

Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man aus den Zonen 1c, 1d und 2 330 mg Vitamin-A-Epoxyd.

Das Präparat ist ein gelbes Öl von ziemlich zäher Konsistenz. Es löst sich gut in Chloroform, Benzol und Äther, ziemlich gut in Alkohol und etwas weniger in Petroläther. Die Verbindung besitzt im Ultraviolett ein Absorptionsmaximum bei 272 $m\mu$ (in Äthanol). Das Verhalten des Blauspektrums wurde bereits weiter oben geschildert. Die Elementaranalyse lieferte folgende Werte:

| | | |
|-------------------|--------------|----------|
| $C_{20}H_{30}O_2$ | Ber. C 79,47 | H 9,93% |
| | Gef. „ 79,62 | „ 10,17% |

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

92. Über wasserlösliche Inhaltsstoffe von *Papaver somniferum* L.

von H. Schmid und P. Karrer.

(28. IV. 45.)

Bei der Untersuchung der Pflanzen auf ihre Inhaltsstoffe sind in vielen Fällen nur ganz bestimmte Verbindungen oder Verbindungsgruppen (z. B. Alkaloide, Glucoside, Farbstoffe usw.) isoliert und näher studiert worden. Gelegentlich hat man sich auch bemüht, alle erfassbaren Inhaltsstoffe aufzufinden, ist aber von relativ geringen Mengen pflanzlichen Materials ausgegangen, sodass nur die in grösseren Quantitäten vorhandenen Inhaltsstoffe gefunden werden konnten.

Durch das Entgegenkommen der Fa. *F. Hoffmann-La Roche & Co.* Basel wurden wir in die Lage versetzt, die durch Wasser extrahierbaren Verbindungen einer Mohnart, *Papaver somniferum* L. (hauptsächlich weissblühende und etwas blaublühende Varietät) einer eingehenden Untersuchung zu unterwerfen. Das pflanzliche Material bestand hauptsächlich aus den von den ursprünglich darin vorkommenden Alkaloiden befreiten Mohnkapseln und aus Mohnkraut. Die Alkaloide¹⁾ aus *Papaver somniferum* L. werden somit durch unsere Untersuchung nicht miterfasst. Dadurch, dass uns der wässrige Extrakt von ca. 2000 kg trockenem „Mohnstroh“ für die Isolierung der Inhaltsstoffe zur Verfügung stand, liessen sich auch solche Verbindungen fassen, die nur in kleiner Menge in der Pflanze vorkommen.

Die Untersuchung ist noch nicht abgeschlossen. Wir berichten indessen über die bisher vorliegenden Resultate, die erkennen lassen, dass diese Pflanze einen grossen Reichtum an mehr oder weniger wasserlöslichen Verbindungen enthält, von denen verschiedene zum ersten Male in der Natur nachgewiesen werden. Wie bereits erwähnt,

¹⁾ Es kommen darin z. B. Morphin, Codein, Papaverin, Narcotin und andere Basen vor.

umfasst unsere Untersuchung hauptsächlich saure Inhaltsstoffe, da die basischen (Alkaloide) durch eine Vorextraktion entfernt worden waren.

Nachstehende Zusammenstellung enthält die Verbindungen, deren Isolierung aus dem getrockneten Material von *Papaver somniferum* uns bisher gelungen ist:

| | | |
|--|---|----------------|
| p-Oxybenzaldehyd | Benzoessäure | Phtalsäure |
| Vanillin | p-Oxyzimtsäure | Hemipinsäure |
| p-Oxystyrol | p-Oxybenzoessäure | m-Hemipinsäure |
| Fumarsäure | Vanillinsäure | Meconin |
| d,l-Milchsäure | 2-Oxy-cinchoninsäure | |
| Eine höhere ungesättigte Carbonsäure „J“ | | |
| Substanz „Fx“ | (konstitutionell noch nicht aufgeklärt) | |
| Substanz „Q“ | (konstitutionell noch nicht aufgeklärt) | |
| Substanz „Wx“ | (konstitutionell noch nicht aufgeklärt) | |
| Geruchstoff | (konstitutionell noch nicht aufgeklärt) | |

Von diesen Verbindungen sind Benzoessäure, Vanillin, Fumarsäure und Milchsäure schon häufig in Pflanzen aufgefunden worden. p-Oxybenzaldehyd hat man aus Xanthorrhoea-Harz isoliert¹⁾. p-Cumarsäure wurde in freiem Zustand in der Rinde von *Prunus serotina*²⁾, ferner an Harzalkohole gebunden in vielen Harzen nachgewiesen. p-Oxy-benzoessäure kommt in unreifen Schoten von *Catalpa bignonioides* Walt.³⁾, ferner in Blättern und Blütenköpfen von *Grindelia robusta* Nutt.⁴⁾ vor. Meconin findet sich in geringer Menge im Opium⁵⁾, ferner in der Wurzel von *Hydrastis canadensis*⁶⁾. Ob freie Vanillinsäure im Pflanzenreich schon jemals aufgefunden wurde, ist fraglich. Aus einem Referat einer Arbeit von *Risi* und *Labrie* im Chem. Zentralblatt⁷⁾ geht nicht klar hervor, ob die von diesen Forschern aus Zuckerahorn gewonnene Verbindung als solche in der Pflanze vorkommt oder Spaltprodukt eines anderen Naturstoffes (Lignin?) war. *H. Hérissé*, *G. Poirot* und *J. Rabaté*⁸⁾ haben Vanillinsäure aus portugiesischem Lorbeer erhalten, geben jedoch an, dass sie wahrscheinlich in der Pflanze „komplex gebunden“ vorliegt. Durch die in der vorliegenden Arbeit gelungene Isolierung der Vanillinsäure aus Mohnstroh ist diese Verbindung daher vielleicht zum ersten Male in freier Form im Pflanzenreich nachgewiesen worden.

¹⁾ *Bamberger*, M. **14**, 339, 342 (1893); *Tschirch*, *Hildebrand*, Ar. **234**, 699, 705 (1896).

²⁾ *Power* und *Moore*, Soc. **95**, 254 (1909).

³⁾ *Piutti* und *Comanducci*, Bl. [3] **27**, 615 (1902); G. **32**, II, 1 (1902).

⁴⁾ *Power* und *Tulin*, C. **1906**, II, 1623.

⁵⁾ *Couerbe*, A. **2**, 272 (1832); **5**, 180 (1833). — *Pelletier*, A. **5**, 154 (1833); *Anderson*, A. **86**, 179 (1853); **98**, 44 (1856).

⁶⁾ *Freund*, B. **22**, 459 (1889).

⁷⁾ C. **1936**, I, 1436 (Originalliteratur ist uns nicht zugänglich).

⁸⁾ C. **1940**, I, 398 (Originalliteratur hier nicht zugänglich).

Sicher trifft der erstmalige Nachweis des Vorkommens in der Natur, speziell in Pflanzen, für die von uns isolierten Verbindungen: Phtalsäure, 2-Oxy-cinchoninsäure, Hemipinsäure und m-Hemipinsäure zu. Auch p-Oxystyrol ist in Pflanzen bisher nicht gefunden worden; die Verbindung war bisher überhaupt unbekannt. Es ist indessen wahrscheinlich, dass sie im Mohnstrohextrakt nicht frei vorkommt, sondern dass sie sich aus einer Vorstufe bei der Isolierung (Vakuumdestillation) bildete. p-Cumarsäure kommt als Vorstufe in unserem Fall wahrscheinlich nicht in Betracht, da sie unter den Bedingungen, unter denen p-Oxystyrol bei der Aufarbeitung des Pflanzenextraktes entstand, nicht in merklichen Mengen in jenes übergeht.

Auch unter den konstitutionell noch nicht aufgeklärten Substanzen „Fx“, „Q“, „Wx“, ungesättigte Carbonsäure „J“ und Geruchsstoff wird voraussichtlich die eine oder andere als pflanzlicher Inhaltsstoff neu sein.

Das Vorkommen von Meconin, Hemipinsäure und meta-Hemipinsäure in der Mohnart *Papaver somniferum* L. ist im Hinblick auf die nahe Beziehung dieser Stoffe zu den in der Pflanze auftretenden Morphinalkaloiden der Isochinolingruppe bemerkenswert. Ob sie in der Pflanze zur Synthese dieser Alkaloide Verwendung finden oder umgekehrt Spaltstücke der Pflanzenbasen sind, entzieht sich der Beurteilung.

Auch das natürliche Auftreten der mit Kynurensäure strukturierten 2-Oxy-cinchoninsäure ist von Interesse.

Der Chemischen Fabrik *F. Hoffmann-La Roche & Co.* in Basel sprechen wir für die Überlassung der Mohnextrakte unseren verbindlichsten Dank aus.

Experimenteller Teil.

Herstellung des Ausgangsmaterials (Eluate I, II etc.).

Das „Mohnstroh“ wurde mit kaltem Wasser extrahiert, der Auszug alkalisch gemacht und mit Benzol ausgezogen.

