

Die natürlichen Cumarine und ihre Wirkung auf Fische

Von

E. SPÄTH

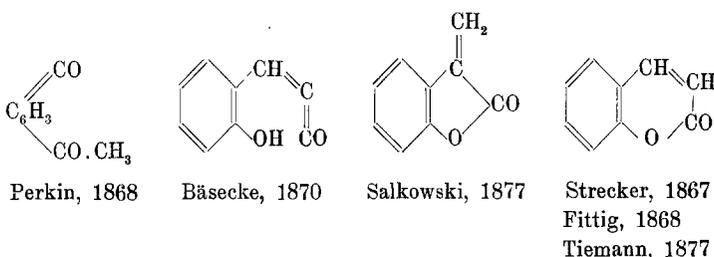
wirkl. Mitgl. d. Akad. d. Wissenschaften.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien

(Eingegangen am 28. 7. 1936. Vorgelegt in der Sitzung am 15. 10. 1936)

Die natürlichen Cumarine bilden eine Gruppe von stickstofffreien Lactonen, die im Pflanzenreich in freier oder öfter auch in gebundener Form verbreitet vorkommen. Der häufigste Vertreter dieser Körperklasse in der Pflanze ist ihr Grundkörper, das Cumarin selbst. Es wurde 1820 von VOGEL¹ aus der Tonkabohne zuerst isoliert, doch gelang es zunächst nicht, Einblick in seine Struktur zu gewinnen. Die ersten Bearbeiter hielten es für Benzoesäure, später hieß es Tonkacampher. Die Tatsache, daß Cumarin durch die Kalischmelze in Salicylsäure und Essigsäure zerfällt, führte PERKIN 1868 zur Synthese des Cumarins aus Salicylaldehyd, Natriumacetat und Essigsäureanhydrid², die aber noch immer nicht Klarheit über den Aufbau der Cumarinmolekel brachte. Auch nach der Aufstellung der heute als richtig erkannten Formel³ durch STRECKER, FITTIG und TIEMANN wurden noch längere Zeit die älteren Formelbilder⁴ und einige neuere diskutiert.

Cumarinformeln :



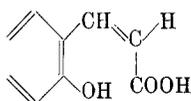
¹ H. A. VOGEL, Gilberts Ann. Phys. **64** (1820) 161.

² W. H. PERKIN, J. chem. Soc. London [2] **6** (1868) 53.

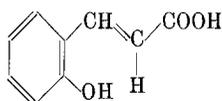
³ A. STRECKER, Lehrb. org. Chem. 5. Aufl. (1867) 745. — R. FITTIG, Z. Chem. [2] **4** (1868) 595. — F. TIEMANN u. H. HERZFELD, Ber. dtsch. chem. Ges. **10** (1877) 283.

⁴ H. BÄSECKE, Liebigs Ann. Chem. **154** (1870) 90. — E. SALKOWSKI, Jahresber. Chem. **30** (1877) 794.

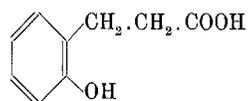
Viele Eigenschaften des Cumarins waren besonders auffällig: So vor allem die große Beständigkeit des δ -Lactonringes des Cumarins, der selbst bei längerem Kochen dieses Stoffes mit Wasser beständig blieb. Löst man Cumarin in wässriger Alkalilauge, so scheidet sich beim Ansäuern nicht etwa die Oxysäure aus, die dem gebildeten Alkalisalz entspricht, sondern es entsteht trotz der Anwesenheit von Wasser ihr inneres Anhydrid, das Cumarin. Dieses Verhalten wurde zunächst durch die Annahme zu erklären versucht, daß die Lactone von Phenolen beständiger wären als die von Alkoholen. Diese Vermutung wurde aber durch das Verhalten des Dihydrocumarins widerlegt, welches ebenso leicht aufspaltbar ist wie andere δ -Lactone und dessen Oxysäure isolierbar und beständig ist. Heute nehmen wir an, daß die durch den ungesättigten Charakter mitbedingten sterischen Verhältnisse den leichten Ringschluß der dem Cumarin entsprechenden Oxysäure zum Cumarin zurück verursachen. Dieser Vorstellung entsprechend haben wir zwei Hydrolysenprodukte des Cumarins: Die Cumarinsäure, welche die cis-o-Oxyzimtsäure vorstellt, die nicht frei darstellbar ist, da sie spontan in Cumarin übergeht, und die o-Cumarsäure, die trans-o-Oxyzimtsäure, die durch längere Alkalieinwirkung auf die erstere entsteht, bei Zimmertemperatur oder beim Erhitzen keine Tendenz zum Ringschluß zeigt und erst durch Behandeln mit kurzweiligem Licht oder HBr in Cumarin übergeht.



cis-o-Oxyzimtsäure
(Cumarinsäure)



trans-o-Oxyzimtsäure
(o-Cumarsäure)



Melilotsäure

Cumarin kommt in der Tonkabohne, die zu den Papilionaten gehört, neben der Melilotsäure vor. Außer dieser historisch ersten Fundstelle führen noch sehr viele Pflanzen aus zahlreichen Familien Cumarin, das sich oft, besonders in der welkenden Pflanze, durch den charakteristischen und angenehmen Geruch verrät. Mehrere Gräser, Orchideen, Prunoideen, Compositen, viele Papilionaten, Labiaten, ferner der Waldmeister, die Dattelpalme und gewisse Rutaceen seien als sichere Vorkommen genannt. Aber auch in Berberidaceen, Magnoliaceen, Lauraceen, Cruciferen, Caesalpinoideen, Moraceen, Cinchonoideen u. a. will man Cumarin und cumarinartige Stoffe gefunden haben. Es sind etwa 50 Pflan-

zen als cumarinführend bekannt, zu denen noch viele bisher unbekannt Vorkommen hinzukommen werden.

Cumarin hat in der Parfümerie und zur Darstellung von Waldmeisteressenzen Bedeutung. Es ist daher begreiflich, daß mehrere technische Methoden zur Gewinnung des Cumarins vorliegen.

Nicht allein Cumarin selbst, sondern auch eine Reihe von Abkömmlingen des Cumarins kommen als Naturstoffe vor. Gegenwärtig sind etwa 3 Dutzend bekannt und ihr Aufbau ist festgestellt. Die Untersuchung verschiedener Pflanzenmaterialien vermittelte uns den Eindruck, daß die Cumarine eine viel größere Gruppe von Naturstoffen vorstellen, als bisher angenommen worden ist. Indes bietet aber die Isolierung dieser Verbindungen meist so große Schwierigkeiten, daß zu erwarten ist, daß die Gewinnung der in der Natur vorhandenen Cumarine erst am Anfang ihrer Entwicklung steht.

Die bisher isolierten natürlichen Cumarine lassen sich in einige Gruppen einteilen: In Oxy- und Methoxy-cumarine, welche zumeist als Glucoside, aber auch als Ester oder frei in den Drogen vorhanden sind, ferner in kernalkylenierte Oxy- und Methoxy-cumarine, in Furocumarine, welche ebenfalls Oxy-, Methoxy- oder komplizierte Alkoxy-reste aufweisen können, in Furocumarine, welche im Furanring substituiert sind, und schließlich in β -Oxycumarine. Die beiden zuletzt genannten Cumaringruppen sind erst vor kurzer Zeit durch meine Arbeiten bekannt geworden. Es ist zu erwarten, daß bei der weiteren Untersuchung der natürlichen Cumarine noch einige neue Gruppen auftreten werden.

Natürliche Oxy- und Methoxy-cumarine.

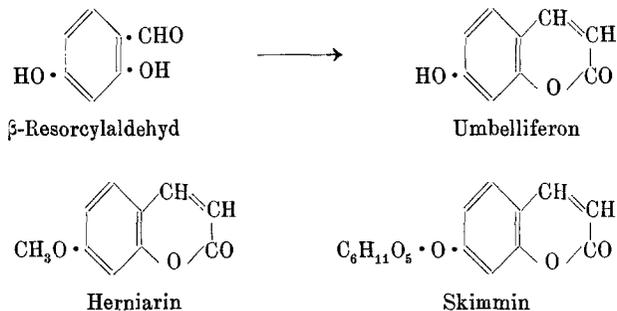
Als Oxyderivate des einfachen Cumarins sind in der Pflanze gefunden worden: Umbelliferon (7-Oxy-cumarin), Herniarin (7-Methoxy-cumarin), Skimmin (ein Glucosid des Umbelliferons), Aesculetin (6.7-Dioxy-cumarin), Aesculin (ein Glucosid des Aesculetins), Scopoletin (6-Methoxy-7-oxy-cumarin), Scopolin (ein Glucosid des Scopoletins), Citropten (5.7-Dimethoxy-cumarin), Daphnetin (7.8-Dioxy-cumarin), Daphnin (ein Glucosid des Daphnetins), Fraxetin (6-Methoxy-7.8-dioxy-cumarin) und Fraxin (ein Glucosid des Fraxetins).

Nachdem TIEMANN und LEWY den β -Resorcylaldehyd durch ihre Synthese zu einer leicht zugänglichen Verbindung gemacht

hatten⁵, untersuchten sie zur Ermittlung seiner Konstitution die Einwirkung von Natriumacetat und Essigsäureanhydrid, da von den drei möglichen Formeln nur zwei die Cumarinbildung erwarten ließen. Tatsächlich erhielten sie hierbei ein Cumarin, das sie als 7-Oxy-cumarin erkannten, da das eventuell noch mögliche 5-Oxycumarin ausgeschlossen werden konnte⁵. Das 7-Oxy-cumarin erwies sich als identisch mit dem länger bekannten Umbelliferon, das bei der trockenen Destillation der meisten Umbelliferenharze auftritt, aber auch in der Kamille (Compositae), *Skimmia japonica* (Rutaceae, Toddaliaceae) und Ferulaarten (Umbelliferae) gefunden wurde. Umbelliferon zeigt in verdünnten, besonders alkalischen Lösungen eine schöne blau-violette Fluoreszenz, eine Eigenschaft, die es mit einigen anderen natürlichen Cumarinen teilt. Dieser Fluoreszenz verdanken einige Cumarine ihre Auffindung und erste Bezeichnung, wie die Namen Schillerstoff, Polychrom und Chrysoatropasäure kundtun.

Der Methyläther des Umbelliferons wird Herniarin genannt und findet sich im Bruchkraut⁶ (*Herniaria hirsuta*) (Caryophyllaceae), ferner im Lavendel (Labiatae) und in der Kamille (Compositae). Während das Umbelliferon wegen der phenolischen Hydroxylgruppe die Eigenschaften des Cumarins nicht klar zeigte und so anfangs Anlaß zu Irrschlüssen gab, hat der Methyläther des Umbelliferons die typischen Eigenschaften des Cumarins.

Das Umbelliferon scheint in Form von Glucosiden und Estern im Pflanzenreich oft vorzukommen. So ist wahrscheinlich das Skimmin⁷ aus *Skimmia japonica* ein Glucosid des Umbelliferons.



⁵ F. TIEMANN u. L. LEWY, Ber. dtsch. chem. Ges. **10** (1877) 2210. — F. TREMANN u. A. PARRISIUS, Ber. dtsch. chem. Ges. **13** (1880) 2354.

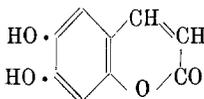
⁶ L. BARTH u. J. HERZIG, Mh. Chem. **10** (1889) 161.

⁷ J. F. ELJKMAN, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **3** (1884) 204.

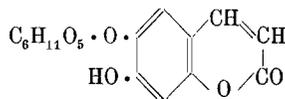
Dioxycumarine und ihre Glucoside sind im Pflanzenreich vielfach aufgefunden worden.

Das erste, das wir behandeln wollen, das Aesculetin, ist das Spaltprodukt des Aesculins⁸, findet sich aber auch frei in der Roßkastanie und in den Samen von *Euphorbia lathyris*. Der österreichische Forscher HLASIWETZ, der hervorragende Beiträge zur Chemie der Pflanzen geliefert hat, sprach vor etwa 70 Jahren die Vermutung aus, daß ein naher Zusammenhang zwischen Cumarin, Umbelliferon und Aesculetin bestehen müsse⁹. Diese Ansicht wurde aber von den Chemikern dieser Zeit verworfen, bis TIEMANN durch die Untersuchung der Methyläther von Umbelliferon und Aesculetin die Richtigkeit der Vorstellungen von HLASIWETZ beweisen konnte¹⁰. Entscheidend für die Auffassung der Konstitution des Aesculetins als 6.7-Dioxy-cumarin war die Synthese¹¹ dieser Verbindung aus Oxyhydrochinonaldehyd mit Hilfe der PERKINschen Reaktion.

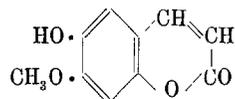
Das in der Roßkastanie (*Aesculus hippocastanum*) vorhandene Aesculin¹² ist seit mehr als 100 Jahren in vielen Arbeiten untersucht worden. Es zerfällt bei der Hydrolyse in Aesculetin⁸ und Traubenzucker. Der β -Glucosidorest hängt an der Stelle 6 des Aesculetins. Das durch Methylierung mit Diazomethan erhaltliche Methylaesculin gibt nämlich bei der Spaltung 6-Oxy-7-methoxy-cumarin, das von R. SEKA¹³ hinsichtlich der Stellung der Methoxygruppe identifiziert werden konnte.



Aesculetin



Aesculin



6-Oxy-7-methoxy-cumarin

Der isomere Aesculetin-monomethyläther, das 6-Methoxy-7-oxy-cumarin, ist das Scopoletin, das sowohl als solches als auch in Form des Glucosids im Pflanzenreich verbreitet ist¹⁴. Das

⁸ F. ROCHLEDER u. R. SCHWARZ, Liebigs Ann. Chem. **87** (1853) 186.

⁹ H. HLASIWETZ u. A. GRABOWSKI, Liebigs Ann. Chem. **139** (1866) 106.

¹⁰ F. TIEMANN u. W. WILL, Ber. dtsh. chem. Ges. **15** (1882) 2072.

¹¹ L. GATTERMANN u. M. KÖBNER, Ber. dtsh. chem. Ges. **32** (1899) 288.

¹² MINOR, Berz. Jahresber. Chem. **12** (1835) 274; Brandes' Archiv **38** (1831) 130.

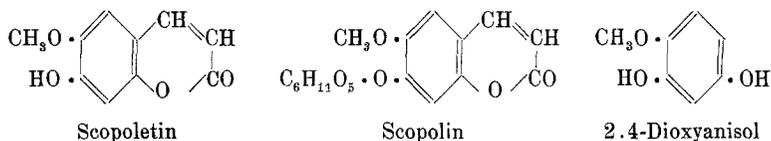
¹³ R. SEKA u. P. KALLIR, Ber. dtsh. chem. Ges. **64** (1931) 622.

