

Rudolf Grewe†, Wolfgang Freist<sup>1)</sup>, Helge Neumann<sup>2)</sup> und Siegfried Kersten

## Über die Inhaltsstoffe des schwarzen Pfeffers

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Kiel

(Eingegangen am 4. Dezember 1969)

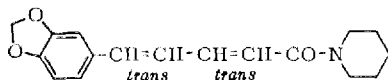
Aus *Piper nigrum* werden drei neue Nebenalkaloide isoliert. Das „Chavicin“, das bisher als Geschmacksträger des Pfeffers angegeben wurde, ist kein *cis,cis*-Piperin, sondern ein Gemisch aus Piperin und verschiedenen Nebenalkaloiden; *cis,cis*-Piperin kann im Pfeffer nicht nachgewiesen werden. Sämtliche *cis-trans*-isomeren Piperinsäuren und ihre Piperidide werden synthetisiert. Ihre Eigenschaften beweisen ebenfalls, daß das „Chavicin“ der älteren Literatur kein Isomeres des Piperins gewesen sein kann. Der scharfe Geschmack des Pfeffers wird durch Piperin verursacht.

### Chemical Constituents of Black Pepper

Three new minor alkaloids were isolated from *Piper nigrum*. „Chavicin“, so far believed to cause the particular taste of pepper, is not *cis,cis*-piperine, but a mixture of piperine and several minor alkaloids. *cis,cis*-Piperine could not be detected in black pepper. All *cis-trans* isomeric acids and their piperidides were synthesized. Their properties likewise show clearly that the „chavicin“ of the older literature can not have been an isomer of piperine. The hot taste of pepper is due to piperine.

### I. „Chavicin“

Aus dem äthanolischen Rohextrakt des schwarzen Pfeffers (*Piper nigrum*) hat Oersted schon vor 150 Jahren das kristalline Piperin (1) vom Schmp. 127° gewonnen, das sich alkalisch in Piperidin und Piperinsäure (Schmp. 217°) spalten ließ<sup>3)</sup>. Seine *trans,trans*-Konfiguration ging aus dem Abbau von Doebner<sup>4)</sup> und der Synthese von Ladenburg und Scholtz<sup>5)</sup> hervor.



1, Piperin

1) W. Freist, Dissertat. Univ. Kiel 1968.

2) H. Neumann, Dissertat. Univ. Kiel 1968.

3) Literaturzusammenstellungen: <sup>3a)</sup> T. A. Henry, The Plant Alkaloids, 4. Aufl., J. und A. Churchill Ltd., London 1949; <sup>3b)</sup> K. W. Bentley, The Alkaloids, Vol. 1, S. 26, Interscience Publishers Ltd., New York/London 1957; <sup>3c)</sup> L. Marion in R. H. F. Manske und H. L. Holmes, The Alkaloids, Vol. 1, S. 168 ff., Academic Press, New York 1950; <sup>3d)</sup> A. A. Newman, Chem. Products, Chem. News 16, 343, 379, 413, 467 (1953), 17, 102 (1954).

4) O. Doebner, Ber. dtsh. chem. Ges. 23, 2372 (1890).

5) A. Ladenburg und M. Scholtz, Ber. dtsh. chem. Ges. 27, 2958 (1894).

Ein aus der Mutterlauge der Piperinkristallisation in beträchtlicher Menge isoliertes zähflüssiges Öl wurde für einheitlich gehalten und 1876 „Chavicin“ genannt<sup>6)</sup>. Daß man sich in der Folgezeit überhaupt für das „Chavicin“ interessierte, lag an seinem auffallend scharfen Pfeffergeschmack. Piperinkristalle zeigen beim Zerbeißen eine nur schwache Wirkung. Das „Chavicin“ sollte somit der eigentliche Wirkstoff des Pfeffers sein. Der Geschmacksverlust des Pfeffers bei längerer Lagerung wurde auf eine Umlagerung des „Chavicans“ in Piperin zurückgeführt<sup>3d)</sup>.

Die Summenformel des „Chavicans“ entsprach der des Piperins (1), die Verseifung lieferte Piperidin und Chavicansäure vom Schmp. 202°<sup>7)</sup>, die für ein geometrisches Isomeres von Piperinsäure gehalten wurde. 1922 stellten *Ott* und *Eichler*<sup>7)</sup> durch eine abgeänderte Knoevenagel-Kondensation „Isopiperinsäure“ vom Schmp. 145–155° dar, die auf Grund ihrer Entstehungsweise die *cis.trans*-Konfiguration<sup>8)</sup> haben sollte und von der Chavicansäure verschieden war. Nach *Lohaus*<sup>9)</sup> lagert sie sich bei der Behandlung mit Thionylchlorid um, denn als Piperidid wurde nur Piperin (1) mit der *trans.trans*-Konfiguration erhalten.

Wir haben diese Angaben nachgeprüft und können sie im wesentlichen bestätigen. Allerdings haben wir die *cis.trans*-Piperinsäure (13) nach einem sterisch eindeutigen Verfahren über die entsprechende Acetylenverbindung durch partielle Hydrierung synthetisiert (s. III. Abschnitt). Unsere Säure schmilzt scharf bei 153° und läßt sich bei vorsichtigem Arbeiten über das Säurechlorid in das Piperidid überführen. Dieses „Isopiperin“ ist kristallin (Schmp. 110°) und lagert sich unter Lichteinwirkung ebenso wie die Isopiperinsäure in die *trans.trans*-Form um. Das synthetische *cis.trans*-Piperin ist also, wie *Ott* und *Eichler* richtig vorausgesagt hatten, vom „Chavicin“ ganz verschieden.

Im Jahre 1935 beschrieben *Lohaus* und *Gall*<sup>10)</sup> die Synthese einer weiteren isomeren Form der Piperinsäure. Die Schlüsselverbindung dieser Synthese war eine  $\gamma$ -Brompiperinsäure nichtgesicherter Konfiguration, aus der das Halogen durch langes Kochen mit Zinkstaub in Äthanol entfernt wurde. Bei dieser Reaktion entstand als Hauptprodukt die bekannte *trans.trans*-Piperinsäure; ferner hatte sich neben öligen Zersetzungsprodukten in geringer Menge eine andere kristalline Säure gebildet, die bei 138° schmolz. Die Autoren vertraten die Meinung, daß diese „Isochavicansäure“ *trans.cis*-Konfiguration besitzen müsse, wofür sie aber lediglich Analogiegründe anführten. Sie folgerten weiter, daß für die wesentlich höher schmelzende „Chavicansäure“ nur noch die letzte der geometrischen Isomeriemöglichkeiten, nämlich die *cis.cis*-Konfiguration, übrig bleibe. Ihre daraus abgeleitete Behauptung, daß das „Chavicin“ des Pfeffers *cis.cis*-Piperin sei, ist von Lehrbüchern<sup>11)</sup> und Nachschlagewerken<sup>3b,3c)</sup> übernommen worden.

6) *R. Buchheim*, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **5**, 455 (1876).

7) *E. Ott* und *F. Eichler*, Ber. dtsh. chem. Ges. **55**, 2653 (1922).

8) Die Zählung der Kohlenstoffatome der Piperinsäuren beginnt am Carboxyl-Ende, deshalb steht im Namen für die geometrischen Isomeren zuerst die Konfigurationsbezeichnung für die  $\alpha$ -ständige Doppelbindung.

9) *H. Lohaus*, J. prakt. Chem. (2) **119**, 235 (1929).

10) *H. Lohaus* und *H. Gall*, Liebigs Ann. Chem. **517**, 278 (1935).

11) *P. Karrer*, Lehrbuch der Organischen Chemie, 14. Aufl., S. 906, Verlag Georg Thieme, Stuttgart 1963; *F. Klages*, Lehrbuch der Organischen Chemie, Bd. 3, S. 530, Verlag Walter de Gruyter & Co., Berlin, 1967.

Indessen sind Zweifel an der Natur der Säure vom Schmp. 138° und damit an den weitgehenden Schlußfolgerungen berechtigt. Es wurde deshalb die *trans.cis*-Piperinsäure (16) nach einem durchsichtigen Verfahren in guter Ausbeute synthetisiert (s. Abschnitt III).

Die Verbindung schmilzt bei 143°. Es sieht demnach so aus, als ob das bei 138° schmelzende Präparat von Lohaus und Gall<sup>10)</sup> wirklich *trans.cis*-Piperinsäure gewesen sei. Wir haben diese Frage nicht nachgeprüft, da für das vorliegende Problem allein die Bestätigung des niedrigeren Schmelzpunktes der synthetisch erhaltenen Säure wichtig ist, so daß die fragliche „Chavicinsäure“ tatsächlich nicht die *trans.cis*-Form haben kann.

Überdies läßt sich aus unserer *trans.cis*-Piperinsäure (16) durch vorsichtige Umsetzung mit Thionylchlorid und Piperidin das entsprechende *trans.cis*-Piperidid (Schmp. 89°) darstellen, das sich am Licht leicht in *trans.trans*-Piperin (1) umlagert. Bei der Verseifung wird ohne nennenswerte Umlagerung *trans.cis*-Piperinsäure (16) zurückgeliefert. Unser kristallines *trans.cis*-Piperin ist also, wie zu erwarten war, vom öligen „Chavicin“ ganz verschieden.

