsäure* wurden mit 18.2 mg Platindioxyd in 4 ccm *n* NaOH hydriert. Innerhalb von 5 Stdn. trat keine Wasserstoffaufnahme ein. Erst nach 25 und 45 Stdn. waren 0.35 bzw. 0.77 Mol H₂ aufgenommen. Nachstehend ist die Wasserstoffaufnahme von fünf Modellverbindungen, die ebenso in *n* NaOH hydriert wurden, zusammengestellt.

2-Methyl-chromon: 0.93 Mol H₂ (4 Stdn.); 5.7-Dihydroxy-2-methyl-chromon: 0.00 Mol H₂ (4.5 Stdn.), 0.19 Mol H₂ (18.5 Stdn.); 3.5.7.4'-Tetrahydroxy-flavon (*Kämpferol*): 0.05 Mol H₂

(8 Stdn.), 0.28 Mol (22 Stdn.); 2.6-Dihydroxy-acetophenon: 0.03 Mol H₂ (8 Stdn.), 0.25 Mol H₂ (21 Stdn.).

Methylierung. a) *Mit Diazomethan:* Eine Lösung von 100 mg *Secalonsäure* in 20 ccm frisch gereinigtem Dioxan wurde mit 25 ccm destillierter äther. Diazomethanlösung, die aus 4.3 g *N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid* bereitet worden war, versetzt. Schwache Gasentwicklung. Nach 24 Stdn. goß man in 300 ccm Wasser, extrahierte dreimal mit je 50 ccm Chloroform, wusch die Auszüge mit Wasser und dampfte ein: 129 mg gelber Rückstand, der zur weiteren Reinigung in 20 ccm Benzol/Aceton (19 : 1) gelöst und auf eine mit demselben Lösungsmittel eingeschlammte Säule von 25 g Kieselgel gegossen wurde. Mit Benzol/Aceton (9 : 1) wurde eine gelbe Hauptzone eluiert, während eine schmale Zone brauner Verunreinigungen am Säulenkopf zurückblieb. Der Eluatrückstand schied sich aus heißem Benzol/Cyclohexan (1 : 1) als feinkörniges gelbes Pulver ab. Schmp. nach erneutem Umlösen aus demselben Lösungsmittel 236–238° (Zers.). Es bildet im Papierchromatogramm (System 4) nur eine Zone, die sich mit diazotierter Sulfanilsäure orange anfärbt, und ist im Gegensatz zur *Secalonsäure* leicht löslich in Aceton und Methanol. Eisen(II)-chlorid-Reaktion olivgrün.

Dimethylsecalonsäure

C₃₄H₃₈O₁₄ (670.6) Ber. 4OCH₃ 18.51 Gef. OCH₃ 18.62 N 0.00

IR-Banden (KBr): 1737 (Ester), 1631 und 1588 (ν_{C=O}, C=C)/cm. UV-Absorption (Methanol): λ_{max} 322 (α 34.9), 248 (α 33.6) mμ. Bei der potentiometrischen Titration in 80-proz. Dimethylformamid kein Wendepunkt bis pH 13 (Abbild. 2).

49.7 mg *Secalonsäure-hexaacetat*, in gleicher Weise methyliert, ergaben 50.8 mg farbloses Pulver, das nach IR- und UV-Spektrum mit *Secalonsäure-hexaacetat* identisch war.

C₄₄H₄₆O₂₀ (894.8) Ber. 2OCH₃ 6.94 Gef. OCH₃ 7.57

530 mg 2-Methyl-5.7-dihydroxy-chromon ebenso methyliert, lieferten 270.8 mg rohes Methylierungsprodukt. Sublimiert (12 Torr, 130°) bildete es farblose Nadeln, die nach Schmp. (116°), UV-Spektrum und Analysen dem *Eugenin*¹⁷⁾ (2-Methyl-5-hydroxy-7-methoxy-chromon) entsprachen.