¹⁴ TH. G. WORMLEY, Amer. J. Pharm. **42** (1870) 1; Chem. Zbl. **1870**, 678.

— J. F. ELJKMAN, Rec. Trav. chim. Pays-Bas **3** (1884) 169. — H. KUNZ-KRAUSE, Arch. Pharm. **223** (1885) 701 u. a. m.

Scopoletin findet sich in der Tollkirsche (*Atropa belladonna*), aus der es unter dem Namen Chrysatropasäure erhalten wurde, in der Scopoliawurzel, in der Rinde von *Prunus serotina*, in *Ipomoea horsfalliae*, in *Artemisia afra*, im Jalapenharz, in der Wurzel von *Gelsemium sempervirens*¹⁴ (hier zunächst als Gelseminsäure bezeichnet) und entsteht schließlich durch Spaltung des Glucosids Scopolin. Im Scopoletin liegt ein Monomethyläther des Aesculetins vor, da bei der völligen Methylierung des Scopoletins der synthetisch zugängliche Aesculetindimethyläther erhalten wurde¹⁵. MOORE¹⁶ bekam 1911 bei der Oxydation des Scopoletins das 2.4-Dioxy-anisol und bewies so das Vorliegen von 6-Methoxy-7-oxycumarin.

Das 6-Methoxy-7-glucosido-cumarin ist das in Scopoliarten, *Atropa belladonna* und anderen Solanaceen vorhandene Glucosid Scopolin¹⁷. Unter dem Namen Scopolin ist auch eine alkaloidische Verbindung bekannt, die als Spaltprodukt des Scopolamins auftritt.



Der zweite Dioxycumarin-Typus ist das Daphnetin, das 7.8-Dioxycumarin, welches das Aglucon des Glucosids Daphnin vorstellt¹⁸. Die Lösungen des Daphnetins fluoreszieren nicht. Entscheidend für die Auffassung der Konstitution des Daphnetins war die Synthese dieser Verbindung durch v. PECHMANN¹⁹ aus Pyrogallol, Äpfelsäure und Schwefelsäure, an die sich dann die Darstellung durch GATTERMANN¹¹ aus Pyrogallolaldehyd mit Hilfe der PERKINschen Reaktion anschloß.

Das Glucosid Daphnin findet sich in der Familie der Thymelaeaceen, besonders in Daphnearten, und ist schon seit 1812 bekannt²⁰. Das Daphnin wurde von dem Wiener Chemiker FRITZ WESSELY als 7-β-Glucosido-daphnetin erkannt²¹. Das sogenannte

¹⁵ D. TAKAHASHI, Chem. Zbl. 1888 1364.

¹⁶ CH. W. MOORE, J. chem. Soc. London 99 (1911) 1043.

¹⁷ E. SCHMIDT, Arch. Pharm. 228 (1890) 435.

¹⁸ C. ZWENGER, Liebigs Ann. Chem. 115 (1860) 1.

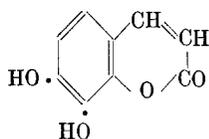
¹⁹ H. v. PECHMANN, Ber. dtsh. chem. Ges. 17 (1884) 929.

²⁰ L. N. VAUQUELIN, Ann. Chim. 84 (1812) 173.

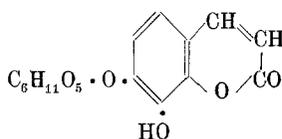
²¹ F. WESSELY u. K. STURM, Ber. dtsh. chem. Ges. 63 (1930) 1299; 62 (1929) 115.

synthetische Daphnin von LEONE²² ist mit dem Naturprodukt nicht identisch, sondern stellt das isomere 8-Glucosido-daphnetin vor.

Ein zweites, noch nicht genau untersuchtes Glucosid des Daphnetins soll in *Gnidia polycephala* (Thymelaeaceae) enthalten sein²³.



Daphnetin



Daphnin

Atherische Öle scheiden beim Stehen häufig feste Massen aus, welche als Stearoptene bezeichnet werden, während die flüssig verbleibenden Anteile Elaeoptene genannt werden. Im Stearopten des Zitronenöls wurde 1829 das Citropten oder Limetitin aufgefunden²⁴. Die von TILDEN aufgestellte Konstitutionsformel²⁵ dieser in Lösung fluoreszierenden Verbindung als 5.7-Dimethoxy-cumarin stand mit der Synthese, die E. SCHMIDT²⁶ durchführte, in bestem Einklang.

Nach einer neueren Angabe soll ein Isomeres des Citroptens in einer Xanthoxylumart vorhanden sein²⁷.

Auch ein Trioxyderivat des Cumarins ist unter den Glucosiden vorhanden, nämlich das 1857 in der Eschenrinde entdeckte Fraxin²⁸. Das Aglucon, das Fraxetin²⁸, enthält eine Methoxygruppe und gibt bei der Methylierung ein Trimethoxy-cumarin, das mit dem von KÖRNER und BIGINELLI²⁹ synthetisierten 5.6.7-Trimethoxy-cumarin isomer, also nicht identisch ist. 1928 konnte FRITZ WESSELY³⁰ in meinem Laboratorium die Stellung der Sauerstoffatome des Fraxetins in 6.7.8 nachweisen. In seinen schönen Untersuchungen hat dieser Autor weiter gezeigt, daß die Meth-

²² P. LEONE, Gazz. chim. Ital. 55 (1925) 673.

²³ M. RINDL, Chem. Zbl. 1934, I, 715, 1991.

²⁴ BOISSENOT, J. de Pharm. 15 (1829) 324; Buchners Repert. 40, 179.

²⁵ W. A. TILDEN, J. chem. Soc. London 61 (1892) 344. — W. A. TILDEN u. H. BURROWS, J. chem. Soc. London 81 (1902) 508.

²⁶ E. SCHMIDT u. F. FLÄCHER, Arch. Pharm. 242 (1904) 288.

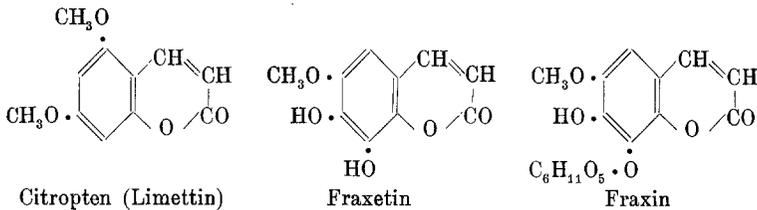
²⁷ T. ARAKI u. Y. MIYASHITA, Chem. Zbl. 1928, II, 674.

²⁸ W. F. K. A. FÜRST VON SALM-HORSTMAR, Poggendorffs Ann. [2] 100 (1857) 607; [2] 107 (1859) 327.

²⁹ G. KÖRNER u. P. BIGINELLI, Gazz. chim. Ital. 21, II (1891) 452.

³⁰ F. WESSELY u. E. DEMMER, Ber. dtsh. chem. Ges. 61 (1928) 1279; 62 (1929) 120.

oxylgruppe des Fraxetins in 6 angeordnet ist und das Glucosid Fraxin den Glucoserest an der Stelle 8 besitzt.



Natürliche kernalkylenierte Oxy- und Methoxy-cumarine.

Eine besondere Fundgrube von Cumarinen dieser Art und auch solchen von anderem Aufbau liegt in der Meisterwurz vor, welche die Rhizome von *Imperatoria Ostruthium* L. vorstellen. Dieselbe hatte seinerzeit eine ausgedehnte medizinische Verwendung und wird auch heute vielfach benützt. 1831 wurde der erste kristallisierte Inhaltsstoff dieser Droge gefunden³¹, der aber nach unseren heutigen Kenntnissen ein kompliziertes Gemisch gewesen sein muß. 1874 isolierte v. GORUP-BESANEZ eine charakteristische Verbindung, das Ostruthin³², und, wie HEUT mitteilte, einen weiteren besonders durch seine Schwerlöslichkeit in Äther auffallenden Inhaltsstoff, das Oxypeucedanin³³, welches bereits O. L. ERDMANN 1839 in *Peucedanum officinale* aufgefunden hatte³⁴. Die weitere Untersuchung der Meisterwurz führte 1909 zur Entdeckung des Osthol und des Ostruthols durch HERZOG und KROHN³⁵. Dazu haben wir 1930 noch das Imperatorin³⁶ und das Isoimperatorin³⁷ gefunden, womit die Cumarine dieser interessanten Droge noch immer nicht erschöpft sind.

Wir haben die Konstitution aller dieser Meisterwurzcumarine aufgeklärt und dieselben z. T. synthetisch dargestellt. Ich gehe zunächst auf die Besprechung der im Benzolkern alkyl- oder methoxylierten Oxy- und Methoxy-cumarine ein, nämlich auf Osthol und Ostruthin.

Das Osthol, $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$, enthält nach HERZOG und KROHN³⁵ eine Methoxylgruppe, wodurch es sich von den übrigen Inhalts-

³¹ G. W. OSANN, *Buchners Repert.* **39** (1831) 26.

³² E. v. GORUP-BESANEZ, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **7** (1874) 564; *Liebigs Ann. Chem.* **183** (1876) 321.

³³ G. HEUT, *Liebigs Ann. Chem.* **176** (1875) 70.

³⁴ O. L. ERDMANN, *J. prakt. Chem.* **16** (1839) 42.

³⁵ J. HERZOG u. D. KROHN, *Arch. Pharm.* **247** (1909) 553.

³⁶ E. SPÄTH u. H. HOLZEN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **66** (1933) 1137.

³⁷ E. SPÄTH u. L. KAHÓVEC, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **66** (1933) 1146.

stoffen der Meisterwurz unterscheidet. Mit Alkalien erhielten die genannten Autoren gelbe Lösungen, aus welchen mit CO_2 oder durch Mineralsäuren unverändertes Osthol ausgefällt wurde. Dieses Verhalten legte die Annahme eines Lactons nahe. 1932 hat BUTENANDT³⁸ die Bearbeitung des Osthols aufgenommen. Er nahm 2 Doppelbindungen im Osthol an, von welchen die eine katalytisch hydrierbar war. Im Verhalten gegen Alkali erkannte er das Vorliegen eines Cumarins, ein Befund, der noch dadurch ergänzt wurde, daß die Säure aus dem hydrierten Osthol analog der Melilotsäure keine ausgeprägte Lactonisierungstendenz mehr aufwies. Durch Oxydation des Osthols mit Chromsäure erhielt BUTENANDT zwei Produkte, nämlich Aceton und eine charakteristische Säure, die Ostholsäure genannt wurde. Für die letztere nahm er die Konstitution einer Methoxycumarinessigsäure an. In Analogie zu dem damals von mir aufgeklärten Peucedanin³⁹, das ich später bespreche, zog er für diese Säure die 7-Methoxycumarin-6-essigsäure in Betracht und schloß daraus, daß das Osthol das 6-Isoamylenyl-7-methoxycumarin vorstelle.

Diese Ergebnisse standen nicht ganz in Übereinstimmung mit meinen Resultaten⁴⁰. Ich hatte die gleiche Bruttoformel für das Osthol erhalten, die Anwesenheit einer Methoxygruppe bestätigt und ebenfalls das für das Vorhandensein eines Cumarins charakteristische Verhalten gegen Alkalien festgestellt. Während BUTENANDT bei der katalytischen Hydrierung nur die Bildung eines Dihydro-osthols beobachten konnte, erhielten wir bei der gleichen Reaktion das Tetrahydro-osthol. Bei der Einwirkung von Salpetersäure auf diese Verbindung wurde Bernsteinsäure gebildet, eine Reaktion, die sich mit 0'02—0'03 g Substanz leicht und sicher durchführen läßt. Die Bernsteinsäure stammt aus dem partiell hydrierten α -Pyronring des Cumarins und tritt bei allen Cumarinen³⁹ auf, die an der einen Pyrondoppelbindung hydriert und dann der Oxydation mit Salpetersäure unterworfen werden. Hier liegt ein Verfahren vor, das unter Beachtung gewisser Einschränkungen den Nachweis von Cumarinen selbst beim Vorliegen kleiner Mengen erlaubt. Bei der Oxydation des Osthols mit KMnO_4 wurde die 4-Methyläther- β -resorcylsäure erhalten. Dieser Befund und das Auftreten von Bernsteinsäure aus Hydro-osthol stützte unsere Annahme, daß das Osthol als ein Derivat des

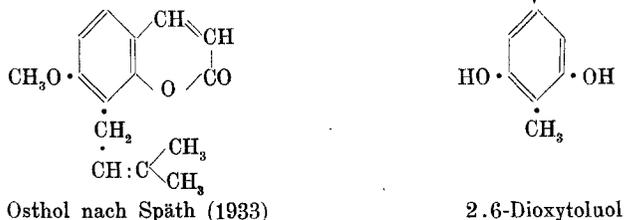
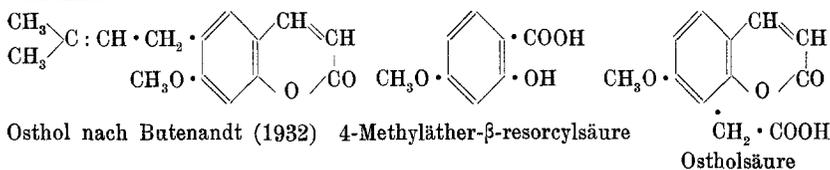
³⁸ A. BUTENANDT u. A. MARTEN, Liebigs Ann. Chem. 495 (1932) 187.

³⁹ E. SPÄTH, K. KLAGER u. C. SCHLÖSSER, Ber. dtsh. chem. Ges. 64 (1931) 2203.

⁴⁰ E. SPÄTH u. O. PESTA, Ber. dtsh. chem. Ges. 66 (1933) 754.

7-Methoxy-cumarins aufzufassen ist. Tetrahydro-osthol gibt mit H_2O_2 eine flüchtige Fettsäure, die Isocapronsäure, von der das Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe vom Benzolkern stammt, während die übrigen Kohlenstoffatome dieser Säure der katalytisch hydrierten Seitenkette des Osthols entnommen sind. Alle bisherigen Abbauprodukte sagten aber noch nichts darüber aus, in welcher Stellung die Seitenkette, die wegen des Auftretens der Isocapronsäure eine Isoamylenylgruppe sein mußte, zum Methoxyl angeordnet ist. Die Entscheidung über diesen Punkt wurde durch die Untersuchung der aus dem Osthol durch Oxydation mit CrO_3 entstehenden Ostholsäure erbracht. Diese Säure ließ sich nämlich glatt decarboxylieren und gab ein Methoxy-methyl-cumarin. Bei der Oxydation dieser Verbindung mit $KMnO_4$ entstand die bekannte 2-Oxy-3-methyl-4-methoxy-benzoesäure, aus der weiter das 2.6-Dioxytoluol dargestellt werden konnte. Diese Ergebnisse bewiesen, daß die Isoamylenylgruppe an der Stelle 8 angeordnet sein muß. Damit war die Formel des Osthols als die eines 7-Methoxy-8-isoamylenyl-cumarins eindeutig festgelegt und die von BUTENANDT vermutete Konstitution konnte nicht bestätigt werden. BUTENANDT schätzen wir aber als einen Kollegen, der sich um die Entwicklung der Chemie der Sexualhormone hervorragende Verdienste erworben hat.