Die entscheidende Synthese des Piperins mit *cis.cis*-Konfiguration konnte von den früheren Autoren in Ermangelung geeigneter Methoden nicht durchgeführt werden. Wir haben mit Hilfe neuer Methoden zunächst die *cis.cis*-Piperinsäure (18) dargestellt (s. Abschnitt III), sie schmilzt bei 129°; das daraus gewonnene *cis.cis*-Piperin ist ein im Diffusionsvakuum destillierbares, chromatographisch einheitliches Öl, das durch Licht rasch in kristallines *trans.trans*-Piperin (1) umgewandelt wird. Bei der alkalischen Verseifung beschränkt sich die Isomerisierung auf die  $\alpha$ -ständige Doppelbindung, und man erhält die *trans.cis*-Piperinsäure (16) vom Schmp. 143°.

„Chavicin“ hat mit dem synthetischen *cis.cis*-Piperin, abgesehen von seiner öligen Beschaffenheit, nichts gemein. Das abweichende Verhalten liegt vor allem darin, daß bei der Verseifung „Chavicinsäure“ vom Schmp. 202° entstehen soll. Auch findet sich in der Literatur kein Hinweis auf eine Lichtempfindlichkeit des „Chavicins“.

Damit ist es sicher, daß im Pfeffer neben dem gewöhnlichen *trans.trans*-Piperin (1) nicht die *cis.cis*-Form vorkommt, für den Namen „Chavicin“ ist in der Piperinreihe kein Platz mehr.

Die Unstimmigkeiten in der Literatur gaben gleichzeitig Anlaß, die Inhaltsstoffe des schwarzen Pfeffers erneut zu untersuchen.

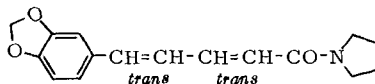
## II. Isolierung neuer Inhaltsstoffe des schwarzen Pfeffers

Das Verfahren von Ott und Eichler<sup>7)</sup> erwies sich zur Isolierung von Inhaltsstoffen des Pfeffers als ungeeignet. Für die folgenden Untersuchungen wurde deshalb der Pfeffer mit Methylenchlorid extrahiert und der Rohextrakt bei einer groben Vortrennung an Aluminiumoxid in fünf Fraktionen zerlegt. Die erste enthielt Terpene, die zweite bis vierte Piperin (1), mit der Hauptmenge in der dritten Fraktion. Nebenalkaloide fanden sich in den Fraktionen zwei, vier und fünf, in letzterer außerdem ein Gemisch verschiedener Lignane.

Am einfachsten konnte die Fraktion IV chromatographisch weiter aufgetrennt werden. Sie enthielt außer Piperin (1) ein neues Alkaloid, das gut kristallisiert und farblose Nadeln vom Schmp. 142° bildet. Wir haben es Piperylin (2) benannt<sup>12)</sup>.

Aus der Elementaranalyse und dem Molekülpeak des Massenspektrums ergibt sich die Summenformel C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>.

Das IR-Spektrum ähnelt weitgehend dem des Piperins; es lassen sich Banden für Aryl-alkyl-äther (1250 und 1040/cm), für C=C-Doppelbindungen (1625/cm, konj. mit Aromat) und eine CO-Gruppe (1650/cm, tert. Amin) zuordnen. Das UV-Spektrum stimmt mit dem des Piperins überein, auch findet man im Massenspektrum die gleichen Bruchstücke, die auch der Säureteil des Piperins liefert. Offensichtlich handelt es sich beim Piperylin um ein Derivat der Piperinsäure. Da der Molekülpeak bei *m/e* 271 um 14 Einheiten niedriger liegt als der des Piperins und anstelle des für den Piperidin- teil charakteristischen Peaks *m/e* 84 das Fragment *m/e* 70 auftritt, lag die Vermutung nahe, daß es sich um das Pyrrolidid handelt. Die Entscheidung liefert das NMR-Spektrum mit zwei Triplets bei  $\tau$  6.4 und 8.05 mit je 4 Protonen, die nur mit einer symmetrischen Ringstruktur der Aminkomponente vereinbar sind.



2, Piperylin

Den endgültigen Strukturbeweis erbringt die Synthese, bei der aus Piperinsäure, Thionylchlorid und Pyrrolidin ein Produkt erhalten wird, das in allen Eigenschaften mit dem natürlichen Piperylin identisch ist.

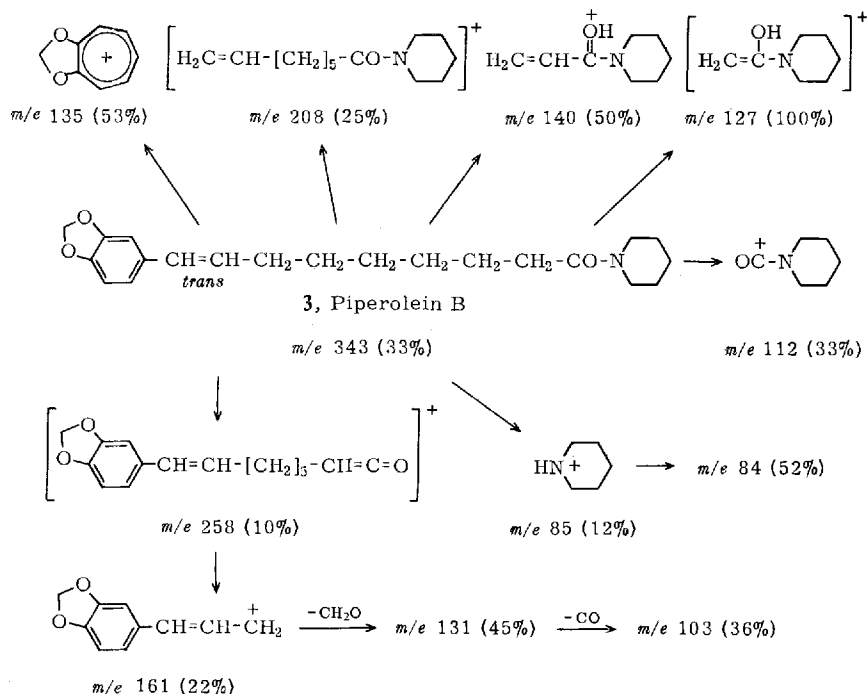
Wesentlich schwieriger war die Fraktion II aufzutrennen, die außer Piperin (1) Nebenalkaloide enthält. Mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie erzielt man Chromatogramme mit vier sich überschneidenden Zonen, von denen eine vom Piperin (1) herrührt; die drei anderen enthalten Nebenalkaloide, die wir wegen ihrer öligen Beschaffenheit Piperolein A, B und C benannt haben. Alle drei Verbindungen sind sehr empfindlich und verfärben sich schnell beim Aufbewahren. Durch wiederholte Schichtchromatographie wurde das mengenmäßig überwiegende Piperolein B soweit angereichert, daß es nur noch geringe Piperinreste enthielt, die die analytische Charakterisierung nicht beeinträchtigen. Das IR-Spektrum läßt eine Methylendioxygruppe (2780, 1250 und 1040/cm), eine Carbonylgruppe (1640/cm tert. Amid) und eine *trans*-C=C-Doppelbindung (960/cm) erkennen. Das UV-Spektrum zeigt außer einem schwachen Maximum, das vom beigemengten Piperin herrührt, einen für Isosafrol charakteristischen Chromophor.

Im NMR-Spektrum sind neben den Protonen einer 3,4-Methylenedioxy-styrol-Gruppierung die Protonen eines Piperidinringes bei  $\tau$  6.50 und 8.45 zu erkennen. Außerdem tritt ein verbreitertes Signal für acht und ein Multipllett für vier Protonen bei  $\tau$  8.70 bzw. 7.50–8.00 auf. Diese Befunde sprechen für das Vorliegen des Piperidids der 9-[3,4-Methylenedioxy-phenyl]-nonen-(8)-säure (3).

<sup>12)</sup> Das Alkaloid wurde inzwischen auch aus *Piper trichostachyon* isoliert: J. Singh, K. L. Dhar und C. T. Atai, Tetrahedron Letters [London] 1969, 4975.

Das Massenspektrum stützt die vorstehende Annahme. Nach der Abspaltung von Piperidin aus dem Molekül-Ion  $m/e$  343 erfolgt eine Spaltung in Allylstellung zum Fragment  $m/e$  161, das anschließend nacheinander  $\text{CH}_2\text{O}$  und  $\text{CO}$  aus der Methylendioxygruppe verliert.

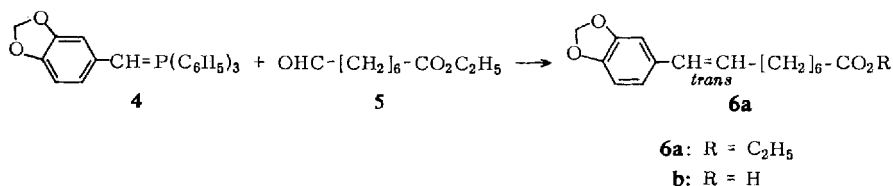
Im Sinne der McLafferty-Umlagerung entsteht der Base-Peak  $m/e$  127 und durch eine ähnliche Umlagerung das Ion  $m/e$  140. Das Fragment  $m/e$  112 besteht aus dem Piperidinring und der Carbonylgruppe. Eine Verschiebung der Doppelbindung im Molekül-Ion ermöglicht eine Spaltung in Benzylstellung zum Methylendioxypropylium-Ion  $m/e$  135 bzw. zum Bruchstück  $m/e$  208.



Die alkalische Verseifung des Piperoleins B (3) lieferte Piperidin und die hellgelbe, wachsartige Piperolein-B-Säure (6b). Ihr NMR-Spektrum unterscheidet sich von dem des Piperoleins B (3) nur dadurch, daß die Signale des Piperidinringes fehlen. Im Massenspektrum sind neben dem Molekülpeak  $m/e$  276 nur die Fragmente vom Säureteil des Piperoleins B vorhanden.

