

4. Struktur des Erosnin (NORTON & HANSBERRY'S «Compound I»)

von Judith Eisenbeiss und H. Schmid

(24. X. 58)

Aus den Samen von *Pachyrrhizus erosus* («Yam beans»), einer *Papilionacea*, sind vor längerer Zeit durch NORTON & HANSBERRY¹⁾ eine Reihe kristallisierter Verbindungen (I bis VI) isoliert worden. Von diesen erwies sich «Verbindung IV» als identisch mit Rotenon; «Verbindung II» ist identisch mit Pachyrrhizon²⁾, dem ebenfalls Rotenoidstruktur³⁾ zukommt. Die «Verbindung III» stellt hingegen, wie kürzlich gezeigt worden ist⁴⁾, das 3-Arylcumarinderivat der Formel I dar. Wir haben seinerzeit die Vermutung ausgesprochen⁴⁾, dass in rotenoidführenden Pflanzen noch andere der mit den Rotenoiden in naher biogenetischer Beziehung stehenden 3-Arylcumarine vorkommen könnten.

Ein solcher weiterer Vertreter dieser Körperklasse könnte die von NORTON & HANSBERRY gewonnene «Verbindung I» darstellen. Der in hellgelben Nadeln kristallisierende Stoff zeigt im UV.-Licht intensive blaue Fluoreszenz, löst sich in heisser alkoholischer Lauge unter Gelbfärbung und wird daraus mit Säure unverändert ausgeschieden; er gibt keine Eisen(III)-chlorid- und keine der charakteristischen Farbreaktionen auf Rotenoide. Als Bruttoformel wurde auf Grund von Analysen und einer Molekulargewichtsbestimmung $C_9H_4O_3$ angegeben; diese Formel dürfte allerdings im Hinblick auf die Schwerlöslichkeit der Substanz in Wasser und den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln und des hohen Smp. (360°, Zers.) wegen kaum zutreffen.

Die von uns aus *P. erosus* isolierte «Verbindung I», für die wir jetzt den Namen Erosnin vorschlagen möchten, zeigt genau die Eigenschaften, die NORTON & HANSBERRY für ihren Stoff beschrieben hatten. Erosnin (III) lässt sich am besten durch Umlösen aus Pyridin und Hochvakuumsublimation bei 230–250° (Luftbadtemperatur) reinigen; es besitzt die Summenformel $C_{18}H_8O_6$. Methoxygruppen fehlen, hingegen ist eine Methylendioxygruppe vorhanden, die sich durch siedende Phosphorsäure als Formaldehyd abspalten lässt⁵⁾.

Im IR.-Spektrum (KBr und Nujol, s. auch Fig. 1) fehlen Banden von Hydroxyl- und Methylgruppen. Es finden sich Banden bei 1733 cm^{-1} (Carbonyl des Pyronringes), bei 1639 cm^{-1} (konjugierte Doppelbindung) und 1582 und 1506 cm^{-1} (Aromatenbanden), 1266 cm^{-1} (aromat. C–O) und 937 und 706 cm^{-1} (aromatisch gebundene Methylendioxygruppe)⁶⁾.

Das UV.-Spektrum von Erosnin ist deutlich verschieden von demjenigen des Pachyrrhizins (I)⁴⁾, weist aber im mittel- und langwelligen Bereich eine unverkenn-

1) L. B. NORTON & R. HANSBERRY, J. Amer. chem. Soc. **67**, 1609 (1945).

2) Th. M. MEIJER, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **65**, 835 (1946).

3) H. BICKEL & H. SCHMID, Helv. **36**, 664 (1953).

4) E. SIMONITSCH, H. FREI & H. SCHMID, Mh. Chem. **88**, 541 (1957).

5) O. A. STAMM, H. SCHMID & J. BÜCHI, Helv. **41**, 2006 (1958).

6) L. H. BRIGGS, L. D. COLEBROCK, H. M. FALES & W. C. WILDMAN, Anal. Chemistry **29**, 904 (1957).

bare Ähnlichkeit mit demjenigen des Trimethoxy-wedelolactons (II)⁷⁾ auf (Fig. 2). Die intensive Absorption von Erosnin in der Gegend von $240\text{ m}\mu$ ist charakteristisch für Cumarine mit einem an den Benzolkern ankondensierten Furanring⁸⁾.

