

Die Konstitution des Pachyrrhizins*

Von

E. Simonitsch, H. Frei und H. Schmid

Aus dem Chemischen Institut der Universität Zürich

Mit 6 Abbildungen

(Eingegangen am 1. Juli 1957)

Für Pachyrrhizin aus *Pachyrrhizus erosus* wird die Konstitutionsformel III abgeleitet.

Die für ihre Giftwirkung Fischen und Insekten gegenüber seit langem bekannten Samen von javanischen und mexikanischen *Pachyrrhizus-erosus*-Pflanzen (Papilionaceae), auch *Yam bean* genannt, sind schon mehrmals untersucht worden¹. Eine eingehende chemische Analyse dieser Droge verdankt man *L. B. Norton* und *R. Hansberry*² und *Th. M. Meijer*³. Die amerikanischen Autoren konnten daraus mit Hilfe der Chromatographie sechs kristallisierte Verbindungen isolieren, die als „Compounds I bis VI“ bezeichnet wurden. „Compound IV“ erwies sich identisch mit Rotenon (I). „Compound II“ ist identisch mit dem von *Meijer* isolierten Pachyrrhizon vom Schmp. 272°, das, wie vor einiger Zeit gezeigt wurde, die Formel II besitzt⁴.

Die vorliegende Arbeit betrifft *Nortons* und *Hansberrys* „Compound III“, die wir auch aus den Samen javanischer *P. erosus* isoliert haben. Dieselbe Verbindung (mit Schmp. 196°) hatten offenbar schon früher *H. E. Th. v. Sillevoldt*⁵ aus *P. angulatus* (synonym mit *P. erosus*) gewonnen. Auch *Hwang*⁶ hatte diese Verbindung scheinbar schon in Händen.

* Herrn Prof. Dr. *F. Wessely* zum 60. Geburtstag gewidmet.

¹ Für Literaturarbeiten siehe die Arbeiten unter Anm. 2 und 3.

² *J. Amer. Chem. Soc.* **67**, 1609 (1945).

³ *Rec. trav. chim. Pays-Bas* **65**, 835 (1946).

⁴ *H. Bickel* und *H. Schmid*, *Helv. Chim. Acta* **36**, 664 (1953).

⁵ *Arch. Pharmaz.* **237**, 595 (1899).

⁶ *Chem. Abstr.* **37**, 1805⁸ (1943).

Norton und Hansberry geben für ihre „Compound III“, die wir jetzt als Pachyrrhizin bezeichnen möchten, den Schmp. 204° und die Summenformel $C_{19}H_9O_5 \cdot OCH_3$ an und beschreiben die Verbindung als optisch inaktiv und ohne insektizide Wirkung. Sie zeichnete sich durch eine intensiv grüne Fluoreszenz im UV aus. Pachyrrhizin sprach auf die üblichen Rotenoidfarbstoffe nicht an und schien eine Lactongruppierung zu enthalten.

Das von uns sorgfältig gereinigte Pachyrrhizin (III) schmilzt bei 206,5 bis 208,5°; es läßt sich bei 180 bis 200° im Hochvakuum un-

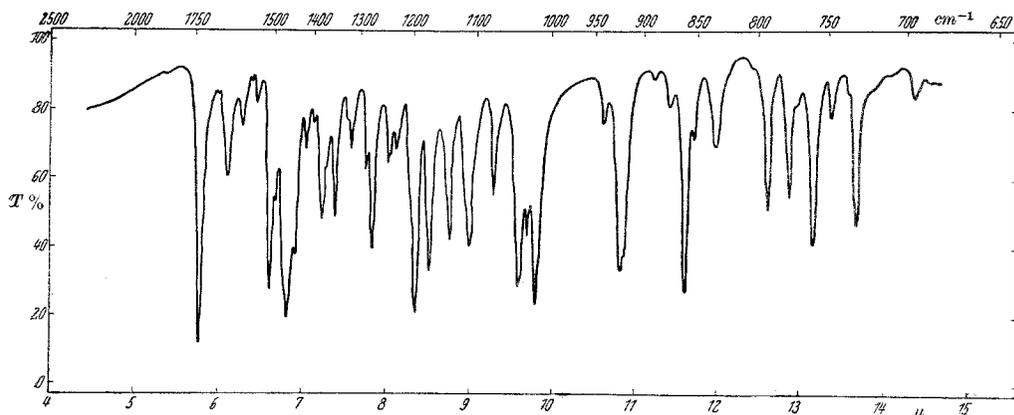


Abb. 1. IR-Spektrum von Pachyrrhizin (III) in Nujol

zersetzt sublimieren und ist in Übereinstimmung mit den amerikanischen Autoren optisch inaktiv. Der Naturstoff besitzt im Gegensatz zur Annahme der amerikanischen Forscher die um ein C-Atom ärmere Summenformel $C_{18}H_9O_5 \cdot OCH_3$. C-Methylgruppen und aktive H-Atome fehlen. Das Pachyrrhizin enthält, wie aus dem positiven modifizierten *Gaebel*-Test (siehe experimenteller Teil) sowie dem positiven Test mit Schwefelsäure-Chromotropsäure hervorgeht, eine Methylendioxygruppe. Diese Gruppierung läßt sich als Formaldehyd nachweisen, wenn Pachyrrhizin mit überschüssigem Ozon behandelt und anschließend mit Wasserdampf destilliert wird. Auch Piperonal und Pachyrrhizin liefern unter diesen Bedingungen in guter Ausbeute Formaldehyd. Zwei weitere Sauerstoffatome liegen in einem Lactonring vor, da Pachyrrhizin ein wasserlösliches Alkalisalz liefert, das beim Einleiten von CO_2 das neutrale Ausgangsmaterial zurückbildet. Der Lactonring schließt sich also bereits im bikarbonat-alkalischen Milieu, eine Eigenschaft, die auch von Cumarinen gezeigt wird. Das noch verbleibende sechste Sauerstoffatom liegt vermutlich in einer Äthergruppierung vor, da der Naturstoff selbst unter energischen Bedingungen kein Oxim liefert.

Im IR-Spektrum des Pachyrrhizins (Nujol) (Abb. 1) fehlen OH-Banden; es finden sich Banden bei 1728 cm^{-1} (C=O des Pyronringes), bei 1631 cm^{-1} und 1508 cm^{-1} (Aromatenbanden) sowie bei 1586 cm^{-1} (Benzolkern konjugiert mit Doppelbindung). Im Gebiet der Ätherschwingungen sind zahlreiche Banden vorhanden.

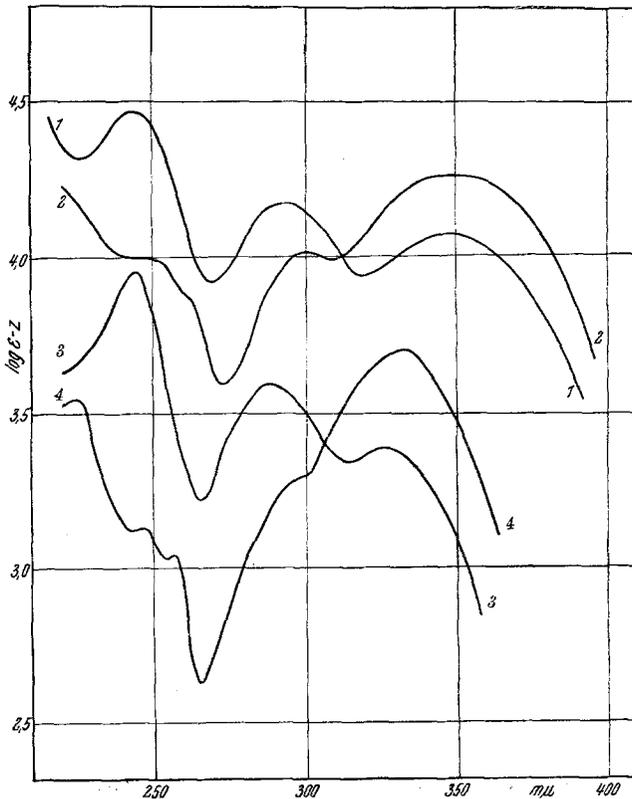


Abb. 2. UV-Spektren in 96%igem Alkohol. Kurve 1: Pachyrrhizin (III), $z = 0$; Kurve 2: Dihydropachyrrhizin (V), $z = 0$; Kurve 3: Psoralen*, $z = 0,5$; Kurve 4: fur.-Dihydropsoralen*, $z = 0,5$

* Umgezeichnet nach E. C. Horning und D. B. Reisner, J. Amer. Chem. Soc. 72, 1514 (1950).