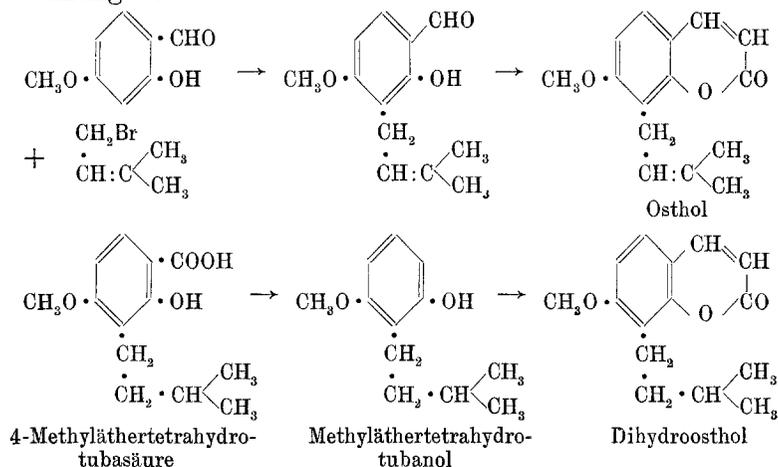
Ein Lacton von der Bruttoformel des Osthols wurde früher aus der Wurzel von *Angelica Archangelica* L. erhalten⁴¹. Wir haben diese nicht genauer untersuchte Verbindung aus diesem Pflanzenmaterial dargestellt und die Identität mit dem Osthol erkannt⁴².



⁴¹ E. BÖCKER u. A. HAHN, J. prakt. Chem. [2] 83 (1911) 243.

⁴² E. SPÄTH u. O. PESTA, Ber. dtsh. chem. Ges. 67 (1934) 853.

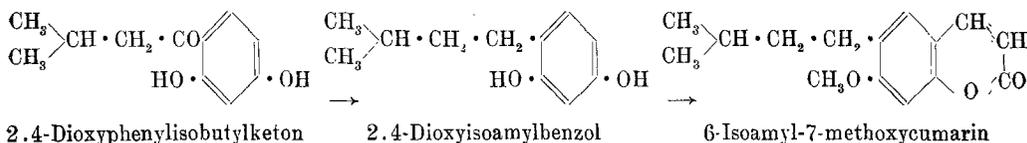
Auch der synthetischen Bearbeitung ist das Osthol zugänglich gewesen. Wir gingen zu diesem Zwecke vom 4-Methyläther- β -resorcylaldehyd aus, der als Natriumsalz mit γ , γ -Dimethylallylbromid zur Reaktion gebracht wurde. CLAISEN hat gezeigt, daß ungesättigte Alkylhalogenide je nach dem verwendeten Lösungsmittel mit Phenolaten in zwei Richtungen reagieren können. In dissoziierenden Lösungsmitteln erfolgte O-Alkylierung, während in nichtdissoziierenden Solventien der ungesättigte Rest in o-Stellung zum phenolischen Hydroxyl an den Benzolkern trat. Demgemäß erhielt ich⁴³ in benzolischer Lösung aus dem 4-Methyläther-2,4-dioxybenzaldehyd mit γ , γ -Dimethylallylbromid eine Verbindung, die bei der PERKINschen Reaktion in mäßiger Ausbeute ein Cumarin lieferte, das in allen Eigenschaften mit dem natürlichen Osthol identisch war. In Gemeinschaft mit S. TAKEI aus Kyoto haben wir eine Synthese des 7-Methoxy-8-isoamyl-cumarins durchgeführt⁴⁴. Als Ausgangsmaterial diente uns ein Abbauprodukt des Rotenons, die 4-Methyläther-tetrahydrotubasäure, welche bei der Decarboxylierung in Methyläther-tetrahydrotubanol überging. Die Anwendung der PECHMANNschen Synthese auf diese Verbindung ergab in befriedigender Ausbeute das 7-Methoxy-8-isoamyl-cumarin, das mit dem Dihydro-osthol ident war, ein neuerlicher Beweis für die von mir angenommene Konstitution. Das von YAMASHITA dargestellte isomere 6-Isoamyl-7-methoxycumarin war mit dem Dihydro-osthol nicht identisch⁴⁵, was eine Ablehnung der BUTENANDTschen³⁸ Formel bedeutet.



⁴³ E. SPÄTH u. H. HOLZEN, Ber. dtsh. chem. Ges. **67** (1934) 264.

⁴⁴ E. SPÄTH, S. TAKEI u. SH. MIYAJIMA, Ber. dtsh. chem. Ges. **67** (1934) 262.

⁴⁵ M. YAMASHITA, Bull. chem. Soc. Japan **8** (1933) 276; Chem. Zbl. **1933**, II, 3573.



Wohl das Hauptcumarin der Meisterwurz ist das Ostruthin. Es bildet bei 118° schmelzende Kristalle, die fluoreszierende Lösungen liefern. Mehrere Autoren haben ihm die Bruttoformel $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_3$ zugeschrieben, eine Hydroxylgruppe durch Darstellung von Acylderivaten nachgewiesen und die Abwesenheit von Methoxylresten erkannt. Das Ostruthin erwies sich als ungesättigt und lieferte bei der Einwirkung von Salpetersäure Styphninsäure (Trinitro-resorcin), womit die Gegenwart eines Resorcinkomplexes nachgewiesen war³². Auch BUTENANDT³⁸ hat das Ostruthin näher untersucht. Durch Diazomethan erhielt er den Methyläther des Ostruthins, wodurch der phenolische Charakter der Hydroxylgruppe festgestellt war. Der Ostruthinmethyläther zeigte die Eigenschaften eines Cumarins, als das daher auch das Ostruthin selbst angesehen werden mußte, was HERZOG und KROHN³⁵ übersehen hatten. Wichtige Ergebnisse hat BUTENANDT bei der Chromsäureoxydation des Ostruthinmethyläthers erzielt. Er erhielt einen Aldehyd $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_4$, den Methyl-ostruthin-aldehyd, der weiter in die zugehörige Säure, die Methyl-ostruthin-säure, überging. Diese Säure war als Methoxycumarincarbonsäure aufzufassen, da sie bei der Decarboxylierung ein Methoxycumarin lieferte. Für diese Verbindung kam wegen des nachgewiesenen Resorcinrestes nur die Konstitution des 5- oder 7-Methoxycumarins in Betracht. Da die letztere Verbindung aber vom BUTENANDT'schen Methoxycumarin verschieden war, mußte sie ausgeschlossen und das noch nicht dargestellte 5-Methoxy-cumarin angenommen werden. Unter Berücksichtigung der Bruttoformel, der erhaltenen Ergebnisse und wegen eines vermuteten Zusammenhanges der Seitenkette mit Citronellal stellte BUTENANDT für das Ostruthin die unten angegebene Formel auf.

Unsere Untersuchungen⁴⁶ zeigten zunächst, daß die Verbrennungen besser auf die Zusammensetzung $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_3$ stimmten, welche also einen CH_2 -Rest mehr enthielt als die bisher angenommene. Die bereits mitgeteilte Bildung der Styphninsäure haben wir überprüft und als richtig erkannt. Während Ostruthin bei der Oxydation mit Salpetersäure neben Styphninsäure keine

⁴⁶ E. SPÄTH u. K. KLÄGER, Ber. dtsch. chem. Ges. 67 (1934) 859.

Bernsteinsäure lieferte, ergab die Oxydation des Hydro-ostruthins glatt Bernsteinsäure, was das Vorliegen eines Cumarins neuerlich bewies. Auch die aufspaltende Methylierung des O-Methylostruthins zeigte das typische Verhalten eines Cumarins. Damit war eine Doppelbindung des Ostruthins untergebracht. Die beiden übrigen, deren Anwesenheit durch die katalytische Hydrierung nachgewiesen wurde, mußten in einer Seitenkette stehen. Die Stellung dieser Seitenkette im Benzolkern konnten wir in der folgenden Weise sicher feststellen: Methylostruthin-aldehyd wurde über sein Oxim in das Nitril der Methylostruthin-säure umgewandelt, das man als ein Cyanmethoxy-cumarin ansehen durfte. Die Methoxylgruppe mußte wegen des Nachweises von Resorcin in der Stellung 5 oder 7 sich befinden, doch war 7 nach dem Ergebnis von BUTENANDT nicht wahrscheinlich. Ich habe unabhängig davon die Stellung des Cyan- und des Methoxylrestes bestimmt. Oxydiert man das Methylostruthinsäurenitril, so entsteht eine Cyanmethoxy-salicylsäure, die bei der Decarboxylierung in das Nitril der 2-Methoxy-4-oxy-benzoessäure übergeht. Die Konstitution dieses Cyanids ist wegen der Bildung aus 2-Methoxy-4-oxy-benzaldehyd außer Frage gestellt. Somit verblieben für das Nitril der Methylostruthinsäure nur mehr die Konstitutionsformeln des 5-Methoxy- und 7-Methoxy-6-cyancumarins. Die Entscheidung in dieser Frage lieferte uns die Oxydation der bei der aufspaltenden Methylierung des Ostruthins gebildeten Dimethoxyzimtsäure. Hierbei entstand eine Dicarbonsäure, die, verglichen in Form des charakteristischen Dimethylesters, identisch war mit dem Dimethyläther-dimethylester der sogenannten α -Reso-dicarbonsäure. Diese Säure ist bereits seit langem bekannt und sollte nach WAITZ⁴⁷ die Konstitution der 2.4-Dioxybenzol-1.3-dicarbonsäure besitzen. Diese Annahme ist aber nicht richtig, wie wir³⁹ in der folgenden Weise feststellen konnten: β -Resorcylsäure wurde nach einer Vorschrift von HEMMELMAYR zur 5-Nitro- β -resorcylsäure nitriert. Die Stellung 5 der Nitrogruppe konnte ich dadurch mit Sicherheit ermitteln, daß das durch Decarboxylierung entstehende Nitroresorcin durch Methylierung, Reduktion, SANDMEYER'sche Reaktion und Verseifung in 2.4-Dimethoxy-benzoessäure überging. Der Dimethyläther-methylester der somit in ihrer Konstitution gesicherten 5-Nitro- β -resorcylsäure wurde zur Aminoverbindung reduziert und die Aminogruppe gegen Cyan ausgetauscht. Der

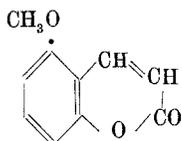
⁴⁷ P. WAITZ, Mh. Chem. 32 (1911) 427.

so erhaltene 2.4-Dimethoxy-5-cyan-benzoesäure-methylester gab durch Verseifen und neuerliches Methylieren den Dimethylester der 2.4-Dimethoxybenzol-1.5-dicarbonssäure, der mit dem Methylester der methylierten α -Resodicarbonssäure identisch war. Da somit die Unrichtigkeit der alten Formel der α -Resodicarbonssäure erwiesen war, mußte mit Rücksicht auf die ermittelte Konstitution dieser Säure das Methylostruthinsäurenitril als 6-Cyan-7-methoxycumarin formuliert werden. Die Hydroxylgruppe des Ostruthins steht also nicht, wie BUTENANDT annimmt, bei 5, sondern ist an der Stelle 7 angeordnet und die Seitenkette hängt bei 6 am Benzolkern.

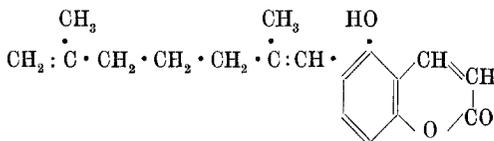
Zu klären blieb nun der Bau der ungesättigten aliphatischen Seitenkette, welche nach unseren Analysen 10 C-Atome aufweisen mußte, während BUTENANDT nur 9 C-Atome annahm. Die Oxydation des vollkommen hydrierten Ostruthins mit H_2O_2 ergab eine mit Wasserdampf flüchtige Säure, die nach der Analyse ihres kristallisierten Amids als eine Undecansäure unbekannter Konstitution zu betrachten war. Eine erste Auswahl unter den sehr zahlreichen Isomeriemöglichkeiten lieferte die Oxydation des nicht-hydrierten Ostruthins, wobei α -Oxyisobuttersäure auftrat. In Übereinstimmung damit entstand bei der Chromsäureoxydation des Ostruthinmethyläthers Aceton, wodurch auf eine Doppelbindung an einer Isopropylgruppe geschlossen werden konnte. Neben dem Methylostruthinaldehyd entstand bei dieser Reaktion ein flüchtiger Stoff von angenehmem Geruch, den BUTENANDT wohl beobachtet, aber nicht identifiziert hatte. Diese flüchtige Verbindung gab uns ein charakteristisches Semicarbazon, das mit dem des 2-Methylhepten-2-on-6 identisch war. Für die Undecansäure, in der die Doppelbindungen des Ostruthins hydriert sind, folgte aus den Spaltstücken Aceton, α -Oxyisobuttersäure und Methylheptenon die Formel der 4.8-Dimethylnonansäure-1. Diese Säure ließ sich aus Tetrahydrogeranyl bromid über das Cyanid darstellen und durch das Amid, Phenylhydrazid und p-Tolyldiazid mit der Abbausäure identifizieren. Über die Lage einer Doppelbindung gab die Bildung von Aceton und Methylheptenon bei der CrO_3 -Oxydation Aufschluß. Die zweite mußte so angeordnet sein, daß die Bildung des Methylheptenons erklärt werden konnte. Daß bei der CrO_3 -Oxydation keine Verbindung vom Typus einer Phenyllessigsäure, sondern ein Benzaldehydabkömmling auftrat, steht mit der angenommenen Konstitution in keinem Widerspruch.

Damit erscheint die von uns aufgestellte Formel des Ostruthins vollkommen bewiesen. Sie unterscheidet sich von der BUTE-

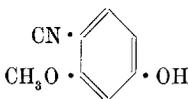
NANDT'schen durch einen CH_2 -Rest, die Stellung der Hydroxylgruppe, die Lage von Doppelbindungen und schließlich dadurch, daß unsere Befunde durch Darstellung und Konstitutionsermittlung aller erforderlichen Vergleichssubstanzen gesichert sind. Ostruthin ist somit ähnlich wie das Osthol ein Derivat des Umbelliferons. Die Seitenkette des Osthols steht an der Stelle 8 und hat 5 C-Atome, die des Ostruthins ist bei 6 angeordnet und enthält 10 C-Atome und beide Seitenketten stehen in naher Beziehung zum Isopren.