Hierauf stellte man die extrahierte wässrige Flüssigkeit sauer ($p_H = \text{ca. } 3,0$) und rührte pro 5000 l 25 kg Adsorptionskohle Norit ein. Nach längerem Turbinieren wurde der Norit abzentrifugiert; man erhielt ca. 60 kg feuchtes Adsorbat, das nun der fraktionierten Elution mit 2-proz. wässrigem Ammoniak unterworfen wurde. Dabei ergaben sich folgende Eluate:

| | |
|---------------------------|---------------------------|
| 1. Ammoniak-Eluat (45 kg) | Trockenrückstand 2,7 kg |
| 2. Ammoniak-Eluat (60 kg) | Trockenrückstand 0,732 kg |
| 3. Ammoniak-Eluat (46 kg) | Trockenrückstand 0,205 kg |
| 4. Ammoniak-Eluat (50 kg) | Trockenrückstand 0,050 kg |

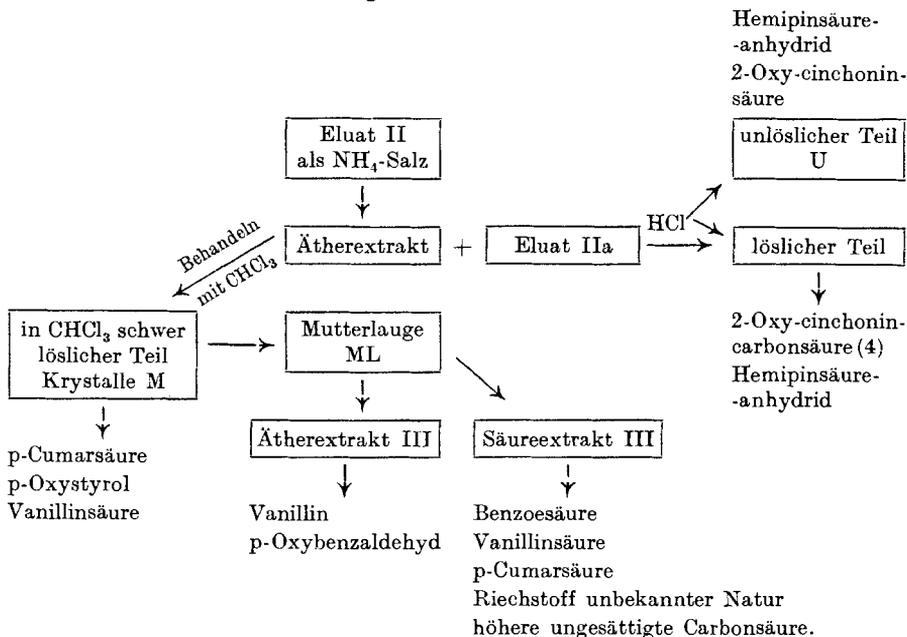
Die Trockenrückstände des ersten und zweiten Eluates kamen in der vorliegenden Arbeit zur Untersuchung.

Untersuchung des Tierkohleeluates II aus Mohnstroh (als NH_4 -Salz vorliegend).

150 g des Eluates, das ein dunkel gefärbtes Pulver darstellt, wurden in ca. 250 cm³ Wasser gelöst ($p_H = 8$) und im Extraktor erschöpfend mit Äther ausgezogen (Rückstand Eluat IIa).

Der Ätherauszug wurde durch ein Faltenfilter gegossen und sorgfältig eingedampft. Es hinterblieben 21 g Rückstand als dickes, gelb gefärbtes Öl.

Trennungsschema für Eluat II.



Aufarbeitung des Äther-Extraktcs.

Den oben erwähnten Rückstand des Äther-Extraktcs nahm man in Chloroform auf und destillierte einen Teil desselben zur Entfernung des im Extrakt noch vorhandenen Wassers ab. Nach längerem Stehen im Eisschrank schieden sich aus der Chloroformlösung Krystalle ab, die abgetrennt und mit kaltem Chloroform gewaschen wurden (M). Ausbeute 3,567 g. Die Aufarbeitung der Mutterlauge (ML) wird später beschrieben.

Untersuchung der Krystalle (M):

Diese Krystalle bestanden zum grössten Teil aus p-Cumarsäure. Eine Probe des rohen Säuregemisches (M) wurde unter Zusatz von Norit zweimal aus Wasser umkrystallisiert. Sodann haben wir die erhaltenen, fast farblosen Krystalle in möglichst wenig Methanol gelöst und bis zur Trübung mit Äther versetzt. Der erhaltene geringe Niederschlag wurde nach längerem Stehen abgetrennt und die Mutterlauge eingedampft. Diesen Eindampfungsrückstand hat man nochmals aus Wasser umgelöst. Die so erhaltene p-Cumarsäure zeigte die richtigen Analysendaten, schmolz bei 206° (Zersetzung) und gab mit einem synthetischen Produkt keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.



Zur Bestätigung dieses Befundes haben wir aus der Säure den bei 139° schmelzenden p-Cumarsäure-methylester hergestellt: 0,300 g rohe p-Cumarsäure wurden mit einem Gemisch von 25 cm³ absolutem Methanol und 1 cm³ konz. H₂SO₄ 3 Stunden am Rückflusskühler gekocht. Unter Kühlung fügte man Eiswasser hinzu und saugte die abgeschiedenen Krystalle nach einstündigem Stehen im Eisschrank ab. Zur Reinigung haben wir sie unter Zusatz von Norit zunächst aus Methanol-Wasser und zuletzt aus

Benzol umkrystallisiert. Smp. 139°. Die Verbindung zeigte im Gemisch mit einem synthetischen Präparat keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.

| | | | |
|----------------------------|---------------|---------|-------------------------|
| $C_{10}H_{10}O_3$ (178,18) | Ber. C 67,40 | H 5,66 | OCH ₃ 17,41% |
| | Gef. .. 67,43 | .. 5,75 | .. 17,17% |

Der p-Cumarsäure-methylester wird auch durch Behandlung des rohen Säuregemisches mit einer ätherischen Diazomethanolösung erhalten. Daneben entsteht aber der p-Methoxy-zimtsäure-methylester, wie aus folgendem Versuch hervorgeht:

0,300 g rohe Säure wurden in möglichst wenig absolutem Äther gelöst, vom Ungelösten abfiltriert und das Filtrat mit überschüssiger, frisch bereiteter ätherischer Diazomethanolösung über Nacht stehen gelassen. Danach hat man filtriert, erschöpfend mit eiskalter 1-proz. wässriger Kalilauge ausgeschüttelt und den Laugenauszug sofort mit verdünnter Salzsäure angesäuert.

Laugenauszug: Der angesäuerte Auszug wurde einige Stunden stehen gelassen, die gebildeten Krystalle abgesaugt und gründlich mit Wasser gewaschen. Zur Reinigung hat man sie bei 130° (Luftbadtemperatur) und 0,01 mm Druck sublimiert. Vor- und Nachlauf waren nur wenig vorhanden. Schmelzpunkt der farblosen Nadeln: 138,5—139,5°. Das Gemisch mit dem oben beschriebenen p-Cumarsäure-methylester zeigte keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.

Neutralteil: Die mit Wasser gewaschene, neutrale Ätherlösung wurde getrocknet und eingedampft. Das in geringer Menge dabei anfallende, rot gefärbte Öl haben wir im Hochvakuum (0,01 mm) destilliert.

Vorlauf bis 70° (Luftbad) Öl,

Hauptmenge 110° (Luftbad) Öl, später erstarrend,

Rückstand: dunkel gefärbtes Harz.

Die Fraktion Sdp. 110° wurde aus Äther-Petroläther umgelöst und nochmals destilliert. Schmelzpunkt der farblosen Krystalle 88—90° (p-Methoxy-zimtsäure-methylester).

| | | | |
|----------------------------|---------------|---------|-------------------------|
| $C_{11}H_{12}O_3$ (192,21) | Ber. C 68,73 | H 6,30 | OCH ₃ 31,56% |
| | Gef. .. 68,53 | .. 6,60 | .. 31,09% |

Durch die vorliegenden Versuche ist gezeigt worden, dass der Hauptbestandteil der erhaltenen Rohsäurefraktion M p-Cumarsäure ist. Da diese Säure aber nur relativ schwer in analysenreinem Zustand zu gewinnen war, haben wir die Rohsäurefraktion noch auf andere Stoffe untersucht:

1,00 g Säuregemisch wurde in einem Kugelhörnchen einer sorgfältigen Sublimation im Hochvakuum unterzogen. Bei einem Vakuum von 0,01 mm, das bei steigender Temperatur bis auf 0,1 mm fiel, haben wir die folgenden Fraktionen erhalten:

Fraktion I Sublimat bis 70—80° (Luftbad) Spuren

Fraktion II Öl, erstarrend 110—120° (Luftbad)

Fraktion III Öl 120—140° (Luftbad)

Fraktion IV ab ca. 140—150° Beginn der Sublimation der p-Cumarsäure

Fraktion V Rückstand, Hauptmenge (p-Cumarsäure).

Die Fraktionen II und III wurden vereinigt und nochmals sublimiert. Unter einem Vakuum von 0,03 mm ging die Hauptmenge bei 70—80° in Form farbloser Nadelchen über. Ausbeute 87 mg. (Bei einem anderen Versuch erhielt man aus 1,00 g Säuregemisch 50 mg Krystalle). Bei höherer Temperatur destillierte ein Öl, das amorph erstarrte. Das bei 70—80° übergehende Sublimat wurde aus Äther-Petroläther umgelöst und nochmals im Hochvakuum sublimiert. Das so erhaltene, eigenartig riechende Produkt schmolz scharf bei 73,5° und zeigte die folgenden Analysendaten:

| | | | |
|--------------------|----------------------|---------------|-----------------------|
| C_8H_8O (120,15) | Ber. C 79,97 | H 6,71 | OCH ₃ 0,0% |
| | Gef. .. 79,84; 80,14 | .. 6,52; 7,10 | .. 0,0% |

Der Stoff vom Smp. 73,5° besass folgende Eigenschaften: eine wässrige Lösung gab mit einem Tropfen einer verdünnten Eisen(III)-salzlösung eine blau-grüne Farb-reaktion. Mit konz. H₂SO₄ oder mit Phosphorsäure wurde die Verbindung tiefrot, mit

konz. HCl kornblumenblau. Gleichzeitig polymerisierte sie sich zu einem unlöslichen Harz. Auch beim längeren Erwärmen auf eine Temperatur, die höher als die Schmelztemperatur liegt, trat Polymerisation ein. Darauf ist besonders beim Umkrystallisieren Rücksicht zu nehmen. Eine ammoniakalische Silbernitratlösung wurde erst nach längerem Kochen reduziert.

Auf Grund dieser Eigenschaften, sowie der Bruttoformel kommt dem Stoff vom Smp. 73,5° die Struktur des p-Oxystyrols zu. Die beiden anderen Oxystyrole, nämlich das o-Oxystyrol und das m-Oxystyrol sind bekannt. Ersteres schmilzt bei 29°¹⁾, letzteres ist als Öl beschrieben²⁾.