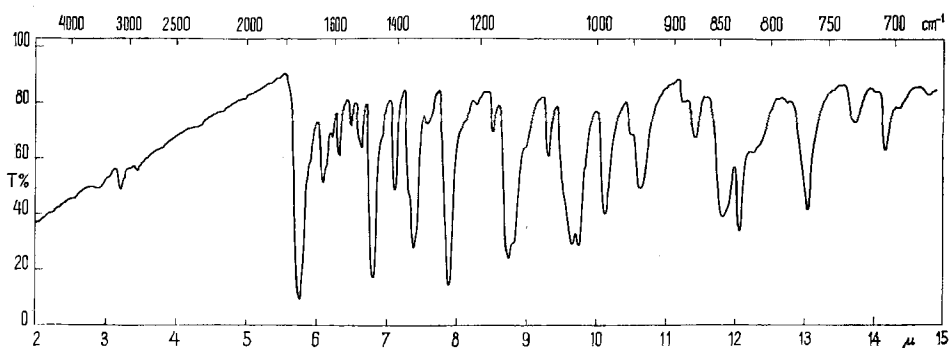
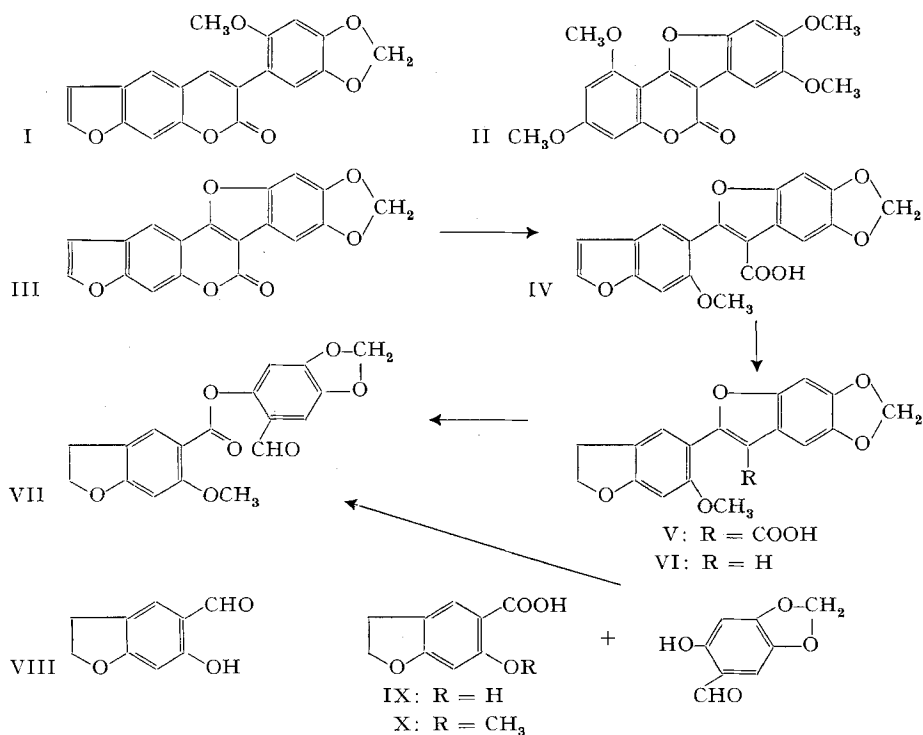


Fig. 1. IR.-Spektrum von Erosnin (KBr)

Auf Grund dieser Beobachtungen und der vermuteten nahen Verwandtschaft von Erosnin mit Pachyrrhizin (I) lässt sich für ersteres die Formel III (oder eine dazu ähnliche) postulieren. Der nachfolgend beschriebene durchsichtige Abbau zeigt, dass dem Naturstoff tatsächlich die Konstitution III zuzuteilen ist.



