

Über die wirksamen Bestandteile der Para-Cotorinde. Synthese des Protocotoins und des Methylprotocotoins

Von

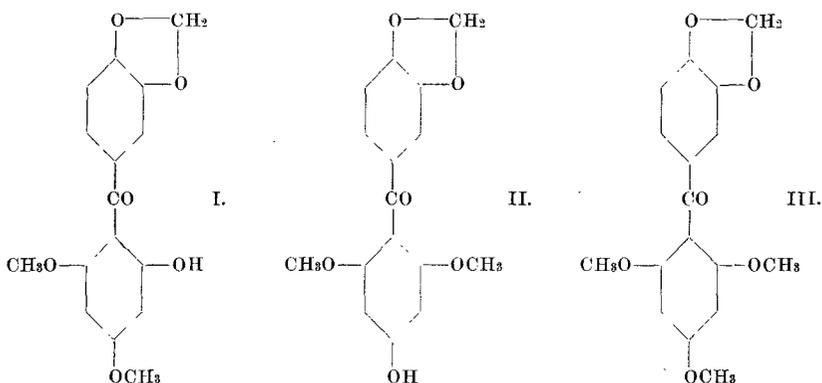
Ernst Späth, w. M. der Akad. d. Wiss., und Hermann Bretschneider

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 3. Mai 1928)

Allgemeines.

Die in der Paracotorinde enthaltenen Stoffe Protocotoin und Methylprotocotoin (auch Oxyleucotin genannt) bildeten schon vor langer Zeit den Gegenstand eingehender chemischer Untersuchungen, die ihre Veranlassung zum Teil in der therapeutischen Wirksamkeit hatten, die man den Verbindungen der Paracotorinde zuschrieb. Jobst und Hesse¹ isolierten 1879 aus der Paracotorinde das Oxyleucotin und lieferten auch Beiträge zur Kenntnis vom Aufbau dieses Stoffes. Ciamician und Silber² fanden gelegentlich einer Aufarbeitung von Hydrocotoin (Merck) im Jahre 1891 das Protocotoin und erkannten, daß das Oxyleucotin Hesses den Methyläther des von ihnen entdeckten Protocotoins vorstellt. Auf Grund mehrerer schöner analytischer Arbeiten kamen sie zu dem Schluß, daß beiden Stoffen ein Piperonylphloroglucin zugrunde liegen und dem Protocotoin die Formel I oder II, dem Oxyleucotin die Formel III zukommen müsse.



Das von diesen Forschern erbrachte experimentelle Be-weismaterial ist in Kürze das folgende: Das Protocotoin ist ein einwertiges Phenol von der Bruttoformel $C_{16}H_{14}O_6$, das

¹ Ann. 199, 48 (1879).

² Ber. 24, 2982 (1891); 25, 1119 (1892); 26, 779 (1893).

2 Methoxylgruppen und eine Ketogruppe enthält. Durch Jodmethyl und Kalilauge wird es in das Oxyleucotin $C_{17}H_{16}O_6$ übergeführt. Bei der Einwirkung von Säuren oder Alkalien wird Protocatechusäure erhalten, während überschüssiges Brom bei der Einwirkung auf Methylprotocotoin eine Spaltung dieser Verbindung in die für die Kenntnis ihrer Konstitution wichtige Piperonylsäure und in das Tribromtrimethylphloroglucin hervorruft. Einen zweiten Beweis für die Anwesenheit einer Methylendioxygruppe stellt der Befund dar, daß das Protocotoin durch Kaliumpermanganat zum Acetopiperon abgebaut werden kann.

Es hat nicht an Versuchen gefehlt, das Protocotoin und das Methylprotocotoin synthetisch aufzubauen und entweder dadurch oder auf anderem Wege die Stellung der freien Hydroxylgruppe im Protocotoin festzulegen. W. H. Perkin und Robinson³ gelang es 1907, durch Anwendung der Friedel-Crafts'schen Reaktion auf Piperonylchlorid und Phloroglucintrimethyläther das Methylprotocotoin zu synthetisieren. In neuerer Zeit versuchte Karrer⁴ nach der von Hoesch⁵ angegebenen bewährten Methode zur Synthese von aromatischen Ketonen das Protocotoin aus Piperonylsäurenitril und Phloroglucindimethyläther aufzubauen. Dieses Unternehmen scheiterte an dem Umstand, daß ohne Zusatz von Zinkchlorid keine Kondensation eintrat, während bei Anwendung von Zinkchlorid das Nitril mit diesem Salz eine in Äther schwer lösliche Molekülverbindung gab, wodurch es der Reaktion entzogen wurde.