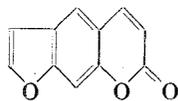
Die Anwesenheit eines Lactonringes im Pachyrrhizin (III) folgt auch aus der aufspaltenden Methylierung, wobei die Methoxysäure IV, $\text{C}_{17}\text{H}_9\text{O}_3(\text{OCH}_3)_2 \cdot \text{COOH}$, vom Schmp. 224 bis 226° entsteht. Diese zeigt im IR-Spektrum (Nujol) die für α, β -ungesättigte Carbonsäuren charakteristische C=O-Vibration bei 1695 cm^{-1} .

Bei der katalytischen Hydrierung mit PtO_2 und Eisessig nimmt Pachyrrhizin (III) etwa 5 Mole Wasserstoff ohne erkennbare Stufe auf. Mit demselben Katalysator wird bei Verwendung von Essigsäure-Methyl-

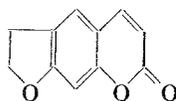
cellosolve oder Essigsäure-Dimethylformamid-Gemisch kein Wasserstoff aufgenommen. Hingegen gelingt es, den Naturstoff in Essigsäure-Dimethylformamid mit einem 30%igen Pd-Norit-Katalysator in fast quantitativer Ausbeute in das farblose, gut kristallisierte Dihydro-pachyrrhizin (V) $C_{19}H_{14}O_6$; kein CH_3 (C); vom Schmp. 215,5 bis 217,5° überzuführen. Die Hydrierung bleibt hierbei nach der Aufnahme eines Moles Wasserstoff stehen. Interessant ist die Beobachtung, daß mit demselben Katalysator in Eisessig allein wiederum kein Wasserstoff aufgenommen wird. Der Lactonring im Dihydro-pachyrrhizin (V) zeigt dieselben Eigenschaften wie im Pachyrrhizin. Im IR-Spektrum (Nujol) zeigt Dihydro-pachyrrhizin (V) die Aromatenbanden bei 1632 cm^{-1} , 1584 cm^{-1} und 1500 cm^{-1} , also an derselben Stelle wie Pachyrrhizin (III). Die C=O-Bande des Lactons liegt bei 1709 cm^{-1} , ist also bemerkenswerterweise um 19 cm^{-1} nach längeren Wellen verschoben⁷; im übrigen sind die IR-Spektren von Pachyrrhizin und V recht ähnlich.

Durch aufspaltende Methylierung erhält man aus Dihydro-pachyrrhizin (V) eine Säure, die bei der Methylierung mit Diazomethan den Methylester VI, $C_{17}H_{11}O_3 \cdot (OCH_3)_2 \cdot COOCH_3$, vom Schmp. 158 bis 159° liefert.

Aufschlußreich sind die UV-Spektren (Abb. 2). Das UV-Spektrum von Pachyrrhizin ist recht ähnlich denjenigen von Furocumarinen, besonders von Psoralen und auch Angelicin und Sphondin⁸, mit dem Unterschied, daß im Pachyrrhizin die beiden langwelligen Banden intensiver und nach längeren Wellen verschoben sind. Die starke Absorption bei $244\text{ m}\mu$ ist charakteristisch für den Furanring in Furo-cumarinen⁹. Die Auffassung von Pachyrrhizin als Furo-cumarin wird durch den Übergang von Pachyrrhizin (III) in Dihydropachyrrhizin (V) gestützt, da er sich auf die UV-Spektren ganz analog auswirkt wie der Übergang von Psoralen in fur.-Dihydropsofalen. In den Spektren beider Dihydroprodukte fehlt die starke Absorption bei $244\text{ m}\mu$, während die langwellige, für das 7-Alkoxycumarinsystem charakteristische Bande vorhanden ist. Dihydro-pachyrrhizin ist daher im Furanring und nicht im Cumarinsystem hydriert.



Psoralen



fur.-Dihydropsofalen

⁷ Umbelliferon-methyläther zeigt die Lactoncarbonylbande (Nujol) bei 1709 cm^{-1} ; Dihydro-oroselon bei 1715 cm^{-1} und Dihydro-seselin bei 1721 cm^{-1} .

⁸ F. Wessely und J. Kotlan, Mh. Chem. 86, 431 (1955).

⁹ O. Halpern, P. Waser und H. Schmid, Helv. Chim. Acta 40, 758 (1957).

Auch im UV-Spektrum der Säure IV findet sich die intensive Absorption bei $244\text{ m}\mu$, die im Dihydroprodukt VI fehlt (Abb. 3). Die Tatsache, daß die hydrierten Produkte die langwellige Cumarin- bzw. Cumarinsäurebande bei etwas längeren Wellen haben als die nicht hydrierten, ist mit obiger Deutung im Einklang (vgl. das Paar *fur.*-Dihydro-psoralen-Psoralen, ferner Athamantin und Dihydro-oroselon⁹).

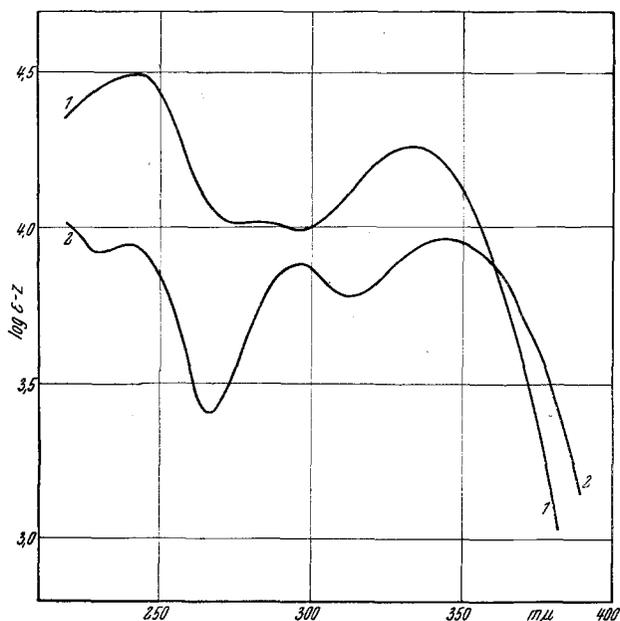


Abb. 3. UV-Spektren in 96%igem Alkohol. Kurve 1: Methoxysäure IV, $z = 0$; Kurve 2: Methoxyester VI, $z = 0,2$

Betrachtet man nun das Pachyrrhizin als ein Furo-cumarin, so ergibt sich aus seiner Summenformel, daß ein Arylsubstituent vorhanden ist. Die bemerkenswerte Tatsache, daß die Hydrierung nicht im Cumarinsystem erfolgt sowie biogenetische Überlegungen (siehe unten) lassen die Annahme zu, daß der Arylsubstituent am Pyronring sitzt. Die UV-Spektren von III und V sind mit einer solchen Deutung im Einklang: Einführung eines Arylrestes (Phenyl, Anisyl) in die Stellung 3 oder 4 von einfachen Cumarinen bewirkt, wie aus den Spektren in Abb. 4 hervorgeht, eine bathochrome Verschiebung der langwelligen Cumarinbande um 23 bis $24\text{ m}\mu$. Im Pachyrrhizin bzw. Dihydro-pachyrrhizin ist diese Bande gegenüber Psoralen bzw. Dihydro-psoralen um 17 bis $22\text{ m}\mu$ nach längeren Wellen verschoben.

Auf Grund dieser Vorstellungen war es naheliegend, einen weiteren Einblick in die Konstitution des Pachyrrhizins durch oxydativen Abbau

zu suchen. Aber sowohl Oxydationsversuche mit Permanganat als auch mit Ferricyanid verliefen erfolglos. Bei der Alkalischmelze entstand kein Phloroglucin oder Methylphloroglucin. Hingegen ist es gelungen, durch

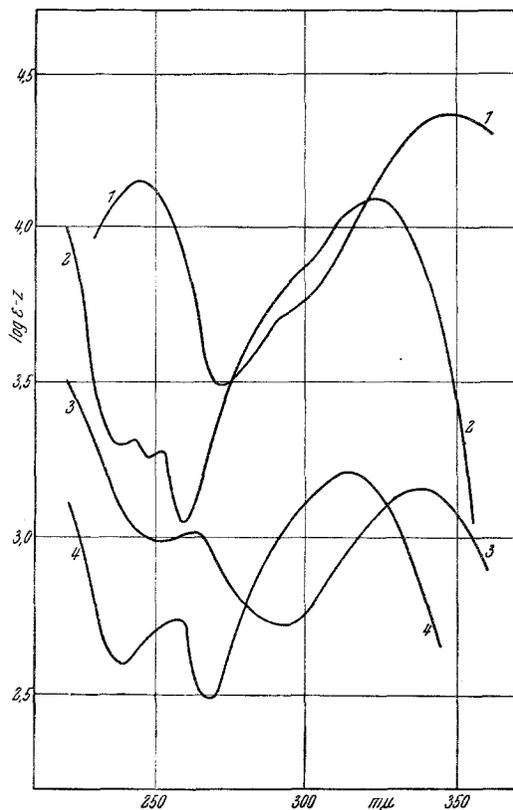


Abb. 4. UV-Spektren in 96%igem Alkohol. Kurve 1: 3-p-Methoxyphenyl-umbelliferon-methyläther*, $z = 0$; Kurve 2: Umbelliferon-methyläther**, $z = 0$; Kurve 3: 4-Phenyl-fur.-dihydroxanthoxin***, $z = 1,0$; Kurve 4: 7,8-Dimethoxyeumarin****, $z = 1,0$

* Umgezeichnet nach R. B. Bradbury und D. E. White, J. Chem. Soc. London 1953, 871.