⁷⁾ T. R. GOVINDACHARI, K. NAGARAJAN & P. C. PARTHASARATHY, J. chem. Soc. **1957**, 548

⁸⁾ O. HALPERN, P. WASER & H. SCHMID, Helv. **40**, 758 (1957). Vgl. auch ⁴⁾.

Aufspaltende Methylierung von III führt zur Methoxysäure IV, $C_{17}H_8O_4(OCH_3)COOH$ vom Smp. 265–268° (Zers.). Die Säure zeigt im IR. (Nujol) neben den erwarteten Banden der $-COOH$ -Gruppe die für α,β -ungesättigte Carbonsäuren typische

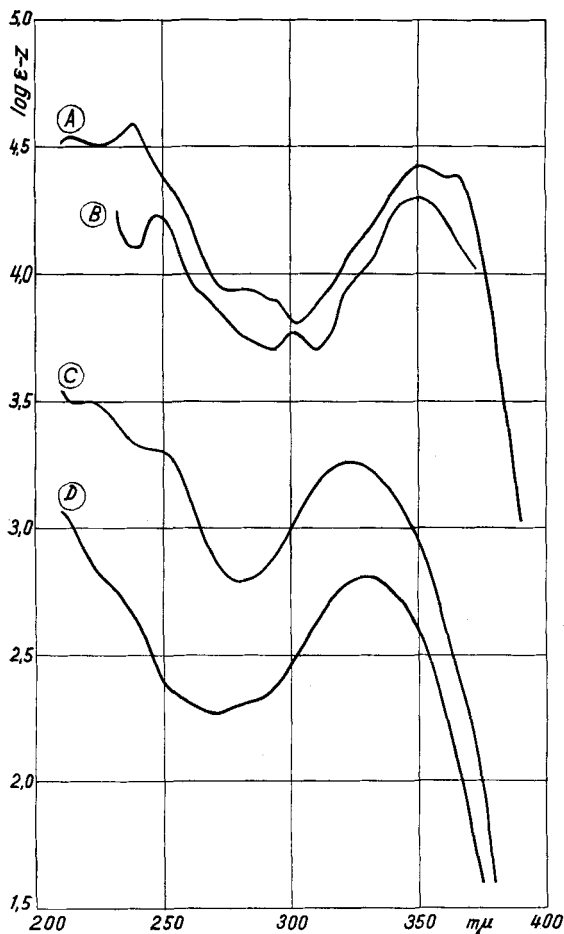


Fig. 2. UV-Spektren (in 96-proz. Alkohol)

- Kurve A: Erosnin (III) ($c = 3,4 \cdot 10^{-6}$ -m.), $z = 0$
 Kurve B: Trimethoxywedelolacton (II) cf. 7, $z = 0$
 Kurve C: Methoxysäure (IV) ($c = 3,2 \cdot 10^{-6}$ -m.), $z = 1,0$
 Kurve D: Dihydromethoxysäure (V) ($c = 4,4 \cdot 10^{-6}$ -m.), $z = 1,5$

C=O-Vibration bei 1695 cm^{-1} . IV liess sich nun – im Gegensatz zu III – ohne Schwierigkeit selektiv hydrieren. Mit einem Rhodium-Norit-Katalysator in Cellosolve wurde genau 1 Mol. Wasserstoff aufgenommen. In der hydrierten Säure V vom Smp. 244–247° (Zers.) ist erwartungsgemäss die Doppelbindung des endständigen Furanringes abgesättigt, wie aus einem Vergleich der UV-Spektren von IV und V (Fig. 2) hervorgeht. Für die nachfolgend geplante selektive Ozonolyse der mittelständigen Doppelbindung erschien es notwendig, diese vorher möglichst leicht zugänglich und nucleophil zu machen, da auch der 6-Alkoxyperonylrest von Ozon