Wir nahmen nun die Synthese des Protocotoins auf ähnliche Weise, wie Karrer vergeblich versucht hatte, in Angriff. Wir kondensierten hiebei Piperonylsäurenitril mit Phloroglucin, da zu erwarten war, daß diese Verbindung besser reagieren werde als ihr Dimethyläther. Das dann gebildete Keton wurde partiell methyliert. Wesentlich für den günstigen Verlauf der Kondensation war die Wahl einer höheren Reaktionstemperatur.

Nach einigen orientierenden Versuchen hat sich das folgende Verfahren als brauchbar erwiesen: Die Lösung äquimolekularer Mengen von Piperonylsäurenitril und wasserfreiem Phloroglucin in absolutem Äther wurde nach dem Zusatz von Zinkchlorid mit Chlorwasserstoffgas gesättigt. Das im Einschlußrohr befindliche Gemisch wurde nun durch mehrere Stunden im Schüttelbombenofen auf 60° erhitzt. Das gebildete Ketimid wurde von den unveränderten Ausgangsstoffen befreit, in neutraler Lösung zum Keton verkocht und dieses durch Ätherextraktion isoliert. Auf eine Reindarstellung dieser Verbindung, die wohl mit ziemlichen Verlusten verbunden ge-

³ Proc. chem. Soc. London 22, 305 (1906).

⁴ Helv. 2, 488 (1919).

⁵ Ber. 48, 1131 (1915).

wesen wäre, wurde verzichtet und der gewonnene Extrakt sofort der partiellen Methylierung unterworfen. Diese bot zunächst einige Schwierigkeiten, bis auf Grund von Vorversuchen die Bedingungen für die Protocotoinbildung in einer vorsichtigen Dosierung des die Reaktion erleichternden Methylalkohols und in der Anwendung einer gemessenen Menge Diazomethans gefunden worden waren. Die entstandenen, in verschiedenem Ausmaß methylierten Verbindungen wurden durch ihre verschiedene Löslichkeit in ganz und teilweise methylierte Produkte getrennt. Die Isolierung von Protocotoin und Methylprotocotoin aus den nach dieser rohen Trennung erhaltenen Fraktionen, welche wohl auf allen anderen Wegen, besonders im Falle des Protocotoins, sich sehr umständlich gestaltet hätte, wurde zu einer leichten Aufgabe durch die am natürlichen Material gewonnene Erfahrung, daß sowohl Protocotoin als auch Methylprotocotoin im Hochvakuum bei Luftbadtemperaturen von 200 bis 230° ohne Zersetzung überdestillieren. Auf diese Weise gelang es, bei der Destillation der phenolischen Extrakte im Hochvakuum, gesondert von tefer siedenden, partiell methylierten Phloroglucinderivaten und im Rückstand verbleibenden höher siedenden Stoffen, eine Fraktion zu erhalten, welche bereits ziemlich reines Protocotoin vorstellte. Durch Umlösen aus absolutem Äther gelang es leicht, die Verbindung in analysenreiner Form vom Schmelzpunkt 140° zu gewinnen. Die vorgenommenen Analysen und der Mischschmelzpunkt mit der natürlichen Verbindung bewiesen, daß der von uns erhaltene Stoff synthetisches Protocotoin vorstellte. In ähnlicher Weise konnte bei der Destillation der vollständig methylierten Produkte zunächst amorphes Methylprotocotoin gewonnen werden, welches nach dem Umlösen aus absolutem Äther kristallisierte und den konstanten Schmelzpunkt 132° aufwies. Durch die vorgenommenen Analysen und den Mischschmelzpunkt wurde die Verbindung als identisch mit dem natürlichen Methylprotocotoin (Oxyleucotin) erkannt.