C₁₁H₁₀O₄ (206.2) Ber. C 64.07 H 4.89 1OCH₃ 15.05 Gef. C 64.32 H 5.10 OCH₃ 13.73

359 mg 2.6-Dihydroxy-acetophenon (X) ebenso methyliert, ergaben 395 mg gelbbraunes Öl, das unter Bildung langer Nadeln allmählich erstarrte. Nach Sublimation (12 Torr, 100°) wurden farblose Nadeln vom Schmp. 47–49° erhalten. Eisen(III)-chlorid-Reaktion weinrot. IR-Spektrum (KBr): ν_{C=O} 1618/cm.

C₉H₁₀O₃ (166.2) Ber. 1OCH₃ 18.68 Gef. OCH₃ 18.02

580 mg *Phloracetophenon* (XI) ebenso methyliert, lieferten 421 mg hellbraunes Kristallisat. Nach Sublimation (12 Torr, 140–150°) farblose Prismen mit roter Eisen(III)-chlorid-Reaktion. IR-Spektrum (Kaliumbromid): ν_{C=O} 1613/cm.

C₉H₁₀O₄ (182.2) Ber. 1OCH₃ 17.03 Gef. OCH₃ 18.01

b) *Mit methanol. Salzsäure:* Eine Lösung von 171 mg *Secalonsäure* in 25 ccm Dioxan wurde nach Zusatz von 50 ccm 4.4-proz. methanol. Salzsäure 3.5 Tage bei 20° gehalten. Anschließend goß man in 300 ccm Wasser, extrahierte erschöpfend mit Chloroform, dampfte den getrockneten Chloroformauszug ein und kristallisierte den Rückstand (170 mg) aus Dioxan/Äther (1 : 4) um. Feine, gelbe Nadeln vom Schmp. 261–269°. Misch-Schmp. mit *Secalonsäure* 263 bis 269°. Sie sind auch nach Eisen(III)-chlorid-Reaktion, UV- und IR-Spektrum mit *Secalonsäure* identisch.

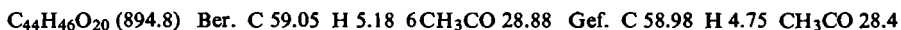
C₃₂H₃₄O₁₄ (642.6) Ber. C 59.81 H 5.33 2OCH₃ 9.66 Gef. C 60.19 H 4.75 OCH₃ 9.59

Eine Lösung von 36.8 mg *Secalonsäure* in 25 ccm Dioxan wurde mit 25 ccm 6-proz. methanol. Salzsäure 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Aufarbeitung wie oben ergab 35.8 mg gelbe Nadeln vom Schmp. 258—262°, die nach Misch-Schmp., Eisen(III)-chlorid-Reaktion, UV- und IR-Spektrum mit *Secalonsäure* übereinstimmen.



Secalonsäure-hexaacetat: Eine Lösung von 103.3 mg *Secalonsäure* in 6 ccm Pyridin/Acetanhydrid (2 : 1) wurde 48 Stdn. bei 20° gehalten, wobei sie sich innerhalb der ersten 2 Stdn. völlig entfärbte. Zur Aufarbeitung goß man in 60 ccm Wasser, schüttelte bis sich der farblose Niederschlag verfestigt hatte, saugte ab, wusch mit Wasser nach und trocknete i. Vak. über Kaliumhydroxyd und konz. Schwefelsäure. 138.2 mg farbloses Rohacetat. Da es im Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel G, E. MERCK, Chloroform/Methanol (9 : 1)) zwei Haupt- und zwei Nebenzonen zeigte, die unter der UV-Lampe grün fluoreszierten, wurde es an Kieselgel chromatographiert. Hierzu gab man es, in wenig Benzol gelöst, auf eine mit Benzol eingeschlammte Säule aus 30 g Kieselgel. Mit Benzol/Aceton (19 : 1) wurden zunächst 35 mg Substanz eluiert, die man verwarf, weil sie sich im Dünnschichtchromatogramm in mehrere Zonen auftrennte und ein völlig uncharakteristisches UV-Spektrum hatte. Benzol/Aceton (9 : 1) lieferte danach eine Hauptfraktion von 76 mg, die im Dünnschichtchromatogramm praktisch nur die langsamer laufende Hauptzone des Rohacetats erkennen ließ.