Mit Osmiumtetroxid wurde Piperolein B in ein öliges Glykol übergeführt, das bei der Perjodsäurespaltung Piperonal lieferte. Damit war der Isosafrol-Teil des Moleküls auch auf chemischem Wege nachgewiesen.

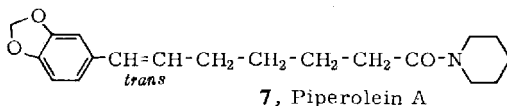
Zur Synthese des Piperoleins B wurde das Phosphoran 4 mit dem Aldehyd 5 zum ungesättigten Ester 6a umgesetzt.



Das Piperidid der aus dem Ester **6a** gewonnenen Säure **6b** ist wie das natürliche Piperolein B ein hellgelbes Öl, das sich beim Aufbewahren verfärbt und nach seinem chromatographischen Verhalten sowie seinen Spektren mit dem Naturstoff identisch ist.

Obwohl eine durch wiederholte Chromatographie gewonnene Piperolein-A-Fraktion noch größere Mengen Piperin und Piperolein B enthielt, gab ihr Massenspektrum Hinweise zur Struktur des Piperoleins A. Neben den Fragmenten des Piperin- und Piperolein-B-Spektrums treten zwei neue Signale bei *m/e* 315 und 230 auf. Das erste wurde als Molekülpeak des Piperoleins A angesehen, das zweite dem Säureteil der Verbindung zugeordnet. Beide Fragmente unterscheiden sich durch eine Differenz von 28 Masseneinheiten von den entsprechenden Fragmenten des Piperolein-B-Spektrums. Danach scheint die aliphatische Kette dieses Nebenalkaloids um zwei Methylengruppen kürzer zu sein (7). Außerdem tritt ein Fragment *m/e* 180 auf, das bei der Spaltung in Benzylstellung zu erwarten ist. Alle kleineren Fragmente sind für das Piperolein A nicht charakteristisch, da sie auch aus dem Piperolein B entstehen.

Um den Befund zu sichern, wurde das Piperidid mit der angenommenen Struktur 7 nach dem oben beschriebenen Verfahren dargestellt. Die synthetische Verbindung ist ebenfalls ein hellgelbes zersetzliches Öl, das sich chromatographisch wie das Piperolein A verhält. Zum näheren Vergleich wurde das Massenspektrum herangezogen, dessen sämtliche Fragmente in dem der unreinen Piperolein-A-Fraktion auftreten.

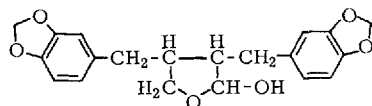


Die Piperolein-C-Fraktion ist außerordentlich zersetzlich und zeigt schon nach kurzem Aufbewahren im Dünnschichtchromatogramm mehrere Flecke. Es gelang daher nicht, ein Präparat von der Reinheit der vorher beschriebenen Piperolein-Fractionen zu gewinnen. Ein Massenspektrum der „reinsten“ Fraktion zeigte Fragmente bei höheren Massenzahlen als die Spektren der anderen Piperoleine. Wir vermuten daher, daß im Piperolein C eine noch längere Kohlenstoffkette vorliegt.

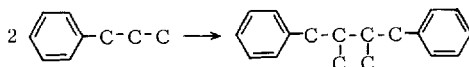
In der Fraktion V der Vortrennung sind außer den Lignanen sicher noch vier weitere Nebenalkaloide des schwarzen Pfeffers enthalten, die noch nicht näher untersucht sind. Die Lignane lassen sich im Dünnschichtchromatogramm beim Besprühen mit konzentrierter Schwefelsäure durch ihre charakteristische Rotfärbung erkennen. Ein Lignan wurde in kristalliner Form erhalten. Es handelt sich um das schon früher aus *Piper cubeba*<sup>13)</sup> isolierte Cubebin.

<sup>13)</sup> H. Capitaine und E. Souberain, Liebigs Ann. Chem. 31, 190 (1839).

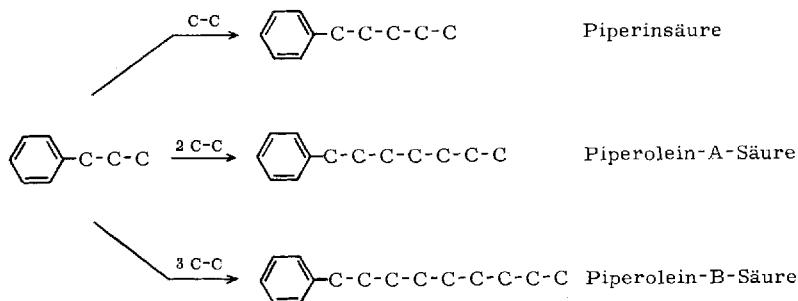
Das Vorkommen von Lignan in *Piper nigrum* ist im Hinblick auf einen möglichen biogenetischen Zusammenhang interessant. Das Kohlenstoffgerüst der Lignane entsteht durch  $\beta$ -Verknüpfung von zwei  $C_6-C_3$ -Bausteinen, die auf dem Shikimisäure-Weg gebildet werden<sup>14)</sup>.



8, Cubebin



Der Aufbau des Kohlenstoffgerüsts der den Pfeffer-Alkaloide zugrunde liegenden Säuren dürfte ebenfalls mit einem  $C_6-C_3$ -Baustein (Zimtsäure) beginnen, der dann mit  $C_2$ -Einheiten (Acetat) verknüpft wird:



#### „Chavicin“ nach Ott und Eichler

Da wir im Pfeffer keine Isomeren des Piperins nachweisen konnten, stellten wir „Chavicin“ nach der Vorschrift von Ott und Eichler<sup>7)</sup> her. Chromatographisch ließ sich leicht zeigen, daß dieses Produkt die gleichen Bestandteile enthält wie der rohe Pfefferextrakt. Ein Unterschied besteht lediglich darin, daß der Gehalt an Terpenen und Piperin geringer ist, so daß hier Piperin und die Piperoleine in etwa gleicher Menge vorliegen und zusammen die Hauptbestandteile des „Chavicins“ bilden. Durch alkalische Verseifung und mehrfaches Ausziehen der sauren Reaktionsprodukte mit Benzol erhielten wir ebenso wie Ott und Eichler eine gelbe Säure, die etwa 20° tiefer schmolz als Piperinsäure. Nach dem IR-Spektrum handelt es sich um Piperinsäure und nicht um ein Isomeres; da sie in Benzol schwer löslich ist, die Piperoleinsäuren dagegen leicht löslich sind, bleibt beim Ausziehen der sauren Verseifungsprodukte mit Benzol schließlich nur unreine Piperinsäure zurück. So konnten Ott und Eichler ein Produkt erhalten, das einen niedrigeren Schmelzpunkt hatte als Piperinsäure, annähernd gleiche Analysenwerte lieferte und sich zu Tetrahydro-piperinsäure hydrieren ließ.

<sup>14)</sup> T. A. Geissmann, The Biosynthesis of Phenolic Plant Products in P. Bernfeld, Biogenesis of Natural Compounds, S. 563, Pergamon Press Oxford, London, New York, Paris 1963.

### III. Synthese der isomeren Piperinsäuren und Piperine

Im Zusammenhang mit dem Chavicin-Problem und zur Überprüfung der nicht hinreichend belegten Aussagen über die *cis-trans*-isomeren Piperinsäuren wurden gleichzeitig synthetische Arbeiten begonnen, mit dem Ziel, die Isomeren der Piperinsäure darzustellen.

Erforderlich sind dafür Vorstufen, aus denen sterisch genau definierte Folgeprodukte zu erhalten sind. Diese Voraussetzung erfüllen die noch nicht beschriebenen Acetylen-carbonsäuren **12**, **15b** und **17b**.

Zur Synthese von **12** wird nach Märkl<sup>15)</sup> 3,4-Methylen-dioxy-zimtsäurechlorid (**9**) mit Triphenyl-äthoxycarbonylmethylen-phosphoran (**10**) zum Acylphosphoran **11** umgesetzt. Auf dem Wege einer intramolekularen Wittig-Reaktion entsteht der Ester von **12**, der zur freien Säure verseift wird.

Die partielle katalytische Hydrierung mit vergiftetem Palladium-Katalysator liefert in hoher Ausbeute die *cis.trans*-Piperinsäure (**13**).

Als günstigsten Ausgangsstoff zur Darstellung der Acetylen-carbonsäure **15b** benötigt man den 3,4-Methylen-dioxy-phenylpropargylaldehyd (**14**), der durch Abänderung der Vorschrift von Lohaus<sup>9)</sup> in guter Ausbeute erhalten wird. Seine Umsetzung mit dem Phosphoran **10** in Benzol führt zum Acetylen-ester **15a**, der zur Säure **15b** verseift wird.

Durch partielle katalytische Hydrierung unter den oben genannten Bedingungen erhält man die *trans.cis*-Piperinsäure (**16**).

Schwieriger ist es, die Acetylen-carbonsäure **17b** mit einer *cis*-Doppelbindung herzustellen, da die Wittig-Reaktion bevorzugt *trans*-Olefine liefert. Nach House, Jones und Franck<sup>16)</sup> wird jedoch der sterische Verlauf der Wittig-Reaktion vom Lösungsmittel beeinflusst. Beim Übergang von aprotischen zu protischen Solventien soll die Bildung von *cis*-Olefinen begünstigt werden. Wir ließen deshalb den Aldehyd **14** mit dem Phosphoran **10** in Äthanol reagieren und erhielten ein Gemisch aus etwa gleichen Teilen der *trans*-Verbindung **15a** und der *cis*-Verbindung **17a**. Eine Trennung der isomeren Ester ist schwierig, dagegen lassen sich die freien Säuren **15b** und **17b** durch fraktionierte Kristallisation gut trennen.