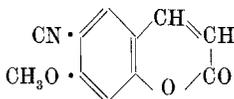
5-Methoxycumarin



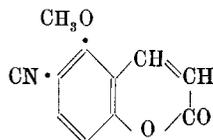
Ostruthin nach Butenandt (1932)



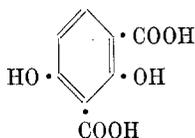
2-Methoxy-4-oxybenzonitril



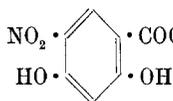
6-Cyan-7-methoxy-cumarin (Methyl-
ostruthinsäurenitril)



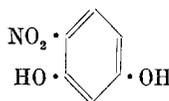
6-Cyan-5-methoxycumarin



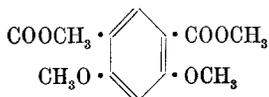
2.4-Dioxybenzol-1.3-dicarbonsäure (α -Resodicarbonsäure nach Waitz, 1911)



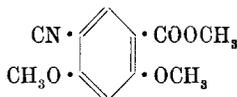
5-Nitro- β -resorcylsäure



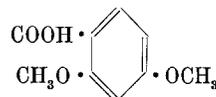
4-Nitroresorcin



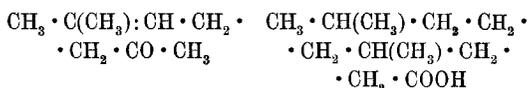
2.4-Dimethoxybenzol-1.5-dicarbonsäure-dimethylester = Dimethyläther-dimethylester der α -Resodicarbonsäure nach Späth, 1931



2.4-Dimethoxy-5-cyanbenzoesäuremethylester

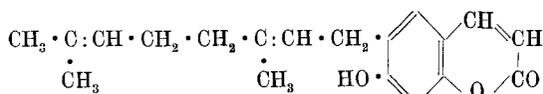


2.4-Dimethoxybenzoesäure



2-Methylhepten-2-on-6

4.8-Dimethylnonansäure-1



Ostruthin nach Späth (1934)

Natürliche Furo-cumarine.

Eine besonders interessante Klasse der natürlichen Cumarine bilden die Furocumarine. Wie schon der Name sagt, enthalten diese Verbindungen nicht nur den Cumarinring, sondern überdies noch einen Furankern, der nach Art des Cumarons zwei Kohlenstoffatome mit dem Benzolring gemeinsam hat. Von den 6 möglichen einfachen Furocumarinen sind zwei von uns (SPÄTH bzw. MANJUNATH) im Pflanzenreich entdeckt worden, nämlich das Angelicin⁴², das Furo-2'.3':7.8-cumarin, und das Psoralen⁴⁸, das Furo-2'.3':7.6-cumarin. Beide Verbindungen sind die Stammsubstanzen der bisher in der Natur aufgefundenen komplizierteren Furocumarine und andere einfache Furocumarintypen sind bis jetzt als Pflanzenstoffe noch nicht isoliert worden. Vom Angelicin leiten sich ab: Isobergapten und Pimpinellin, vom Psoralen hingegen stammen: Bergapten, Bergaptol, Isoimperatorin, Oxypeucedanin, Ostruthol, Xanthotoxin, Imperatorin, Isopimpinellin. Unbekannter Feinstruktur sind noch Sphondin und Sphondylin.

Die eine Stammsubstanz der Furocumarine, das Angelicin, fanden wir in einer officinellen Droge, in Radix Angelicae⁴². Das Angelicin ist eine Verbindung von der Formel $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_3$, die einen charakteristischen Geruch besitzt. Sie enthält keine Methoxylgruppe, ihr Hydrierungsprodukt lieferte bei der Oxydation mit Salpetersäure Bernsteinsäure. Das Angelicin zeigt das Verhalten eines Cumarins. Durch H_2O_2 -Oxydation des Angelicins wurde Furan-2.3-dicarbonsäure gewonnen, die von F. WESSELY⁴⁹ bei der Oxydation eines Furocumarins zuerst erhalten worden ist. Damit war nachgewiesen, daß das Angelicin unter Berücksichtigung der Bruttoformel ein einfaches, nicht substituiertes Furocumarin vorstellt. Um unter den 6 möglichen Isomeren, welche alle unbekannt waren, unterscheiden zu können, haben wir Angelicin in Pyridin mit KMnO_4 oxydiert und das rohe Oxydationsprodukt im Vakuum destilliert. So erhielten wir eine kleine Menge Umbelliferon (7-Oxycumarin), womit nicht nur der angenommene Cumarinring

⁴⁸ H. S. JOIS, B. L. MANJUNATH u. S. VENKATA RAO, J. Ind. chem. Soc. **10** (1933) 41; Chem. Zbl. **1033** II, 77.

⁴⁹ F. WESSELY u. F. KALLAB, Mh. Chem. **59** (1932) 161.

völlig bestätigt war, sondern auch die Stellung des dritten, dem Furankern angehörigen Sauerstoffatoms außer Frage gestellt wurde. Somit konnte Angelicin nur mehr die Formeln I oder II haben. Wir methylierten nun den Naturstoff mit Dimethylsulfat und Lauge zur entsprechenden Methoxyzimtsäure und oxydierten mit KMnO_4 . Das methylierte Oxydationsprodukt war nicht identisch mit dem Dimethylester der 2.4-Dimethoxybenzol-1.5-dicarbonsäure, so daß die Formel II ausgeschlossen war und dem Angelicin die Konstitution I zukommen mußte. Im Oxydationsprodukt des Angelicins konnte daher nur der Dimethyläther der 2.4-Dioxybenzol-1.3-dicarbonsäure vorliegen, eine Verbindung, die unbekannt war, da die α -Resodicarbonsäure, welche diese Konstitution früher zu Unrecht besaß, in Wirklichkeit die 2.4-Dioxybenzol-1.5-dicarbonsäure vorstellte⁵⁰. Die 2.4-Dimethoxybenzol-1.3-dicarbonsäure mußte aber aus dem aufspaltend methylierten Osthol, dessen Konstitution völlig feststeht⁴⁹, durch Oxydation zugänglich sein. Die Darstellung dieser Säure aus dem Osthol gelang und sie gab das gleiche Dianilid vom Schmp. 206—207° wie die Abbausäure des Angelicins.

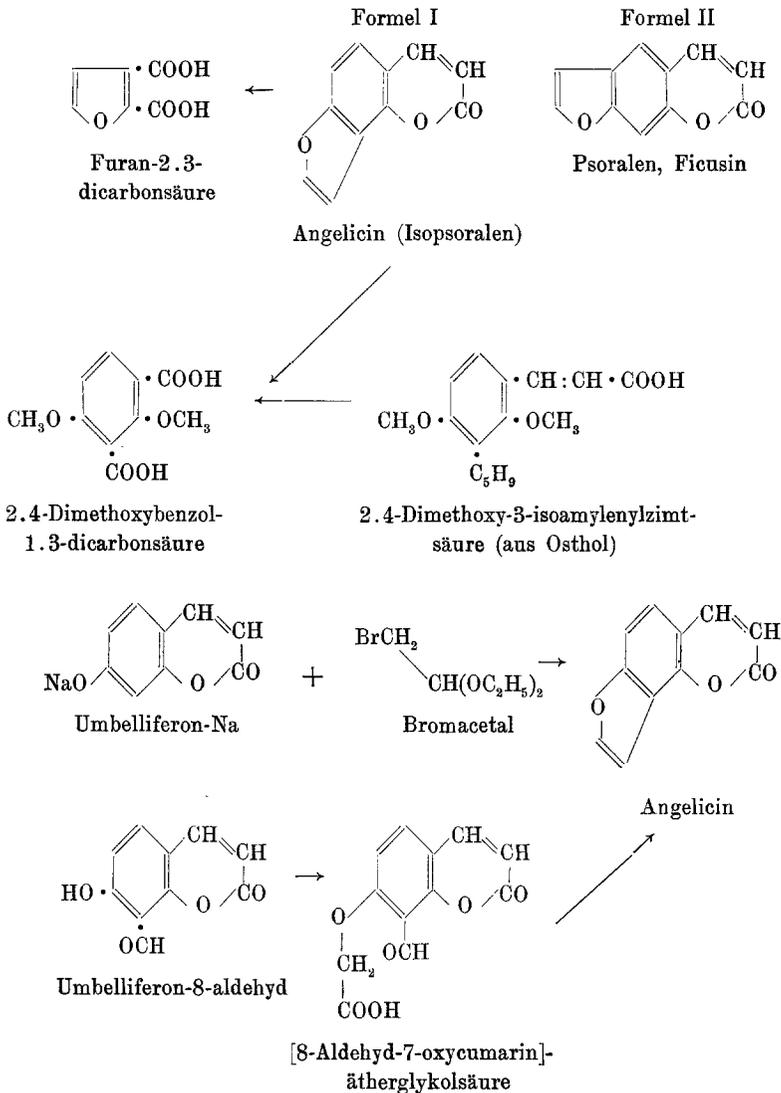
Das Angelicin hat demnach sicher die Formel des Furo-2'.3':7.8-cumarins⁴², die wir auch durch die Synthese bestätigen konnten. Hierzu erhitzten wir⁵⁰ zunächst Umbelliferonnatrium mit Bromacetal auf höhere Temperatur. Tatsächlich konnten wir hierbei in einer Ausbeute von etwa 0.1% die Bildung von Angelicin feststellen. Als Nebenprodukt trat reichlich der Äthyläther des Umbelliferons auf, der seinen Ursprung offenbar einer Zersetzung des Bromacetals verdankt. Eine bessere Synthese⁵¹ gelang in der folgenden Weise: In das Umbelliferon wurde mit Hexamethylen-tetramin eine Aldehydgruppe eingeführt, die in die Stellung 8 eintrat. Die Natriumverbindung dieses Stoffes wurde mit Jodessigester umgesetzt und die durch Verseifen gebildete Säure durch Erhitzen mit Essigsäureanhydrid zum Furanring geschlossen und unter Abspaltung von CO_2 Angelicin gebildet.

H. S. JOIS, B. L. MANJUNATH und S. VENKATA RAO⁵² konnten letzthin zeigen, daß eine Verbindung, die sie aus den Samen von *Psoralea corylifolia* L. dargestellt und Isopsoralen⁴⁸ benannt hatten, mit Angelicin identisch ist. Es ist demnach zu erwarten, daß das Angelicin im Pflanzenreich weiter verbreitet vorkommt.

⁵⁰ E. SPÄTH u. M. PAILER, Ber. dtsch. chem. Ges. **67** (1934) 1212.

⁵¹ E. SPÄTH u. M. PAILER, Ber. dtsch. chem. Ges. **68** (1935) 940.

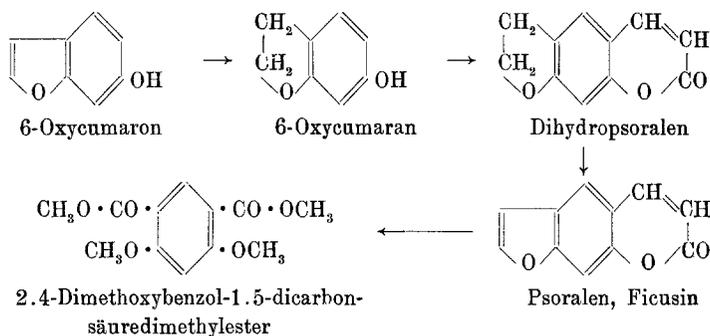
⁵² H. S. JOIS u. B. L. MANJUNATH, Ber. dtsch. chem. Ges. **69** (1936) 964.



Die zweite Stammsubstanz der natürlichen Furocumarine ist das Psoralen, das die indischen Chemiker H. S. JOIS, B. L. MANJUNATH und S. VENKATA RAO im Öl von *Psoralea corylifolia* L. entdeckt haben⁴⁸. Wir hatten inzwischen unabhängig von diesen Arbeiten ein Furocumarin von den Eigenschaften des Psoralens synthetisch dargestellt. Hierzu verwandelten wir 6-Oxycumaron durch Hydrierung in 6-Oxycumaran, führten nun die Pechmannsynthese durch und dehydrierten das erhaltene Cumarin zu einer Verbindung von der Formel II. Bemerkenswert ist, daß wir hier

und im Falle der Synthese des Xanthotoxins zum erstenmale durch Palladiummohr einen partiell hydrierten Furanring zu einem echten Furankomplex dehydrierten. Wir haben uns nun mit den indischen Kollegen zu einer gemeinsamen Arbeit⁵³ vereinigt und festgestellt, daß die von uns synthetisch dargestellte Verbindung mit dem natürlichen Psoralen identisch war. Zur weiteren Sicherung der angenommenen Formel des Psoralens haben wir dieses Furocumarin zu einer Methoxyzimtsäure aufspaltend methyliert und nachher oxydiert, wobei nach erfolgter Methylierung die Bildung des Dimethylesters der 2.4-Dimethoxybenzol-1.5-dicarbonsäure bewiesen werden konnte.

K. OKAHARA^{53a} fand in den Blättern des Feigenbaumes (*Ficus carica*) das Ficusin, das nach den Ergebnissen des Abbaues, wie Oxydation zur Furan-2.3-dicarbonsäure und zur α -Resodicarbonsäure, die gleiche Formel wie das Psoralen besitzt und daher mit diesem identisch sein mußte.



Zwei weitere Furocumarine sind das Bergapten und das Xanthotoxin. Das Bergapten wurde vor etwa 100 Jahren im Stearopten des Bergamottöles entdeckt⁵⁴. THOMS⁵⁵ fand diese Verbindung 1911 auch im Wasserdampfdestillat einer Rutacee, von *Fagara xanthoxyloides*. Schließlich konnte ich⁵⁶ vor kurzem zeigen, daß die Samen von *Heracleum Sphondylium* gleichfalls Bergapten enthalten, welches früher mit einer unrichtigen Formel Heraclin genannt wurde. Auch im Blatt von *Ficus carica* soll

⁵³ E. SPÄTH, B. L. MANJUNATH, M. PAILER u. H. S. JOIS, Ber. dtsh. chem. Ges. **69** (1936) 1087.

^{53a} K. OKAHARA, Bull. chem. Soc. Japan **11** (1936) 389.