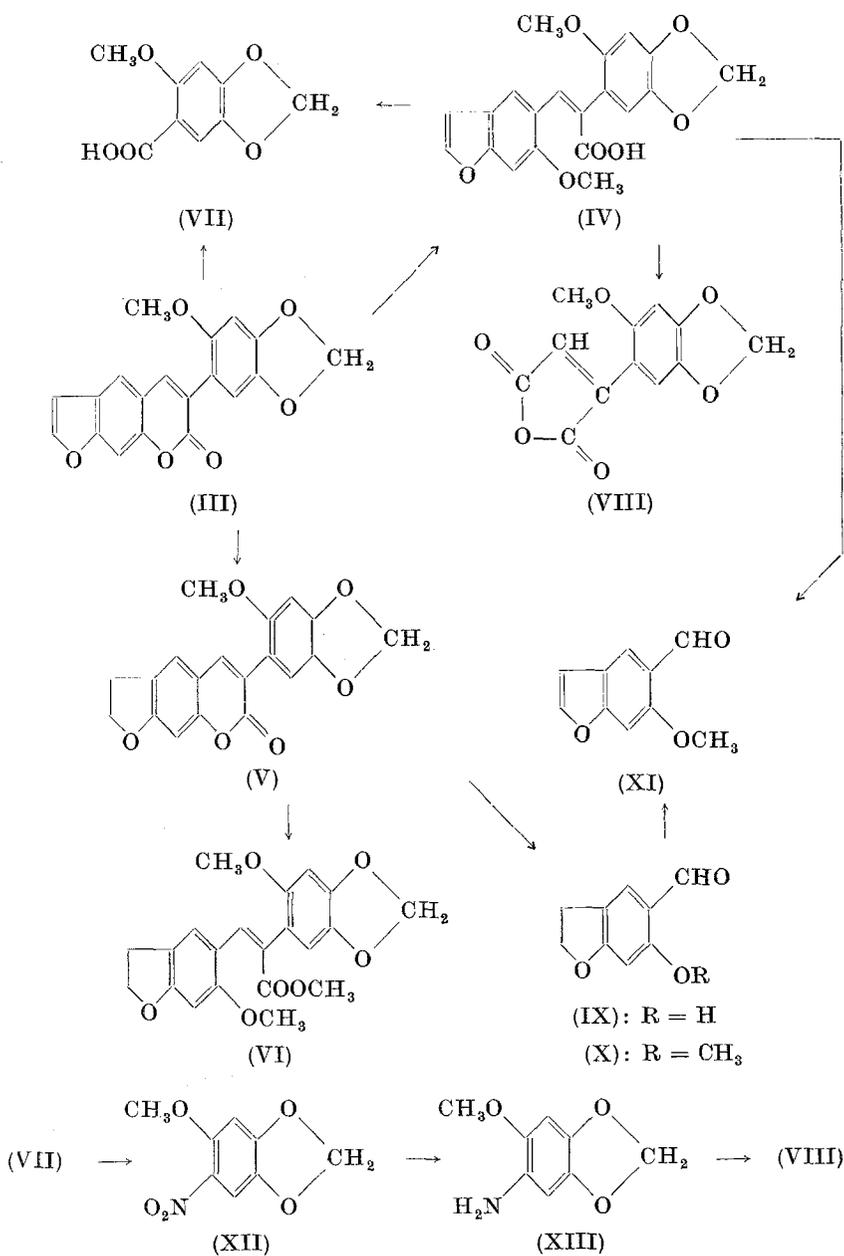
** Umgezeichnet nach R. H. Goodwin und B. M. Pollock, Arch. Biochemistry 49,1 (1954).

*** C. Lagercrantz, Acta Chem. Scand. 10, 647 (1956); wir danken Herrn Dr. C. Lagercrantz für die Zusendung einer Probe.

**** Umgezeichnet nach T. Nakabayashi und Mitarbeiter, J. Pharmaz. Soc. Japan 73, 669 (1953).

Oxydation des Pachyrrhizins (III) und der Säure IV mit Natriumperjodat bei Gegenwart von katalytischen Mengen Kaliumpermanganat nach Lemieux-Rudloff¹⁰, in allerdings sehr schlechter Ausbeute, eine Carbonsäure vom Schmp. 151° zu erhalten. Eine Analyse konnte aus Materialmangel nicht ausgeführt werden; das UV-Spektrum deutet

¹⁰ R. U. Lemieux und E. von Rudloff, Canad. J. Chem. 33, 1701 (1955).



darauf hin, daß es sich um eine Methoxy-methylenedioxy-benzoesäure handeln könnte (Abb. 5). Von den sechs möglichen isomeren Methoxy-methylenedioxy-benzoesäuren sind vier bekannt, von denen die 6-Methoxy-

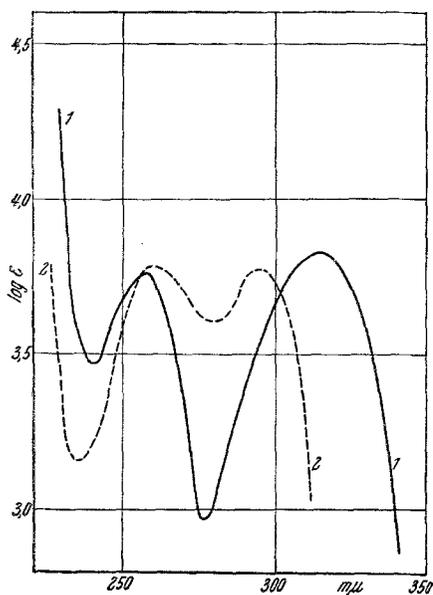


Abb. 5. UV-Spektren in Alkohol. Kurve 1: 6-Methoxypiperonylsäure; Kurve 2: Piperonylsäure*

* Umgezeichnet nach Ramart-Lucas, Bull. soc. chim. France (5), I, 728 (1934).

piperonylsäure¹¹ (VII) sowie die 2-Methoxy-piperonylsäure¹² nahe bei 150° schmelzen.

Bevor wir eine dieser Säuren synthetisierten, haben wir ein weiteres Abbauprodukt (VIII) näher untersucht, das sich bei der Oxydation des Pachyrrhizins mit Wasserstoffsperoxyd in 12% Ausbeute bildet. Es stellt orangefarbene Kristalle vom Schmp. 264 bis 266° dar und besitzt die Summenformel $C_{11}H_5O_5 \cdot OCH_3$. Auch in dieser Verbindung läßt sich mit Hilfe des Chromotropsäuretestes eine Methylendioxygruppe nachweisen. Dieselbe Verbindung entsteht auch in geringer Menge bei der Oxydation der Säure IV nach Lemieux-Rudloff; sie muß daher im Sinne unserer früheren Überlegungen aus dem Lactonring und dem an ihn

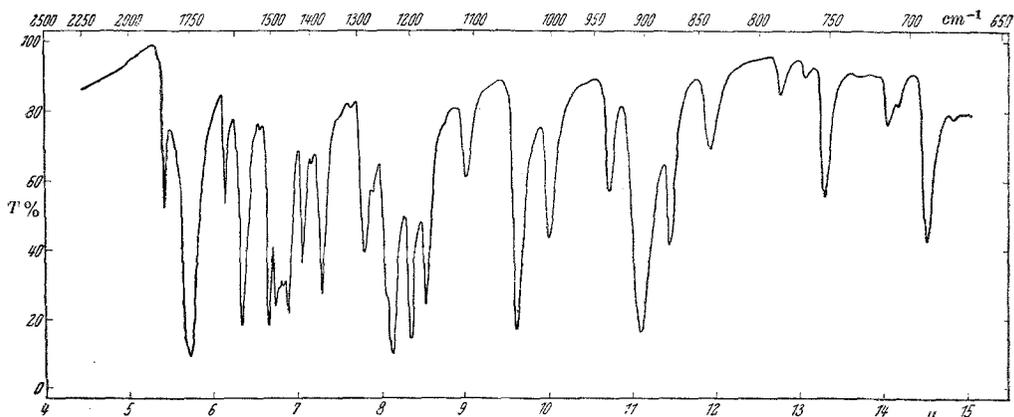


Abb. 6. IR-Spektrum des Anhydrids VIII in Nujol

angehefteten Substituenten stammen. Aufschlußreich ist das IR-Spektrum der Verbindung VIII (Abb. 6): In Nujol finden sich intensive Banden

¹¹ R. T. Arnold und N. Bortnick, J. Amer. Chem. Soc. 67, 1797 (1945).