Die partielle Hydrierung der *cis*-En-acetylen-carbonsäure **17b** ergab die *cis.cis*-Piperinsäure (**18**) nur in einer Ausbeute von 50%. Sie wird schon während der Hydrierung durch Kontakt mit dem Katalysator zum Teil in die *trans.cis*-Piperinsäure (**16**) umgelagert.

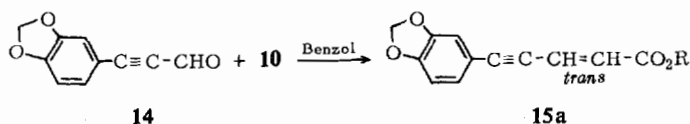
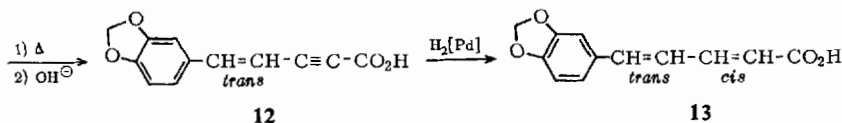
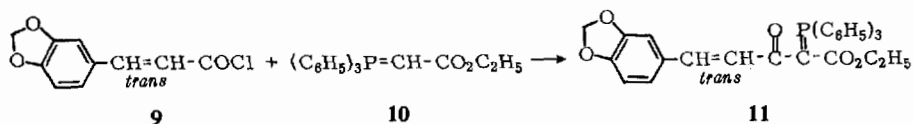
Tab. 1. Schmelzpunkte und UV-Absorptionen (in Methanol) der isomeren Piperinsäuren

	Schmp.	$\lambda_{\max}$	$\epsilon$
<i>trans.trans</i>	216°	340 m $\mu$	28 800
<i>cis.trans</i> ( <b>13</b> )	153°	328 m $\mu$	22 000
<i>trans.cis</i> ( <b>16</b> )	143°	335 m $\mu$	14 500
<i>cis.cis</i> ( <b>18</b> )	130°	335 m $\mu$	17 500

<sup>15)</sup> G. Märkl, Chem. Ber. **94**, 3005 (1961).

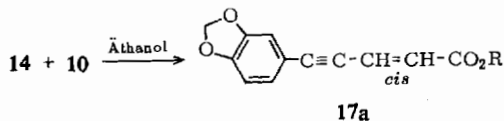
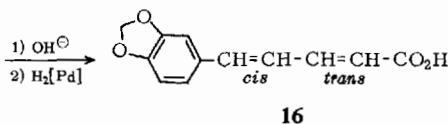
<sup>16)</sup> H. O. House, V. K. Jones und G. A. Franck, J. org. Chemistry **29**, 3327 (1964).





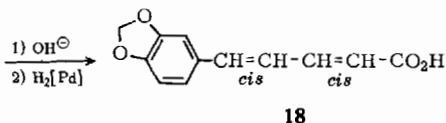
15a: R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

b: R = H



17a: R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

b: R = H



In Tab. 1 sind die Schmelzpunkte und die UV-Maxima der isomeren Piperinsäuren angegeben. Die Schmelzpunkte fallen von der *trans.trans*- zur *cis.cis*-Säure kontinuierlich. Das UV-Maximum der *trans.trans*-Piperinsäuren ist am längstwelligen. Die Werte der drei Isomeren mit einer *cis*-Olefinbindung bestätigen die Regel von Zechmeister<sup>17)</sup>, nach der die Maxima von *cis*-Verbindungen deutlich kürzerwellig sind.

Die NMR-Spektren der isomeren Piperinsäuren zeigen für die Olefinprotonen A–D komplizierte Aufspaltungen. Das Spektrum der *trans.trans*-Säure läßt sich

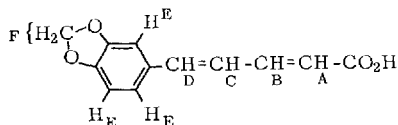
<sup>17)</sup> L. Zechmeister, Experientia [Basel] **10**, 1 (1954).

nach den Regeln für Spektren erster Ordnung nicht mehr vollständig deuten. Dies gelingt dagegen im Falle der *cis*-Isomeren, wenn man die vereinfachende Annahme macht, daß jedes Proton nur mit seinem Nachbarn in Wechselbeziehung tritt; man kommt dann zu einer vernünftigen, die Konfiguration bestätigenden Zuordnung.

Im Falle der *cis.trans*-Piperinsäure (13) wird das Proton A durch Proton B zu einem Dublett bei  $\tau$  4.12 mit der für *cis*-Doppelbindungen charakteristischen Kopplungskonstante von  $J = 11$  Hz aufgespalten. Das Proton B ergibt ebenfalls ein Dublett mit  $J = 11$  Hz, wird aber noch zusätzlich durch das Proton C mit 11 Hz aufgespalten. Auf diese Weise kommt ein doppeltes Dublett zustande, das jedoch als Triplet bei  $\tau$  3.52 erscheint, da die beiden mittleren Signale zusammenfallen. Entsprechend wird das Proton C bei  $\tau$  2.25 durch B mit 11 Hz und das *trans*-ständige Proton D mit 16 Hz aufgespalten. Das Proton D erscheint als Dublett bei  $\tau$  3.57 ( $J = 16$  Hz).

Das NMR-Spektrum der *trans.cis*-Säure 16 läßt sich folgendermaßen aufschlüsseln: dem Proton A wird ein Dublett bei  $\tau$  3.85 ( $J = 15$  Hz) zugeschrieben, dem Proton B dürfte ein Multipllett bei  $\tau$  2.40 entsprechen. Dieses besteht nämlich aus einem doppelten Dublett mit  $J = 9$  und 15 Hz, wenn man die Feinaufspaltung von 2 Hz unberücksichtigt läßt. Die kleinere Kopplungskonstante erscheint nochmals in einem Triplet bei  $\tau$  3.62, das zu Proton C gehören dürfte. Das Dublett des Protons D liegt bei  $\tau$  3.70 und ist mit 9 Hz aufgespalten.

Tab. 2. NMR-Spektren (60 MHz) der isomeren Piperinsäuren, gemessen in D<sub>2</sub>O; Angaben in  $\tau$  (ppm), bez. auf Natrium-2,2-dimethyl-2-sila-pentan-5-sulfonat (DSS) = 10 als innerer Standard



Protonen	A	B	C	D	E	F
<i>trans.trans</i>	3.70 (d) $J = 15$ Hz					3.95 (s)
<i>cis.trans</i> (13)	4.12 (d) $J = 11$ Hz	3.52 (t) $J = 11$ Hz	2.25 (dd) $J = 11$ u. 16 Hz	3.57 (d) $J = 16$ Hz	3.39; 3.25; 3.04	4.08 (s)
<i>trans.cis</i> (16)	3.85 (d) $J = 15$ Hz	2.40 (dd) $J = 9$ u. 15 Hz	3.62 (t) $J = 9$ Hz	3.70 (d) $J = 9$ Hz	3.20 (s)	4.09 (s)
<i>cis.cis</i> (18)	4.05 (d) $J = 11$ Hz	2.82 (t) $J = 11$ Hz	3.23 (t) $J = 11$ Hz	3.45 (d) $J = 11$ Hz	3.20 (s)	4.09 (s)

Bei der *cis.cis*-Säure 18 tritt das Proton A als Dublett bei  $\tau$  4.05 ( $J = 11$  Hz) auf. Die Protonen B und C erscheinen als Triplets bei  $\tau$  2.82 und 3.23 ( $J = 11$  Hz), da die Aufspaltung über die *cis*-Doppelbindung und über die Einfachbindung gleich groß ist. Dem Proton B entspricht das Triplet bei  $\tau$  2.82, da dieses Proton dem aromatischen Ring dicht benachbart und so dem „shielding-effect“ des aromatischen

Ringstromes ausgesetzt ist. Dem Proton D kann schließlich ein Dublett bei  $\tau$  3.45 ( $J = 11$  Hz) zugeschrieben werden. Die Ergebnisse sind in der Tab. 2 zusammengefaßt.

Alle drei Isomeren der Piperinsäure sind sehr lichtempfindlich und werden im Sonnenlicht in kurzer Zeit fast vollständig in die *trans.trans*-Form umgelagert.

Unsere *cis.trans*-Piperinsäure (13) erwies sich als identisch mit der „Isopiperinsäure“, die wir nach der Vorschrift von Ott und Eichler<sup>7)</sup> dargestellt haben. Bei der „Isochavicansäure“ von Lohaus und Gall haben wir den Vergleich nicht durchgeführt.

Die vier Piperinsäuren lassen sich mit Thionylchlorid und Piperidin in ihre Piperidide überführen. Alle Piperine mit einer *trans*-Doppelbindung sind kristalline Verbindungen, die *cis.cis*-Form ist dagegen ein farbloses, zähflüssiges Öl. Die UV-Spektren sind denen der freien Säuren ähnlich. Die Schmelzpunkte und UV-Maxima sind in der Tab. 3 zusammengestellt.

Tab. 3. Schmelzpunkte und UV-Maxima (in Methanol) der vier isomeren Piperine

	Schmp.	$\lambda_{\max}$	$\epsilon$
<i>trans.trans</i>	128°	340 m $\mu$	32 000
<i>cis.trans</i>	110°	332 m $\mu$	21 800
<i>trans.cis</i>	89°	333 m $\mu$	16 300
<i>cis.cis</i>	ölig	318 m $\mu$	16 200

Wie die freien Säuren werden auch die Piperidide mit *cis*-Doppelbindungen durch UV-Licht leicht in die *trans.trans*-Form umgelagert.