In Übereinstimmung mit der angenommenen Struktur nimmt unsere Verbindung bei der Mikrohydrierung 4 Mole Wasserstoff auf, wobei, wie in anderen Benzolabkömmlingen mit zum Benzol α , β -ständiger Doppelbindung, gleichzeitig der Benzolkern aushydriert wird: 9,847 mg Substanz in 5 cm³ Eisessig verbrauchen, mit PtO₂ und Wasserstoff geschüttelt, bei 21° und 722 mm 8,91 cm³ H₂. Für 4 Mol Wasserstoff berechnet sich unter den gleichen Verhältnissen ein Verbrauch von 8,34 cm³.

p-Oxystyrol ist bisher nicht bekannt gewesen. In der Literatur³⁾ findet sich lediglich die Angabe, dass beim Verkochen von p-Cumarsäure mit verdünnten Mineralsäuren unter CO₂-Abspaltung ein Öl entsteht, von dem der Autor ohne weitere Untersuchung annimmt, dass es sich um das p-Oxystyrol handelt. Wir haben diesen Versuch wiederholt und dabei festgestellt, dass beim Verkochen von Cumarsäure tatsächlich ein Öl gebildet wird. Dieses stellt aber nicht das monomere p-Oxystyrol, sondern eine polymere Form desselben dar. Denn bei der Destillation dieses Produktes im Hochvakuum destillierte kein p-Oxystyrol über. Zur Hauptsache besteht dieses Zersetzungsprodukt aus einem undestillierbaren Harz.

Es war allerdings zum vornherein zu erwarten, dass unter den erwähnten Bedingungen das monomere p-Oxystyrol gar nicht beständig sein kann, denn, wie schon früher gesagt wurde, bewirken bereits kürzeres Erwärmen oder starke Säuren eine Veränderung des Stoffes. Auch beim mehrtägigen Stehen bei Zimmertemperatur tritt teilweise Zersetzung ein.

Von Interesse ist die Frage, ob p-Oxystyrol selbst in der Pflanze vorkommt oder ob eine polymere Form, die bei der Destillation in das monomere Produkt zerfällt, darin enthalten ist. Es war auch ferner abzuklären, ob p-Oxystyrol eventuell aus p-Cumarsäure durch CO₂-Abspaltung bei der Destillation entstanden war. 0,335 g reine, synthetische p-Cumarsäure wurden daher bei 0,01 mm destilliert. Es trat, auch bei höherer Temperatur, kein Vakuumabfall ein. p-Oxystyrol liess sich im Destillat nicht nachweisen. Höchstens der bei der Destillation auftretende charakteristische Geruch könnte als Beweis seiner spurenhafte Bildung dienen. Bei 160—170° sublimierte reine p-Cumarsäure (Smp. 207°) über. Erst bei der Destillation der Cumarsäure unter Atmosphärendruck lässt sich p-Oxystyrol in Spuren nachweisen. Darüber orientiert folgender Versuch: 0,118 g p-Cumarsäure wurden in einem Kugelhörnchen bei Normaldruck mit der freien Flamme so lange erhitzt, bis nichts mehr überdestillierte. Das Destillat hat man zur Entfernung der Harze in Äther aufgenommen und mit Petroläther gefällt, das Filtrat im Vakuum eingedampft und den Rückstand aus einem Kugelhörnchen sublimiert. Bei 80—90° Badtemperatur sublimierte p-Oxystyrol über. Ausbeute etwa 2—3 mg. Schmelzpunkt unscharf bei 60°.

Bei der beschriebenen Reinigung der p-Cumarsäure haben wir hie und da in Äther unlösliche harzige Begleitstoffe angetroffen, die ammoniakalische Silbernitratlösung nach längerem Kochen stark reduzierten. Es könnte sich dabei um Polymerisationsprodukte des Oxystyrols handeln, die aber nicht sekundär, etwa durch Hochvakuumdestillation, entstanden sein können, denn eine solche ist in diesem Aufarbeitungsstadium noch nicht angewendet worden.

¹⁾ Fries, *Fickewirth*, B. 41, 369 (1908).

²⁾ Komppa, B. 26, 677 (1893).

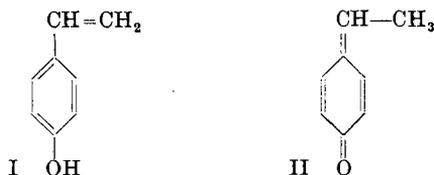
³⁾ Miller, *Kinkelin*, B. 22, 1715 (1889).

Immerhin möchten wir die Frage, ob p-Oxystyrol als solches oder in Form eines Polymerisates in der Pflanze vorkommt oder ob es aus p-Cumarsäure durch CO₂-Abspaltung gebildet wurde, offen lassen, da die Zersetzung der p-Cumarsäure durch Begleitstoffe bei der Hochvakuumdestillation katalysiert werden könnte.

Physikalisch-chemische Untersuchung des p-Oxystyrols.

Herrn Prof. *Schwarzenbach* verdanken wir die Bestimmung der Aciditätskonstante von p-Oxystyrol. Die Messungen wurden mit Hilfe einer potentiometrischen Titration mit 0,1-n. NaOH bei einer Temperatur von 20° und einer Konzentration des p-Oxystyrols von $2,4 \times 10^{-3}$ Mol/l ausgeführt. Es ergaben sich dabei die folgenden p_K Werte: bei einem Neutralisationsgrad von ½: p_K = 9,916 und bei einem Neutralisationsgrad von ¾: p_K = 9,90. Mittelwert: p_K = 9,91. (Das p_K von Phenol beträgt 9,788 (20°)).

Wir haben ferner untersucht, ob das p-Oxystyrol (I) in der tautomeren Form (II) reagieren könnte. Eine Verbindung der Formel II müsste nach Art der p-Chinone reversibel reduzierbar sein. p-Oxystyrol lässt sich aber mit Natriumdithionit nicht reversibel reduzieren, was durch die Messung des Potentials einer blanken Platin-Elektrode festgestellt wurde.



Vanillinsäure.

Bei der Reinigung der p-Cumarsäure aus dem „Säuregemisch M“ haben wir festgestellt, dass Präparate dieser Säure, die frei von p-Oxystyrol waren, keine stimmenden Analysenwerte gaben, obwohl sie den richtigen Schmelzpunkt besaßen. Wir haben dann versucht, die Begleitsubstanz durch Umkrystallisation und Sublimation im Hochvakuum in reiner Form zu gewinnen. Diese Versuche führten nicht zum Ziel. Erst als wir den Kunstgriff anwandten, durch Verkochen mit Mineralsäuren die in der Hauptmenge vorliegende p-Cumarsäure zu zerstören, gelang es, die Begleitsäure in reiner Form zu isolieren: 0,287 g rohes „Säuregemisch M“ wurden mit 15 cm³ 10-proz. H₂SO₄ 15 Minuten zum Sieden erhitzt, nach dem Abkühlen die Lösung gründlich ausgeäthert, der Ätherauszug mit Wasser gewaschen, getrocknet, filtriert und abdestilliert. Den Rückstand hat man aus einem Kugelhörchen im Hochvakuum destilliert.

- Fraktion I Spuren, Vorlauf bis 100° (Luftbadtemperatur).
- Fraktion II Nadeln von 120—140°.
- Fraktion III Spuren p-Cumarsäure + Öl von 160—180°.
- Fraktion IV harziger Rückstand (Hauptmenge).

Die Fraktion II wurde aus Äther umkrystallisiert und schmolz dann bei 205°. Im Gemisch mit Vanillinsäure keine Schmelzpunkts-Erniedrigung. Die Hauptmenge der Vanillinsäure findet sich aber nicht hier, sondern in der Fraktion ML.

Die Fraktion III wurde nochmals im Hochvakuum unter Abtrennung eines Vor- und Nachlaufes sorgfältig fraktioniert. Die so gereinigten Krystalle schmolzen nach dem Umlösen aus Äther-Petroläther bei 202° (Zersetzung); es handelt sich um unveränderte p-Cumarsäure:

| | |
|---|-------------------------|
| C ₉ H ₈ O ₃ (164,16) | Ber. C 65,85 H 4,91% |
| | Gef. „ 65,63 „ 5,47% |

Zusammenfassung. In der Säurefraktion M sind die folgenden Stoffe identifiziert worden:

1. p-Cumarsäure, als Hauptprodukt.
2. Vanillinsäure (etwa 10% des Säuregemisches).
3. p-Oxystyrol (etwa 5—8% des Säuregemisches).

Aufarbeitung der Mutterlauge ML.

Das Lösungsmittel Chloroform wurde über einem *Widmer*-Aufsatz vorsichtig abdestilliert und das zurückbleibende Öl in einer gesättigten NaHCO_3 -Lösung gelöst. Die NaHCO_3 -Lösung hat man 6mal mit Äther gründlich ausgeschüttelt, den Ätherextrakt 3mal mit NaHCO_3 -Lösung ausgezogen, mit Wasser gewaschen, getrocknet und abdestilliert: Ätherextrakt III (enthält Phenole und Neutralstoffe).

Die NaHCO_3 -Auszüge und Waschwasser wurden vereinigt, mit verdünnter Salzsäure bis zur kongoblauen Reaktion versetzt und mit Äther extrahiert, der Ätherauszug nach dem Trocknen eingedampft. Der Rückstand „Säureextrakt III“ wog 14,0 g.

1. Aufarbeitung des Säureextraktes III.

9 g des öligen Rückstandes wurden auf 3 Kugelhörchen verteilt und bei 0,01 mm destilliert:

Fraktion I krystallisierender Vorlauf, teils sublimiert, Sdp. bis 110° Luftbadtemperatur.

Fraktion II Sublimat, Sdp. 120 — 130° Luftbadtemperatur.

Fraktion III dunkel gefärbter Rückstand (RR).

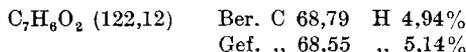
Die drei Fraktionen I wurden vereinigt und bei 0,1 mm nochmals fraktioniert:

Fraktion Ia Öl, Sdp. bis 85° .

Fraktion IIa Öl, das später erstarrte. Hauptmenge Sdp. 90 — $100^\circ = 0,50$ g.

Fraktion IIIa öliges hochsiedender Nachlauf in sehr geringer Menge.

Die Fraktion IIa haben wir mit einigen Tropfen tiefsiedendem Petroläther gewaschen und zweimal aus einem Gemisch von wenig Äther und viel niedrig siedendem Petroläther krystallisiert. Das in farblosen Nadelchen gewonnene Produkt schmolz bei 121 — 122° und zeigte im Gemisch mit Benzoesäure keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.