¹² W. B. Brownell und A. W. Weston, J. Amer. Chem. Soc. 73, 4971 (1951).

bei 1845 und 1744 cm^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ eines ungesättigten, cyclischen Anhydrids) und Aromatenbanden bei 1629, 1575 und 1500 cm^{-1} . Die große Intensität der Bande bei 1575 cm^{-1} weist auf Konjugation des Benzolringes mit der Doppelbindung des Anhydridringes hin. Im Gebiet der Ätherschwingungen finden sich zahlreiche Banden, von denen jene bei 1229 cm^{-1} durch ihre große Intensität der $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ -Schwingung des Anhydrids zugeordnet werden kann. Im Gebiete der „out of plain“-Schwingungen sind hervorstechende Banden jene bei 873, 836 und 688 cm^{-1} . Diese Bandenfolge ist charakteristisch für Benzolderivate, die am Kern keine benachbarten Wasserstoffatome enthalten (z. B. zeigt symmetrisches Trimethylbenzol diese Banden bei 881, 835 und 687 cm^{-1}). Die für 1,2,3,4-tetrasubstituierte Benzolderivate (zwei benachbarte Wasserstoffatome) charakteristische intensive Einzelbande im Gebiet 860 bis 800 cm^{-1} fehlt im Spektrum der Verbindung VIII (vizinales Tetramethylbenzol z. B. besitzt diese sehr starke Bande bei 804 cm^{-1}). Die Bande bei 751 cm^{-1} dürfte von der $=\text{C}-\text{H}$ -Schwingung des Anhydridringes herkommen. Auf Grund dieser Eigenschaften haben wir für das Abbauprodukt die Formel VIII in Betracht gezogen. Entsprechend folgt für die Abbausäure vom Schmp. 151° die Formel VII, die sich durch einen Vergleich mit dem nach ¹¹ hergestellten, synthetischen Produkt verifizieren ließ. Die beiden Säuren geben keine Schmp.-Depression und besitzen identische UV-Spektren.

Die Formel VIII für das Maleinsäureanhydridderivat ließ sich ebenfalls durch die Synthese des Stoffes bestätigen: Ausgehend von der 6-Methoxypiperonylsäure¹¹ hat man durch Nitrierung mit Salpetersäure 1-Nitro-2-methoxy-4,5-methylenedioxybenzol (XII) vom Schmp. 140 bis 141° erhalten. Dieselbe Verbindung wird durch Methylierung von 1-Nitro-2-hydroxy-4,5-methylenedioxybenzol¹³ gewonnen; damit ist die Stellung der Nitrogruppe in XII gesichert. Katalytische Reduktion dieser Nitroverbindung mit Wasserstoff und 30% Pd-Norit als Katalysator in Alkohol liefert das sauerstoffempfindliche Amin XIII vom Schmp. 56°. Das diazotierte Amin hat man anschließend mit Maleinimid nach *Meerwein*¹⁴ umgesetzt und das nicht weiter gereinigte arylsubstituierte Maleinimid mit Lauge zur Dicarbonsäure verseift, die durch Hochvakuumsublimation in das gewünschte 2-Methoxy-4,5-methylenedioxy-phenylmaleinsäureanhydrid (VIII) vom Schmp. 264 bis 266° übergeht. Das synthetische Produkt ist nach Schmp., Mischschmp. und IR-Spektrum identisch mit dem Abbaustoff VIII.

Auf Grund dieser Abbaureaktionen kann Pachyrrhizin nur mehr das in Stellung 3 oder 4 durch den 2'-Methoxy-4',5'-methylenedioxy-

¹³ R. T. Arnold und F. Bordwell, J. Amer. Chem. Soc. **64**, 2985 (1942).

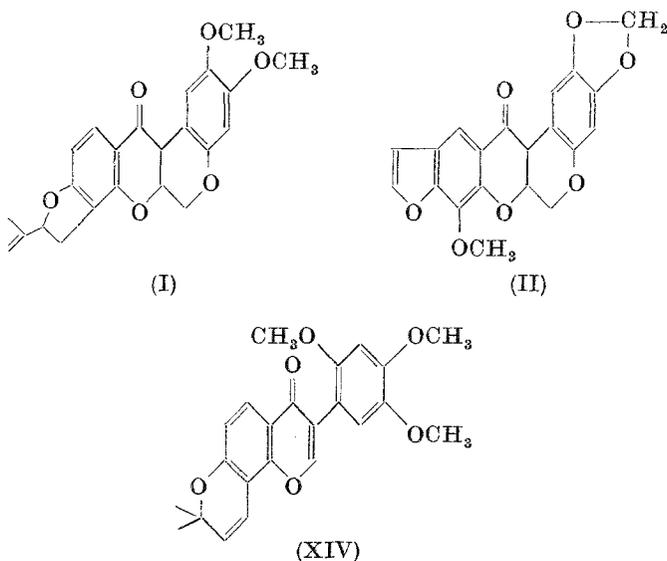
¹⁴ Ausgeführt nach C. S. Rondestvedt und O. Vogl, J. Amer. Chem. Soc. **77**, 2313 (1955).

phenylrest substituierte Psoralen oder Angelicin darstellen, unter der Voraussetzung, daß es wie alle bisher in der Natur aufgefundenen sauerstoffhaltigen Cumarine ein Derivat des Umbelliferons ist. Die UV-Spektren sprechen, wie erwähnt, für diese Annahme. Ein Hinweis über die Stellung des substituierten Arylrestes folgt schon daraus, daß sich Pachyrrhizin beim Kochen mit Natriumäthylat in Alkohol nicht in ein Cumarsäurederivat umlagern läßt (vgl. ⁹). Bei der 4-Stellung des Arylrestes müßte diese Umlagerung ohne weiteres erfolgen.

Durch Oxydation des Dihydro-pachyrrhizins (V) nach *Lemieux-Rudloff* und in besserer Ausbeute durch Ozonisierung des Dihydro-pachyrrhizins konnten wir schließlich den bekannten 6-Hydroxy-cumaron-5-aldehyd (IX)¹⁵ erhalten und durch Eisen(III)-chlorid-Reaktion, Schmp., Mischschmp. und IR-Spektrum mit authentischem Material¹⁵ identifizieren.

In Bestätigung dieses Befundes erhält man aus dem Neutralteil der oben beschriebenen Oxydation der Säure IV einen kristallisierten Stoff vom Schmp. 84 bis 85°, der keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion gibt und der den in der Literatur noch nicht beschriebenen 6-Methoxy-cumaron-5-aldehyd (XI) darstellen mußte.

Zum Vergleich wurde XI aus IX durch Methylierung zu X und anschließender Dehydrierung (N-Bromsuccinimid-Dimethylanilin¹⁶) in schlechter Ausbeute hergestellt und durch Mischprobe und IR-Spektren mit dem Abbaualdehyd identifiziert.



¹⁵ E. C. Horning und D. B. Reisner, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 3620 (1948).

¹⁶ T. A. Geissmann und E. Hinreiner, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 786 (1951).

Für Pachyrrhizin folgt somit die Formel III.

Von Interesse ist die offenkundige biogenetische Verwandtschaft des Pachyrrhizins (III) mit den in *P. erosus* bisher aufgefundenen Rotenoiden Rotenon (I)² und vor allem Pachyrrhizon (II)⁴.