Bei der alkalischen Verseifung unter den von Ott und Eichler<sup>7)</sup> angegebenen Bedingungen erhält man aus dem *trans.trans*- und aus dem *cis.trans*-Piperin praktisch nur die *trans.trans*-Piperinsäure, während das *trans.cis*- und das *cis.cis*-Piperin fast ausschließlich die *trans.cis*-Piperinsäure ergeben.

Dieser Befund stützt zwar die Ansicht von Ott und Eichler, daß unter den Bedingungen der alkalischen Verseifung nur die  $\alpha$ -ständige *cis*-Doppelbindung in die *trans*-Form übergeht. Zugleich liegt hier aber ein weiterer Beweis dafür vor, daß „Chavicin“ kein *cis.cis*-Piperin gewesen sein kann. In diesem Falle hätte man bei der Verseifung die *trans.cis*-Säure (Schmp. 143°) statt der sogenannten „Chavicansäure“ (Schmp. 200–202°) finden müssen.

Tab. 4. Schärfe des Pfeffergeschmacks verschiedener Piperidide, auf der Zunge getestet, 0,05proz. Lösungen in Äthanol/Wasser (1:1)

<i>trans.trans</i> -Piperin (1)	++++
Piperylin (2)	+++
„Chavicin“	+++
<i>cis.cis</i> -Piperin	++
<i>cis.trans</i> -Piperin	+
<i>trans.cis</i> -Piperin	.
Piperolein A (7)	—
Piperolein B (3)	—

Nach unseren Untersuchungen sind wir sicher, daß aus schwarzem Pfeffer niemals Isomere des Piperins isoliert worden sind. Die Annahme, daß der scharfe Geschmack der Pfefferkörner durch „Chavicin“ verursacht wird, beruht auf einem Irrtum. Ein einfacher Geschmackstest mit isomeren Piperinen und den isolierten Nebenalkaloiden (vgl. Tab. 4) zeigt, daß Piperin und das in geringer Menge vorhandene Piperylin den schärfsten Geschmack besitzen. Die Schärfe des „Chavicins“ beruht auf seinem Gehalt an Piperin, das in den öligen Piperoleinen praktisch gelöst ist und in der feinen Verteilung schärfer schmeckt als Piperinkristalle.

Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Unterstützung dieser Arbeit.

Aus dem wissenschaftlichen Nachlaß von *Rudolf Grewe* herausgegeben von *A. Mondon*, *W. Freist* und *H. Neumann*.

### Beschreibung der Versuche

Zur Charakterisierung der Substanzen dienten folgende Geräte: Schmelzpunktbestimmungsapparat nach Dr. Tottoli der Glasapparatefabrik W. Büchi, Flawil/Schweiz. Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. IR-Spektrophotometer Infracord Mod. 137 und Infrarot-Gitter-Spektrophotometer Mod. 421 der Fa. Perkin-Elmer. Ultraviolett-Spektrometer RPQ 20 A der Fa. Carl Zeiss, Lösungsmittel Methanol. Analytisches NMR-Spektrometer A 60 der Fa. Varian Associates. Für die Bestimmung der  $\tau$ -Werte wurden Trimethylsilan (in  $\text{CDCl}_3$ ) und Natrium-2,2-dimethyl-2-sila-pentan-5-sulfonat (in  $\text{D}_2\text{O}$ ) benutzt. Massenspektrometer CH 4 der Atlas MAT (in Klammern sind relative Intensitäten angegeben). Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium Ilse Beetz, Kronach/Ofr., ausgeführt. Zur Dünnschichtchromatographie wurde Kieselgel G nach Stahl der Fa. Merck verwendet, Laufmittelsystem A: Äther/Methylenchlorid (9 : 1), B: n-Dibutyläther/Methanol/Essigsäure (97 : 2 : 1) und C: Äther/Methylenchlorid (4 : 1). Die Chromatogramme wurden mit Joddampf oder mit einer Lösung von Kaliumpermanganat in Aceton entwickelt. Für die präparative Schichtchromatographie wurden die Platten mit 1.5 bis 2.0 mm Kieselgel PF 254 der Fa. Merck beschichtet.

#### Untersuchung des Pfeffers

*Extraktion und Gruppenvortrennung des Pfefferextrakts:* Man extrahiert 250 g frisch gemahlene schwarze Pfeffer, *Piper nigrum* (Singapur), dreimal mit je 400 ccm Methylenchlorid bei Raumtemp. 3–4 Stdn. unter gelegentlichem Umschütteln. Die vereinigten und filtrierten Auszüge hinterlassen nach Abdampfen i. Vak. bei 20–30° eine halb feste, grünliche Masse (25 g). Der Rückstand wird in 20 ccm Methylenchlorid an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nach *Brockmann* der Aktivitätsstufe II–III (Säulen- $\varnothing$  5 cm, Schichthöhe 7.5 cm) vorgetrennt. Mit Methylenchlorid werden die Fraktionen I–IV eluiert, die sich in der Lösungsfarbe und dem Dünnschicht-

Fraktion	I	II	III	IV	V
Elutionsmittel	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$\text{CH}_3\text{OH}$
ccm	150	100	350	100	—
Farbe	orange	dunkelgrün	blaßgelb	dunkelgelb	dunkelgelb
Substanzmenge	2 g	2 g	9 g	0.5 g	0.5 g
Hauptbestandteile	Terpene	Piperoleine, Piperin	Piperin	Piperin, Piperylin	Lignane, Nebenalkaloide

chromatogramm (DC) unterscheiden. Auf der Säule verbleibt eine dunkelgelbe Zone, die nach Herausschneiden als Fraktion V durch Extraktion mit Methanol gewonnen wird.

### Piperylin (2)

*Isolierung:* Die Fraktion IV wird unter den oben genannten Bedingungen erneut an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Aus der Hauptfraktion kristallisiert ein Produkt, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äther 30 mg farblose Nadeln vom Schmp.  $142^\circ$  liefert.

$C_{16}H_{17}NO_3$  (271.3) Ber. C 70.83 H 6.32 N 5.16 Gef. C 71.14 H 6.83 N 5.18

IR (KBr): 1650 (CO), 1625 (C=C), 1600 und 1500 (aromat. Ring), 1250 und 1040/cm (Ar—O—Alkyl).

UV:  $\lambda_{max} = 343, 309, 261$  und  $245 m\mu$  ( $\epsilon = 33\,500, 19\,200, 10\,800$  und  $10\,500$ ).

Massenspektrum:  $M^+$  *m/e* 271 (84%), 201 (100%), 173 (37%), 143 (22%), 115 (52%), 70 (15%), 57 (15%), 55 (20%), 43 (20%) und 42 (9%).

*Synthese von Piperylin* = 5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2t.4t)-säure-pyrrolidid (2): 100 mg Piperinsäure werden mit 0.3 ccm Thionylchlorid schwach erwärmt, anschließend wird das überschüssige Thionylchlorid i. Vak. abgedampft. Zum Rückstand gibt man 0.5 ccm Pyrrolidin und läßt 1 Stde. reagieren. Das Reaktionsprodukt wird mit verd. Kalilauge und Wasser gewaschen und über  $P_2O_5$  getrocknet. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Äther Ausb. 70 mg (60%) farblose Nadeln vom Schmp.  $142^\circ$ . Die Verbindung ist mit dem Naturstoff nach Misch-Schmp. und IR-Spektrum identisch.

### Piperoleine

*Isolierung:* Die Fraktion II wird schichtchromatographisch an Kieselgel mit Äther als Laufmittel weiter aufgetrennt. Nach dreimaligem Entwickeln bilden die Piperoleine zusammen mit dem Piperin eine breite gelbe Zone, in der die Bereiche des Piperoleins B und des Piperins als kräftiger gefärbte Bänder zu erkennen sind. Die verschiedenen Piperolein-Zonen werden mit Methanol extrahiert und die Extrakte eingedampft; nach Lösen in absol. Aceton, Filtrieren und Abdampfen des Acetons i. Vak. bleiben die Piperoleine als gelbe Öle zurück.

Die einzelnen Piperolein-Fractionen werden noch dreimal auf die gleiche Art chromatographiert. Man gewinnt etwa 100 mg chromatographisch einheitliches Piperolein B, 20 mg einer Piperolein-A-Fraktion, die noch Piperin und Piperolein B enthält, und 5–10 mg einer Piperolein-C-Fraktion, in der neben Piperolein B noch andere, wachsartige Substanzen enthalten sind.

#### Piperolein B

IR ( $CCl_4$ ): 2780, 1250 und 1040 (O—CH<sub>2</sub>—O), 1640 (CO), 1600 und 1500 (aromat. Ring) und 960/cm (C=C, *trans*).

UV:  $\lambda_{max} = 214, 260, 268, 305$  und  $340 m\mu$  (Piperinreste) [ $\epsilon = 28\,000, 16\,600, 16\,100, 10\,800$  (durch Piperinreste überhöht) und  $8\,000$  (Piperin)].

*Verseifung:* 120 mg Piperolein B werden mit 5 ccm gesätt. methanolischer Kalilauge 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Erkalten wird mit 5*n* HCl angesäuert, i. Vak. eingedampft und der mit Wasser aufgenommene Rückstand mit Äther ausgeschüttelt. Aus der Ätherphase wird die Piperolein-B-Säure mit Natriumcarbonatlösung ausgewaschen und nach dem Ansäuern wieder in Äther aufgenommen. Nach Trocknen und Abdampfen des Äthers besteht der Rückstand aus 62 mg (78%) hellgelber, wachsartiger fester Piperolein-B-Säure.