Fraktion Ia enthält einen Riechstoff, der erst bei der Destillation gebildet worden ist. Es wird später darauf eingegangen werden.

Aufarbeitung der Rückstände RR.

Diese wurden in 50 cm^3 Äther aufgenommen und von geringen, ungelösten Anteilen abfiltriert. 30 cm^3 dieser Ätherlösung verteilte man auf 3 Kugelhörchen und fraktionierte im Hochvakuum wie folgt:

S I dickes Öl + geringe Mengen Benzoesäure, Sdp. bis 120° .

S II Öl + Sublimat, Sdp. 130 — 150° (Luftbadtemperatur).

S III Öl, später erstarrend, Sdp. 150 — 190° (Luftbadtemperatur).

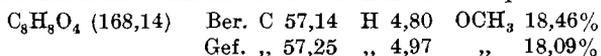
S IV Rückstand.

Der Druck stieg von 0,01 mm bei steigender Temperatur infolge Zersetzung bis 0,1—0,2 mm.

Die drei Fraktionen S II wurden vereinigt (0,45 g) und bei 0,005 mm nochmals sorgfältig einer fraktionierten Destillation unterworfen.

Vorlauf: Krystalle + Öl, Sdp. bis 140° (Luftbadtemperatur). Hauptmenge: Sublimat von 140 — 160° (Luftbadtemperatur); etwas Rückstand.

Die Fraktion, welche von 140 — 160° übergegangen war, wurde mit Äther ausgekocht. Nach dem Stehen im Eisschrank haben wir den Rückstand abgesaugt und mit eiskaltem Äther nachgewaschen. Die bei 205 — 207° schmelzenden Krystalle wurden nochmals aus Wasser umgelöst. Man erhielt die in verfilzten Nadelchen anfallende Säure vom Smp. 209 — 210° . Im Gemisch mit Vanillinsäure trat keine Schmelzpunkts-Erniedrigung ein.



Die Säure gibt mit einer verdünnten Eisen(III)-chloridlösung eine intensive rotbraune Farbreaktion. Sie scheint in der Natur bisher noch nicht aufgefunden worden zu sein.

Die Fraktionen S III wurden vereinigt (1,69 g) und erneut im Hochvakuum destilliert. Man erhielt die folgenden Fraktionen:

| | | | |
|------------------------------|---------|----------------|---------------------|
| Sa Öl+etwas Benzoesäure (?) | Spuren | Sdp. bis 120° | } Luftbadtemperatur |
| Sb zähflüssiges Öl | wenig | Sdp. 130—140° | |
| Sc Sublimat | 0,15 g | Sdp. 140—145° | |
| Sd Öl, das später erstarrte | 1,001 g | Sdp. 150—160° | |
| Se zähes, uneinheitliches Öl | | Sdp. >160—210° | |

Aus den Fraktionen Sc und Sd liessen sich noch weitere Mengen Vanillinsäure abtrennen: Man kochte mit wenig Benzol auf und nutschte nach dem Abkühlen die Vanillinsäure ab. Diese zeigte nach dem Umlösen aus Äther bzw. Wasser den richtigen Schmelzpunkt. Aus 9 g Säureextrakt III erhielt man insgesamt 1,72 g Vanillinsäure.

Untersuchung der Fraktion S IV.

Es ist uns nicht gelungen, aus dieser Fraktion eine einheitliche Substanz zu isolieren. Weder ein Chromatogramm an $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ noch die Reinigung über die Benzylthiuroniumsalze führten zum Ziel.

Untersuchung der Fraktionen S I und S II.

Sämtliche Vorläufe S I, sowie der Vorlauf der zweiten Destillation von S II, die Fraktionen Sa + Sb und die Mutterlaugen der Vanillinsäurekristallisation aus den Fraktionen Sc und Sd wurden vereinigt und einer erneuten sorgfältigen Destillation unterworfen.

| | | |
|---------------------------|---------------|--|
| S α Sublimat | Sdp. bis 85° | } Luftbadtemperatur } Vakuum: 0,01 mm |
| S β Öl | Sdp. 95—105° | |
| S γ Öl (Gemisch) | Sdp. 105—125° | |
| S δ Öl, Hauptmenge | Sdp. 125—135° | |
| Rückstand. | | |

Untersuchung der Fraktionen S α und S β .

Aus S α wurden nach dem Umlösen aus Äther-Petroläther einige mg einer bei 80—90° schmelzenden Säure (Benzoesäure?) erhalten. Die Mutterlauge haben wir eingedampft und den Eindampfungsrückstand mit der Fraktion S β vereinigt. Diese Fraktionen wiesen einen intensiven, an Moschus erinnernden Geruch auf. Durch eine Destillation mit Wasserdampf (Fraktion S β + Mutterlauge von S α) liess sich der Riechstoff weiter anreichern. Man destillierte solange, bis das Destillat nach Zusatz von Kochsalz nur noch eine geringe Trübung aufwies. Die Wasserdampfdestillate wurden vereinigt, mit Kochsalz gesättigt und mit möglichst wenig Äther sorgfältig ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen der Ätherlösung haben wir das Lösungsmittel über einer Widmer-Kolonnen bei 40° abdestilliert und den öligen Rückstand bei 10 mm Druck aus einem mit Kapillare versehenen Mikrokugelhöhrchen destilliert. Die Hauptmenge ging bei 120—130° über. Infolge der geringen zur Verfügung stehenden Mengen ist uns die endgültige Reinigung des Riechstoffs noch nicht gelungen. Das reinste, bisher erhaltene Produkt gab die folgenden Analysenwerte:

Gef. C 70,82 H 7,70%

8,134 mg Substanz in 5 cm³ Eisessig nahmen mit PtO₂ und Wasserstoff geschüttelt bei 24,4° und 722 mm Druck 4,30 cm³ Wasserstoff auf. Die Verbindung enthält keine Aldehyd- bzw. Ketongruppe, denn beim Erwärmen mit einer Semicarbazidacetat-Lösung tritt keine Reaktion ein. Die Tatsache, dass dieser Riechstoff erst sekundär bei der Destillation von sauren Stoffen gebildet worden ist, selbst aber in einer NaHCO₃-Lösung unlöslich ist, legt den Gedanken nahe, dass es sich um ein ungesättigtes Lacton handelt.

Untersuchung der Fraktion S δ .

Man löste diese Fraktion in wenig Äther und versetzte mit Petroläther bis zur eben beginnenden Trübung. Nach längerem Stehen schied sich etwas Vanillinsäure ab, die man abnutschte. Das Filtrat wurde eingedampft und in Benzol aufgenommen, wonach sich nach einiger Zeit weitere geringe Anteile von Vanillinsäure abschieden. Das schliess-

lich von Vanillinsäure befreite Filtrat dampfte man im Vakuum völlig ein und nahm den öligen Rückstand in einem Gemisch von Methanol-Wasser auf. Zur Überführung in das Benzylthiuroniumsalz wurde mit 0,1-n. KOH neutralisiert, wozu 5,8 cm³ nötig waren (Indikator: Methylorange, gerade noch rot). Die wässrig-methanolische Lösung des Kaliumsalzes wurde im Vakuum zur Trockne gebracht und dreimal mit absolutem Äther ausgekocht. Darauf haben wir den Rückstand in möglichst wenig Wasser gelöst, die Flüssigkeit klar filtriert und bei 0° mit einer konz. Lösung von 0,122 g N-Benzyl-thiuroniumchlorid in Wasser versetzt. Das Thiuroniumsalz schied sich dabei als Schmiere ab. Es konnte nicht krystallin erhalten werden.

Aufarbeitung des Säureextraktes III.

Es wurde festgestellt, dass bei der Destillation des Säureextraktes III im Hochvakuum ein nicht unerheblicher Teil der Substanz zerstört wurde. Im folgenden haben wir versucht, durch Verwendung der Methylester diese Schwierigkeit zu umgehen.

6,8 g der oben erwähnten Säurefraktion, die vorher im Hochvakuum getrocknet worden war, hat man mit 100 cm³ absolutem Methanol und 2,00 cm³ konz. H₂SO₄ 4 Stunden unter Rückfluss gekocht. Darnach hat man 3,5 g NaHCO₃ zugefügt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde mit Wasser und Äther behandelt und die Ätherlösung erschöpfend mit 1-proz. wässriger eiskalter NaOH ausgeschüttelt, nachdem vorher gründlich mit einer verdünnten NaHCO₃-Lösung ausgezogen worden war. Der Laugenextrakt wurde sofort angesäuert, mit Kochsalz gesättigt und mit Äther extrahiert. Die ursprüngliche Ätherlösung hat man mit Wasser gut gewaschen, getrocknet und abdestilliert = Neutralteil S III. Laugenextrakt: Phenolteil S III.

Der Phenolteil enthält p-Cumarsäure-methylester und Vanillinsäure-methylester. Der Eindampfungsrückstand der Ätherlösung zeigte bei der Destillation im Hochvakuum folgendes Bild:

Fraktion I, Sdp. 120—140° (Luftbad), 0,01 mm Druck, 0,824 g (besteht aus Vanillinsäure-methylester und Spuren p-Cumarsäure-methylester).

Fraktion II, Sdp. 140—170° (Luftbad), 0,01 mm Druck, 0,514 g (Schmelzpunkt nach dem Umkrystallisieren aus Benzol: 137—138°; im Gemisch mit p-Cumarsäure-methylester keine Schmelzpunkts-Erniedrigung).

Im Neutralteil sind Ester höherer ungesättigter aliphatischer Carbonsäuren enthalten. Da diese Fraktion analog der entsprechenden Fraktion des Eluates I zusammengesetzt ist, wird die Aufarbeitung dort beschrieben (Seite 737).

Aufarbeitung des Ätherextraktes III.

Der ölige Extrakt wurde bei 0,01 mm Druck aus einem Kugelhörnchen destilliert.

Fraktion a, Sdp. bis 130° (Luftbad) 0,894 g

Fraktion b, Sdp. 130—190° (Luftbad) 0,490 g

Fraktion b wurde nach dem Behandeln mit Tierkohle aus Alkohol-Wasser umgelöst. Nach längerem Stehen im Eisschrank erhielt man Spuren eines bei 151—153° schmelzenden Phenols.