Die Annahme ist naheliegend, daß Pachyrrhizin (III), wie das von Harper¹⁷ aus den Wurzeln von *Derris malaccensis* isolierte Isoflavon XIV den Abkömmling eines Vorläufers der Rotenoide darstellt. Es besteht ferner die Möglichkeit, daß in Rotenoid-führenden Pflanzen noch andere der in der Natur bisher kaum angetroffenen Vertreter des 3-Phenyl-cumarins¹⁸ vorkommen, die zu Rotenon, Toxicarol usw. in analoger Verwandtschaft stehen, wie Pachyrrhizin zu Pachyrrhizon. Versuche, diese Voraussage zu verifizieren, sind im Gange.

Experimenteller Teil¹⁹

Isolierung des Pachyrrhizins

4,9 kg gemahlene Samen von javanischer *Pachyrrhizus erosus* Urban, Papilionaceae (*Yam bean*) wurden mit Petroläther zweimal ausgekocht. Anschließend hat man das Samenmaterial getrocknet, erneut gemahlen und wiederum zweimal zur Entfettung mit Petroläther extrahiert. Das so entfettete Material wurde dann im Extraktor 100 Stdn. mit Aceton ausgezogen. Die aus dem Extrakt nach 4tägigem Stehen bei Zimmertemp. ausgeschiedenen Kristalle wurden abgetrennt: Fraktion I, 25 g. Diese Fraktion enthielt zur Hauptsache das Pachyrrhizon. Die Mutterlauge hat man dann solange fraktioniert eingedampft, als sich nach längerem Stehen noch Kristalle abschieden: Diese Fraktion II (20,7 g) haben wir mit 29,5 g einer entsprechenden Fraktion aus früheren Aufarbeitungen⁴ vereinigt (zur Hauptsache die dort beschriebenen Fraktionen II, I A sowie die leichter löslichen Anteile aus den Fraktionen I B).

15 g der Fraktion II hat man in 350 ml Benzol gelöst und an 800 g neutralem Aluminiumoxyd chromatographiert. Das verwendete Aluminiumoxyd (*Brockmann*) wurde 2mal mit 2 n HCl längere Zeit verrührt und dann mit dest. Wasser lackmusneutral gewaschen. Anschließend hat man das Adsorptionsmittel 2 Tage bei 115° getrocknet. 1,5 l Benzol-Methylenchlorid 9 : 1 eluierten nur Spuren Kristalle (Fraktion Cr 1). 1 l Benzol-Methylenchlorid 7 : 3 eluierte wenig Material, das einen grünblauen „*Rogers-Calamari*-Test“²⁰ zeigte und das unscharf unter 190° schmolz (Fraktion Cr 2). Mit den nächsten 1,5 l dieses Gemisches erhielt man die Hauptmenge des gelb gefärbten

¹⁷ St. H. Harper, J. Chem. Soc. London 1940, 1178; 1942, 595.

¹⁸ Eine gewisse Verwandtschaft mit Pachyrrhizin zeigt das Wedelolacton aus *Wedelia calendulacea* (Compositae): T. R. Govindachari, K. Nagarajan und B. R. Pai, J. Chem. Soc. London 1956, 629. — T. R. Govindachari, K. Nagarajan, B. R. Pai und P. C. Parthasarathy, ibid. 1957, 545, 548. Derivate des 4-Phenyl-cumarins stellen Calophyllolid [*J. Polonsky*, C. r. acad. sci., Paris 242, 2961 (1956) und *Dalbergin* (*V. K. Ahluwalia* und *T. R. Seshadri*, J. Chem. Soc. London 1957, 970)] dar.

¹⁹ Die Schmelzpunkte wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt.

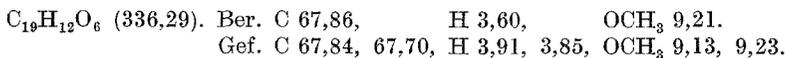
²⁰ H. D. Rogers und J. A. Calamari, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 8, 1125 (1935).

Pachyrrhizins vom Schmp. 195 bis 200° (Fraktion Cr 3). Die nächsten 1,7 l des Lösungsmittels eluierten ein Gemisch von Substanzen, die einen Schmp. von 180 bis 225° zeigten (Fraktion Cr 4). Anschließend hat man mit 1,6 l reinem Methylenchlorid (Fraktion Cr 5) und dann mit Methanol-Chloroform-Essigsäure 65 : 30 : 5 eluiert. Mit diesem Lösungsmittel wurden nur mehr dunkel gefärbte, harzige Substanzen erhalten.

Die Fraktion Cr 3 (4,07 g) hat man in 140 ml alkoholfreiem Chloroform gelöst und erneut an 300 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Das Chromatogramm wurde mit Chloroform entwickelt, eluierte Fraktionen zu je 20 ml eingedampft und vom Rückstand der Schmp. bestimmt. Alle Fraktionen mit Schmp. 198 bis 207° wurden vereinigt (3,65 g). Sie stellten bereits recht reines Pachyrrhizin dar.

Die anderen Fraktionen des ersten Chromatogramms wurden noch nicht näher untersucht.

Das auf diese Weise gewonnene Pachyrrhizin (III) hat man aus Chloroform-Alkohol, Eisessig-Wasser (Norit), Methylcellosolve und Dimethylformamid unkristallisiert und bei 190 bis 210° unter 0,02 mm sublimiert²¹. Schmp. der grüngelb gefärbten Nadeln 206,5 bis 208,5°.



Aktive H-Atome und C-Methylgruppen fehlen; die Substanz ist optisch-aktiv.

UV- und IR-Spektren siehe im theoretischen Teil. Pachyrrhizin zeichnet sich durch eine intensive hellgrüne Fluoreszenz im Ultraviolett aus. Eisen(III)-chlorid-Reaktion, *Gibbs*scher Test und die für Rotenoide charakteristischen Farbreaktionen sind negativ. Pachyrrhizin gab kein Oxim: nach 48stünd. Kochen seiner Lösung in Pyridin mit überschüssigem Hydroxylaminchlorhydrat resultierte nur unverändertes Ausgangsmaterial (Schmp., Mischschmp., Analysen). Pachyrrhizin ist in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln sowie in Wasser schwer löslich. Relativ gut löslich ist es in Chloroform, Methylenchlorid und Dimethylformamid.

Nachweis der Methylenedioxygruppe

a) *Modifizierter Gaebel-Test*: Die von *Gaebel* angegebene Ausführungsform²², welche im Erhitzen der Substanz mit Phloroglucin-Schwefelsäure besteht, ließ sich auf Pachyrrhizin seiner Schwerlöslichkeit wegen nicht anwenden. Wir haben daher die Schwefelsäure durch Pyridin-hydrochlorid ersetzt und den Test wie folgt ausgeführt: 15 bis 20 mg der zu prüfenden Substanz wurden mit 20 bis 30 mg Phloroglucin und 300 bis 500 mg wasserfreiem Pyridin-hydrochlorid im Hochvak. in ein kleines Bombenröhrchen eingeschmolzen und dieses im siedenden Anilinbad erhitzt. Beobachtet wurde die zeitliche Veränderung der Farbe und der Farbintensität. Bei diesen Reihenversuchen gaben neben Pachyrrhizin auch Ayapin, Bulbocapnin, Piperonal und Pachyrrhizon, alles Substanzen mit Methylenedioxygruppe, nach 20 bis 30 Min. Erhitzen intensiv dunkelrote bis violette Farbreaktionen. Marmelosin, Papaverin und andere Substanzen ohne Methylenedioxygruppe gaben hierbei nur gelbbraune Färbungen. Aus der Reihe fiel das Rotenon, das sich über Rot nach Schwarz verfärbte.

²¹ Alle Sublimationen wurden im Kugelrohr durchgeführt; es wird dabei die Temperatur des Luftbades angegeben.

²² *G. O. Gaebel*, Arch. Pharmaz. 248, 225 (1910).

b) *Chromotropsäuretest*: Der Test wurde sowohl nach *Eegriwe*²³ mit 72% Schwefelsäure und nach *Hansen*²⁴ mit 90% Schwefelsäure ausgeführt. Dabei gaben Pachyrrhizin (III), Dihydropachyrrhizin (V), der Ester VI, das substituierte Maleinsäureanhydrid VIII sowie Pachyrrhizon, Ayapin und andere Vergleichssubstanzen mit Methylendioxygruppe deutliche rotviolette Färbungen. Rotenon und andere Verbindungen ohne Methylendioxygruppe gaben keine solche Farbreaktionen.

c) *Präparativer Nachweis der Methylendioxygruppe durch Ozonisierung*: 210 mg Pachyrrhizin in 10 ml trockenem Chloroform hat man unter Kühlung mit 9 l zirka 1,5% Ozon-Sauerstoff-Gemisch (etwa 10 Mole) behandelt. Anschließend wurde im Vak. bei Zimmertemp. abgedampft und der Rückstand unter Durchleiten von Stickstoff mit Wasserdampf destilliert. In der mit salzsaurem 2,4-Dinitrophenylhydrazin beschickten Vorlage fielen orange gefärbte Nadeln aus (70 mg; 55%), die nach Umkristallisieren aus Alkohol bei 183,5 bis 185° schmolzen. Die Mischprobe mit authentischem Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon schmolz ohne Erniedrigung.