recht leicht angegriffen wird⁴⁾). Die Säure V wurde daher durch Erhitzen mit Di-äthylanilin im Hochvakuum zu VI, $C_{18}H_{14}O_5$ vom Smp. 183–185°, decarboxyliert und das Decarboxylierungsprodukt in Essigester mit ~ 2 Mol. Ozon behandelt. Das Ozonolyseprodukt VII $C_{18}H_{14}O_7$ vom Smp. 191–192° zeigt im IR. (KBr) die erwarteten Banden: 1734 und 1685 cm^{-1} (C=O des aromat. Ester- und Aldehyds); 1263 und 1110 cm^{-1} (aromat. Äther), 1026 cm^{-1} (Methoxyl) und 931 cm^{-1} (Methylen-dioxygruppe). Das Abbauprodukt erwies sich auf Grund der Mischprobe und genau übereinstimmender IR.-Spektren mit synthetisch vorbereitetem 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure-2'-formyl-4',5'-methylenedioxy-phenylester (VII) als identisch. Für Erosnin folgt daraus Struktur III. Der Ester VII wurde auf dem oben angegebenen Weg aus dem bekannten⁹⁾ 6-Hydroxy-cumaran-5-aldehyd (VIII) hergestellt: Oxydation mit Silberoxyd führte zur Säure IX, deren Methyläther X als Säurechlorid mit 6-Hydroxypiperonal¹⁰⁾ kondensiert, VII ergab.

Auf die Bedeutung der natürlichen 3-Arylcumarine als «missing links» in der Biosynthese der Rotenoide wurde schon früher hingewiesen⁴⁾⁵⁾.

Dem «Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung» danken wir herzlich für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹¹⁾

Reinigung von Erosnin (III): Als Ausgangsmaterial dienten die früher erhaltenen³⁾ Fraktionen «IB; erste Kristallfraktion» und «Verbindung I» aus den Samen von *Pachyrrhizus erosus*. Diese Fraktionen (2,7 g) hat man durch längeres Kochen unter Rückfluss in Pyridin gelöst. Beim Abkühlen schied sich hellgelbe Nadeln (865 mg) ab; weitere, weniger reine Anteile erhielt man durch Einengen des Filtrates. In der Mutterlauge verblieb neben anderen Verunreinigungen vor allem ein farbloser, im Hochvakuum bei 250–270° übergehender, bei etwa 300–307° unter Zersetzung schmelzender Stoff, der noch nicht weiter untersucht wurde. Die in Pyridin schwer löslichen Kristalle hat man durch weitere Umkristallisationen aus demselben Lösungsmittel und durch portionenweise Sublimation bei 230–250° unter 0,02 Torr weiter gereinigt. Man erhielt schliesslich 715 mg reines Erosnin in Form hellgelber Nadeln, die sich beim Erhitzen oberhalb 350° allmählich unter Braunfärbung zersetzen.

$C_{18}H_8O_6$	Ber. C 67,50	H 2,52%
(320,24)	Gef. „ 67,72; 67,36	„ 2,63; 2,61% kein N und OCH_3

Die Lösung von Erosnin in Methylcellosolve fluoresziert im UV.-Licht intensiv blau. Erosnin gibt keinen GIBBS-Test und ist in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln sowie in Wasser sehr schwer löslich. Die Substanz löst sich in siedender alkoholischer Kalilauge zu einem wasserlöslichen Produkt, aus dem man auf Zusatz von Säuren unverändertes Erosnin zurück-erhält. UV.- und IR.-Spektrum: theoret. Teil.

Erosnin enthält eine *Methylenedioxygruppe*, die sich eindeutig durch den modifizierten⁵⁾ Chromotropsäuretest nach EEGRIWE¹²⁾ nachweisen liess. Der Test wurde, wie früher beschrieben, durch Destillation von ca. 1–2 mg Substanz mit 3 ml Phosphorsäure ($d = 1,7$) und Nachweis des Formaldehyds im Destillat mittels Chromotropsäure-Schwefelsäure ausgeführt. Da Erosnin beim Erhitzen mit starker Schwefelsäure eine starke Verfärbung zeigt, ist der direkte EEGRIWE-Test nicht eindeutig.

⁹⁾ E. C. HORNING & D. B. REISNER, J. Amer. chem. Soc. **70**, 3619 (1948); J. S. H. DAVIES, P. A. MCCREA, W. L. NORRIS & G. R. RAMAGE, J. chem. Soc. **1950**, 3206.

¹⁰⁾ K. N. CAMPBELL, P. F. HOPPER & B. K. CAMPBELL, J. org. Chemistry **16**, 1736 (1951).