Fraktion a wurde in Benzol aufgenommen. Nach längerem Stehen schieden sich Krystalle ab, die abgenutscht und mit kaltem Benzol gewaschen wurden (Mutterlauge: Ma).

Zur weiteren Reinigung hat man die Krystalle in einem schwach aufwärtssteigenden Kugelhörnchen bei 0,01—0,005 mm Druck destilliert. Bei dieser Destillation, die etwa 4½ Stunden in Anspruch nahm, bildete sich bei 85—90° (Luftbad) ein Sublimat bzw. ein später erstarrendes Öl (0,285 g). Nach öfterem Umlösen aus Äther-Petroläther schmolzen die nach Vanillin riechenden Krystalle bei 83°. Im Gemisch mit Vanillin keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.

Steigerte man die Luftbadtemperatur bis 110—115°, so ging ein Öl, das später teilweise erstarrte, über (54 mg). Es handelt sich um noch unreinen p-Oxybenzaldehyd. Durch nochmalige sorgfältige Destillation im Hochvakuum wurde noch etwas Vanillin und ein höher siedendes Öl als Nachlauf abgetrennt. Der p-Oxybenzaldehyd subli-

mierte bei 100°. Nach dem Umlösen aus sehr wenig Äther-Petroläther erhielt man 10 mg des bei 114° schmelzenden Aldehyds. Im Gemisch mit synthetischem p-Oxybenzaldehyd (Smp. 116°) keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.

$C_7H_6O_2$ (122,12) Ber. C 68,84 H 4,95%
Gef. „ 68,85 „ 5,12%

Die Mutterlauge der Fraktion a (Ma) wurde eingedampft und erneut destilliert (0,01 mm Druck).

Vorlauf Sdp. bis 110° (Hauptmenge 85°) Öl
Nachlauf Sdp. 110—160° Öl, uneinheitlich.

Der Vorlauf wog 0,205 g. Zur eventuellen Auffindung eines weiteren Phenolderivates wurde er in das p-Nitrobenzoat übergeführt. Man löste das Öl in 3 cm³ absolutem Pyridin und liess mit 0,5 g p-Nitrobenzoylchlorid bei 20° 30 Stunden stehen. Hierauf wurde mit Eiswasser zersetzt, mit Essigester aufgenommen und die Essigesterlösung nacheinander mit 5-proz. Salzsäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser behandelt. Nach dem Trocknen wurde im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand aus Äther-Chloroform und dann aus Alkohol umkrystallisiert. Smp. 185°. Im Gemisch mit dem p-Nitrobenzoat des Vanillins (Smp. 189°) keine Schmelzpunkts-Erniedrigung.

$C_{15}H_{12}O_6N$ (302,26) Ber. C 59,80 H 3,68 N 4,63%
Gef. „ 60,18 „ 3,79 „ 5,36%

Ein anderes Nitrobenzoat konnte nicht aufgefunden werden. Das p-Nitrobenzoat des Vanillins ist bisher noch nicht beschrieben worden. Wir haben es daher in üblicher Weise (in Pyridin) hergestellt und aus Alkohol-Essigester und hierauf aus Essigester umkrystallisiert. Smp. 189°.

$C_{15}H_{12}O_6N$ (302,26) Ber. C 59,80 H 3,68 N 4,63%
Gef. „ 59,69 „ 3,76 „ 4,93%

Zusammenfassung: In der „Mutterlauge ML“ sind die folgenden Substanzen identifiziert worden:

| | |
|---------------|------------------|
| Vanillinsäure | Vanillin |
| p-Cumarsäure | p-Oxybenzaldehyd |
| Benzoessäure. | |

Aufarbeitung des Eluats IIa.

Ein Drittel der wässrigen, mit Äther extrahierten NH₄-Salzlösung wurde mit verdünnter Salzsäure unter Rühren tropfenweise versetzt, bis das p_H der Lösung 1,0—2,0 war. Dabei schied sich die Hauptmenge der Substanz in Form gummiartiger, dunkler Klumpen ab (Substanz U). Lösung und Niederschlag haben wir getrennt weiterverarbeitet.

Die wässrige, salzsaure Lösung wurde nun im Extraktor 72 Stunden mit Äther ausgezogen, die gelb gefärbte Ätherlösung eingedampft und der Rückstand in warmem Methanol aufgenommen. Aus der klar filtrierten Lösung schieden sich nach einiger Zeit Krystalle ab, die nach dem Waschen mit Methanol und Trocknen 1,071 g wogen (Substanz VE). Weitere Mengen dieser Verbindung, nämlich 0,82 g, wurden durch eine Butanolextraktion derselben Lösung gewonnen. Die Hauptmenge dieser Substanz befand sich aber im wasserunlöslichen Teil. Die nach der Abtrennung der Substanz VE zurückgebliebene Mutterlauge wird mit LR bezeichnet.

Untersuchung der Substanz VE.

Reinigung: 0,62 g der rohen Verbindung wurden in verdünntem wässrigem Ammoniak gelöst, die Lösung mit Norit erwärmt und filtriert. Im Filtrat haben wir überschüssiges Ammoniak im Vakuum entfernt. Man verdünnte auf 75 cm³ und fällte in der Siedehitze tropfenweise mit stark verdünnter Salzsäure die Säure wieder aus. Dabei suchte man so lange als möglich nach jeder Säurezugabe wieder eine klare Lösung zu erhalten. Nach dem Abkühlen wurde filtriert und die Krystallmasse dreimal auf dem Wasserbad mit stark verdünnter Salzsäure digeriert. Hierauf filtrierte man nach dem Er-

kalten der Flüssigkeit den krystallinen Niederschlag ab und krystallisierte ihn zweimal aus Alkohol um. Die nach dem Trocknen im Hochvakuum erhaltene, in gelben Nadelchen krystallisierende Verbindung schmolz unter Zersetzung bei etwa 335—338°.

$C_{10}H_7O_3N$ (189,17) Ber. C 63,49 H 3,73 N 7,41%
 Gef. ,, 63,14 ,, 3,64 ,, 7,64%

Eigenschaften: Die Substanz ist eine Säure. Ihre (sehr verdünnte) wässrige Lösung zeigt besonders im Licht der Quarzlampe eine starke hellblaue Fluoreszenz. Aus Wasser krystallisiert die Verbindung in farblosen, aus wasserfreien Lösungsmitteln in hellgelben Nadeln.

Methylester: 0,196 g reine Säure wurden mit einem Gemisch von 13 cm³ absolutem Methanol und 2 cm³ konz. H₂SO₄ 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen verdünnte man mit ziemlich viel Eiswasser und nutschte den in guter Ausbeute anfallenden Methylester ab. Zur Entfernung von unveränderter Säure wurde er einige Male mit einer eiskalten 2-proz. wässrigen NH₃-Lösung kräftig geschüttelt. Nach dem Absaugen und Waschen mit Wasser haben wir ihn zur weiteren Reinigung aus Methanol umkrystallisiert. Der Methylester krystallisierte in Form farbloser, langer, seiden-glänzender Nadeln. Smp. 245°.

$C_{11}H_9O_3N$ (203,19) Ber. C 65,02 H 4,47 N 6,89 OCH₃ 15,28%
 Gef. ,, 65,07 ,, 4,63 ,, 6,94 ,, 14,95%

Auf Grund der Eigenschaften unserer Säure bzw. ihres Methylesters war die Möglichkeit gegeben, dass unser Produkt mit der 2-Oxy-cinchoninsäure-(4) identisch sein könnte. Wir haben deshalb diese 2-Oxy-cinchoninsäure synthetisiert¹⁾. Der nach der oben beschriebenen Weise hergestellte Methylester schmolz bei 244,5—245,5°. Im Gemisch mit dem Ester aus Mohnstroh trat keine Schmelzpunkts-Erniedrigung ein (244,5—245,5°). Die 2-Oxy-cinchoninsäure-(4) ist bisher noch nicht in der Natur aufgefunden worden.

Aufarbeitung der Mutterlauge LR.

In dieser Mutterlauge waren 0,68 g Substanz vorhanden; aus einer anderen Aufarbeitung kamen weitere 1,62 g desselben Produktes hinzu. Diese 2,3 g haben wir im Hochvakuum aus einer Kugelröhre destilliert, wobei infolge teilweiser Zersetzung das Vakuum von 0,01 mm bis auf 0,1 mm sank. Dabei liessen sich folgende Fraktionen auffangen:

Fraktion I Sdp. bis 180° (Luftbadtemperatur) Öl
 Fraktion II Sdp. 180—230° (Luftbadtemperatur) Öl (wenig Substanz)
 Fraktion III Sdp. 230—250° (Luftbadtemperatur) 2-Oxy-cinchoninsäure (wenig Substanz)

Die erste Fraktion wurde erneut destilliert und die zwischen 120—170° (0,03 mm) übergehenden Anteile aus wenig Äther umgelöst. Hierauf sublimierte man die erhaltenen Krystalle erneut im Vakuum unter 0,01 mm Druck, wobei die Hauptmenge zwischen 120—130° (Luftbadtemperatur) überging. Ausbeute 66 mg.

Zwischen 160—170° sublimierte ein anderer Stoff, dessen Menge aber zur weiteren Untersuchung nicht ausreichte.

Die erwähnten 66 mg (Sublimationstemperatur 120—130°, 0,01 mm) wurden aus einem Gemisch von Aceton und Äther umkrystallisiert, hierauf erneut sublimiert und schliesslich noch zweimal aus Äther unter Druck umkrystallisiert.

Die farblosen Nadelchen schmolzen bei 162° und zeigten in Eisessig gelöst blaue Fluoreszenz. Die Verbindung nahm bei der Hydrierung in Eisessig mit Platinoxid als Katalysator keinen Wasserstoff auf. Auf Grund dieser Eigenschaften, der Analysenzahlen und des Mischschmelzpunktes wurde die Verbindung als Hemipinsäure-anhydrid identifiziert.