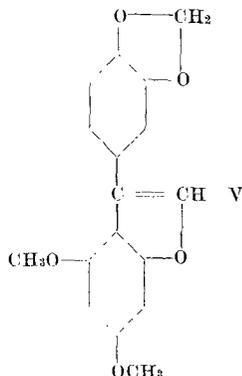
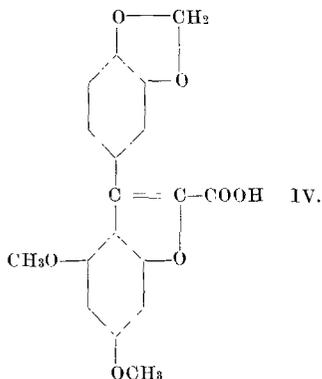
Die noch offene Frage, an welcher Stelle sich die freie Hydroxylgruppe im Protocotoin befinde, versuchte vor kurzer Zeit Tomokichi Tasaki⁶ durch vergleichende Messung der Absorptionsspektren von natürlichen hydroxylierten Benzophenonderivaten zu lösen. Auf Grund seiner Versuche kam er zum Schluß, daß dem Protocotoin die Formel I zukommen müsse. So interessant die Ergebnisse von Tasaki sind, kommt ihnen naturgemäß keine volle Beweiskraft zu. Uns gelang es, einen einfachen chemisch präparativen Beweis für die Formel I zu erbringen. Auf Grund einer von Motylewski⁷ angegebenen und in ähnlichen Fällen⁸ schon zur Konstitutionsermittlung herangezogenen Reaktion mußte das Protocotoin, falls ihm

⁶ Acta phytochim. 2, 199 (1926); C. 1927, II, 2190.

⁷ Ber. 42, 3148 (1909).

⁸ Späth und Wessely, Mon. 49 (1928).

die Formel I mit einer zum Carbonylrest *o*-ständigen Hydroxylgruppe zukommt, imstande sein, nach der Kondensation mit Bromessigester und Na-Alkoholat und darauffolgender Abspaltung von Kohlendioxyd ein Cumaronderivat zu liefern. Auf diese Weise konnte tatsächlich aus dem natürlichen Protocotoin eine in schwachen Alkalien lösliche Substanz erhalten werden, in der eine Verbindung von der Formel IV angenommen werden muß. Destilliert man diese Substanz im Hochvakuum, so läßt sich eine nach dem Umlösen kristalline Verbindung gewinnen, welche bei 117° schmilzt, nicht mehr in Alkalien löslich ist und bei der Analyse Werte gibt, die auf das erwartete Protocotoincumaron (V) stimmen.



Dieser Befund beweist, daß im Protocotoin die Hydroxylgruppe in *o*-Stellung zum Carbonylrest angeordnet ist.

Beschreibung der Versuche.

Methylierung von natürlichem Protocotoin mit Diazomethan.

1 g Protocotoin (Merck) wurde fein gepulvert und in 20 cm³ absolutem Äther aufgeschlämmt. Dazu wurde eine aus 5 cm³ Nitrosomethylurethan bereitete, absolut ätherische Diazomethanlösung destilliert. In dem Reaktionsgemisch, dessen Volum 90 cm³ betrug, setzte bald Stickstoffentwicklung ein. Nach 16stündigem Stehen war noch viel kristallinische Ausgangssubstanz vorhanden, daneben hatten sich Polymere des Diazomethans ausgeschieden. Der Äther, in welchem noch viel Diazomethan gelöst war, wurde darauf abdestilliert, wobei die Kristalle in Lösung gingen. Der Rückstand wurde mit warmem Äther in Lösung gebracht und die filtrierte Lösung so lange mit 5%iger wässriger Kalilauge ausgezogen, bis eine Probe der alkalischen Auszüge auf Zusatz von Salzsäure sich nicht mehr trübte. Die Ätherlösung gab nach dem Vertreiben des Lösungsmittels 0.756 g eines zunächst amorphen Körpers,

der nach dem Lösen in Methylalkohol und Fällen mit Wasser kristallisiert erhalten werden konnte. Nach nochmaligem Umlösen wies er den F. P. 128—129° auf. Nach der im folgenden beschriebenen Destillation im Hochvakuum konnte dieses noch nicht ganz reine Methylprotocotoin auf den von anderen Autoren angegebenen F. P. von 133—134° gebracht werden. Aus den angesäuerten alkalischen Auszügen wurden durch Ätherextraktion 0.32 g Protocotoin zurückgewonnen.

Protocotoin und Methylprotocotoin lassen sich ohne Zersetzung im Hochvakuum von 0.01 mm Hg bei einer Luftbadtemperatur von 200—230° destillieren. Die glasigen Destillate kristallisieren sofort nach dem Verreiben mit absolutem Äther. Für Methylprotocotoin wurde der F. P. 133—134°, für Protocotoin zu 141—141.5° gefunden; dies steht mit den Angaben Ciamicians in Einklang.