¹¹⁾ Zur Analyse wurde im Hochvakuum sublimiert oder 4 Std. bei 80° über Diphosphor-pentoxyd im Hochvakuum getrocknet. Die Sublimationen hat man im Kugelrohr ausgeführt; es wird dabei die Temperatur des Luftbades angegeben. Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert.

¹²⁾ E. EEGRIWE, Z. anal. Chem. **110**, 22 (1937).

Aufspaltende Methylierung von Erosnin (III): Unter Rühren und Einleiten von reinem Stickstoff hat man 200 mg Erosnin durch 2½ stdg. Sieden unter Rückfluss in 20 ml 15-proz. methanolischer Kalilauge gelöst. Anschliessend wurde Wasser zugesetzt, die Lösung im Vakuum eingengt und diese Prozedur sooft wiederholt, bis alles Methanol durch Wasser ersetzt war. Nun wurde bei 80° unter Rühren durch portionenweise alternierende Zugabe von je 0,2 ml Dimethylsulfat und je 1,25 ml 3,4-n. wässriger Kalilauge, insgesamt 30 Portionen, während 3 Std. methyliert. Nach Zugabe von etwas Wasser hielt man noch 2 Std. bei 80° und brachte nach dem Abkühlen die fast klare Lösung mit Salzsäure auf kongosaure Reaktion. Nach dem Übersichten mit Äther-Methylenchlorid (2:1-Gemisch) liess man über Nacht stehen und schüttelte dann erschöpfend mit diesem Lösungsmittelgemisch aus. Die vereinigten organischen Auszüge hat man zuerst zur Abtrennung stark saurer Verunreinigungen kurz mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und dann solange mit 1-proz. wässriger Kalilauge ausgezogen, bis beim Ansäuern kein Niederschlag mehr ausfiel.

Aus den eingedampften organischen Auszügen erhielt man 67 mg Neutralstoffe, die vermutlich den Methylester von IV und unverändertes Ausgangsmaterial darstellen; sie wurden bei einem anderen Ansatz zusammen mit Erosnin für die Methylierungsreaktion eingesetzt.

Der Natriumhydrogencarbonat-Auszug lieferte nach dem Ansäuern 30 mg eines gelben, uneinheitlichen Produktes, das nicht weiter untersucht wurde.

Die angesäuerten und mit Kochsalz gesättigten Kalilauge-Auszüge gaben durch Extraktion mit Äther-Methylenchlorid-Chloroform-Gemisch 130 mg an roher Säure IV, die sich am besten durch mehrmalige Hochvakuumsublimation bei 180–200° und 0,02 Torr reinigen liess, wobei jeweils ein Vorlauf abgetrennt wurde. Die reine, farblose Nadeln darstellende Methoxysäure IV (100 mg) schmolz bei 265–268° unter Zersetzung. Keine Eisen(III)-chlorid-Farbreaktion. Mässig löslich in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln, gut löslich in Methylcellosolve.

$C_{19}H_{12}O_7$ (352,29) Ber. C 64,78 H 3,43 OCH_3 8,81% Gef. C 64,83 H 3,56 OCH_3 9,06%

Katalytische Hydrierung der Methoxysäure IV: a) 2,81 mg IV in 8 ml frisch gereinigtem Methylcellosolve nahmen mit 10 mg aushydriertem 5-proz. Rhodium-Norit (BAKER) bei 25° und 705 Torr Wasserstoffdruck innerhalb 1 Std. 0,211 ml (entspr. 1,0 Mol.) Wasserstoff auf; die Hydrierung kam danach zum Stillstand.

b) 200 mg Substanz in 20 ml Methylcellosolve nahmen mit 140 mg vorhydriertem 5-proz. Rhodium-Norit bei 23° und 714 Torr Wasserstoffdruck innerhalb 1¼ Std. 15,13 ml (1,02 Mol.) Wasserstoff auf (Endwert). Der Katalysator wurde abfiltriert, mit Methylenchlorid nachgewaschen und das Filtrat im Vakuum bei 70° eingedampft. Die erhaltene rohe Säure V (195 mg) kann direkt weiter verarbeitet werden. Eine Probe wurde durch mehrmalige Sublimation bei 190–210° und 0,02 Torr unter Abtrennung eines Vorlaufes gereinigt. Smp. der farblosen Nadeln 244–247° (Zers.).