$C_{10}H_8O_5$ (208,17) Ber. C 57,69 H 3,88 OCH₃ 29,81%
 Gef. ,, 57,67 ,, 4,13 ,, 28,99%

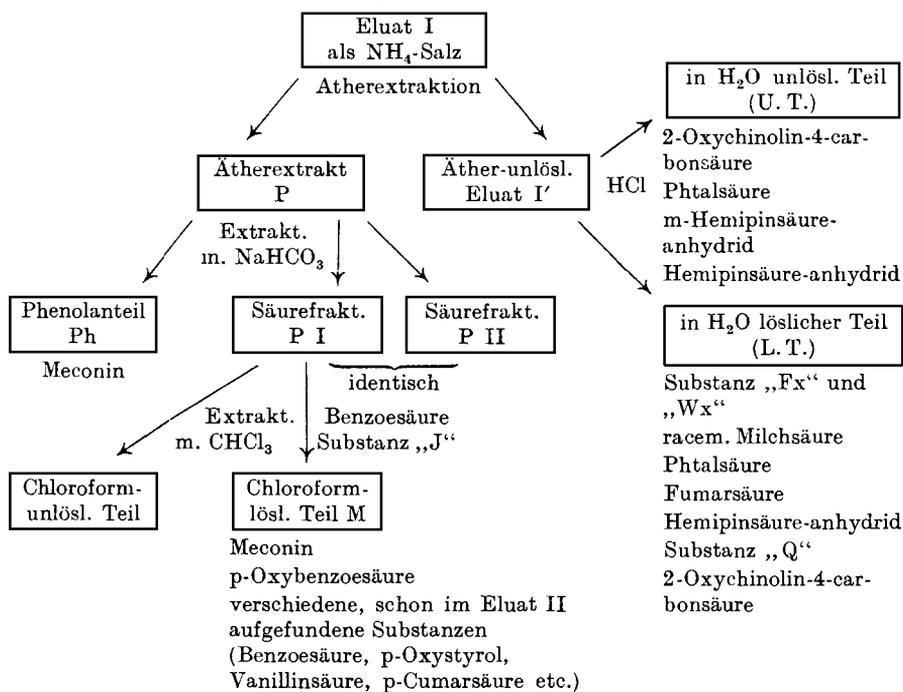
¹⁾ Camps, Ar. 237, 687 (1899).

2,3 g des aus der Mutterlauge LR gewonnenen Rückstandes wurden mit Methanol und H_2SO_4 verestert. Die Destillation dieses Produktes lieferte, ausser einer äusserst geringen Menge zwischen $110-120^\circ$ (0,02 mm Druck) übergehenden Fraktion (Smp. $101-103^\circ$ nach Krystallisation aus Äther-Petroläther) im wesentlichen den zwischen $180-200^\circ$ (0,02 mm Druck) sublimierenden 2-Oxy-cinchoninsäure-methylester (Smp. 244° , identifiziert durch den Schmelzpunkt der Mischprobe).

Aus dem mit Äther extrahierten wasserlöslichen Teil der Salzsäurefällung (vgl. Trennungsschema) liessen sich durch Ausziehen mit Butanol 5,9 g eines Gemisches höhermolekularer Säuren gewinnen, die bisher nicht weiter untersucht worden sind.

Den wasserunlöslichen Teil U (28 g) haben wir mit Seesand verrieben und hierauf mit Äther extrahiert. Aus dem Ätherextrakt konnten 0,9 g 2-Oxy-cinchoninsäure und etwas Hemipinsäure-anhydrid gewonnen werden. Durch weitere Butanol-Extraktion sind nochmals 0,9 g der genannten Säure erhalten worden. Die Hauptmenge des wasserunlöslichen Teiles U bestand aus höhermolekularen, z. T. stickstoffhaltigen Säuren, die man bisher nicht näher untersuchte.

Trennungsschema für Eluat I.



Untersuchung des Tierkohle-Eluates I aus Mohnstroh
(als Ammoniumsals vorliegend).

900 g des dunkel aussehenden, festen Pulvers wurden in einem Liter Wasser gelöst und diese Lösung im Extraktor während mehrerer Tage erschöpfend mit Äther ausgezogen. Den Ätherextrakt P filtrierte man durch ein dickes Papierfilter und dampfte ihn vorsichtig ein. Dabei schieden sich wenige mg gelbgefärbter Krystalle ab (Substanz „Fx“), die man abtrennte.

Das nach dem vollständigen Verdampfen des Äthers zurückgebliebene gelbgefärbte Öl wurde mit einer gesättigten wässrigen $NaHCO_3$ -Lösung verrührt und diese Flüssigkeit gründlich mit Äther ausgezogen; den Ätherextrakt wusch man mit wässriger

NaHCO₃-Lösung und Wasser, trocknete ihn und destillierte das Lösungsmittel ab. So erhielt man eine Fraktion Ph, im Gewicht von 0,9 g, welche vor allem Phenole enthalten konnte. Die wässrigen NaHCO₃-Lösungen haben wir vereinigt, mit Salzsäure kongosauer gemacht und im Extraktor mit Äther ausgezogen. Nach dem Filtrieren des Ätherextraktes wurde dieser eingedampft und der ölige Rückstand in 2 Portionen geteilt, die als P I (15,8 g) und P II (32,8 g) bezeichnet werden. Sie enthielten hauptsächlich Säuren.

Aufarbeitung der Phenolfraktion Ph.

Durch Destillation der öligen Phenolfraktion Ph wurden folgende Destillate gewonnen:

Fraktion a, Sdp. bis 140° (Luftbadtemperatur) 14 mm Druck

Fraktion b, Sdp. 110—180° (Luftbadtemperatur) 0,03 mm Druck

Die Fraktion a wog 300 mg. Sie erwies sich als sehr uneinheitlich und es konnten auch durch mehrmalige fraktionierte Destillation im Wasserstrahlvakuum keine einheitlichen Verbindungen abgetrennt werden. Ebenfalls negativ verliefen Versuche, mittels p-Nitrobenzoylchlorid einheitliche Nitrobenzoesäure-ester aus dem Gemisch abzutrennen.

Die Fraktion b haben wir nochmals im Hochvakuum destilliert, wobei unter 0,03 mm Druck bei 110—130° ein Öl überging, das alsbald erstarrte. Diese feste Substanz wurde mit wenigen Tropfen Äther gewaschen und zuerst aus einem Gemisch von Äther und Petroläther und hierauf aus reinem Äther umkrystallisiert. Ausbeute 22 mg. Nach nochmaliger Hochvakuumdestillation lag der Schmelzpunkt der farblosen Verbindung bei 101—102°. Beim Erwärmen mit konz. H₂SO₄ zeigte sie eine weinrote Farbreaktion. Die Analyse, sowie ein Mischschmelzpunkt mit Meconin, der keine Erniedrigung aufwies, zeigte, dass es sich um letztere Verbindung handelte.

| | | | |
|---|--------------|--------|-------------------------|
| C ₁₀ H ₁₀ O ₄ (198,18) | Ber. C 61,85 | H 5,19 | OCH ₃ 31,96% |
| | Gef. „ 61,65 | „ 5,28 | „ 31,99% |

Aufarbeitung der Säure-Fraktion P I.

Man nahm die oben erwähnten 15,8 g in Chloroform auf und liess die Flüssigkeit längere Zeit im Eisschrank stehen. Dabei hatten sich 2,3 g einer krystallisierten Fraktion abgeschieden. Diese entspricht in ihrer Zusammensetzung derjenigen, welche schon aus dem Eluat II erhalten worden war (vgl. Trennungsschema von Eluat II: Krystalle M, zusammengesetzt aus p-Cumarsäure, p-Oxystyrol, Vanillinsäure).

Der Rückstand aus der Chloroform-Mutterlauge M wog 13,5 g. Diese haben wir in 4 Portionen aufgeteilt und unter Vorschaltung einer mit Eis-Kochsalz-Mischung gekühlten Vorlage im Hochvakuum destilliert; infolge Zersetzungserscheinungen ging bei der Destillation das Vakuum allmählich auf 0,3 mm zurück.

Die Destillation ergab folgende Fraktionen:

Vorlauf bis 120° (enthaltend Benzoesäure, p-Oxystyrol und einen Riechstoff).

Mittellauf Sdp. 140—160° (zur Hauptsache aus Vanillinsäure bestehend).

Fraktion Sdp. 160—190° (hauptsächlich p-Cumarsäure enthaltend).

Nachlauf sehr wenig.

Den Vorlauf haben wir in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung mit NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt. Aus letzterer erhielt man nach dem Ansäuern Benzoesäure.

Die ätherische Mutterlauge, aus welcher die Benzoesäure abgetrennt war, wurde bei 0° mit einer eiskalten 1-proz. wässrigen Kalilauge, die mit Kochsalz versetzt war, ausgeschüttelt, bis nach dem Ansäuern der Extrakte keine Trübung mehr entstand. Hierauf brachte man den alkalischen Auszug durch vorsichtigen Zusatz von Salzsäure auf p_H 4, worauf sich nach einigem Stehen 48 mg p-Oxystyrol abschieden.

Die nunmehr von Benzoesäure und p-Oxystyrol befreite Ätherlösung wurde mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet und darauf das Lösungsmittel unter Anwendung einer Widmer-Kolonne vorsichtig abdestilliert. Der Rückstand stellte eine ölige, ausserordentlich intensiv riechende Flüssigkeit dar, die man im Kugelhörchen

unter 12 mm Druck destillierte. Die Hauptmenge dieser Substanz, die wir mit „R“ bezeichnen, ging bei 115—120° über. Infolge der geringen Menge liess sich die Natur der Verbindung noch nicht aufklären.

Den Mittellauf haben wir unter 0,03 mm Druck sorgfältig fraktioniert und dabei folgende Destillate aufgefangen:

1. Fraktion Sdp. bis 130° (geringe Menge).
2. Fraktion Sdp. 140—150°, Hauptmenge: Öl, später erstarrend.
3. Fraktion Sdp. 140—150°, Öl, teilweise von Krystallen durchsetzt.
4. Als Nachlauf Spuren von p-Cumarsäure.

Die Fraktion 3 haben wir unter 0,005 mm Druck nochmals aus einer Kugelhöhre destilliert. Bei der Luftbadtemperatur 135—140° sublimierte Vanillinsäure über; hierauf destillierte zwischen 145—155° ein Öl, welches von etwas sublimierten Krystallen durchsetzt war.