Synthese des Protocotoins und des Methylprotocotoins.

4 g reines Piperonylsäurenitril und 3.43 g wasserfreies Phloroglucin wurden in ein tulpenförmig ausgezogenes Einschlußrohr gefüllt und mit 180 cm³ absolutem Äther durch Erwärmen in Lösung gebracht. Die Lösung wurde mit 2 g wasserfreiem Chlorzink versetzt und unter Feuchtigkeitsabschluß mit trockenem Salzsäuregas gesättigt. Nach einiger Zeit hatte sich die zu Beginn des Einleitens auftretende Trübung in der rot gewordenen Ätherlösung zu einem dunklen Syrup gesetzt. An der Rohrwandung schied sich, besonders nach Kratzen, ein kristallinischer Körper aus, welcher wahrscheinlich das von Karrer⁹ beschriebene Additionsprodukt des Chlorzinks an das Nitril darstellt. Die vorher im Gemisch von festem CO₂ und Alkohol gut gekühlte Bombe wurde darauf am verengten Teil abgeschmolzen und dann im Schüttelofen 8 Stunden auf 60° erhitzt. Das Chlorzink war dann in Lösung gegangen und die beim Einleiten beobachteten Kristalle waren verschwunden, während sich die Menge des Sirups vermehrt hatte. Die wiederum gut gekühlte Bombe wurde durch Abschlagen der Spitze geöffnet. Nach dem Ausgießen der Ätherlösung wurde der an der Rohrwandung haftende Sirup durch Behandeln mit viel kaltem Wasser in Lösung gebracht und darauf beide Lösungen nach Zugabe von Äther und etwas konzentrierter Salzsäure im Scheidetrichter geschüttelt. Nach dem Abtrennen wurde die wässrige Lösung noch dreimal mit frischem Äther ausgezogen und die Auszüge jedesmal mit frischem, angesäuertem Wasser geschüttelt, um nicht durch Hydrolyse Ketimid an den Äther zu verlieren. Aus dem nach dem Verdampfen des Äthers verbleibenden Rückstand konnte durch Umlösen

⁹ Loc. cit.

aus Alkohol und Wasser 1·7 g Nitril vom F. P. 86—91° zurückgewonnen werden. Die vereinigten, filtrierten wässrigen Lösungen wurden mit Ammoniak neutralisiert, wobei starke Trübung auftrat, auf 1 Liter verdünnt und zwei Stunden zum gelinden Sieden erhitzt. Die nunmehr klar gewordene heiße Lösung wurde durch Filtrieren von harzigen Produkten befreit, noch warm in einen Extraktionsapparat gefüllt und flott mit Äther ausgezogen. Der durch zweitägige Extraktion gewonnene, von Äther befreite Auszug wurde zur Entfernung von eventuell vorhandenem Phloroglucin mit 30 cm^3 Wasser 10 Minuten auf 100° erwärmt. Nach dem Erkalten wurde die wässrige Lösung von dem fest gewordenen Harz abgossen. Dieses Produkt, welches das gebildete Piperonylphloroglucin enthielt, wog trocken 2·94 g und wurde ohne weiteres der partiellen Methylierung unterworfen.

Unter der sicher zu hoch gegriffenen Annahme, daß der gewonnene Extrakt reines Piperonylphloroglucin darstelle, waren zur Protocotoinbildung 0·897 g Diazomethan theoretisch erforderlich. Es wurde daher aus 7 cm^3 Nitrosomethylurethan eine Diazomethanlösung in 250 cm^3 absolutem Äther bereitet. Durch Titration einer Probe wurde der Gesamtgehalt an Diazomethan zu 0·96 g ermittelt, was einem geringen Überschuß über den von der Theorie geforderten Wert gleichkam. Der durch Erwärmen mit absolutem Äther zum Großteil in Lösung gebrachte Extrakt wurde im Verlaufe von einer halben Stunde portionenweise mit ungefähr zwei Dritteln der ursprünglichen Diazomethanlösung versetzt. Es hatten sich dann amorphe Flocken in der ganzen Flüssigkeit ausgeschieden, während sehr leichte Bestandteile an der Oberfläche schwammen, an welchen eine recht lebhaft Stickstoffentwicklung zu bemerken war. Um auch diese Substanz in Reaktion zu bringen, wurden 25 cm^3 absoluter Methylalkohol zugesetzt. Nach einer Stunde wurde der Rest der Diazomethanlösung eingetragen und nach dreistündigem Stehen die Einwirkung unterbrochen. Das Diazomethan war fast vollständig verbraucht worden. Von ungelösten Produkten (Trockengewicht zirka 0·1 g) wurde direkt in einen Scheidetrichter filtriert. Zur Trennung der neutralen und phenolischen Produkte wurde nun die Ätherlösung mit 800 cm^3 4%iger Kalilauge, die in Portionen von 50 cm^3 angewendet wurden, ausgezogen. Die letzten Auszüge trübten sich auf Salzsäurezusatz nur mehr schwach. Die alkalischen Lösungen wurden filtriert, um einer oxydativen Zersetzung vorzubeugen, sofort angesäuert und in reichlich Äther aufgenommen; diese Ätherlösung, die das gebildete Protocotoin enthalten mußte, wurde zur Abtrennung von weniger methylierten Verbindungen einmal mit 10%iger Sodalösung geschüttelt. Der nach dem Vertreiben des Äthers verbleibende Rückstand wurde mit Aceton in ein Destillierröhrchen überfüllt und im Hochvakuum destilliert. Bei der