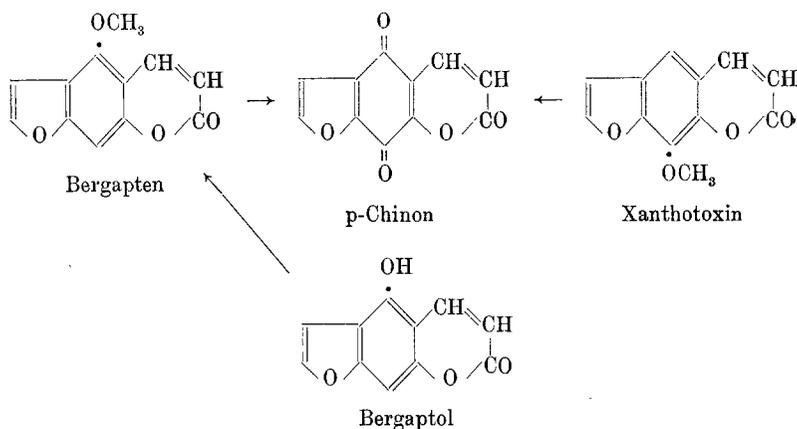
⁵⁴ H. KALBRUNNER, Baumg. Z. **3** (1834) 367; Chem. Zbl. **1835**, 268. — C. OHME, Liebigs Ann. Chem. **31** (1839) 320.

⁵⁵ H. THOMS (z. T. mit ROST), Ber. dtsh. chem. Ges. **44** (1911) 3325.

⁵⁶ E. SPÄTH u. S. RASCHKA, Ber. dtsh. chem. Ges. **67** (1934) 62.

Bergapten enthalten^{53a} sein. Aus Fagara wurde ein ähnlicher Stoff, das Xanthotoxin, gewonnen⁵⁷. Beide Verbindungen besaßen die gleiche Bruttoformel, $C_{12}H_8O_4$.

POMERANZ⁵⁸, der das Bergapten näher untersuchte, erkannte die Cumarinnatur dieser Verbindung, stellte die Anwesenheit einer Methoxylgruppe fest, fand bei der Kalischmelze Phloroglucin und formulierte diesen Naturstoff als Furocumarin. Die Konstitution des Xanthotoxins hat THOMS⁵⁵ bewiesen. Es zeigte das Verhalten eines Cumarins, gab bei der Kalischmelze die Pyrogallolcarbonsäure und lieferte bei der Oxydation seines Aminoderivates unter Verlust der Methoxylgruppe ein typisches p-Chinon⁵⁹. Da aus Bergapten das gleiche p-Chinon entstand⁵⁹, war die Konstitution dieser Furocumarine entsprechend folgenden Formeln ermittelt:



Im Bergamottöl fanden wir ferner ein Furocumarin, das den Aufbau des Bergapten aufwies und nur die Methoxylgruppe durch eine phenolische Hydroxylgruppe ersetzt hatte⁶⁰. Wir nannten es Bergaptol. Durch die Methylierung lieferte es Bergapten.

Um die nicht leicht durchführbare Synthese dieser Furocumarine haben sich in den letzten 15 Jahren verschiedene For-

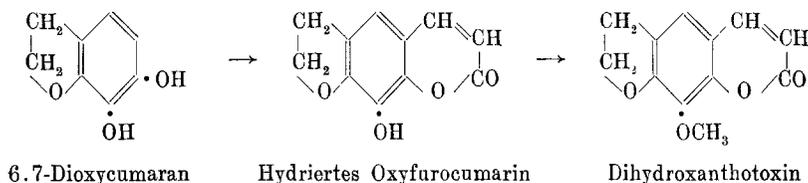
⁵⁷ H. PRIESS, Ber. dtsch. pharm. Ges. **21** (1911) 227. — H. THOMS u. H. PRIESS, Chem.-Ztg. **34** (1910) 1279.

⁵⁸ C. POMERANZ, Mh. Chem. **12** (1891) 379; **14** (1893) 28.

⁵⁹ H. THOMS u. E. BAETCKE, Ber. dtsch. chem. Ges. **45** (1912) 3705.

⁶⁰ E. SPÄTH u. L. SOCIAS, Ber. dtsch. chem. Ges. **67** (1934) 59.

schers bemüht, ohne das Ziel zu erreichen⁶¹. Zur künstlichen Darstellung des Xanthotoxins habe ich⁶² 6.7-Dioxy-cumaran mit Äpfelsäure zu einem partiell hydrierten Oxy-furocumarin kondensiert, dessen Methyläther durch Dehydrierung mittels Pd-Mohr in Xanthotoxin übergeführt werden konnte.



Es ist selbstverständlich, daß diese immerhin komplizierten Wege der Synthese, wie etwa beim Angelicin, Psoralen und Xanthotoxin, erst versucht wurden, nachdem näherliegende sich als ungangbar erwiesen hatten. Es muß übrigens erwähnt werden, daß die Synthesen der im Furanring nicht substituierten Furocumarine, wie aus den Vorarbeiten von KARRER⁶¹ und anderen Forschern hervorgeht, große Schwierigkeiten bereiten. Wir wissen auch noch nicht sicher, wie die Pflanzen, speziell die Umbelliferen, die beträchtlichen Mengen dieser Verbindungen aufbauen. Wir befinden uns bei diesem Problem auf einem ähnlichen Standpunkte wie bei der Bildung der Alkaloide in den Pflanzen, wo vielfach Vorstellungen geäußert und durch chemische Versuche belegt wurden, die nur als Vorarbeiten gewertet werden müssen. Es wird unbedingt notwendig sein, diese Hypothesen an der lebenden Pflanze zu studieren. Unbekannt ist auch, welche Bedeutung die Cumarine, besonders die geruchlosen Oxy- und Furocumarine, für die Pflanze besitzen.

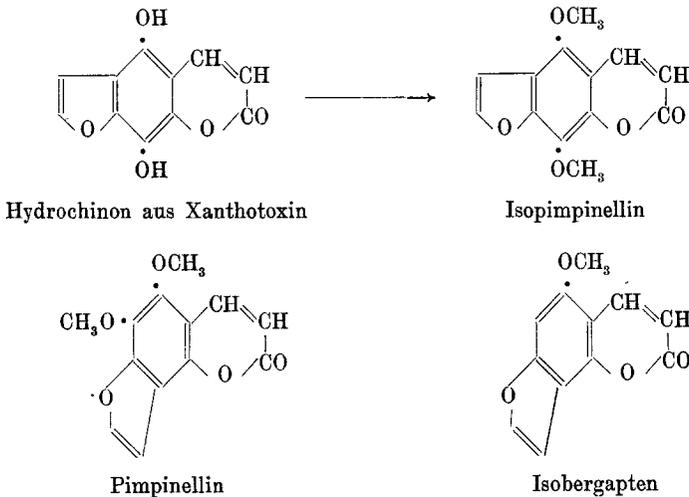
In *Pimpinella saxifraga*, die gleichfalls zu den Umbelliferen gehört, fanden FRITZ WESSELY und Mitarbeiter mehrere Inhaltsstoffe, die sie als Furocumarine erkannten, nämlich Pimpinellin, Isopimpinellin⁴⁹ und Isobergapten⁶³.

⁶¹ P. KARRER, A. GLATTFELDER u. F. WIDMER, *Helv. chim. Acta* **3** (1920) 541. — P. KARRER, A. RUDLINGER, A. GLATTFELDER u. L. WAITZ, *Helv. chim. Acta* **4** (1921) 718. — D. B. LIMAYE, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **65** (1932) 375. — J. N. RAY, S. S. SILOOJA u. V. R. VAID, *J. chem. Soc. London* **1935** 813. — M. YAMASHITA, *Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ.* [1] **24** (1935) 202; *Chem. Zbl.* **1936**, I, 337. — K. W. MERZ u. J. HOTZEL, *Arch. Pharm.* **274** (1936) 292.

⁶² E. SPÄTH u. M. PAILER, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **69** (1936) 767.

⁶³ F. WESSELY u. E. NADLER, *Mh. Chem.* **60** (1932) 141.

Die für das altbekannte⁶⁴ Pimpinellin angenommene Konstitution eines Naphthalinderivates⁶⁵ konnte WESSELY als unrichtig erweisen. Da sowohl Pimpinellin als auch Isopimpinellin bei der Oxydation durch alkalisches H_2O_2 , Furan-2.3-dicarbonsäure gaben⁴⁹, war das Vorhandensein eines Furanringes außer Zweifel gestellt. Bei der aufspaltenden Methylierung der Hydrierungsprodukte der beiden Cumarine trat die gleiche Methyläthersäure auf. Dieser Befund, die Bruttoformeln und das Vorhandensein von je 2 Methoxylresten erlaubte die Aufstellung von 2 Isomerenpaaren für diese Naturstoffe. Die Auswahl gab die Reduktion und Methylierung des von THOMS⁵⁹ aus Bergapten und Xanthotoxin dargestellten Chinons. Diese Reaktion lieferte einen Dimethyläther, der mit Isopimpinellin identisch war, wodurch für das Pimpinellin nur mehr die angeführte Formel übrig blieb.



Da der dritte, von WESSELY entdeckte, Inhaltsstoff der Radix Pimpinellae, das Isobergapten, bei der aufspaltenden Methylierung seines Dihydroproduktes die gleiche Dihydro-methyläthersäure lieferte wie das Bergapten, da er ferner die gleiche Bruttoformel besaß und wie dieses eine Methoxygruppe hatte, war auch die Konstitution des Isobergaptens bestimmt⁶³. Wir werden demnächst zusammen mit F. WESSELY über die Synthese dieser Verbindungen berichten.

⁶⁴ R. BUCHHEIM, Arch. Pathol. 1872, 37; Wittsteins Vierteljahrschr. 22 (1873) 481.

⁶⁵ J. HERZOG u. V. HÄNCU, Arch. Pharm. 246 (1908) 402.

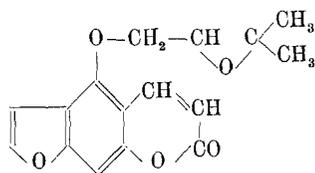
Bei sorgfältiger Aufarbeitung genügender Mengen Meisterwurz erhält man neben den schon genannten Inhaltsstoffen Osthol und Ostruthin außerdem noch Oxypeucedanin, Ostruthol, Imperatorin und Isoimperatorin. Man darf aber annehmen, daß noch andere ähnliche Stoffe in der Meisterwurz enthalten sind.

Das Oxypeucedanin ist schon seit fast 100 Jahren bekannt. Damals hat es ERDMANN³⁴ aus Peucedanum officinale, das gleichfalls eine Umbellifere ist, neben dem Peucedanin isoliert und es fälschlich als Oxydationsprodukt des Peucedanins angesehen und benannt. Erst 1875 wurde das Oxypeucedanin auch in der Meisterwurz, und zwar reichlich, aufgefunden³⁵. Die Analyse wurde von verschiedenen Autoren vorgenommen, doch hat erst BUTENANDT³⁶ im Jahre 1932 die richtige Zusammensetzung $C_{16}H_{14}O_6$ erkannt, die ich bestätigte⁶⁶. HERZOG und KROHN haben die Lactonnatur des Oxypeucedanins festgestellt³⁵, welches BUTENANDT als Cumarin formulierte. HERZOG und KROHN haben schließlich noch ein Hydrat des Oxypeucedanins und daraus durch Wasserabspaltung ein Isooxypeucedanin dargestellt. Für den Zusammenhang zwischen Oxypeucedanin, Oxypeucedaninhydrat und Isooxypeucedanin nahm BUTENANDT³⁶ im Oxypeucedanin eine Doppelbindung in Nachbarschaft zu einer Hydroxylgruppe an, während im Isooxypeucedanin eine Ketogruppe vorhanden ist. Außerdem glaubte BUTENANDT, die Anwesenheit einer Methylendioxygruppe nachgewiesen zu haben, und stellte für das Oxypeucedanin eine Konstitutionsformel auf, die in wesentlichen Punkten von der tatsächlichen abweicht³⁶.

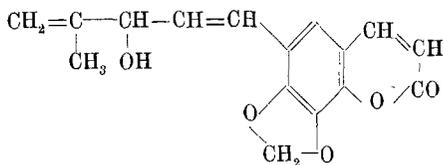
Unsere Arbeit⁶⁶ lieferte folgende Ergebnisse: Oxypeucedanin ließ sich katalytisch hydrieren und sein Hydrierungsprodukt gab bei der Oxydation mit Salpetersäure Bernsteinsäure, wogegen aus Oxypeucedanin bei der Salpetersäureoxydation diese Verbindung nicht entstand. Die Kalischmelze lieferte Phloroglucin, was die Annahme von BUTENANDT, daß das Oxypeucedanin ein Derivat des Pyrogallols sei und eine Methylendioxygruppe enthalte, unmöglich machte. Unsere ZEREWITINOFF-Bestimmung des Oxypeucedanins bewies, daß das Oxypeucedanin keinen aktiven Wasserstoff, also auch keine Hydroxylgruppe besitzen konnte. Zwei Sauerstoffatome waren im Lactonring vorhanden, die restlichen mußten, da auch Ketonreaktionen negativ verliefen, in Form von Äthersauerstoffatomen anwesend sein. Da wir die Möglichkeit in

⁶⁶ E. SPÄTH u. K. KLÄGER, Ber. dtsh. chem. Ges. **66** (1933) 914.

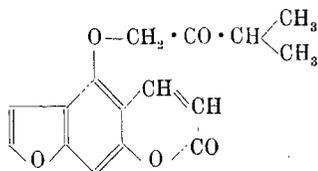
Betracht zogen, daß eines davon in einem Furanring vorhanden sei, oxydierten wir mit H_2O_2 in alkalischer Lösung und erhielten Furan-2.3-dicarbonsäure, womit diese Annahme bewiesen war. Wir haben uns überzeugt, daß nicht etwa der Cumarinring durch eine an sich durchaus denkbare Ringverengerung Veranlassung zur Bildung der Furan-2.3-dicarbonsäure gibt, indem wir einen Versuch mit Umbelliferon durchführten, der aber negativ verlief. Oxypeucedanin mußte demnach ein Furocumarinderivat sein. Eine weitere Aufklärung brachte die Einwirkung von Eisessig-Schwefelsäure auf Oxypeucedanin. Hierbei entstand eine phenolische Verbindung, die bei der Methylierung Bergapten lieferte. Damit war das genannte Phenol als Bergapton⁶⁰ erkannt und es war zu erwarten, daß an der phenolischen Hydroxylgruppe der noch fehlende Rest mit 5 C-Atomen gebunden ist. Dieser Rest ist es, der bei der CrO_3 -Oxydation Aceton gibt und für die Bildung des Oxypeucedaninhydrates und des Isooxypeucedanins verantwortlich gemacht werden muß. Da die letztgenannte Verbindung ein Keton war und bei der Oxydation mit H_2O_2 Isobuttersäure lieferte, konnte die Seitenkette des Ketons nur eine Konstitution haben, nämlich $-CH_2 \cdot CO \cdot CH(CH_3)_2$. Für das Oxypeucedaninhydrat war, da es bei der Wasserabspaltung Isooxypeucedanin lieferte, die untenstehende Formel anzunehmen. Schließlich war im Oxypeucedanin, das kein reaktionsfähiges Wasserstoffatom hat und unter milden Bedingungen nicht acetylierbar ist, eine Äthylenoxybindung und damit folgende Formel anzunehmen:



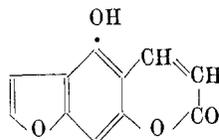
Oxypeucedanin (Späth, 1933)



Oxypeucedanin (Butenandt, 1932)



Iso-oxypeucedanin



Bergapton

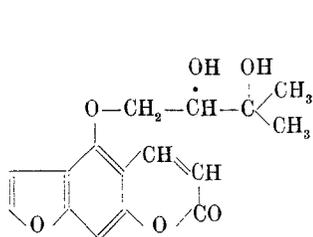
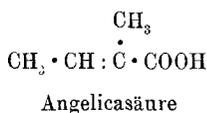
⁶⁷ E. SPÄTH u. A. V. CHRISTIANI, Ber. dtsch. chem. Ges. **66** (1933) 1150.