UV:  $\lambda_{max} = 210, 260, 268, 305$  und  $340 m\mu$  (durch Piperinsäure) [ $\epsilon = 24\,000, 12\,700, 12\,400, 8\,000$  und  $4\,400$  (durch Piperinsäure)].

NMR (CDCl<sub>3</sub>): H-Aromat  $\tau$  3.1–3.3 (3H, m), H-Olefin 3.5–4.1 (2H, m), O–CH<sub>2</sub>–O 4.1 (2H, s), CH<sub>2</sub>CO und =C–CH<sub>2</sub> 7.5–8.0 (4H, m) und H-Aliphat 8.55 (8H).

Massenspektrum: M<sup>+</sup> m/e 276 (62%), 161 (52%), 148 (20%), 135 (28%), 131 (100%), 115 (15%) und 103 (55%).

Die saure Phase der Verseifung wird mit 2n NaOH alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Aus der Ätherphase schüttelt man die basischen Anteile mit 2n HCl wieder aus und dampft die saure Lösung i. Vak. ein. Es bleiben 16 mg Rohprodukt, die nach zweimaligem Umkristallisieren aus wenig absol. Äthanol 7 mg reines, farbloses Hydrochlorid vom Schmp. 229° liefern. Der Misch-Schmp. mit Piperidinhydrochlorid zeigt keine Erniedrigung: Ausb. 45%.

*Glykolisierung*: Nach Baran<sup>18)</sup> werden 130 mg Piperolein B mit 100 mg Osmiumtetroxid in 4.1 ccm Pyridin 4 Stdn. gerührt. Man füllt mit Pyridin auf 8.8 ccm auf, gibt 7.5 ccm Wasser hinzu sowie 500 mg festes NaHSO<sub>3</sub> in kleinen Anteilen. Nach 30 Min. Rühren wird in 10 ccm Eiswasser gegossen und die Lösung mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt; die vereinigten Auszüge werden mit 2n HCl und Wasser gewaschen, getrocknet und i. Vak. eingedampft. Als Rückstand bleiben 122 mg (92%) schwach gelbes, öliges Glykol.

*Glykolspaltung*: Zu einer Lösung von 25 mg des Glykols in 0.75 ccm Äthanol wird unter Rühren eine Lösung von 20 mg HJO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O in 1 ccm Wasser gegeben. Nach 2 Stdn. verdünnt man mit Wasser und schüttelt mit Äther aus. Die Ätherphase wird mit Wasser gewaschen und mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach Abdampfen des Äthers bleiben 24 mg öliges Aldehydgemisch zurück, das in Benzol an Kieselgel chromatographiert wird. Durch Elution mit Benzol werden 8 mg (80%) kristallines Piperonal erhalten.

*Synthese von Piperolein B = 9-[3,4-Methylenedioxy-phenyl]-nonen-(8t)-säure-piperidid (3)*

Triphenyl-piperonyl-phosphonium-bromid (4·HBr): 100 g Piperonylbromid<sup>19)</sup> und 122 g Triphenylphosphin werden in Dimethylformamid (DMF) 1 Stde. auf 60° erhitzt. Nach dem Erkalten werden die abgeschiedenen Kristalle abgesaugt und mit Benzol gewaschen; Ausb. 218 g (99%).

8-Oxo-octansäure-äthylester (5): 71 g Korksäure-äthylester-chlorid<sup>20)</sup> werden nach Rosenmund<sup>21)</sup> mit Wasserstoff in Gegenwart von Pd/BaSO<sub>4</sub> in siedendem Xylol reduziert. Sdp.<sub>0.2</sub> 97–104°; Ausb. 45 g (75%).

Piperolein-B-Säure = 9-[3,4-Methylenedioxy-phenyl]-nonen-(8t)-säure (6b): Zu einer Suspension von 46 g 4·HBr in 100 ccm DMF wird unter Stickstoff eine Lösung von 2.3 g Natrium in Äthanol getropft. In das tiefrote Reaktionsgemisch tropft man weiter eine Lösung von 17.6 g 5 in 15 ccm DMF, wobei die Farbe der Mischung nach Gelb umschlägt. Nach 20 Stdn. wird das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand mit methanolischer Kalilauge unter Rückfluß erhitzt. Nach Einengen und Zugeben von 500 ccm Wasser filtriert man das ausgefallene Triphenylphosphinoxid ab und wäscht mit Wasser nach. Das Filtrat wird angesäuert und wiederholt mit Äther ausgeschüttelt; nach Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Abdampfen des Äthers wird die rohe Piperolein-B-Säure an Kieselgel mit Benzol/Äthanol/Essigsäure (94:5:1) chromatographiert. Durch Umkristallisieren aus Cyclohexan erhält man die reine Säure vom Schmp. 50–52°; Ausb. 9.1 g (48%).

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub> (276.3) Ber. C 69.54 H 7.30 Gef. C 69.76 H 7.22

<sup>18)</sup> J. S. Baran, J. org. Chemistry **25**, 257 (1960).

<sup>19)</sup> Dargestellt nach P. Karrer, E. Horlacher, F. Locher und M. Giesler, Helv. chim. Acta **6**, 905 (1923).

<sup>20)</sup> E. E. Blaise und A. Koehler, Bull. Soc. chim. France (4) **7**, 215 (1910).

<sup>21)</sup> K. W. Rosenmund, Ber. deutsch. chem. Ges. **51**, 585 (1918).

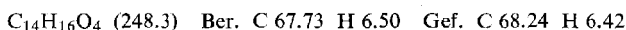
**Piperolein B (3):** Zu einer Lösung von 1.0 g synthetischer *Piperolein-B-Säure (6b)* in 50 ccm absol. Benzol werden bei 0° 0.6 ccm *Triäthylamin* und nach 10 Min. 0.4 ccm *Chlorameisensäure-äthylester* gegeben. Nach 2 Stdn. wird 1 ccm *Piperidin* hinzugefügt und noch 2 Stdn. bei Raumtemp. gerührt. Nach kurzem Erwärmen auf dem Dampfbad wäscht man die benzolische Lösung mit 1 n HCl und Wasser, trocknet über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und dampft das Benzol ab. Das Rohprodukt wird an Kieselgel mit Äther chromatographiert. Ausb. 1.2 g (82%) hellgelbes Öl, das sich beim Aufbewahren dunkel färbt. Das synthetische Produkt stimmt mit dem Naturstoff in allen Eigenschaften überein.

#### *Piperolein-A-Fraktion*

Massenspektrum: Peaks des Piperoleins A: M<sup>+</sup> *m/e* 315 (40%), 230 (17%), 202 (28%) und 180 (20%). Peaks des Piperoleins B: *m/e* 343 (12%) und 258 (7%). Peaks des Piperins: *m/e* 285 (40%) und 201 (47%). Nichtauswertbare Peaks: *m/e* 311 (30%), 226 (20%), 174 (18%), 161 (58%), 141 (45%), 140 (33%), 135 (98%), 131 (98%), 127 (100%), 115 (98%), 112 (73%), 103 (86%) und 84 (98%).

#### *Synthese von Piperolein A = 7-[3.4-Methylendioxy-phenyl]-hepten-(6t)-säure-piperidid (7)*

*Piperolein-A-Säure = 7-[3.4-Methylendioxy-phenyl]-hepten-(6t)-säure:* Aus 46.0 g 4·HBr und 15 g 6-Oxo-hexansäure-äthylester<sup>22)</sup> werden auf dem gleichen Wege wie bei der Piperolein-B-Synthese (s. o.) 11.6 g *Piperolein-A-Säure* vom Schmp. 95° erhalten.



*Piperolein A:* 1.0 g *Piperolein-A-Säure* wird, wie oben beschrieben, in das *Piperidid* übergeführt. Ausb. 0.75 g (60%) hellgelbes Öl. Das synthetische Produkt ist nach DC und Massenspektrum mit dem Naturstoff identisch.

#### *Cubebin (8)*<sup>13)</sup>

Aus der Fraktion V werden schichtchromatographisch (Kieselgel/Äther, R<sub>F</sub> 0.92) 30 mg noch sehr unreines Material gewonnen, das nach mehrmaligem Kristallisieren aus Tetrachlorkohlenstoff 8 mg reines *Cubebin* vom Schmp. 121° liefert. Die Struktur ist durch NMR- und Massenspektrum sowie chemische Umwandlung belegt<sup>1)</sup>. In der Fraktion V sind außerdem noch 60 mg ölige Lignane (R<sub>F</sub> 0.45–0.79) sowie 110 mg ölige Nebenalkaloide (R<sub>F</sub> 0.05 bis 0.30) enthalten.

#### *Synthesen der isomeren Piperinsäuren und ihrer Piperidide*

##### *cis.trans-Piperinsäure (13)*

*3.4-Methylendioxy-zimtsäurechlorid (9):* 50 g *Piperonal* (0.3 Mol) und 94 g (0.9 Mol) *Malonsäure* werden in 100 ccm *Pyridin* und einigen Tropfen *Piperidin* 3 Stdn. auf dem Dampfbad erhitzt. Danach wird die Hälfte des Pyridins i. Vak. abdestilliert. Auf Zusatz von verd. *Schwefelsäure* fallen 60.8 g (95%) *3.4-Methylendioxy-zimtsäure* vom Schmp. 234° aus.

5.0 g der Säure werden mit 10 ccm *Thionylchlorid* 20 Min. zum Sieden erhitzt. Nach Abdampfen des überschüssigen Thionylchlorids wird der gelbe Rückstand im Exsikkator über festem Kaliumhydroxid getrocknet. Ausb. 5.5 g (100%).