Destillation im Hochvakuum von etwa 0·01 *mm* Hg wurde das bei einer Lufttemperatur von 190—230° Übergehende gesondert von tiefer siedenden, bald kristallin erstarrenden Anteilen aufgefangen und auf Protocotoin verarbeitet. Dazu wurde das hochsiedende, zum kleinen Teil kristalline Destillat mit absolutem Äther behandelt, welcher fast nur die amorphen Partien löste. Die filtrierte ätherische Lösung schied, nachdem sie eingeeengt worden war, bald derbe Kristalle ab, von welchen nach eintägigem Stehen die Mutterlauge wiederum abgegossen wurde. Der Rückstand wurde zur Entfernung von mitgerissenen neutralen Bestandteilen mit sehr verdünnter Kalilauge, in welcher er zum Großteil mit gelber Farbe in Lösung ging, so lange behandelt, bis eine gesondert abfiltrierte Probe nach dem Ansäuern mit Salzsäure sich nur mehr schwach trübte. In den filtrierten alkalischen Lösungen wurde sofort das Protocotoin mit Salzsäure ausgefällt. Die zunächst amorphe Fällung wurde binnen kurzer Zeit kristallinisch. Der getrocknete Niederschlag wog 0·29 *g* und stellte nach seinem Schmelzpunkt, der bei 136—138° lag, schon recht reines Protocotoin vor. Dreimal aus absolutem Äther umgelöst, wies diese Substanz den konstanten und mit den Literaturangaben übereinstimmenden F. P. 140—141° auf. Der Mischschmelzpunkt mit natürlichem Protocotoin (M e r c k), welches nach der Destillation im Hochvakuum und dem Umlösen aus absolutem Äther den F. P. 141—141·5° zeigte, ergab keine Depression. Die Methoxylbestimmung und die Elementaranalyse lieferten die von der Theorie geforderten Werte.

4·330 *mg* Substanz: 10·070 *mg* CO₂, 1·730 *mg* H₂O (Pregl)

2·641 „ „ 4·203 „ AgJ (Zeisel-Pregl).

Ber. C₁₆H₁₄O₆: 63·55% C, 4·67% H, 20·54% CH₃O.

Gef.: 63·43% C, 4·47% H, 21·02% CH₃O.

In den oben erwähnten Alkali-unlöslichen Kristallen lag wider Erwarten nicht mitgerissenes Methylprotocotoin vor, denn nach dem Umlösen aus Methylalkohol und Wasser wies diese Substanz den konstanten F. P. 166—167° auf.

Aus der ursprünglichen Ätherlösung, die nach der Behandlung mit Lauge nur mehr neutrale Produkte enthalten konnte, wurde Methylprotocotoin auf folgende Weise gewonnen. Der nach dem Verjagen des Äthers verbleibende Rückstand wurde mit Aceton in ein Röhrchen gefüllt und destilliert. Die Destillation im Hochvakuum von 0·01 *mm* Hg ergab neben einem teils öligen, teils festen Vorlauf als Hauptmenge ein bei einer Lufttemperatur von 210—230° übergehendes helles, rasch glasig erstarrendes Destillat. Aus diesem konnte Methylprotocotoin leicht isoliert werden. Schon beim Verreiben des Destillates mit absolutem Äther trat Kristallisation ein. Das Rohprodukt wog 0·64 *g* und schmolz bei 125—126°. Nach vier-

maligem Umlösen aus absolutem Äther war der F.P. auf 131—132° gestiegen. Der Mischschmelzpunkt mit Methylprotocotoin, das aus natürlichem Protocotoin mit Diazomethan erhalten worden war und bei 133—134° schmolz, lag bei 132°. Die Methoxylbestimmung und die Elementaranalyse überzeugten vollends, daß das gewünschte Produkt vorliege.