$C_7H_6O_4N_4$ (210,15). Ber. C 40,01, H 2,88, N 26,66.

Gef. C 39,99, H 2,78, N 26,40.

Bei einem zweiten Versuch wurde dasselbe Resultat erhalten. Aus dem Destillationsrückstand ließ sich keine einheitliche Substanz isolieren.

In gleicher Weise erhielt man aus Piperonal und Pachyrrhizon in guter Ausbeute Formaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazon. Das Lösungsmittel allein lieferte beim Ozonisieren keine leichtflüchtigen Carbonylverbindungen.

Nachweis des Lactonringes in Pachyrrhizin (III)

100 mg Pachyrrhizin wurden in 4 ml einer 3%igen alkohol. Natronlauge gelöst. Die gelbe Lösung wurde zur Hälfte eingedampft und durch wiederholte Zugabe von Wasser und Abdampfen vom Alkohol befreit. In die klare Lösung wurde nun 2 Stdn. CO₂-Gas eingeleitet. Die ausgeschiedenen, gelben Nadeln hat man abgesaugt und im Hochvak. getrocknet. Schmp. 206 bis 208,5°. Die Mischprobe mit Pachyrrhizin schmolz ohne Erniedrigung. Aus der Mutterlauge erhielt man nach dem Ansäuern mit Mineralsäure weitere Mengen von Pachyrrhizin (Schmp. und Mischschmp.).

Versuch, Pachyrrhizin in ein Cumarsäurederivat umzulagern

119 mg Pachyrrhizin hat man in 5 ml absol. Alkohol bei Gegenwart von 2 Äquival. Natriumäthylat 12 Stdn. unter Wasserausschluß am Rückfluß erhitzt. Anschließend fügte man 20 ml Wasser zu und dampfte den Alkohol im Vak. ab. In die kalte wäßrige Lösung wurde solange CO₂ eingeleitet, bis kein neuer Niederschlag ausfiel. Der mit Wasser gewaschene, in fast quantitativer Ausbeute erhaltene Niederschlag erwies sich auf Grund des Schmp. und der Mischprobe als identisch mit unverändertem Ausgangsmaterial.

Aufspaltende Methylierung von Pachyrrhizin

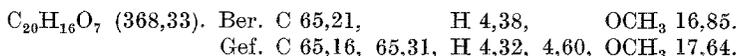
188 mg Pachyrrhizin wurden in 5 ml einer 5%igen methanol. Kalilauge gelöst. Nach dem Zusatz von 5 ml Wasser dampfte man im Vak. auf zirka

²³ *E. Eegriwe*, *Z. analyt. Chem.* **110**, 22 (1937).

²⁴ *O. R. Hansen*, *Acta Chem. Scand.* **7**, 1125 (1953).

4 ml ein und versetzte diese Lösung bei 70° unter Rühren 5mal im Abstand von 10 Min. mit je 1,05 ml Dimethylsulfat und 4,4 ml 20%iger Natronlauge. Nach 2stünd. Rühren bei 70° ließ man erkalten, säuerte an und schüttelte mit einem Äther-Methylenchlorid-Gemisch durch. Nach dem Stehen über Nacht wurden die 2 Phasen getrennt und die wäßrige Phase erschöpfend mit Äther-Methylenchlorid-Gemisch ausgezogen. Die vereinigten organischen Auszüge hat man nun mit verd. Sodalösung ausgeschüttelt, diese angesäuert und wiederum mit dem obigen Lösungsmittelgemisch ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen hinterließ dieser Auszug 27 mg saure Anteile.

Durch Eindampfen des ersten Äther-Methylenchlorid-Auszuges erhielt man 160 mg Neutralstoffe, die mit 10% methanol. Kalilauge verseift und in üblicher Weise aufgearbeitet wurden. Das aus dem Verseifungsansatz erhaltene, in Soda lösliche Produkt wurde mit der ersten Säurefraktion vereinigt und zur Reinigung aus Chloroform-Benzol, Aceton-Wasser oder Essigester unter Druck umkristallisiert und bei 220° unter 0,01 mm sublimiert. Schmp. der farblosen Kristalle 224 bis 226°.

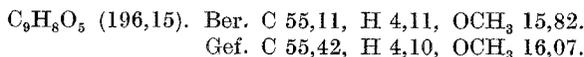


Es handelt sich um die Verbindung IV. UV- und IR-Spektren siehe theoretischer Teil.

Der nach dem Verseifen erhaltene Neutralteil enthielt unverändertes Pachyrrhizin.

Oxydation von Pachyrrhizin nach *Lemieux-Rudloff*¹⁰

81 mg Pachyrrhizin wurden in 5%iger methanol. Kalilauge unter Erwärmen gelöst und die Lösung unter Zugabe von Wasser und Abdampfen vom Methanol befreit. Mit 1 n HCl wurde nun die Lösung auf pH ~ 8 gebracht und anschließend mit 8 Formelgewichten Natriumperjodat in 100 ml Wasser versetzt. Zu der sich sofort undurchsichtig dunkelblau verfärbenden Lösung fügte man 5 mg Kaliumpermanganat in wenig Wasser hinzu und ließ den Reaktionsansatz 12 Stdn. bei 20° stehen. Nach dem Ansäuern wurde mit Methylenchlorid-Äther ausgeschüttelt und aus dieser Lösung die sauren Anteile mit verd. Sodalösung herausgeholt. Nach dem Ansäuern der Sodalösung wurde wie üblich aufgearbeitet und die sauren Anteile bei 0,01 mm und 80 bis 130° sublimiert. Die erhaltenen farblosen Kristalle ließen sich durch wiederholte fraktionierte Hochvakuumsublimation und Umlösen aus Methanol reinigen und schmolzen dann bei 151°. Ausbeute zirka 3 mg. Die Substanz erwies sich auf Grund des Schmp. und Mischschmp. sowie UV-Spektrums als identisch mit synthetischer 6-Methoxypiperonylsäure (VII). Das Vergleichspräparat wurde nach *R. T. Arnold* und *N. Bortnick*¹¹ hergestellt; es schmolz nach dem Umlösen aus Methanol bei 151° und gab folgende korrekte Analyse:



(Die amerikanischen Autoren geben den Schmp. 148 bis 149° an.)

Oxydation von Pachyrrhizin mit Wasserstoffsuperoxyd

177 mg Pachyrrhizin löste man in 18 ml 5%iger äthanol. Kalilauge. Anschließend hat man den Alkohol durch Wasser ersetzt und dann 12 ml 8%iges wäßr. Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt. Nach 50stünd. Stehen

bei 10 bis 20° wurde überschüssiges Wasserstoffsperoxyd durch Erwärmen mit wenig Pt am Wasserbad zerstört. Dann brachte man mit Salzsäure auf kongosaure Reaktion, sättigte mit KCl und extrahierte erschöpfend mit Äther. Der nach dem Abdampfen des Äthers erhaltene Rückstand wurde mit Aceton digeriert, wobei ein unlöslicher Anteil hinterblieb. Dieser Rückstand wurde bei 170 bis 210° unter 0,01 mm destilliert, wobei man rot gefärbte Kristalle erhielt. Diese hat man nochmals sublimiert, aus Aceton-Methanol unter Druck umgelöst und zur Analyse 8 Stdn. bei 100° unter 0,01 mm getrocknet. Schmp. 264 bis 266° unter starkem Sublimieren. Ausbeute 14 mg (12%).

$C_{12}H_8O_6$ (248,19). Ber. C 58,07, H 3,25, OCH_3 12,50.

Gef. C 58,38, H 3,43, OCH_3 12,63.

Die Substanz erwies sich auf Grund der Mischprobe und des IR-Spektrums als identisch mit 2-Methoxy-4,5-methylenedioxy-phenyl-maleinsäureanhydrid (VIII). Der acetonlösliche Teil des Oxydationsproduktes wurde nach dem Eindampfen ebenfalls im Hochvak. sublimiert. Die bis 85° übergehenden farblosen Kristalle schmolzen nach nochmaliger Sublimation bei 168° und erwiesen sich auch an Hand von Papierchromatogrammen als Oxalsäure. Aus den höher siedenden Fraktionen ließ sich keine einheitliche Substanz mehr isolieren. Furandicarbonsäure konnte auch durch Papierchromatographie nicht aufgefunden werden.