*Triphenyl-[(3.4-methylendioxy-cinnamoyl)-äthoxycarbonyl-methylen]-phosphoran (11):* Zu einer Lösung von 6.96 g (0.02 Mol) *Triphenyl-äthoxycarbonylmethylen-phosphoran (10)*<sup>23)</sup> in 50 ccm absol. Benzol wird eine Lösung von 2.1 g (0.01 Mol) **9** in Benzol getropft. Man rührt

<sup>22)</sup> G. B. Brown, M. D. Armstrong, A. W. Moyer, W. P. Anslow jr., B. R. Baker, M. V. Querry, S. Bernstein und S. R. Safir, J. org. Chemistry **12**, 160 (1947).

<sup>23)</sup> Dargestellt nach O. Isler, H. Gutmann, M. Montavon, R. Ruegg, G. Ryser und P. Zeller, Helv. chim. Acta **40**, 1242 (1957).

3 Stdn. und saugt dann das ausgefallene Phosphoniumchlorid ab. Das eingedampfte Filtrat liefert 5.1 g (98%) rohes *Acylphosphoran*, aus Essigester/Petroläther Schmp. 184°.

IR (KBr): 1655 (Ester-CO), 1520 (Acyl-CO), 1630 und 980 (C=C), 1438 (P-Aryl), 1600 und 1500 (aromat. Ring), 2780, 1480, 1238, 1040 und 925/cm (O—CH<sub>2</sub>—O).

5-[3,4-Methylenedioxy-phenyl]-penten-(4*t*)-in-(2)-säure (**12**): 2.62 g *Acylphosphoran* **11** werden in einer kleinen Retorte i. Vak. einer Diffusionspumpe bei 200–260° bei langsamer Steigerung der Temp. gespalten. Das Destillat wird in Methanol mit einigen Plätzchen *KOH* und etwas *Wasser* über Nacht gerührt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels nimmt man in *Wasser* auf und saugt vom ausgefallenen Triphenylphosphinoxid ab. Das Filtrat wird ausgeäthert und die wäßrige Phase mit verd. *Schwefelsäure* angesäuert. Es fallen 0.65 g (60%) einer hellgelben *Säure* aus, aus Essigester/Petroläther Schmp. 155° (Zers.), *R<sub>F</sub>* im System B 0.16.

C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (216.2) Ber. C 66.67 H 3.73 Gef. C 66.04 H 4.10

IR (KBr): 3200–2200 (Carboxyl-OH), 2185 (C—C), 1660 (CO), 1625 und 962 (C=C), 1600 und 1500 (aromat. Ring), 1040 und 935/cm (O—CH<sub>2</sub>—O).

UV: λ<sub>max</sub> = 329, 300, 230 und 216 mμ (ε = 23 100, 18 500, 11 900 und 15 300).

NMR (Na-Salz in D<sub>2</sub>O): H-Olefin τ 3.05 und 4.03 (je 1H, d, *J* = 16.5 Hz), H-Aromat 3.22 (3H) und O—CH<sub>2</sub>—O 4.05 (2H, s).

*cis.trans*-Piperinsäure = 5-[3,4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2*c*,4*t*)-säure (**13**): Die Lösung von 0.3 g *Carbonsäure* **12** in 35 ccm Methanol wird mit Aktiv-Kohle geschüttelt. Man filtriert direkt in das Hydriergefäß, in dem sich 50 mg vorhydrierter *Lindlar-Katalysator*, 18 mg synthetisches *Chinolin* und 10 ccm Methanol befinden. Im Laufe von 25 Min. werden 33.2 ccm *Wasserstoff* aufgenommen. Wenn die Hydricrung nicht stehen bleibt, wird die Lösung durch eine Schicht Aktiv-Kohle filtriert. Nach Eindampfen des Filtrats i. Vak. löst man den Rückstand in Äther und schüttelt mit verd. Salzsäure sowie mit verd. Natronlauge aus. Beim Ansäuern des alkalischen Auszugs fallen 0.28 g (93%) Rohprodukt aus. Aus Benzol Schmp. der reinen Verbindung 153°; *R<sub>F</sub>* im System B 0.39.

IR (KBr): 3300–2200 (Carboxyl-OH), 1690 und 1676 (CO-Banden), 1035 und 930/cm (O—CH<sub>2</sub>—O), weitere charakteristische Banden bei 1300, 1220, 950, 870 und 750/cm.

*trans.cis*-Piperinsäure (**16**)

3,4-Methylenedioxy-phenylpropargylaldehyd-diäthylacetal<sup>24</sup>): Ein Gemisch aus 20.0 g 3,4-Methylenedioxy-phenylacetylen, 23.0 g *Orthoameisensäure-triäthylester* und 0.86 g wasserfreiem *Zinkjodid* wird im Laufe von 2.5 Stdn. auf 165° erhitzt. In dieser Zeit werden 6 ccm Äthanol über eine Kolonne abdestilliert; anschließend wird der überschüssige Orthoester bei 12 Torr entfernt und der Rückstand i. Hochvak. fraktioniert: Sdp.<sub>0.007</sub> 125°, Ausb. 27 g (80%).

IR (Film): 2222 (C≡C), 1140, 1110, 1085 und 1050 (Acetal) und 2780, 1040 und 933/cm (O—CH<sub>2</sub>—O).

3,4-Methylenedioxy-phenylpropargylaldehyd (**14**): 12.4 g 3,4-Methylenedioxy-phenylpropargylaldehyd-diäthylacetal werden in einem Gemisch von 5 ccm *Wasser* und 8 ccm *Essigsäure* mit 5 Tropfen 2*n* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 12 Stdn. bei 65° und dann längere Zeit bei Raumtemp. bis zur beendeten Kristallisation stehengelassen. Nach Auswaschen der Kristalle mit wenig wäßrigem Äthanol ist die Verbindung rein: Schmp. 76–77°, Ausb. 8.7 g (ca. 100%).

IR (CCl<sub>4</sub>): 2200 und 2183 (C≡C), 1662 (CO), 1600 und 1500 (aromat. Ring), 2780, 1040 und 938/cm (O—CH<sub>2</sub>—O).

<sup>24</sup>) Darstellung analog der Vorschrift von B. W. Howk und J. C. Sauer, J. Amer. chem. Soc. **80**, 4607 (1958).



NMR (CDCl<sub>3</sub>): CHO  $\tau$  0.59 (1 H, s), 3 H-Aromat 2.82 (dd,  $J = 8$  und 1.5 Hz), 3.01 (d,  $J = 1.5$  Hz) und 3.20 (d,  $J = 8$  Hz), O—CH<sub>2</sub>—O 3.98 (2H, s).

5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-penten-(2*t*)-in-(4)-säure-äthylester (**15a**): Eine Lösung von 1.74 g (0.05 Mol) *Phosphoran* 10 in 30 ccm absol. Benzol wird unter Stickstoff mit einer Lösung von 0.87 g (0.05 Mol) *Aldehyd* 14 in 20 ccm absol. Benzol versetzt. Nach 30 Min. dampft man das Benzol i. Vak. ab und zieht den Rückstand in einem Soxhlet-Extraktor 12 Stdn. mit Petroläther (40—70°) aus. Aus der Petrolätherlösung kristallisieren beim Stehenlassen in der Kälte noch restliche Mengen Triphenylphosphinoxid, die abgesaugt werden. Das Filtrat wird zur Trockne eingedampft; aus Äthanol/Wasser Schmp. 62°, Ausb. 1.06 g (84%).

C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub> (244.2) Ber. C 68.84 H 4.95 Gef. C 68.75 H 5.11

IR (KBr): 2190 (C—C), 1818 (CO), 1606 und 950 (C=C), 1030 und 930/cm (O—CH<sub>2</sub>—O).

NMR (CDCl<sub>3</sub>): 3 H-Aromat  $\tau$  2.95 (dd,  $J = 8$  und 1.5 Hz), 3.08 (d,  $J = 1.5$  Hz) und 3.24 (d,  $J = 8$  Hz), 2 H-Olefin 3.02 (d,  $J = 16$  Hz) und 3.73 (d,  $J = 16$  Hz), O—CH<sub>2</sub>—O 4.01 (2H, s), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OCO 5.75 (2H, q,  $J = 7$  Hz) und 8.70 (3H, t,  $J = 7$  Hz).

5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-penten-(2*t*)-in-(4)-säure (**15b**): 0.98 g (4 mMol) des *Esters* **15a** werden mit 0.45 g (8 mMol) *Kaliumhydroxid* in 30 ccm 90proz. Methanol bei Raumtemp. verseift. Nach 24 Stdn. wird das Lösungsmittel abgedampft und der Rückstand in Wasser gelöst. Beim Ansäuern mit verd. *Salzsäure* fällt eine hellgelbe Säure aus, die aus Äthanol/Wasser bei 203° schmilzt; Ausb. 0.86 g (100%).

C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> (216.2) Ber. C 66.67 H 3.73 Gef. C 66.44 H 3.82

IR (KBr): 3200—2300 und 1680 (CO<sub>2</sub>H), 2196 (C≡C), 1603 und 965 (C=C), 1595 und 1500 (aromat. Ring), 1040 und 932/cm (O—CH<sub>2</sub>—O).

UV:  $\lambda_{\text{max}}$  = 332, 301, 253 und 207 m $\mu$  ( $\epsilon = 19900, 12800, 13500$  und 18300).

NMR (Na-Salz in D<sub>2</sub>O): 2H-Olefin  $\tau$  3.22 (d,  $J = 16$  Hz) und 3.65 (d,  $J = 16$  Hz).