$C_{19}H_{14}O_7$ (354,30) Ber. C 64,41 H 3,98% Gef. C 64,33 H 4,26%

Decarboxylierung von V: 100 mg V wurden zusammen mit 2 ml frisch destilliertem Diäthylanilin im Hochvakuum in ein kleines Bombenrohr eingeschmolzen und dieses 4½ Std. auf 240° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Bombeninhalt in Methylenchlorid-Äther-Gemisch aufgenommen und die Lösung erschöpfend zuerst mit 2-n. Schwefelsäure (15mal je 5 ml) und dann bei 0° mit 1-proz. wässriger Natronlauge ausgeschüttelt. Der Laugeauszug enthielt nur sehr wenig Substanz. Nach dem Trocknen hat man die organische Phase eingedampft und den Rückstand bei 160–170° und 0,02 Torr sublimiert, wobei 72 mg rohes VI resultierten. Zur Reinigung wurde zweimal aus Äther-Pentan unter Druck umgelöst und nochmals im Hochvakuum sublimiert. Smp. der farblosen Plättchen 183–185°.

$C_{18}H_{14}O_5$ (310,29) Ber. C 69,67 H 4,55% Gef. C 69,77 H 4,58%

Ozonisierung von VI: 100 mg VI in 10 ml reinstem Essigester behandelte man unter Eis-Kochsalzkühlung mit 2 Mol. Ozon in Form einer 1,7-proz. Ozon-Sauerstoffmischung (Strömungsgeschwindigkeit 100 ml/min). Die gelb gefärbte Ozonisierungslösung hat man mit 20 ml Wasser, 35 mg Zinkstaub und einer Spur Hydrochinon und Silbernitrat ½ Std. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde mit Kochsalz gesättigt, mit Äther ausgeschüttelt und die vereinigten organischen Phasen bei 0° mit eiskalter 1-proz. wässriger Natronlauge ausgezogen. Die Laugeauszüge waren braun gefärbt. Die organische Phase hat man mit Kochsalzlösung neutral gewaschen, getrocknet, eingedampft und den Rückstand (38 mg) in Benzol-Pentan 1:1 an der 50fachen Menge neutralem Aluminiumoxyd (Aktivität III) adsorbiert. Mit Benzol-Pentan 1:1 wurde wenig unverändertes Ausgangsmaterial eluiert; reines Benzol eluierte 18 mg farblose

Kristalle, die nach zwei Umkristallisationen aus Aceton-Pentan und Hochvakuumsublimation bei 170–180° und 0,01 Torr bei 191–192° schmolzen.

$C_{18}H_{14}O_7$ (342,29) Ber. C 63,16 H 4,12% Gef. C 63,39 H 4,15%

Die Mischprobe mit synthetisch bereitetem 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure-2'-formyl-4',5'-methylenedioxy-phenylester (VII) schmolz ohne Erniedrigung. Die IR.-Spektren (in Nujol) beider Substanzen sind identisch.

Synthese von 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure-2'-formyl-4',5'-methylenedioxy-phenylester (VII).

a) 6-Hydroxy-cumaran-5-carbonsäure (IX): In ein Kölbchen mit Magnetrührer gab man aus 1,56 g Silbernitrat frisch bereitetes Silberoxyd, 6 ml Wasser und 630 mg festes Natriumhydroxyd, wobei die Temperatur auf 55° stieg. Zu dieser Mischung fügte man unter Rühren 500 mg reinen 6-Hydroxy-cumaran-5-aldehyd (Smp. 107–108°; VIII⁹) zu. Nach 2½stdg. Rühren bei 55–60° wurde heiss filtriert, mit heissem Wasser nachgewaschen und das dunkelrot gefärbte Filtrat mit Salzsäure 1:1 in der Kälte angesäuert. Nun wurde mit Äther extrahiert und der viel Harze enthaltende Ätherauszug erschöpfend mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man aus dem Hydrogencarbonatauszug 380 mg Rohprodukt, das zur Reinigung bei 130–140° und 0,02 Torr sublimiert und mehrmals aus Aceton-Wasser umkristallisiert wurde. Smp. der farblosen Stäbchen 198–201° unter Zers. Ausbeute 360 mg (65%). Dunkelviolette Eisen(III)-chlorid-Reaktion (in Alkohol).