Alkalischmelze von Pachyrrhizin

102 mg Pachyrrhizin wurden mit einem Gemisch aus 2,5 g Kaliumhydroxyd und 2,5 g Natriumhydroxyd in einem Silberröhrchen 15 Min. auf 200° erhitzt. Anschließend nahm man die Schmelze in Wasser auf, säuerte mit starker Salzsäure an und extrahierte erschöpfend mit Äther. Der Ätherextrakt wurde eingedampft und der Rückstand fraktioniert bei 0,06 mm sublimiert. Zwischen 80 und 100° sublimierte Oxalsäure, die durch Schmp. und R_f -Wert identifiziert wurde. Zwischen 120 und 170° ging ein Produkt über, das eine deutliche Eisen(III)-chlorid-Reaktion zeigte. Die papierchromatographische Prüfung dieser Fraktion zeigte mit Sicherheit die Abwesenheit von Phloroglucin und Methylphloroglucin an.

Katalytische Hydrierungen von Pachyrrhizin

1. 37,35 mg reines Pachyrrhizin in 5 ml Eisessig nahmen mit 57 mg PtO_2 bei 21,1° und 715 mm Wasserstoffdruck innerhalb 3 Stdn. 13,8 ml, das heißt 4,8 Mol Wasserstoff auf. Die Hydrierung kam danach praktisch zum Stillstand und die Lösung war farblos.

2. Bei der katalytischen Hydrierung mit PtO_2 in Essigsäure-Methylcellosolve oder Essigsäure-Dimethylformamid wurde kein Wasserstoff aufgenommen.

3. 41,8 (36,2) mg Pachyrrhizin in einem Gemisch von 2,5 ml Eisessig und 2,5 ml frisch im Vak. destilliertem Dimethylformamid nahmen mit 24,4 (19,1) mg 30% Pd-Norit bei 26 (23,4)° und 710 (704) mm Wasserstoffdruck innerhalb 1 Std. 3,31 (2,70) ml Wasserstoff, das heißt 0,96 (0,95) Mole auf. Aus diesen Ansätzen ließ sich kristallisiertes Dihydro-pachyrrhizin (V) isolieren.

4. Bei der Hydrierung von Pachyrrhizin mit 30% Pd-Norit in Eisessig allein wurde kein Wasserstoff aufgenommen.

Präparativer Ansatz: 220 mg Pachyrrhizin (III) wurden mit 71 mg 30% Pd-Norit in 10 ml Essigsäure-Dimethylformamid wie oben hydriert. Nach der Aufnahme von 1 Mol Wasserstoff kam die Hydrierung zum Stillstand. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung im Vak. auf zirka ein Viertel eingeeengt, erwärmt und tropfenweise mit heißem Wasser versetzt, bis in der Hitze Kristalle erschienen. Nach längerem Stehen saugte man die verfilzten, farblosen Nadeln ab. Ausbeute 90%. Zur Reinigung wurde im Hochvak. bei 200° sublimiert und dann aus Aceton-Alkohol mehrmals umkristallisiert. Zur Analyse wurde nochmals sublimiert. Schmp. der farblosen Nadeln und Prismen des Dihydro-pachyrrhizins (V) 215,5 bis 217,5°.

$C_{19}H_{14}O_6$ (338,30). Ber. C 67,45, H 4,17, OCH_3 9,17.
Gef. C 67,13, 67,32, H 4,34, 4,49, OCH_3 9,28, 9,35.

Keine C-Methylgruppe.

UV- und IR-Spektrum siehe theoretischer Teil. Der Nachweis der Lacton-gruppierung im Dihydropachyrrhizin (V) wurde auf dieselbe Weise geführt wie beim Pachyrrhizin.

Aufspaltende Methylierung von Dihydropachyrrhizin (V)

300 mg Dihydropachyrrhizin wurden in 15 ml 3%iger äthanol. Kalilauge gelöst und, wie beim Pachyrrhizin beschrieben, der Alkohol mit Wasser verdrängt. Dann wurde mit 100fachem Überschuß an Dimethylsulfat methyliert, wobei ein flockiger Niederschlag ausfiel. Nach dem Ansäuern wurde mit Methylenchlorid-Äther durchgeschüttelt und über Nacht stehengelassen. Anschließend hat man erschöpfend mit Äther-Methylenchlorid-Gemisch ausgezogen und der organischen Phase die sauren Anteile mit verd. Sodalösung entzogen. Diese wurde wieder angesäuert, mit Methylenchlorid-Äther ausgeschüttelt, der Auszug getrocknet und abgedampft. Die den Neutralteil enthaltenden organischen Phasen hat man abgedampft und den Rückstand mit alkohol. Kalilauge verseift. Die Aufarbeitung wurde, wie beim Pachyrrhizin beschrieben, vorgenommen und die sauren Anteile mit der ersten Säurefraktion vereinigt.

Die rohe Säure hat man nach dem Lösen in wenig Methylcellosolve mit äther. Diazomethanlösung methyliert. Dann hat man mit Äther verdünnt, die äther. Lösung mit Wasser und Sodalösung gewaschen und nach dem Trocknen eingedampft. Der Rückstand wurde über neutralem Aluminiumoxyd (bei 115° getrocknet) in Benzol mit 3% Methylenchlorid chromatographiert. Die Fraktionen, welche im UV keine Fluoreszenz zeigten, wurden vereinigt, bei 170 bis 200° unter 0,01 mm destilliert und das erhaltene Produkt aus Methanol-Aceton-Alkohol umkristallisiert. Die farblosen Prismen schmolzen bei 158 bis 159°. Es handelt sich um den Ester VI.

$C_{21}H_{20}O_7$ (384,37). Ber. C 65,62, H 5,24, OCH_3 24,22.
Gef. C 65,31, H 5,22, OCH_3 24,07.

Oxydation von Dihydro-pachyrrhizin (V) nach Lemieux-Rudloff¹⁰

107 mg Dihydro-pachyrrhizin wurden in 5 ml warmer 5%iger methanol. Natronlauge gelöst. Dann hat man das Methanol durch Abdampfen mit Wasser verdrängt und die wäßr. Lösung mit 8 Formelgewichten Natriumperjodat in Wasser versetzt. Mit 1 n HCl wurde auf pH ~ 7,5 gebracht und nach Zugabe von 8,5 mg Kaliumpermanganat über Nacht stehen gelassen. Nach dem Ansäuern wurde im Extraktor mit Äther extrahiert, aus

dem Extrakt die sauren Anteile mit Sodalösung ausgeschüttelt und die äther. Lösung nach dem Trocknen eingedampft. Der Rückstand lieferte durch Sublimation bei 100° unter 0,01 mm farblose Kristalle, die nach weiterer fraktionierter Sublimation bei 109° schmolzen. Die in sehr kleiner Ausbeute erhaltene Substanz gab in wäbr.-alkohol. Lösung eine deutlich rotbraune Eisen(III)-chlorid-Reaktion, die Mischprobe mit 6-Hydroxycumaran-5-aldehyd (IX) schmolz ohne Erniedrigung.

Ozonisierung von Dihydro-pachyrrhizin (V)

78 mg Dihydro-pachyrrhizin wurden in 8 ml Chloroform und 0,4 ml Methanol gelöst und bei -20° mit 2,5 Molen einer 1%igen Ozon-Sauerstoff-Mischung behandelt. Die farblose, stark fluoreszierende Lösung hat man mit Wasser 1½ Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Sättigen mit NaCl hat man erschöpfend mit Methylenchlorid-Äther ausgezogen, die organische Phase mit verd. Sodalösung gewaschen und nach dem Trocknen eingedampft. Aus dem Rückstand erhielt man durch Sublimation bei 100° unter 0,01 mm 5 mg (13,4%) 6-Hydroxycumaran-5-aldehyd (IX), der nach dem Umlösen aus Methanol bei 109° schmolz. Die Mischprobe mit authentischem Vergleichsmaterial¹⁵ schmolz ohne Depression. Auch in den Farbreaktionen mit Eisen(III)-chlorid und in den IR-Spektren (KBr) konnte zwischen dem synthetischen und dem Abbauprodukt kein Unterschied festgestellt werden. Eine weitere kleine Menge dieses Aldehyds erhielt man nach Verseifung des Destillationsrückstandes mit 10%iger methanol. Kalilauge und üblicher weiterer Aufarbeitung.