Dieses letztere Destillat haben wir zweimal mit wenig Benzol erwärmt, wobei im wesentlichen nur das Öl in Lösung ging. Das noch warme Lösungsmittel wurde mit einer Kapillare abgesaugt und der ungelöste Rückstand erneut unter 0,007 mm Druck sublimiert. Dabei wurden erhalten:

- a) bei 140° Luftbadtemperatur sublimierende Vanillinsäure.
- b) eine sehr geringe ölige Fraktion
- c) eine zwischen 140—145° (Luftbadtemperatur) sublimierende Substanz, die mit Eisen(III)-chlorid gelbe Farbreaktion gab, bei 210° schmolz und die folgenden Analysenwerte aufwies:

| | | |
|----------------------|--------------|---------|
| $C_7H_8O_3$ (138,12) | Ber. C 60,87 | H 4,38% |
| | Gef. „ 60,98 | „ 4,55% |

Die Verbindung (11 mg) gab mit p-Oxy-benzoesäure keine Schmelzpunkts-Erniedrigung und zersetzte sich beim Erhitzen mit der freien Flamme in CO_2 und Phenol. Es handelt sich somit um p-Oxy-benzoesäure¹⁾.

Aufarbeitung der Säure-Fraktion P II.

Man löste die oben erwähnte Fraktion P II (32,8 g) in 200 cm³ absolutem Methanol und erhitzte nach Zugabe von 2 cm³ konz. H_2SO_4 unter Feuchtigkeitsausschluss 5 Stunden zum Sieden. Hierauf wurden 1,5 g wasserfreie Soda zugefügt, das Lösungsmittel bei 50° im Vakuum entfernt, der Rückstand in Äther aufgenommen und erschöpfend mit einer gesättigten wässrigen $NaHCO_3$ -Lösung ausgeschüttelt. Die aus dem $NaHCO_3$ -Auszug nach dem Ansäuern mit Äther zurückgewonnenen freien Säuren haben wir nach dem Trocknen nochmals mit 60 cm³ absolutem Methanol und 0,6 cm³ konz. H_2SO_4 verestert und die Aufarbeitung des Reaktionsproduktes wie beim Hauptansatz vorgenommen. Die die Ester enthaltenden Ätherauszüge wurden nochmals mit $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, hierauf auf 0° abgekühlt und mit eiskalter, 1-proz., wässriger Kalilauge erschöpfend extrahiert, worauf man die alkalischen Extrakte sofort neutralisierte. Zur weiteren Reinigung dieser „Phenolester-Fraktion“ haben wir die neutralisierte wässrige Flüssigkeit mit Kochsalz gesättigt, auf -5° abgekühlt, durch Laugen-Zusatz auf p_H 12—13 gebracht, sofort zweimal mit Äther ausgeschüttelt und nachher durch Zusatz von Salzsäure schwach angesäuert. Die beiden durch die Reinigungsprozesse angefallenen Ätherlösungen wurden vereinigt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Dabei blieben 11,4 g eines Öles zurück, welches die in Alkalilauge nicht-löslichen Ester enthielt (bezeichnet „Nichtphenolester“).

¹⁾ Eine wirksame Trennung von p-Oxy-benzoesäure und Vanillinsäure durch Hochvakuumdestillation ist nur dann möglich, wenn die Substanzen nicht destillieren, sondern sublimieren, was einen ziemlich grossen Reinheitsgrad voraussetzt. Aus diesem Grunde ist die von uns gefundene Menge von p-Oxy-benzoesäure geringer als die tatsächlich vorhandene Quantität dieser Substanz.

Der schwach saure wässrige Auszug gab beim Schütteln mit Äther die „Phenolester“ an letzteren ab. Nach dem Eindampfen dieses Ätherextraktes wurden 14,0 g „Phenolester“ erhalten. Die „Phenolester“-Fraktion haben wir nicht weiter untersucht. Sie enthielt im wesentlichen die Ester der früher schon erwähnten, aus der Fraktion P I isolierten Phenolsäuren.

Die „Nichtphenolester-Fraktion“ entspricht einer analogen Fraktion aus der Aufarbeitung des Eluats II. Wir haben sie (14 g) durch Destillation aus der Kugelhöhre in verschiedene Fraktionen aufgeteilt:

Fraktion I: Sdp. bis 140° (Luftbadtemperatur) 10 mm Druck 3,9 g
 Fraktion II: Sdp. bis 150° (Luftbadtemperatur) 0,03 mm Druck 1,4 g
 Fraktion III: Sdp. 150—210° (Luftbadtemperatur) 0,03 mm Druck 4,3 g

wenig Rückstand.

Fraktion I ging beim nochmaligen Destillieren im Wasserstrahlvakuum zwischen 110 und 120° (Luftbadtemperatur) über. Die Verbindung war der Benzoessäure-methylester.

$C_8H_8O_2$ (136,15) Ber. OCH_3 22,79 Gef. OCH_3 22,78%

Die Verseifung lieferte Benzoessäure, Smp. 122°.

Die Fraktion II haben wir bei 0,3 mm Druck sorgfältig fraktioniert und dabei erhalten:

Fraktion a, Sdp. bis 180° (Luftbadtemperatur) 1,8 g
 Fraktion b, Sdp. 180—190° (Luftbadtemperatur) 2,0 g

Bei einer Wiederholung der Destillation liessen sich aus der Fraktion b ein kleiner Vor- und ein kleiner Nachlauf abtrennen. Die Hauptmenge war ein viskoses, leicht gelb gefärbtes Öl, das wir als Substanz „J“ bezeichnen und das folgende Analysenwerte ergab:

Gef. C 67,30 H 9,73 OCH_3 16,92%
 Mol.-Gewicht (in Campher): 356.

Das gleiche Öl war auch aus dem Eluat II gewonnen worden. Es besass den Sdp. 170—175° (Luftbadtemperatur) bei 0,02 mm Druck und gab die gleichen Analysenwerte. Auf die weitere Untersuchung dieser Substanz werden wir später zurückkommen.

Aufarbeitung der mit Äther extrahierten wässrigen Lösung des Eluats I (Bezeichnung Eluat I').

Die wässrige, mit Äther extrahierte Lösung, die aus 300 g des Ammoniumsalzes Eluat I gewonnen worden war, wurde mit Salzsäure 1:1 kongossauer gemacht und der entstandene Niederschlag abzentrifugiert. Diesen in Wasser unlöslichen Teil (bezeichnet U. T.) haben wir mit wenig Wasser verrieben, erneut abzentrifugiert und die wässrigen Lösungen (bezeichnet mit L. T.) vereinigt.

Aufarbeitung der wässrigen Lösung L. T. Nach Zufügen von Kochsalz haben wir diese im Extraktionsapparat mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Ätherextrakt schied nach Filtration durch ein dickes Papierfilter und nach dem Einengen 0,2 g Krystalle ab, die sich als 2-Oxy-cinchoninsäure erwiesen. Die ätherische Mutterlauge liess man bei Zimmertemperatur langsam eindunsten. Im Verlauf von 3 Wochen schieden sich dabei Krystalle ab, die auf einem Filter gesammelt und hierauf mit Äther gewaschen wurden (153 mg). Sie zeigten im Gegensatz zur 2-Oxy-cinchoninsäure im Ultraviolett keine Fluorescenz. Wir zogen diese gelblich gefärbte Substanz dreimal mit je 15 cm³ 0,2-n. wässriger Salzsäure unter Erwärmen aus und krystallisierten sie hierauf aus Methanol-Wasser-Gemisch um. Dann wurde die Verbindung im Vakuum bei 0,02 mm sublimiert. Nach einem sehr geringen Vorlauf, der bis zu 200° (Luftbadtemperatur) überging, bildete sich zwischen 200—230° (Luftbadtemperatur) ein gelbes Sublimat, welches als Substanz „Fx“ bezeichnet wird. Die Hauptmenge der Substanz blieb als farbloser, bis 300° Badtemperatur nicht destillierender Rückstand zurück.

Die Verbindung „Fx“ wurde nochmals sorgfältig fraktioniert sublimiert. Dabei gewann man 10 mg einer gelben Substanz mit folgenden Eigenschaften: Smp. 271—272°

(unter Zersetzung, bestimmt im Kupferblock), löslich in verdünntem Ammoniak; beim Behandeln mit Natriumdithionit verschwindet die Farbe nicht. Die Verbindung ist stickstofffrei und enthält keine Methoxylgruppe.

Gef. C 64,84 H 6,64%

Die weitere Untersuchung der Verbindung steht noch aus.

Der undestillierbare Rückstand wurde längere Zeit mit Alkohol ausgekocht, der Extrakt filtriert, eingeeengt, mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach einigem Stehen trat Krystallisation ein. Die Krystalle haben wir mit 50-proz. Äthanol gewaschen. Sie schmolzen dann bei 310° (unter Zersetzung, bestimmt im Kupfer-Block) und waren frei von Stickstoff und Methoxyl. Ausbeute 30 mg. Die Substanz wird als Verbindung „W_x“ bezeichnet.

Ber. C 65,18 H 5,32%

Einen Teil dieser Verbindung haben wir in Dioxan mit ätherischer Diazomethanlösung verestert, wobei ein krystallisierter Methylester vom Smp. 170—173° entstand. Seine Reinigung erfolgte durch Umkrystallisation aus verdünntem Alkohol und Sublimation im Hochvakuum.

Gef. C 66,91 H 6,05 OCH₃ 20,05%

Die Analysenzahlen des Esters deuten daraufhin, dass es sich um eine Dicarbonsäure handelt, deren Natur aus Materialmangel vorläufig nicht abgeklärt werden konnte.

Die nach der Abtrennung der oben erwähnten Substanzen zurückgebliebene Mutterlauge des ätherischen Extraktes haben wir eingedampft und getrocknet. Der Rückstand wog 6,0 g. Er wurde in 2 Portionen aus Kugelhöhren im Hochvakuum destilliert, wobei infolge teilweiser Zersetzung das Vakuum von 0,05 auf 0,6 mm sank. Bei der Destillation liessen sich folgende Fraktionen auffangen:

- Fraktion 1 Sdp. bis 145° (Luftbadtemperatur) Öl
- Fraktion 2 Sdp. 140—180° (Luftbadtemperatur) bestehend aus Öl und festem Sublimat
- Fraktion 3 Sdp. 180—230° (Luftbadtemperatur) Öl
- Fraktion 4 Sdp. 230—240° (Luftbadtemperatur) 2-Oxy-cinchoninsäure.