Diese Formel wurde durch die Teilsynthese des Oxypeucedanins aus Isoimperatorin weiter bewiesen³⁷.

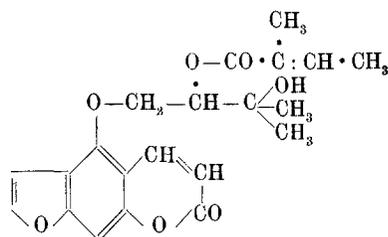
Ein weiterer Inhaltsstoff der Meisterwurz ist das Ostruthol. Es besitzt nach den Arbeiten von HERZOG und KROHN³⁵ die Bruttoformel $C_{24}H_{24}O_8$, während wir⁶⁷ für diese Verbindung die Zusammensetzung $C_{21}H_{22}O_7$ feststellen konnten. Das Ostruthol gab nach der Hydrierung bei der Oxydation mit Salpetersäure Bernsteinsäure, während vor der Hydrierung diese Säure nicht erhalten werden konnte. Mittels H_2O_2 wurde Furan-2.3-dicarbon-säure gebildet, mit $KMnO_4$ entstand α -Oxyisobuttersäure. Das Ostruthol war zum Unterschied von den übrigen bisher bekannten Cumarinen der Meisterwurz optisch aktiv. Bei der Verseifung mit methylalkoholischer Kalilauge wurde Ostruthol in eine bei 131° schmelzende Verbindung und in eine flüchtige Säure gespalten, welche mit Angelicasäure identisch war. Da das erste Spaltstück die Zusammensetzung $C_{16}H_{16}O_6$ aufwies, wurde die Bruttoformel scharf bewiesen. Bei der Einwirkung von Eisessig und Schwefelsäure auf die bei 131° schmelzende Verbindung entstand wie beim Oxypeucedanin Bergaptol und daraus durch Methylierung Bergapten. Damit war bewiesen, daß Oxypeucedanin und Ostruthol wenigstens in einem Teil ihres Aufbaues weitgehende Ähnlichkeit besitzen, ja es schien sogar zunächst wahrscheinlich, daß die aus Ostruthol erhaltene Verbindung $C_{16}H_{16}O_6$ mit dem bei 134° schmelzenden Oxypeucedaninhydrat identisch wäre. Tatsächlich ergab eine Mischprobe keine Erniedrigung des Schmp., doch unterschied sich das Oxypeucedaninhydrat aus dem optisch aktiven Ostruthol von dem aus dem inaktiven Oxypeucedanin bereiteten dadurch, daß es optisch aktiv war. Um eine einwandfreie Identifizierung zu ermöglichen, wurde aus dem optisch aktiven Oxypeucedaninhydrat durch Umlagerung das Keton, das Isooxypeucedanin, dargestellt, das kein Asymmetriezentrum mehr besitzt und nun mit dem aus Oxypeucedanin gewonnenen vollkommen identisch ist. Das Ostruthol stellt sonach einen Angelicasäureester des optisch aktiven Oxypeucedaninhydrates vor. Wir geben von den beiden Möglichkeiten derjenigen den Vorzug, bei welcher das sekundäre Hydroxyl verestert und das tertiäre frei ist⁶⁷.

Die von uns in der Meisterwurz entdeckten Naturstoffe Imperatorin³⁶ und Isoimperatorin³⁷ wiesen die gleiche Bruttoformel, nämlich $C_{16}H_{14}O_4$, auf, unterschieden sich also vom Oxy-

peucedanin durch den Mangel eines O-Atomes. Sie waren optisch inaktiv, enthielten kein methylierbares oder acetylierbares Hydroxyl und gaben bei der Bestimmung von ZEREWITINOFF kein Methan. Sie

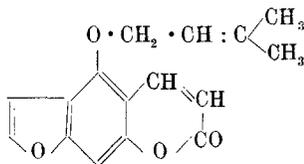


Oxypeucedaninhydrat

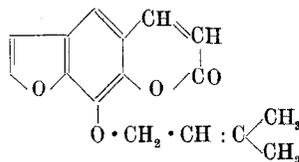


Ostruthol

zeigten durchaus das Verhalten von Cumارين. Mit H_2O_2 entstand Furan-2.3-dicarbonsäure. Durch Einwirkung von Eisessig-Schwefelsäure wurden 2 Verbindungen erhalten; ein flüchtiger, ungesättigter Stoff, der nach der Hydrierung eine Verbindung gab, die durch Veresterung mit Trinitrobenzoesäure als Isoamylalkohol identifiziert wurde, und daneben aus jedem ein Phenol von der Formel $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{O}_4$. Das aus dem Isoimperatorin erhaltene erwies sich als Bergaptol, wie die Methylierung zum Bergapten zeigte. Da das Phenol aus Imperatorin durch Methylierung in Xanthotoxin überging, nannten wir es Xanthotoxol. Aus diesen Umsetzungen geht die Konstitution des Isoimperatorins und des Imperatorins klar hervor.



Isoimperatorin



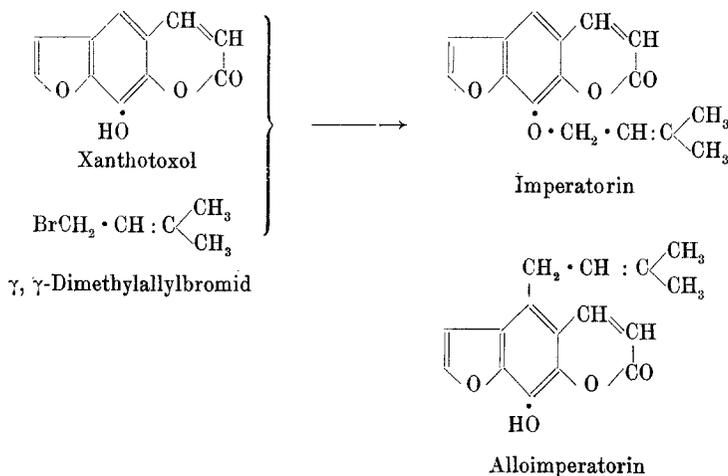
Imperatorin

Das Isoimperatorin unterscheidet sich also vom Oxypeucedanin nur dadurch, daß an Stelle des Äthylenoxydringes eine Doppelbindung vorhanden ist. Es war daher zu hoffen, daß durch Einwirkung von Benzopersäure auf Isoimperatorin Addition von

Sauerstoff an die Doppelbindung und Bildung von Oxypeucedanin eintreten werde. Diese Umsetzung³⁷ verlief glatt und gab eine Verbindung, die mit dem natürlichen Oxypeucedanin identisch war. Vielleicht tritt auch in der Pflanze eine ähnliche Reaktion durch Persäuren oder durch Autoxydation des Isoimperatorins ein. Es ist denkbar, daß Imperatorin und Isoimperatorin aus den Phenolen durch Einwirkung von Isopren gebildet werden.

Auch Imperatorin gab ein ähnliches Oxy-imperatorin⁶⁸, das übrigens auch in der Meisterwurz vorhanden sein dürfte. Jedenfalls zeigen die Meisterwurzlactone eine ähnliche Variationsfreudigkeit wie etwa die Opium- oder Cacteenalkaloide.

Wir haben auch eine Synthese des Imperatorins ausgeführt⁶⁸. Ausgehend von dem uns synthetisch zugänglichen Xanthotoxol wurde in dissoziierenden Lösungsmitteln die Umsetzung des Natriumsalzes mit γ , γ -Dimethylallylbromid vorgenommen, wobei Imperatorin erhalten wurde. Wie der Naturstoff ging auch dieses bei der Destillation bei schlechterem Hochvakuum in ein Isomeres, das Alloimperatorin über, für welches die untenstehende Konstitution exakt festgestellt werden konnte³⁶. Es wandert also der ungesättigte Rest vom Sauerstoff an den Benzolkern in p-Stellung und gibt dabei ein phenolisches Produkt.



Wir haben gesehen, daß häufig in einem Pflanzenmaterial mehrere Cumarine vorhanden sind und daß sie zumeist nur mit großen Schwierigkeiten voneinander völlig getrennt werden können.

⁶⁸ E. SPÄTH u. H. HOLZEN, Ber. dtsh. chem. Ges. 68 (1935) 1123.

Um solche mühsame Arbeiten anzuregen und vielleicht auch zu erleichtern, haben wir die Wurzel von *Heracleum Sphondylium* auf ihre Cumarine möglichst quantitativ geprüft⁶⁹. Wir erhielten insgesamt 1'32% an Cumarinen; davon wurden 1'10% in kristallisierter Form völlig rein isoliert, u. zw.: 0'49% Pimpinellin, 0'23% Isopimpinellin, 0'10% Isobergapten, 0'23% Sphondylin und 0'05% Sphondin. Die beiden letzteren, bisher unbekanntes Stoffe haben die Bruttoformel des Bergaptens und besitzen wie dieses eine Methoxylgruppe. Sie sind Furocumarine mit noch nicht ermittelter Konstitution. Während in den Samen dieser Pflanze Bergapten vorhanden ist⁵⁶, enthält die Wurzel keine merkliche Menge dieser Verbindung.

Natürliche, im Furankern substituierte Furocumarine.

Zu dieser interessanten Gruppe der natürlichen Furocumarine zählt vor allem das Peucedanin. Es wurde 1833 von SCHLATTER⁷⁰ im Wurzelstock von *Peucedanum officinale* entdeckt und von mehreren Forschern^{33, 34, 71, 72} untersucht. Diese fanden, daß es unter Abspaltung einer Methylgruppe leicht zu einer kristallisierten Verbindung, Oreosolon, verseift wird. Die Rückmethylierung des Oreosolons zum Peucedanin ist bisher nicht gelungen. Peucedanin enthält einen Resoreinkern, da es bei der Behandlung mit Salpetersäure Styphninsäure, mit Ätzkali Resorein liefert. Die von den älteren Autoren vermutete Konstitutionsformel⁷² war von den wirklichen Verhältnissen weit entfernt.

Bei der katalytischen Hydrierung des Oreosolons bekamen wir³⁹ eine Dihydroverbindung, die unter Wasseraufnahme in eine Oxysäure überging, durch Erhitzen aber wieder ringgeschlossen werden konnte. Oxydation dieser Dihydroverbindung mit Salpetersäure gab wie die anderer Dihydrocumarine Bernsteinsäure, bei der mild durchgeführten Kalischmelze wurde unter den Spaltprodukten des Dihydrooreosolons Dihydroumbelliferon aufgefunden⁷³. Die Kaliumpermanganatoxydation des Oreosolons gab je nach den Bedingungen und der Menge des Oxydationsmittels

⁶⁹ E. SPÄTH u. A. F. J. SIMON, *Mh. Chem.* **67** (1936) 344.

⁷⁰ C. H. SCHLATTER, *Liebigs Ann. Chem.* **5** (1833) 201.

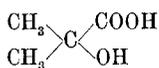
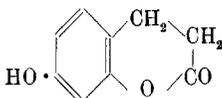
⁷¹ A. JASSOY u. P. HAENSEL, *Arch. Pharm.* **236** (1898) 662. — M. POPPER, *Mh. Chem.* **19** (1898) 268.

⁷² H. HLASIWETZ u. H. WEIDEL, *Liebigs Ann. Chem.* **174** (1874) 76.

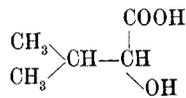
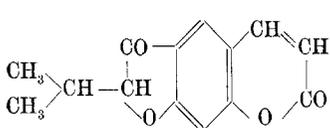
⁷³ E. SPÄTH u. K. KLAGER, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **66** (1933) 749.

α -Oxyisobuttersäure oder α -Resodicarbonsäure, welche, wie wir feststellten, die 2.4-Dioxybenzol-1.5-dicarbonsäure vorstellt. Diese Ergebnisse bewiesen, daß im Oreoselon das Gerüst des Umbelliferons (7-Oxycumarins) vorhanden ist, welches an der Stelle 6 eine aus 5 Kohlenstoffatomen bestehende Seitenkette trägt. Dieselbe konnte die Struktur $-\text{CO}-\text{CH}-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ besitzen. Da das

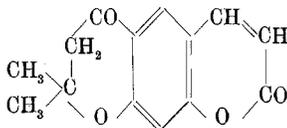
Phenolhydroxyl des Umbelliferons im Oreoselon nicht als solches vorhanden ist, mußte man annehmen, daß es durch den in 6 befindlichen Rest ätherartig abgebunden ist. Hiefür waren 2 Formeln möglich; die eine enthielt einen substituierten Furanring, die zweite, Formel III, einen ebenfalls möglichen Sechsring. Die Entscheidung brachte eine sehr vorsichtige Oxydation⁷³ des Oreoselons mit KMnO_4 , wobei die α -Oxyisovaleriansäure aufgefunden wurde. Es mußte also in α -Stellung zur CO-Gruppe der Seitenkette ein Sauerstoffatom vorhanden sein, was nur mit der erstgenannten Formel in Einklang steht.