Oxydation der Säure IV nach Lemieux-Rudloff¹⁰

20 mg der Säure IV wurden in 20 ml verd. Sodalösung gelöst und mit einer gesättigten Lösung von 100 mg Natriumperjodat in Wasser versetzt. Anschließend brachte man die Reaktionsmischung mit 1 n HCl auf pH ~ 7,5, setzte 2 mg KMnO₄ zu und ließ 12 Stdn. bei 20° stehen. Nach dem Ansäuern wurde mit Methylenchlorid-Äther-Gemisch ausgeschüttelt. Die sauren Anteile hat man der organischen Phase mittels Sodalösung entzogen, den Sodauszug angesäuert und mit Methylenchlorid-Äther ausgeschüttelt. Der nach dem Trocknen und Abdampfen des Extraktes erhaltene Rückstand wurde bei 0,01 mm fraktioniert sublimiert. Bei 80 bis 120° erhielt man farblose Kristalle, darauf folgte etwas orangegelbes Öl. Die farblosen Kristalle (4 mg) schmolzen nach mehrmaliger fraktionierter Sublimation bei 151°; die Mischprobe mit 6-Methoxy-piperonylsäure (VII) schmolz ohne Depression. Das Öl kristallisierte beim Anreiben mit Chloroform in roten Prismen, die nach weiteren Sublimationen bei 264 bis 266° (unkorr.) schmolzen. Sie stellen das substituierte Maleinsäureanhydrid VIII dar (Schmp. und Mischschmp.).

Aus der Neutralfraktion erhielt man durch Sublimation bei 75 bis 90° unter 0,01 mm farblose Kristalle in sehr kleiner Menge, die nach nochmaliger Sublimation bei 84 bis 85° schmolzen. Die Verbindung gab keine Eisen(III)-chlorid-Reaktion, sondern erwies sich auf Grund des Schmp., Mischschmp. und des IR-Spektrums (KBr) identisch mit dem synthetischen 6-Methoxycumaron-5-aldehyd (XI).

Synthese des 2-Methoxy-4,5-methylendioxy-phenylmaleinsäureanhydrids (VIII)

1-Nitro-2-methoxy-4,5-methylendioxy-benzol (XII): a) 3,6 g 6-Methoxy-piperonylsäure¹¹ wurden in 40 ml Eisessig suspendiert und unter ständigem

Rühren langsam mit 3,5 ml konz. Salpetersäure versetzt. Das Reaktionsgemisch erwärmte sich auf 38°, wobei eine homogene, sich langsam gelb färbende Lösung entstand. Beim Abkühlen begann sich die Nitroverbindung XII kristallin auszuschcheiden. Sie wurde nach längerem Stehen abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vak. getrocknet. Ausbeute 2,9 g (80%); Schmp. nach dem Umkristallisieren aus Alkohol 140 bis 141°.

$C_8H_7O_5N$ (197,14). Ber. C 48,74, H 3,58. Gef. C 48,54, H 3,67.

b) 180 mg 1-Nitro-2-hydroxy-4,5-methylenedioxy-benzol¹³ in 0,6 ml Toluol wurden mit 0,11 g fein zerriebenem Natriumcarbonat versetzt und bei 100° unter ständigem Schütteln allmählich 0,14 g Dimethylsulfat hinzugefügt. Nach 6stünd. Erhitzen auf 110° ließ man erkalten, verdünnte mit Methylenchlorid und schüttelte mit verd. Natronlauge aus. Der nach dem Trocknen und Abdampfen der organischen Phase erhaltene Rückstand wurde im Hochvak. bei 110 bis 120° sublimiert. Man erhielt 50 mg gelbe Prismen, die nach dem Umlösen bei 140 bis 141° schmolzen und bei der Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Produkt XII keine Depression zeigten.

1-Amino-2-methoxy-4,5-methylenedioxy-benzol (XIII): 50 mg der Nitroverbindung XII wurden in 20 ml Alkohol unter Erwärmen gelöst und anschließend mit 23 mg 30% Pd-Norit unter Normaldruck hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war nach 30 Min. beendet. Der Wasserstoff in der Schüttelente wurde durch Stickstoff verdrängt; dann wurde vom Katalysator abgesaugt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand ging bei 100° unter 0,01 mm als farbloses Öl über und erstarrte beim Anreiben mit Äther sofort. Ausbeute 40 mg (93%); Schmp. 56°. Das Amin XIII oxydiert sich an der Luft leicht, so daß bei seiner Herstellung alle Operationen möglichst unter Sauerstoffausschluß auszuführen sind.

$C_8H_9O_3N$ (167,16). Ber. C 57,48, H 5,43. Gef. C 57,62, H 5,45.

2-Methoxy-4,5-methylenedioxy-phenylmaleinsäureanhydrid (VIII): Aus dem Amin XIII hat man in Methanol mit methanol. Salzsäure das ebenfalls wenig beständige, kristallisierte Chlorhydrat bereitet und aus Alkohol umkristallisiert. 90 mg dieses Chlorhydrats wurden in wenig Wasser suspendiert, mit 1,7 Äquival. verd. Salzsäure versetzt und bei 0° mit der berechneten Menge 30%igen Natriumnitritlösung diazotiert. Unter Umschütteln hielt man solange bei 0°, bis sich eine klare Lösung ausgebildet hatte. Dann wurde 1 Mol Maleinimid in 2 ml Aceton, 2,4 Äquival. festes Natriumacetat und dann 0,25 Äquival. Cu_2Cl_2 in wenig Wasser zugesetzt und der Ansatz über Nacht stehengelassen. Es entwickelten sich 6 ml (56%) Stickstoff. Die Lösung hat man mit Wasser verdünnt, das Aceton im Vak. entfernt und mit 5%iger Natronlauge solange gekocht, bis kein Ammoniak mehr entwickelt wurde. Nach dem Erkalten wurde angesäuert, mit Äther-Methylenchlorid ausgeschüttelt und der Auszug in üblicher Weise aufgearbeitet. Bei der Hochvakuumsublimation erhielt man nach einem beträchtlichen Vorlauf 23 mg (11%) des gewünschten Stoffes VIII, der zur Reinigung aus Toluol unter Zusatz von Essigsäureanhydrid umgelöst und zur Analyse nochmals im Hochvak. sublimiert wurde. Schmp. der roten Prismen oder Platten 264 bis 266°.

$C_{13}H_3O_6$ (248,19). Ber. C 58,07, H 3,25. Gef. C 57,84, H 3,29.

6-Methoxy-cumaran-5-aldehyd (X): 123 mg 6-Hydroxy-cumaran-5-aldehyd (IX)¹⁵ hat man in 1 ml 10%iger Kalilauge gelöst und bei 70° portionen-

weise mit 10 Äquival. Dimethylsulfat und der berechneten Menge 10%iger Kalilauge unter Rühren versetzt. Anschließend rührte man 30 Min. bei 70°, extrahierte nach dem Erkalten mit Äther und arbeitete den Extrakt in üblicher Weise auf. Nach Sublimation bei 100 bis 110° unter 0,01 mm erhielt man farblose derbe Kristalle vom Schmp. 121°.

$C_{10}H_{10}O_3$ (178,18). Ber. OCH_3 17,41. Gef. OCH_3 17,79.

6-Methoxy-cumaron-5-aldehyd (XI): 64 mg des obigen Aldehyds X hat man in 4 ml Tetrachlorkohlenstoff mit 1 Mol N-Bromsuccinimid und einer Spur Dibenzoylperoxyd versetzt. Die Lösung färbte sich anfangs gelb, worauf Succinimid ausfiel und sie wieder farblos wurde. Dann hat man 40 Min. am Rückfluß erhitzt, nach dem Erkalten filtriert, das Filtrat im Vak. eingedampft und den Rückstand 3 Stdn. mit Dimethylanilin auf 200° erhitzt. Anschließend nahm man in Äther auf, befreite die äther. Lösung von der Base durch Ausschütteln mit 2 n H_2SO_4 , dampfte die getrocknete Lösung ein und destillierte den Rückstand bei 90 bis 95° unter 0,01 mm. Das erhaltene gelbe Öl, das beim Abkühlen erstarrte, wurde in Benzol-Pentan 1 : 4 an wenig neutralem Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol eluierten, scharf schmelzenden Mittelfractionen hat man nochmals im Hochvak. sublimiert. Schmp. des farblosen 6-Methoxy-cumaron-5-aldehyds (XI) 84°. Ausbeute 8 mg (13%).

$C_{10}H_8O_3$ (176,16). Ber. C 68,18, H 4,58. Gef. C 67,92, H 4,67.

Wir danken dem Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung sowie der Firma *Hoffmann-La Roche*, Basel, für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit bestens.