Die Fraktion 1 wurde durch Destillation unter 12 mm in folgende Anteile aufgeteilt:

| | |
|------------------|-----------------------------------|
| Vorlauf | Sdp. bis 120° (Luftbadtemperatur) |
| Hauptmenge | Sdp. 125—130° (Luftbadtemperatur) |
| wenig Rückstand. | |

0,564 g der Hauptfraktion wurden in 2 cm³ Wasser gelöst und mit n. KOH neutralisiert (Phenolphthalein als Indikator). Verbrauch 5,50 cm³ n. KOH. Die Lösung haben wir hierauf im Vakuum eingedampft, den Rückstand dreimal mit Äther ausgekocht und nachher in 3 cm³ Wasser aufgenommen. Diese Lösung brachte man durch Zusatz einer sehr geringen Menge Salzsäure auf p_H 6 und vereinigte sie unter Eiskühlung mit der gesättigten wässerigen Lösung von 1,2 g Benzyl-thiuroniumchlorid. Nach einigem Stehen im Eisschrank hatte sich ein Benzyl-thiuroniumsalz ausgeschieden, welches man mit wenig Eiswasser auswusch und hernach aus absolutem Alkohol umkrystallisierte. Smp. 156° unter Zersetzung. Die Verbindung erwies sich durch die Analyse und den Schmelzpunkt als das Benzyl-thiuroniumsalz der Phtalsäure, mit welchem gemischt keine Schmelzpunkts-Erniedrigung eintrat.

C₂₄H₂₆O₄N₄S₂ (498,60) Ber. C 57,81 H 5,26 N 11,24 S 12,86%
 Gef. „ 57,54 „ 5,58 „ 11,13 „ 13,11%

Die von dem genannten Benzyl-thiuroniumsalz abfiltrierte Mutterlauge wurde bei 30° im Vakuum weitgehend eingeeengt und nach dem Stehen im Eisschrank der gebildete Niederschlag abgesaugt. Diesen krystallisierten wir nach dem Waschen mit sehr wenig Eiswasser und Trocknen aus einer Mischung von Methanol-Äther und Methanol-Aceton um. Er schmolz jetzt bei 154° und zeigte im Gemisch mit dem Benzyl-thiuroniumsalz der

d, l-Milchsäure keine Schmelzpunkt-Erniedrigung. Auch die Analyse bestätigte, dass es sich um diese Verbindung handelt.

| | | | | |
|--------------------------------|--------------|--------|---------|----------|
| $C_{11}H_{16}O_3N_2S$ (256,32) | Ber. C 51,54 | H 6,29 | N 10,93 | S 12,51% |
| | Gef. „ 51,28 | „ 6,20 | „ 11,03 | „ 13,05% |

Die Lösung von 130 mg dieses Salzes in 6 cm³ Methanol liess keine optische Drehung erkennen.

Aus der Fraktion 2 liessen sich nach dem Waschen mit wenig trockenem Äther 294 mg Krystalle abtrennen. Diese haben wir aus einem Gemisch von Aceton und Benzol umkrystallisiert und hierauf im Hochvakuum sorgfältig fraktioniert sublimiert. Dabei ging als Vorlauf eine relativ grosse Menge Hemipinsäure-anhydrid über; nachher sublimierte bei 140° (Luftbadtemperatur) eine Substanz, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Wasser bei 278° schmolz. Nach ihren Eigenschaften, Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt handelte es sich um Fumarsäure.

| | | |
|-------------|--------------|---------|
| $C_4H_4O_4$ | Ber. C 41,39 | H 3,40% |
| | Gef. „ 41,56 | „ 3,62% |

Prüfung auf Stickstoff und Schwefel fiel erwartungsgemäss negativ aus.

Fraktion 3 haben wir nochmals im Hochvakuum destilliert und dabei folgende Fraktionen erhalten:

- a) Sdp. bis 130° (Luftbadtemperatur) Öl
- b) Sdp. 130—160° (Luftbadtemperatur) Öl, Hauptmenge
- c) Sdp. 160—190° (Luftbadtemperatur).

Aus Fraktion b erhielt man nach dem Anspritzen mit Äther Krystalle, die zur Hauptsache aus Hemipinsäure-anhydrid bestanden. Die Fraktion c lieferte nach dem Umlösen aus Äther und nachfolgender Destillation im Hochvakuum eine bei 260° schmelzende Verbindung, deren geringe Menge eine nähere Untersuchung vorläufig nicht erlaubte. Diese als Substanz „Q“ bezeichnete Verbindung gab folgende Analysenwerte:

| | |
|---------|----------|
| C 58,99 | H 4,01%. |
|---------|----------|

Prüfung auf Methoxyl und Stickstoff negativ.

Aufarbeitung der in Wasser unlöslichen Fraktion U. T.

Wir haben diese aus wässriger Lösung ausgefallene Fraktion mit Seesand verrieben und in trockenem Zustande mit Äther erschöpfend im Extraktor extrahiert. Während der Extraktion schied sich aus dem ätherischen Auszug eine grosse Menge 2-Oxy-cinchoninsäure ab.

Die nach der Abtrennung dieser Verbindung verbliebene ätherische Mutterlauge wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand aus 4 Kugelhöhen im Hochvakuum destilliert. Die dabei erhaltenen Fraktionen waren folgende:

- Fraktion 1 Sdp. 70—110° (Luftbadtemperatur) 220 mg bestehend aus Öl und Krystallen.
- Fraktion 2 Sdp. 110—150° (Luftbadtemperatur) 200 mg bestehend aus Krystallen und Öl.
- Fraktion 3 Sdp. 150—170° (Luftbadtemperatur) 591 mg bestehend aus Öl.
- Fraktion 4 Sdp. 170—210° (Luftbadtemperatur) Menge gering, Sublimat, uneinheitlich.
- Fraktion 5 Sdp. 220—250° (Luftbadtemperatur) feste Verbindung.

Fraktion 1 wurde 2mal aus einem Gemisch von Äther und Petroläther umgelöst, wobei die Hauptmenge der Fraktion als Öl in die Mutterlauge ging. Das Krystallisat haben wir bei 14 mm Druck sublimiert, wobei zwischen 125—130° 7 mg einer krystallisierten Verbindung erhalten wurden, die bei 131—132° schmolz. Es handelte sich um Phtalsäure-anhydrid. Der Mischschmelzpunkt mit einem autenthischen Präparat von Phtalsäure-anhydrid erfuhr keine Erniedrigung.

| | | |
|-------------|--------------|---------|
| $C_8H_4O_3$ | Ber. C 64,87 | H 2,72% |
| | Gef. „ 64,57 | „ 3,10% |

Die Fraktion 2 erwies sich als ein Gemisch der Substanzen, die in Fraktion 1 und 3 enthalten sind.

Aus Fraktion 3 wurden durch Umlösen des Esters 59 mg einer krystallisierten Verbindung erhalten, die nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther und aus Xylol bei 163° schmolz und im Gemisch mit Hemipinsäure-anhydrid keine Schmelzpunkts-Erniedrigung aufwies. Es handelte sich somit um diese Verbindung.

Aus Fraktion 5 gewann man durch Umlösen aus Aceton 2-Oxy-cinchoninsäure. Smp. 340° unter Zersetzung.

| | | | |
|--------------------------|--------------|--------|---------|
| $C_{10}H_7O_3N$ (189,17) | Ber. C 63,49 | H 3,73 | N 7,41% |
| | Gef. „ 63,48 | „ 3,82 | „ 7,57% |

Untersuchung der Hemipinsäure-anhydrid-Fractionen auf m-Hemipinsäure.

Es war uns aufgefallen, dass die verschiedenen aus dem Mohnstroh isolierten Hemipinsäure-anhydrid-Fractionen trotz mehrmaligem Umlösen fast immer etwas zu tiefe und relativ unscharfe Schmelzpunkte aufwiesen. Daher war der Verdacht, dass diesen Hemipinsäure-anhydrid-Präparaten noch geringe Mengen einer isomeren Verbindung mit ähnlichen Eigenschaften beigemischt sein könnte, naheliegend. Die Trennung von Hemipin- und m-Hemipinsäure lässt sich nach den Angaben der Literatur am besten über die N-Äthylimide der beiden Verbindungen ausführen.

Daher haben wir 105 mg unserer Hemipinsäure-anhydrid-Präparate vom Smp. 152—154° in einem Kugelröhrchen mit 2 cm³ einer 60-proz. wässrigen Lösung von Äthylamin in Wasser allmählich auf 170° erhitzt. Nachher wurde der Rückstand 1—2 Minuten über freier Flamme erwärmt und anschliessend im Hochvakuum destilliert. Dabei liessen sich folgende Fractionen auffangen:

1. nur geringer Vorlauf.
2. Fraktion 2, Sdp. 140—145° (Luftbadtemperatur) Öl, Hauptmenge.
3. Fraktion 3, sublimierende Krystalle, die sich unmittelbar an das überdestillierte Öl anschlossen.
4. Sehr geringer Nachlauf.

Fraktion 2 haben wir in kaltem Äther aufgenommen, von Ungelöstem abfiltriert, das Filtrat eingengt und mit Petroläther versetzt, wobei farblose Nadelchen auskrystallisierten. Diese schmolzen nach nochmaliger Umkrystallisation bei 91—92° und zeigten im Gemisch mit synthetischem Hemipinsäure-äthylimid keine Schmelzpunkt-Erniedrigung.

Fraktion 3 wurde mit dem in Äther unlöslichen Anteil der Fraktion 2 vereinigt, aus wenig Methanol umkrystallisiert und hierauf im Hochvakuum sorgfältig fraktioniert. Die dabei erhaltenen Krystalle (2 mg) schmolzen bei 227—228° und liessen im Gemisch mit dem Äthylimid der m-Hemipinsäure keine Schmelzpunkts-Erniedrigung erkennen.

Durch diese Versuche ist bewiesen, dass im Mohnstroh sowohl Hemipinsäure wie m-Hemipinsäure vorkommen.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.