 α -Oxyisobuttersäure

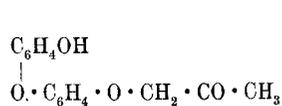
Dihydrumbelliferon

 α -Oxyisovaleriansäure

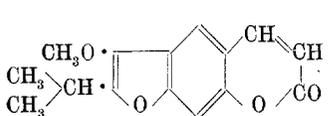
Oreoselon (Späth, 1931)



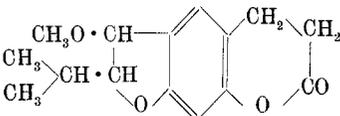
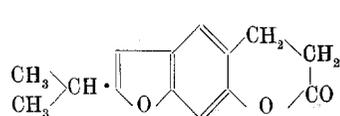
Formel III



Peucedanin (Hlasiwetz, 1874)



Peucedanin

Tetrahydro-
peucedaninWasserabspaltungsprodukt aus
Tetrahydropeucedanin (Isopropyl-
dihydropsoralen)

Peucedanin stellt nach den Analysenergebnissen den Methyläther des Oreoselons vor. An Hand der von uns ermittelten Formel des Oreoselons ist ein solcher Äther nur möglich, wenn das Oreoselon in der Enolform reagiert. Wir schreiben daher dem Peucedanin die obenstehende Formel zu; diese erklärt die sehr

leichte Verseifbarkeit des Peucedanins zum Oreoselon, die bekanntlich auch bei anderen Enoläthern zu beobachten ist. Das Peucedanin nimmt der angenommenen Formel gemäß bei der katalytischen Hydrierung 4 H-Atome auf unter Bildung einer Verbindung, des nicht isolierten Tetrahydropeucedanins, welche bei der Hochvakuumdestillation Methylalkohol abspaltet, wobei ein echter Furankern entsteht. Das Peucedanin ist also ein Furocumarin, das im Furanring eine Isopropylgruppe und einen Methoxylrest trägt. Wir hoffen, daß unsere synthetischen Versuche die ermittelten Formeln bald bestätigen werden, müssen aber zugeben, daß hier besondere Schwierigkeiten vorliegen. Auch YAMASHITA hat bisher seine Bemühungen betreffs einer Oreoselonsynthese⁷⁴ nicht erfolgreich abschließen können.

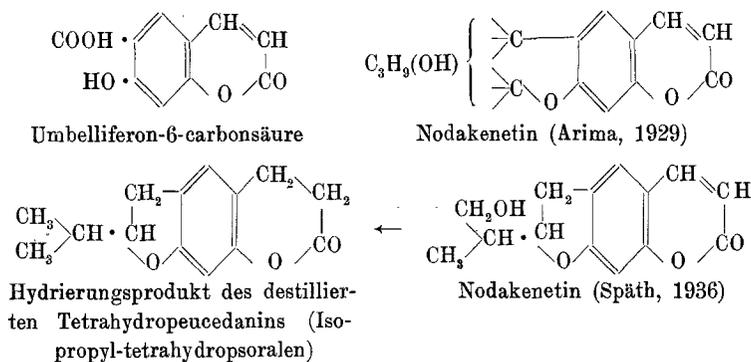
Wir stellten des weiteren fest, daß noch mehrere der bereits bekannten, aber noch nicht vollkommen untersuchten Naturstoffe in die Gruppe der Cumarine gehören. So fand ARIMA⁷⁵ in der japanischen Droge Peucedanum decursivum („Nodake“) das Glucosid Nodakenin, das bei der Spaltung in Glucose und Nodakenetin, $C_{14}H_{14}O_4$, zerfällt. Da bei der milden Oxydation dieses Aglucons Umbelliferon-6-carbonsäure entstand, gelangte ARIMA zu einer Partialformel, welche uns die nahe Verwandtschaft der Verbindung mit Oreoselon nahelegen schien. Wir⁷⁶ haben daher die Untersuchung des Nodakenetins aufgenommen und fanden unsere Hypothese bestens bestätigt. Bei der Abspaltung von Wasser aus Nodakenetin trat eine kristallisierte Verbindung auf, die bei der katalytischen Mikrohydrierung nach der an meinem Institut ausgearbeiteten Methode von H. BRETSCHNEIDER und G. BURGER⁷⁷ die für 2 Doppelbindungen berechnete Menge Wasserstoff aufnahm und dabei ein Hydrierungsprodukt lieferte, das mit dem des destillierten Tetrahydropeucedanins, welches auch als Tetrahydro-isopropylpsoralen aufgefaßt werden kann, nach der Mischprobe identisch war. Da die Hydroxylgruppe des Nodakenetins nach ihrem ganzen Verhalten weder sekundär noch tertiär, sondern nur primär sein kann, ergab sich uns folgende Konstitution des Nodakenetins⁷⁶:

⁷⁴ M. YAMASHITA, Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ. [1] **24** (1935) 205; Chem. Zbl. **1936**, I, 338.

⁷⁵ J. ARIMA, Bull. chem. Soc. Japan **4** (1929) 16, 113; Chem. Zbl. **1929**, I, 1698, II, 752.

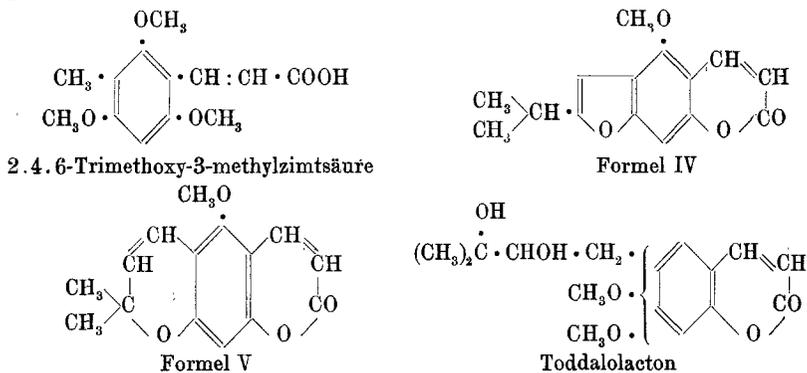
⁷⁶ E. SPÄTH u. P. KAINRATH, Ber. dtsh. chem. Ges. **69** (1936) 2062.

⁷⁷ H. BRETSCHNEIDER u. G. BURGER, noch nicht publiziert.



Bei der Untersuchung einer von GORDIN⁷⁸ aus Xanthoxylyon americanum gewonnenen Verbindung gelangte ROBERTSON⁷⁹, der sie Xanthoxyletin benannt hat, zu einem Abbauprodukte, das mit 2.4.6-Trimethoxy-3-methylzimtsäure identisch war. Da unter den Oxydationsprodukten des Xanthoxyletins Aceton und α -Oxyisobuttersäure aufgefunden wurden, hat ROBERTSON für den Naturstoff die Formeln IV und V in Betracht gezogen, welche unserer vor 5 Jahren bewiesenen Struktur des Peucedanins sehr nahe stehen.

In der Lopez-Rinde (Wurzelrinde von *Toddalia aculeata*, Rutaceae) fanden DEY und PILLAY^{79a} ein optisch aktives Lacton C₁₆H₂₀O₆, das alle Eigenschaften eines Cumarins zeigte. Die Autoren schrieben dieser Verbindung, die sie Toddalolacton nannten, die untenstehende Partialformel zu, haben aber ihre Annahme noch nicht durch Identifizierung und Synthese irgend eines Abbauproduktes bewiesen.



⁷⁸ H. M. GORDIN, J. Amer. chem. Soc. 28 (1906) 1649. — E. STAPLES, Amer. J. Pharm. 1829, 163.

⁷⁹ J. C. BELL, A. ROBERTSON u. T. S. SUBRAMANIAM, J. chem. Soc. London 1936, 627.

^{79a} B. B. DEY u. P. P. PILLAY, Arch. Pharm. 271 (1933) 477; 273 (1935) 223.

Natürliche β -Oxycumarine.

Das Umbelliferon ist unter den natürlichen Cumarinen insoferne bedeutsam, als es bei der Destillation der meisten Umbelliferenharze entsteht^{18, 80}, wovon es auch seinen Namen herleitet. ZWENGER¹⁸ und SOMMER⁸⁰ fanden aber, daß manche Umbelliferenharze, darunter das Ammoniacum, sich dadurch auszeichnen, daß diese sonst ziemlich allgemeine Reaktion ausbleibt. Es schien uns daher interessant, eine Untersuchung des Ammoniakharzes auszuführen. CASPARIS hat aus diesem Harz eine kristallisierte Verbindung, das Ammoresinol, erhalten⁸¹, das TSCHIRCH⁸² als Protoresin auffaßt, d. h. als einen Harzkörper, der noch dem Zustande entspricht, in dem er in der Pflanze gebildet wurde und bei der Verwundung austrat. KUNZ, WEIDLE und FISCHER⁸³ stellten einige Irrtümer der älteren Bearbeiter, welche auch eine Konstitutionsformel in Vorschlag gebracht hatten, richtig, gelangten aber selbst nicht bis zur Aufstellung eines Strukturbildes. Wir⁸⁴ fanden zunächst, daß die Verbindung der von KUNZ, WEIDLE und FISCHER bevorzugten Zusammensetzung $C_{24}H_{30}O_4$ entsprach und tatsächlich 3 glatt hydrierbare Doppelbindungen besaß; wie diese Autoren fanden wir eine alkoholische und eine phenolische Hydroxylgruppe, aber keinen Methoxylrest. Als Oxydationsprodukt konnten wir die β -Resorcylsäure bestätigen, eine für γ -Resorcylsäure gehaltene Abbausäure erkannten wir jedoch im Gegensatz zu CASPARIS und zu KUNZ, WEIDLE und FISCHER als 4-Acetoxy-2-oxybenzoesäure. Das Diacetylhexahydroammoresinol konnten wir zu einer Fettsäure $C_{17}H_{34}O_2$ oxydieren, womit gezeigt war, daß nur ein carbocyclischer Sechsering in der Ammoresinolmolekel anwesend sein konnte, während ein erheblicher Teil derselben ungesättigter, aliphatischer Natur sein mußte. Da die Ozonisation des Diacetylammoresinols Methylheptenon ergab, kam für die Fettsäure die Konstitution der 2.6.10-Trimethyltetradecansäure-14 in Betracht. Eine Mischprobe der p-Xenylamide bestätigte diese Vermutung, und der

⁸⁰ C. SOMMER, Arch. Pharm. 148 (1859) 1; Chem. Zbl. 1859 369.

⁸¹ P. CASPARIS u. I. MICHEL, Schweiz. Apoth. Ztg. 62 (1924), Sonderbeilage, 33; Chem. Zbl. 1925 I, 987; Pharm. Acta Helv. 3 (1928) 25, 41; Chem. Zbl. 1928 II, 902.

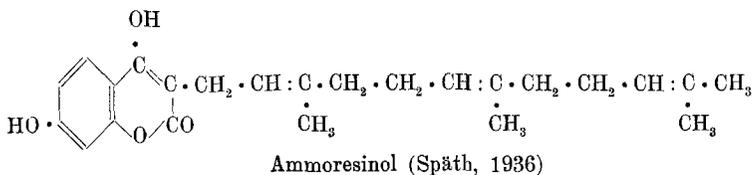
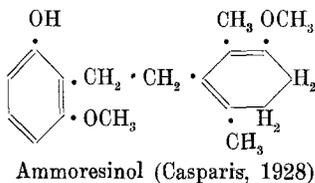
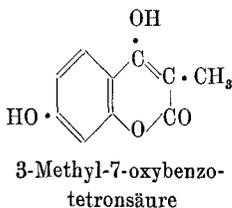
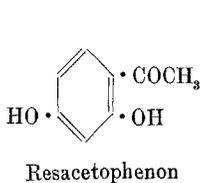
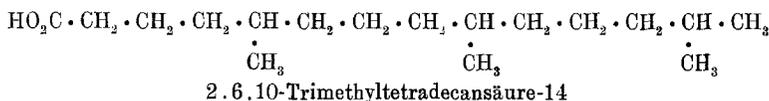
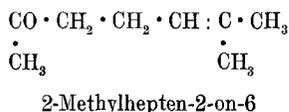
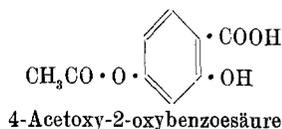
⁸² A. TSCHIRCH u. E. STOCK, Die Harze, Berlin (BORNTRAEGER) 1933.

⁸³ K. KUNZ, H. WEIDLE u. K. FISCHER, J. prakt. Chem. [2] 141 (1934) 350.

⁸⁴ E. SPÄTH, A. F. J. SIMON u. J. LINTNER, Ber. dtsch. chem. Ges. 69 (1936) 1656.

Aufbau der Säure zum 2.6.10-Trimethylpentadecanon-14⁸⁵, das durch sein Semicarbazon charakterisiert wurde, stützte unseren Befund weiter.

Das Verhalten des Ammoresinolmethyläthers legte das Vorhandensein eines Lactonkomplexes nahe; Sicherheit darüber brachte die Zersetzung des Ammoresinols im Hochvakuum bei 200—230°, bei der neben Resacetophenon eine bei 304—305° schmelzende, schön kristallisierte Verbindung C₁₀H₈O₄ entstand, die durch Synthese einiger in Betracht kommender Stoffe als 3-Methyl-7-oxybenzotetronsäure oder 3-Methyl-4.7-dioxycumarin erkannt wurde. Es lag also auch dem Ammoresinol überraschender Weise nicht nur der Cumarin-, sondern sogar der Umbelliferonkomplex zu Grunde. Wir waren daher imstande, die Konstitution des Ammoresinols durch die unten abgedruckte Formel wiederzugeben. Die Doppelbindung des Benzotetronsäurerestes ist, wie wir durch Modellversuche feststellen konnten, nur schwierig katalytisch hydrierbar.



⁸⁵ F. G. FISCHER u. K. LÖWENBERG, Liebigs Ann. Chem. 464 (1928) 69. — R. WILLSTÄTTER, O. SCHUPPLI u. E. W. MAYER, Liebigs Ann. Chem. 418 (1919) 144.

Unter den in der Natur vorkommenden Derivaten des 7-Oxycumarins bietet das Ammoresinol auch noch dadurch Interesse, daß es zu dem Osthol (5 C-Atome, 1 Verzweigung, 1 Doppelbindung in der Seitenkette) und zum Ostruthin (10 C-Atome, 2 Verzweigungen, 2 Doppelbindungen in der Seitenkette) in der Weise in Beziehung steht, daß die Seitenkette des Ammoresinols 15 C-Atome, 3 Verzweigungen und 3 Doppelbindungen besitzt. Die Seitenketten dieser 3 Naturstoffe stehen dabei in ganz verschiedenen Stellen des Umbelliferonkomplexes, nämlich in 8 bzw. 6 bzw. 3. Der Aufbau dieser Seitenketten aus Isopren-molekeln darf als sehr wahrscheinlich angenommen werden.

Wirkung von Cumarinen auf Fische.

Gemeinsam mit FRIEDRICH KUFFNER.