$C_9H_8O_4$ (180,15) Ber. C 60,00 H 4,48% Gef. C 59,89 H 4,49%

Versuche, 6-Methoxy-cumaran-5-aldehyd wie oben beschrieben mit Ag_2O , sowie VIII mit CrO_3 zu oxydieren, gaben nur unbefriedigende Resultate.

b) 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure (X): 200 mg der oben beschriebenen Säure in 5 ml 5-proz. wässriger Kalilauge hat man bei 75° unter Rühren während 1½ Std. alternierend mit Portionen von je 0,2 ml Dimethylsulfat und der entsprechenden Menge 15-proz. wässriger Kalilauge behandelt. Insgesamt wurden 5,25 ml Dimethylsulfat angewandt. Anschliessend fügte man etwas Methanol und Kalilauge zu und hielt das Ganze 1½ Std. unter Rückfluss. Anschliessend wurde im Vakuum etwas eingeeengt, in der Kälte mit HCl 1:1 angesäuert und mit Äther-Methylenchlorid-Gemisch extrahiert. Nach der üblichen Aufarbeitung des organischen Auszuges wurde das Rohprodukt (205 mg) bei 0,01 Torr sublimiert. Der zwischen 110–130° übergehende Vorlauf enthielt noch etwas Ausgangsmaterial (Eisen(III)-chlorid-Reaktion!); aus der bei 140–150° übergehenden Hauptfraktion (keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion!) erhielt man durch mehrmaliges Umlösen aus Aceton und nochmaliger Hochvakuumsublimation 120 mg (55%) reine 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure (X) in Form farbloser Nadelchen vom Smp. 162–163,5°.

$C_{10}H_{10}O_4$ (194,18) Ber. C 61,85 H 5,19% Gef. C 61,89 H 5,15%

c) 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure-2'-formyl-4',5'-methylenedioxy-phenylester (VII): In einem mit Kühler und Calciumchlorid-Rohr versehenen Kugelrohr erhitzte man 50 mg 6-Methoxy-cumaran-5-carbonsäure mit 5 ml frisch destilliertem Thionylchlorid 3 Std. unter Rückfluss. Anschliessend wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand bei 100–110° und 0,05 Torr destilliert. Das kristallisierte Säurechlorid hat man in 1 ml wasser- und alkoholfreiem Chloroform gelöst und diese Lösung zu einer solchen aus 43 mg reinstem 6-Hydroxypiperonal¹⁰) (Smp. 128–129°) in 0,5 ml trockenem Pyridin und 0,5 ml Chloroform bei –10° hinzugefügt. Man liess 2 Std. in der Kältemischung und 12 Std. bei 20° stehen. Hierauf hat man im Vakuum bei 40° eingedampft, den Rückstand mit verd. Schwefelsäure versetzt und mit Äther-Methylenchlorid-Gemisch ausgeschüttelt. Den organischen Auszug hat man mehrmals mit 2-n. Schwefelsäure und bei 0° mit eiskalter 1-proz. Natronlauge ausgeschüttelt. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man aus der organischen Phase durch Sublimation bei 170–180° und 0,02 Torr, zweimaliger Umkristallisation des Sublimates aus Aceton-Petroläther und nochmaliger Hochvakuumsublimation 28 mg (32%) des gewünschten Esters in Form farbloser Nadeln vom Smp. 191–192°.

$C_{18}H_{14}O_7$ (342,29) Ber. C 63,16 H 4,12% Gef. C 63,10 H 4,22%

Zusammenfassung

Für Erosnin (NORTON & HANSBERRY's Verbindung I) aus den Samen von *Pachyrrhizus erosus* wird die Cumarinstruktur III abgeleitet.

Zürich, Chemisches Institut der Universität