*trans.cis*-Piperinsäure = 5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2*t*,4*c*)-säure (**16**): 0.80 g *Lindlar-Katalysator* werden in einem Gemisch von 1.30 g *Chinolin* und 200 ccm Methanol vorhydriert. Dann wird eine Lösung von 2.16 g *Acetylen-carbonsäure* **15b** in 150 ccm Methanol hinzugefügt. Die Hydrierung (20°, 1 at) kommt nach Aufnahme von 1 Mol *Wasserstoff* fast zum Stillstand. Man arbeitet, wie oben beschrieben, auf und kristallisiert das Rohprodukt aus Äthanol, Schmp. 143°; Ausb. 196 g (90%).  $R_F$  im System B 0.30.

C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>4</sub> (218.2) Ber. C 66.05 H 4.62 Gef. C 66.29 H 4.62

IR (KBr): 3300—2200 und 1690 (CO<sub>2</sub>H), 1624 und 1600 (C=C), 1043 (O—CH<sub>2</sub>—O), weitere charakteristische Banden bei 1354, 1182, 915, 868, 858, 818, 787 und 770/cm.

#### *cis.cis*-Piperinsäure (**18**)

5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-penten-(2*c*)-in-(4)-säure (**17b**): Zu 21.45 g (0.05 Mol) *Triphenyl-äthoxycarbonylmethyl-phosphoniumbromid*<sup>23)</sup> in 50 ccm Äthanol wird unter Rühren eine *Natriumäthylat*-Lösung aus 1.15 g *Natrium* und 30 ccm Äthanol getropft. Nach 10 Min. wird eine äthanolische Lösung von 8.7 g *Aldehyd* 14 im Laufe von 30 Min. zugetropft. Das Gemisch wird noch 1 Stde. gerührt und dann i. Vak. zur Trockne eingedampft. Man extrahiert den Rückstand in einer Soxhlet-Apparatur mit Petroläther und läßt das mitextrahierte Triphenylphosphinoxid in der Kälte auskristallisieren. Nach Abdampfen des Filtrates wurden 10.25 g (85%) eines Gemisches aus *trans*- und *cis*-Ester (**15a** und **17a**) isoliert. Man verseift mit einer Lösung von 0.56 g *KOH* in 30 ccm Äthanol und 3 ccm *Wasser* bei Raumtemp. innerhalb 24 Stdn., dampft das Lösungsmittel ab und nimmt den Rückstand in Wasser auf.

Die alkalische Lösung wird zweimal mit Äther ausgeschüttelt und dann angesäuert. Es fallen 9.2 g eines Gemisches der *trans*- und *cis*-Säure (**15b** und **17b**) aus.

Aus der Lösung des Säuregemisches in heißem Äthanol kristallisiert beim Erkalten zunächst der größte Teil der *trans*-Säure **15b** in reiner Form aus. Der Rückstand der eingedampften Mutterlauge wird aus wäbr. Äthanol fraktioniert kristallisiert. Nach fünfmaligem Umkristallisieren werden 4.45 g (41%) reine *cis*-Säure **17b** vom Schmp. 143° erhalten.

$C_{12}H_8O_4$  (216.2) Ber. C 66.67 H 3.73 Gef. C 66.39 H 3.78

IR (KBr): 3400–2300 und 1683 (CO<sub>2</sub>H), 2182 (C≡C), 1590 (C=C), 1045 und 930 (O–CH<sub>2</sub>–O), weitere charakteristische Banden bei 1475, 863, 827 und 770/cm.

UV:  $\lambda_{max}$  = 331, 302, 250 und 207 m $\mu$  ( $\epsilon$  = 14800, 9600, 9850 und 18800).

NMR (Na-Salz in D<sub>2</sub>O): 2H-Olefin  $\tau$  3.64 (d,  $J$  = 11 Hz) und 3.90 (d,  $J$  = 11 Hz).

*cis.cis*-Piperinsäure = 5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2c.4c)-säure (**18**): 0.65 g Lindlar-Katalysator werden in einem Gemisch von 0.13 g Chinolin und 30 ccm Methanol vorhydriert, dann wird eine Lösung von 2.16 g *cis*-Säure **17b** in 250 ccm Methanol hinzugefügt. Nach etwa 30 Min. hat die Substanz die ber. Menge Wasserstoff aufgenommen. Man arbeitet, wie oben beschrieben, auf und kristallisiert zweimal aus Benzol um: Schmp. 129 bis 130°, Ausb. 1.09 g (50%).  $R_F$  im System B 0.39.

$C_{12}H_{10}O_4$  (218.2) Ber. C 66.05 H 4.62 Gef. C 66.59 H 4.45

IR (KBr): 3300–2200 (Carboxyl-OH), 1688 und 1668 (CO), 1612 (C=C), 1040 und 980 (O–CH<sub>2</sub>–O), weitere charakteristische Banden bei 1380, 880, 825, 810, 758 und 660/cm.

*cis.trans*-Piperin = 5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2c.4t)-säure-piperidid: Zu einer Lösung von 700 mg *cis.trans*-Piperinsäure (**13**) in 20 ccm absol. Benzol werden unter Rühren 1 Tropfen Triäthylamin und 2 ccm Thionylchlorid gegeben. Nach 10 Min. wird das Benzol i. Vak. abgedampft, der Rückstand wieder in Benzol aufgenommen und erneut i. Vak. abgedampft. Man löst den Rückstand in Benzol und versetzt unter Kühlung in einem Eisbad tropfenweise mit Piperidin bis zur alkalischen Reaktion. Das Reaktionsgemisch wird nach 30 Min. in Äther aufgenommen und die Lösung mit verd. Salzsäure und Wasser gewaschen. Nach Trocknen und Abdampfen des Äthers bleiben 820 mg Rohprodukt (90%) zurück. Nach dem DC (System C) lag ein Gemisch von *cis.trans*-Piperin ( $R_F$  0.50) und *trans.trans*-Piperin vor, das schichtchromatographisch getrennt wurde. Man gewinnt 675 mg (74%) *cis.trans*-Piperin, aus Chloroform/Hexan Schmp. 110°.

$C_{17}H_{19}NO_3$  (285.3) Ber. C 71.56 H 6.71 N 4.91 Gef. C 71.68 H 6.61 N 4.83

IR (KBr): 1625 (CO), 2780, 1038 und 928 (O–CH<sub>2</sub>–O), weitere charakteristische Banden bei 1215, 958, 870, 811 und 690/cm.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): 3H-Aromat  $\tau$  2.99 (d,  $J$  = 1.5 Hz), 3.10 (dd,  $J$  = 8 und 1.5 Hz) und 3.92 (d,  $J$  = 8 Hz), 4H-Olefin A 4.04 (d,  $J$  = 11 Hz), B 3.52 (t,  $J$  = 11 Hz), 3.25 (dd,  $J$  = 16 und 11 Hz) und D 3.42 (d,  $J$  = 16 Hz).

*trans.cis*-Piperin = 5-[3.4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2t.4c)-säure-piperidid: Man verfährt wie vorstehend und erhält aus 350 mg *trans.cis*-Piperinsäure (**16**) 451 mg rohes Piperidid. Durch präparative Schichtchromatographie werden 416 mg (91%) *trans.cis*-Piperin gewonnen: Schmp. 89° aus Chloroform/Hexan,  $R_F$  im System C 0.50.

$C_{17}H_{19}NO_3$  (285.3) Ber. C 71.56 H 6.71 N 4.91 Gef. C 71.75 H 6.79 N 4.87

IR (KBr): 1635 (CO), 965 (C=C), 2780, 1045 und 923 (O–CH<sub>2</sub>–O), weitere charakteristische Banden bei 1062, 965, 829, 770, 705 und 680/cm.

NMR (CDCl<sub>3</sub>): 3H-Aromat  $\tau$  3.20 (s), 4H-Olefin A 3.54 (d,  $J$  = 15 Hz), B 2.24 (dd,  $J$  = 15 und 11 Hz), C 3.77 (t,  $J$  = 11 Hz) und D 3.40 (d,  $J$  = 15 Hz).

*cis.cis*-Piperin = 5-[3,4-Methylenedioxy-phenyl]-pentadien-(2c,4c)-säure-piperidid: Aus 350 mg *cis.cis*-Piperinsäure (18) werden 397 mg (85%) rohes, öliges *cis.cis*-Piperin gewonnen. Zur Reinigung destilliert man bei 110° (Badtemp.)/10<sup>-4</sup> Torr und erhält ein farbloses Öl, das sich bei längerem Stehenlassen an der Luft gelbgrün färbt; *R<sub>F</sub>* im System C 0.50.

C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>3</sub> (285.3) Ber. C 71.56 H 6.71 N 4.91 Gef. C 70.84 H 6.52 N 4.62

IR (Film): 1620 (CO), 2780, 1035 und 930/cm (O-CH<sub>2</sub>-O).

NMR (CDCl<sub>3</sub>): 3 H-Aromat τ 3.20 (s) und 4 H-Olefin Multipletts zwischen 2.95 und 4.07.

*Verseifung von trans.cis- und cis.cis-Piperin*: Es werden jeweils 20 mg *trans.cis*- bzw. *cis.cis*-Piperin mit einer Lösung von 50 mg Natrium in 1 ccm 90proz. Äthanol 36 Stdn. zum Sieden erhitzt. Nach Abdampfen des Äthanol wird mit Wasser aufgenommen und mit verd. Salzsäure angesäuert. Der Niederschlag von Carbonsäure wird aus Äthanol umkristallisiert; die Säure ist nach Schmp. (143°) und IR-Spektrum mit *trans.cis*-Piperinsäure (16) identisch.

[447/69]