Fische gehören zu den Tieren, welche nur in verhältnismäßig wenig Fällen zur Prüfung der Einwirkung chemischer Stoffe auf den lebenden Organismus Verwendung gefunden haben. Hiefür scheinen mehrere Gründe vorzuliegen. Nicht nur der sehr große Unterschied in den Lebensbedingungen zwischen Fisch und Mensch, wobei uns ja der letztere am meisten interessiert, spielt hier eine Rolle, sondern auch die Schwierigkeit, über das Befinden eines Fisches verlässliche Aussagen zu machen. Über die Giftwirkung einiger Cumarine auf Fische liegen Beobachtungen von PRIESS⁵⁷, ROST⁵⁵ und SIEBURG⁸⁶ vor. Sonst ist aber nichts Wesentliches darüber bekannt geworden. Im Zusammenhang mit unseren rein chemischen Arbeiten über die natürlichen Cumarine haben wir die Wirkung derselben und die einer Reihe von synthetisch dargestellten Stoffen dieser Körperklasse auf eine bestimmte Fischart geprüft.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir einen tropischen Süßwasserfisch, den unter dem Namen Guppyi bekannten *Lebistes reticulatus*. Diese schönen Tierchen messen im ausgewachsenen Zustand etwa 25 mm, ihr Gewicht ist im Durchschnitt 130 mg. Da es sich um eine lebendgebärende Art handelt, verwendeten wir nur männliche Tiere. Sie sind leicht zu halten, leicht zu züchten und im Handel zu haben. Wir hielten sie bei 18—23° und die Versuche wurden bei 20—22° durchgeführt. Die Fische wurden in größeren, z. T. beschatteten Aquarien von 15—20 Liter

⁸⁶ E. SIEBURG, Biochem. Z. 113 (1921) 176.

Inhalt gehalten, durch Sand, Grünpflanzen, Luftzufuhr und Fütterung mit sogenannten Wasserflößen für ihr Wohlbefinden gesorgt. Diese Fische sind gesellig und verträglich, so daß wir über 50 in einem Vorratsbehälter lassen konnten. Für die Versuche mit den Cumarinen dienten kleine Aquarien, gleichfalls ganz aus Glas ohne Metallteile, aber ohne Sand und Pflanzen, um eventuelle Adsorption zu vermeiden. Die Tiere vertragen, wie durch Versuche festgestellt wurde, ohne jede Störung das Überführen von einem Aquarium in ein anderes durch ein kleines Netz, selbst wenn dies mehrfach wiederholt wird. Sie vertragen ferner den Zusatz von 0·5 % Äthylalkohol zum Wasser ohne Gleichgewichtsstörung, zeigen beim Einsetzen in diese Flüssigkeit anfänglich wohl erhöhte Lebhaftigkeit, die sich aber bald wieder verliert. Während der Versuche wurde nicht gefüttert, die Tiere können tagelang ohne Schaden zu nehmen fasten.

Die zu prüfenden Cumarine sind fast ausnahmslos in Wasser sehr schwer löslich, so daß nur geringe Konzentrationen verwendet werden konnten. Sie wurden zumeist in soviel Alkohol gelöst, daß beim Eintragen in die gewählte und gemessene Menge Leitungswasser (1—1·5 Liter) eine Alkoholkonzentration von 0·5 % erzielt wurde, die nach unseren Versuchen unschädlich war. Diese Alkoholmenge wurde, um besser vergleichbare Resultate zu erhalten, auch dann zugesetzt, wenn eine Verbindung in Wasser gut löslich war. Für jeden Versuch wurden in der Regel 3 Tiere eingesetzt.

Die Erscheinungen, welche die Tiere zeigten, waren recht mannigfaltig. Häufig wurde zunächst das Auftreten einer Erregung festgestellt, die sich in raschem Hin- und Herschwimmen und in einer Neigung zum Springen äußerte. Bei wirksamen Stoffen trat allmählich ein Nachlassen der Lebhaftigkeit ein und die Tiere zeigten beginnende Gleichgewichtsstörungen. In diesem Zustand tritt noch keine dauernde Schädigung der Fische ein. Bricht man den Versuch ab und bringt man die Tiere in ein anderes Aquarium, das die normalen Lebensbedingungen bietet, so sind sie bald vollkommen gesund. Bei fortschreitender Einwirkung beginnen manche Tiere in den Ecken der Aquarien wild mit der Kopfspitze zu bohren, oft treten schon schwere Gleichgewichtsstörungen auf. Das Tier geht zumeist auf den Boden des Gefäßes und verfällt in ziemliche Ruhe. Zunächst liegt es mehr oder weniger seitlich, später in vollkommener Seitenlage oder auf dem

Rücken. Die Bewegungen des Mundes und der Kiemen werden ruck- und krampfartig, manche Tiere schwimmen noch herum, teils in Seiten-, teils in Rückenlage. Bei Anwesenheit von manchen Stoffen ist das Schwimmen ausgesprochen ruckartig. Schließlich tritt Ruhe in Seiten- oder Rückenlage ein, bis das Aufhören der Atem- und Mundbewegungen den Exitus anzeigt. Doch sind auch hier Täuschungen möglich. In manchen Lösungen sehen die Tiere wie tot aus, reagieren aber auf Klopfen oder Berühren sehr lebhaft. Als tot wurden solche Tiere betrachtet, die nach dem Übertragen in reines Wasser nach 1—2 Stunden kein Lebenszeichen mehr gaben und meist ein charakteristisches Ausbleichen der Färbung zeigten. Die von uns untersuchten Fische hatten in vielen Lösungen der Cumarine oft in wenigen Sekunden eine starke dunkle Färbung der Schwanzflosse, dunkle Netzzeichnung des Körpers oder Schwarzfärbung entlang des Rückgrates.

Einige einfache Lactone von nicht cumarinartigem Charakter zeigten eine nur relativ geringe Wirkung auf Fische. So führte das Valerolacton (Lacton der γ -Oxy-n-valeriansäure) in 1/100-molarer Lösung, also in der recht hohen Konzentration 1 g:1000 g, erst nach 3 Stunden zur Seiten- und Rückenlage und wirkte erst nach 3 weiteren Stunden letal. Meconin (6.7-Dimethoxy-phthalid) besaß gleichfalls nur sehr geringe Wirkung.

Eine Gruppe von Cumarinen, und zwar das einfache Cumarin, das 3-Chlorcumarin und namentlich das Angelicin zeigte eine ausgesprochene Narkosewirkung auf Fische. Die Tiere verfielen bereits nach 30—100 Sekunden bei 0'001—0'0001 mol. Lösung (im Liter) in Rückenlage, reagierten meist auf Klopfen an der Wand, lebten ohne erkennbaren Schaden etwa 12 Stunden in dieser Lösung und erholten sich in reinem Wasser in der Regel sehr rasch wieder. Diese Ergebnisse haben vielleicht Bedeutung zur Durchführung von Versuchen mit narkotisierten Fischen.

Neben Cumarinen, welche sich auf unsere Fische besonders wirksam erwiesen, untersuchten wir auch Verbindungen dieser Körperklasse, welche wir als schwach aktiv erkannten und welche bei den von uns geprüften Konzentrationen keine Rückenlage und nicht den Tod herbeiführten, obwohl die Versuche durch mindestens 6 Stunden, oft sogar bis zu 15 Stunden sich erstreckten. Unwirksam waren 0'001-molare Lösungen von Melilotsäure, 6-Oxycumarin, Cumarin-3-carbonsäure und ihrem Natriumsalz, ferner 0'0005-molare Lösungen von 6-Aminocumarin, Cumarin und Umbelliferon.

Wir geben im folgenden zwei Tabellen der hinsichtlich ihrer Wirkungen untersuchten Cumarine, die in kürzerer Zeit (längstens 3—4 Stunden) bei unseren Fischen in der angegebenen Konzentration die Rückenlage herbeiführten und innerhalb der Versuchsdauer (bis zu 8 Stunden) letal waren. Die erste Tabelle zeigt Konzentrationen von 1 Mol. des wirksamen Cumarins auf die entsprechenden Liter Wasser, während die zweite Tabelle das Verhältnis von 1 g des verwendeten Cumarins zu den Grammen Wasser angibt, die zur Lösung genommen worden sind. Wegen der verschiedenen Mol.-Gewichte der untersuchten Cumarine ist die Reihenfolge dieser Stoffe in den beiden Tabellen nicht die gleiche.

Tabelle 1.

1 Mol.:1000 Liter Wasser . . .	Cumarin
	4-Methyl-umbelliferon
1:2000 " " . . .	4 Methyl-cumarin
	3-Chlor-cumarin
	6-Nitro-cumarin
	7.8-Diacetoxy-cumarin
1:3000 " " . . .	5.7-Diacetoxy-cumarin
	7-Aethoxy-cumarin
1:10000 " " . . .	Pikrotoxin
1:15000 " " . . .	Alloimperatorin
	Xanthotoxin
1:20000 " " . . .	Isopimpinellin
	Pimpinellin
	Ostruthin
	Bergapten
	Oxypeucedanin
	Imperatorin
	Osthol
1:30000 " " . . .	Methylalloimperatorin

Tabelle 2.

1 g:1000 g Wasser . . .	Valerolacton
1:5700 " " . . .	4-Methyl-umbelliferon
1:6800 " " . . .	Cumarin
1:10500 " " . . .	6-Nitro-cumarin
1:11000 " " . . .	5.7-Diacetoxy-cumarin

1:12500	<i>g</i> Wasser . . .	4-Methyl-cumarin
1:15700	„ „ . . .	7-Aethoxy-cumarin
1:17000	„ „ . . .	3-Chlor-cumarin
1:18000	„ „ . . .	Pikrotoxin
1:40000	„ „ . . .	Alloimperatorin
1:50000	„ „ . . .	Pimpinellin
1:60000	„ „ . . .	Isopimpinellin
1:67000	„ „ . . .	Ostruthin
1:70000	„ „ . . .	Oxypeucedanin Xanthotoxin
1:74000	„ „ . . .	Imperatorin
1:82000	„ „ . . .	Osthol
1:93000	„ „ . . .	Bergapten
1:100000	„ „ . . .	Methylalloimperatorin.

Interessant ist, daß das Pikrotoxin, das nicht in unsere Gruppe gehört, aber als starkes Fischgift schon lange bekannt ist, nur etwa so stark wirkt wie das 3-Chlor-cumarin, aber 5mal schwächer als Osthol und fast 6mal geringer als Methylalloimperatorin.

Schlüsse über Konstitution und physiologische Wirkung der Cumarine lassen sich vorläufig wohl nicht ziehen. Immerhin kann man entsprechend der Theorie von MEYER-OVERTON vermuten, daß auch hier die Löslichkeitsverhältnisse in Wasser und in den Lipoiden in manchen Fällen eine Rolle spielen werden. Isomerie beeinflußt die Wirkung stark, so wirkt 7-Oxycumarin stärker als 6-Oxycumarin. Der Eintritt von Alkylgruppen an Sauerstoff steigert die Giftwirkung, besonders erhöht wird sie aber durch Hinzutreten von Alkyl-, namentlich aber Alkylengruppen an Kohlenstoff.

Die Mengen der Cumarine, die im Laufe eines solchen Versuches in den Fischkörper gelangen, sind schwer festzustellen, sind aber jedesfalls äußerst gering. Es ist bemerkenswert, daß innerhalb gewisser Grenzen einige der untersuchten Lösungen dieselbe Giftigkeit für unsere kleinen Fischchen zeigten, wie die Literatur für andere viel größere Arten angibt.

Versuche mehrerer Autoren haben gezeigt, daß manche Fische, speziell Goldfische, hinsichtlich der Stärke der Wirkung gewisser Verbindungen sehr temperaturempfindlich sind. Wir

haben den Einfluß der Temperatur beim Oxypeucedanin geprüft. Hierbei ergab sich, daß beim Arbeiten bei 19 oder 26°, welches etwa die Grenzen der für die verwendeten Tiere unschädlichen Temperaturen vorstellte, kein Unterschied in der Art und Schnelligkeit der Wirkung beobachtet wurde.

Über den Einfluß der Konzentration von Fischgiften auf die Wirkung liegen sehr genaue Untersuchungen des amerikanischen Autors GERSDORFF⁸⁷ vor, der vor allem mit Rotenon und seinen Abkömmlingen gearbeitet hat. Er fand, daß die Schnelligkeit der Einwirkung nicht etwa linear von der Konzentration abhängt, sondern nach einem logarithmischen Gesetze verläuft. Bei unseren Versuchen wurde in analoger Weise beobachtet, daß bei der Anwendung von verdünnten Lösungen, welche eben noch wirksam waren, die Wirksamkeit viel rascher zunimmt, als der vorgenommenen Konzentrationserhöhung entspricht, während bei stärkeren Lösungen die Zunahme der Wirkung geringer ist als die der Konzentration.

Unsere Fischchen reagierten innerhalb gewisser Grenzen mit befriedigender Gleichmäßigkeit. Doch mag erwähnt werden, daß auf 100 Stück etwa 1—2 Einzelgänger vorkamen, die eine überraschende Widerstandsfähigkeit aufwiesen. Bei ganz sorgfältigen Versuchen wird es wohl notwendig sein, die Zahl der Tierchen für eine Einwirkung wesentlich zu erhöhen. Uns kam es nur darauf an, die unmittelbar sichtbaren Erscheinungen der Einwirkung der Cumarine auf Fische zu beschreiben, nicht aber so weit in dieses Gebiet einzudringen, wie es die Aufgabe der Physiologen und Pharmakologen ist. Wir wollten nur etwas mehr auf das nun auch chemisch weiter erschlossene Gebiet aufmerksam machen und andere diesbezügliche Arbeiten anregen.

Dieser Bericht über die bisher vorliegenden Untersuchungen über natürliche Cumarine gibt ein Bild von der Mannigfaltigkeit dieser Verbindungsgruppe, führt die Methoden vor, die dem Abbau dienlich waren und betont die hier häufig auftretende Schwierigkeit der synthetischen Arbeiten. Unsere Tierversuche haben die meist starke Wirkung der Cumarine auf Fische neuerlich dargetan. Bei diesen Untersuchungen hatte ich mich der Mitarbeit einer Reihe von tüchtigen Chemikern zu erfreuen, und

⁸⁷ W. A. GERSDORFF, J. Amer. chem. Soc. 52 (1930) 3440 u. später; J. agric. Res. 50 (1935) 893; Chem. Zbl. 1935 II, 2682.

zwar der Herren F. KUFFNER, A. FRH. V. CHRISTIANI, H. HOLZEN, L. KAHOVEC, P. KAINRATH, K. KLAGER, J. LINTNER, M. PAILER, O. PESTA, S. RASCHKA, C. SCHLÖSSER, A. SIMON und L. SOCIAS. Herrn Doz. W. MARINELLI (II. Zool. Inst. d. Univ. Wien) habe ich für seine Ratschläge betreffs der Haltung der Fische bestens zu danken.

Es wird auch von Interesse sein, die Wirkung der Cumarine auf Insekten zu prüfen, um eventuell zu einem synthetischen Insektenbekämpfungsmittel zu gelangen. Auch darf man hoffen, daß einige dieser Stoffe in der Medizin Einführung finden werden. Hierzu besteht deshalb Aussicht, weil manche Pflanzen, welche cumarinartige Verbindungen führen, seit langem in der Volksmedizin eine Rolle spielen.