Dieses *Secalonsäure-hexaacetat* schied sich aus 3 ccm heißem Tetrachlorkohlenstoff/Cyclohexan (2 : 1) bei langsamem Erkalten in farblosen, feinen Körnchen ab. Schmp. unscharf oberhalb 150° (Zers.). Es gibt keine Reaktion mit Eisen(II)-chlorid, ist leicht löslich in Benzol, Chloroform, Methanol, mäßig löslich in Tetrachlorkohlenstoff und sehr wenig löslich in Wasser und Cyclohexan. $[\alpha]_D^{20}$: -43.3° ($c = 2.065$, in Methanol). IR-Spektrum (KBr): 1766 (Ester), 1642 und 1619 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$, $\nu_{\text{C}=\text{O}}$)/cm. UV-Absorption (Methanol): λ_{max} 334 (α 17.2), 298 (α 30.8), 253 (α 37.3) m μ .



Verseifung: Eine Suspension von 50 mg *Secalonsäure-hexaacetat* in 10 ccm 3*n* HCl wurde unter gelegentlichem Umschütteln 1 Stde. unter Rückfluß gekocht. Den Niederschlag, der dabei hellgelb wurde, saugte man ab und trocknete ihn: 45 mg. Im Papierchromatogramm (System 1) zeigte das Verseifungsprodukt mehrere Zonen, die nicht mit *Secalonsäure* identisch waren. Die Eisen(III)-chlorid-Reaktion — weinrot wie bei *Secalonsäure* — zeigte an, daß bei der Acetylierung keine Aufspaltung des Chromonsystems erfolgt war.

Dimethylsecalonsäure-tetraacetat: Eine Lösung von 45.1 mg *Dimethylsecalonsäure* in 6 ccm Pyridin/Acetanhydrid (2 : 1) wurde 48 Stdn. bei 20° gehalten, wobei sie sich vollkommen entfärbte. Man schüttelte mit 60 ccm Wasser durch, saugte das ausgefallte Acetat ab, löste in wenig Chloroform und fällte es durch Hexanzusatz aus. 33.6 mg blaßgelbes Pulver. Es ist leicht löslich in Chloroform, Aceton, Methanol, Dimethylformamid, schwer löslich in Hexan und Wasser. Keine Farbreaktion mit Eisen(III)-chlorid und diazotierter Sulfanilsäure. IR-Spektrum (KBr): $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ 1672/cm. UV-Absorption (Methanol): λ_{max} 313, 244 m μ .



Versuch zur Dehydrierung von Acyloingruppen mit BiIII-Acetat^{24, 25}: Eine Lösung von 50 mg *Secalonsäure* in 20 ccm Glykol-monoäthyläther/Eisessig (3 : 2) wurde mit 120 mg basischem Wismutcarbonat (Bi₂O₂CO₃) ^{11/4} Stdn. unter Rückfluß gekocht. Anschließend filtrierte man den weißen Wismutsalzniederschlag ab, wusch mit Eisessig nach und dampfte das Filtrat i. Vak. ein. Um eine etwa gebildete Komplexverbindung zu zerlegen, nahm man den Rückstand unter 10 Min. Schütteln in 2*n* NaOH auf, säuerte mit verd. Salzsäure schnell wieder an,

extrahierte zweimal mit je 200 ccm Chloroform, zentrifugierte ungelösten, hellgelben Farbstoff, der sich bei der Extraktion als Zwischenschicht abgeschieden hatte, ab, vereinigte ihn mit dem Eindampfrückstand des Chloroformauszugs und kristallisierte aus Aceton um. Das Reaktionsprodukt ist nach UV-, IR-Spektrum, Farbreaktionen mit Eisen(III)-chlorid (kirschrot) und konz. Schwefelsäure (goldgelb, keine Fluoreszenz) und Papierchromatogramm mit Secalonsäure identisch.

$C_{32}H_{34}O_{14}$ (640.6) Ber. C 59.81 H 5.33 Gef. C 59.89 H 4.88

Kontrollversuch: *Benzoin*, unter denselben Bedingungen dehydriert, ergab bei schnell eintretender Graufärbung des suspendierten Wismutsalzes eine in gelben Nadeln kristallisierte Verbindung vom Schmp. 94°. Misch-Schmp. mit *Benzil* 95°.

$C_{14}H_{10}O_2$ (210.2) Ber. C 79.98 H 4.79 Gef. C 79.45 H 4.88