5·090 mg Substanz 12·035 mg CO₂, 2·370 mg H₂O (Pregl)
3·723 „ „ 8·326 „ AgJ.

Ber. für C₁₇H₁₆O₆: 64·53% C, 5·10% H, 29·44% CH₃O.
Gef.: 64·49% C, 5·21% H, 29·54% CH₃O.

Aus den für das Protocotoin und für das Methylprotocotoin angegebenen Ausbeuten läßt sich berechnen, daß die Bildung des Piperonylphloroglucins in zirka 11%iger Ausbeute erfolgt.

Umwandlung des natürlichen Protocotoins in ein Cumaronderivat (3, 5-Dimethoxy-3', 4'-methylenedioxy-2-phenyl-cumaron).

0·400 g natürliches Protocotoin und 0·442 g Bromessigsäureäthylester, gelöst in 10 cm³ absolutem Alkohol, wurden mit 0·912 cm³ absoluter Natriumäthylatlösung (1 cm³ = 0·0667 g Na) versetzt und das Gemisch am Rückflußkühler erhitzt. Nach 5½stündigem Kochen wurde die inzwischen neutral gewordene Lösung, aus welcher sich ein weißer Niederschlag ausgeschieden hatte, mit einer Auflösung von 0·37 g Kalilauge in 8 cm³ gewöhnlichem Äthylalkohol versetzt und noch eine Stunde lang gekocht, um den entstandenen Cumaroncarbonsäureester zu verseifen. Darauf wurde der Alkohol vertrieben und der Rückstand mit Wasser aufgenommen. Die klare Lösung wurde mit Salzsäure angesäuert, dann mit Natriumbicarbonat alkalisiert und mit Äther nicht umgesetzter Ausgangsstoff entfernt. So konnten 0·32 g unreines Protocotoin zurückgewonnen werden. Aus der wiederum angesäuerten wässrigen Lösung wurde mit Äther die gebildete Protocotoincumaronsäure herausgeholt. Der geringen Ausbeute wegen wurde aber auf eine Isolierung dieser Verbindung verzichtet und der Ätherextrakt sofort weiter auf das Protocotoincumaron verarbeitet. Der trockene zunächst ölige Auszug wurde mit Äther in ein Destillierröhrchen gebracht, in welchem er nach Verjagen des Lösungsmittels zum größeren Teil kristallisierte. Darauf wurde im Vakuum von 0·1 mm Hg ein bei einer Luftbadtemperatur von 80—110° flüchtiger öliger Stoff entfernt. Der kristalline Rückstand wurde im Hochvakuum (0·03 mm Hg) erhitzt, wobei er bei einer Luftbadtemperatur von etwa 200° schmolz und dann bei 250° destillierte. Das glasig erstarrte Destillat wurde, um die Decarboxylierung möglichst vollständig zu gestalten, nochmals übergetrieben. Das helle Harz wog 0·062 g und wurde

durch Lösen in Alkohol und Fällen mit Wasser sofort kristallinisch. Zur weiteren Reinigung wurde dieses Produkt nochmals aus denselben Lösungsmitteln umgelöst, doch wurden diesmal dem Gemisch ein paar Tropfen verdünnter Sodaauslösung zugefügt, um eine gleichzeitige Abscheidung von möglicherweise noch vorhandenen sauren Bestandteilen hintanzuhalten. Nach dieser Behandlung wies die Verbindung, welche in feinen weißen Nadeln kristallisiert, den F. P. 116·5—117·5° auf, der sich bei weiterem Umlösen nicht mehr änderte. Die Mikroelementaranalyse ergab Werte, die mit den von der Theorie für ein Protocotoincumaron verlangten übereinstimmen.

5·165 *mg* Substanz: 13·050 *mg* CO₂, 2·295 *mg* H₂O (Pregl).

Ber. C₁₇H₁₄O₅: 68·43% C, 4·73% H.

Gef.: 68·91% C, 4·97% H.
