

Über Inhaltstoffe der *Iris germanica* (Schwertlilie) *

Von

M. Pailer und F. Franke

Aus dem Pharmazeutisch-Chemischen Institut der Universität Wien,
Österreich

(Eingegangen am 19. Juni 1973)

Constituents of Iris germanica

Acetovanillon and the known flavonoids irisolidone, irigenin, irisolone, tectorigenin and dihydroquercetin-7,3'-dimethylether were detected in the rhizomes of *Iris germanica*. Also a few unknown compounds could be isolated and their structure elucidated; 9-methoxy-7-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-8*H*-1,3-dioxolo[4,5-*g*] [1]-benzopyran-8-on (= 5,3',4',5'-tetramethoxy-6,7-methylenedioxyisoflavone (III A)); 9-methoxy-7-(3',4'-dimethoxyphenyl)-8*H*-1,3-dioxolo[4,5-*g*] [1]-benzopyran-8-on (= 5,3',4'-trimethoxy-6,7-methylenedioxyisoflavone (III B)); 9-hydroxy-7-(*p*-hydroxyphenyl)-8*H*-1,3-dioxolo[4,5-*g*] [1]-benzopyran-8-on (= 5,4'-dihydroxy-6,7-methylenedioxyisoflavone (IX)); 5,7-dihydroxy-3-(3'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-6-methoxy-4*H*-1-benzopyran-4-on (= 5,7,3'-trihydroxy-6,4'-dimethoxyisoflavone (XI B)); 5,7-dihydroxy-3-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-6-methoxy-4*H*-1-benzopyran-4-on (= 5,7,4'-trihydroxy-6,3'-dimethoxyisoflavone (XI C)).

The structure determination was effected by combined spectroscopical and chemical methods.

Die Rhizome der zur Familie der Iridaceae gehörigen *Iris germanica* finden schon seit alters her in der Volksmedizin und zur Herstellung des Irisöls Verwendung.

Mit der Untersuchung der Rhizome dieser Pflanze auf Inhaltstoffe hat man sich gelegentlich beschäftigt. So konnten außer den Reservekohlenhydraten Stärke und Saccharose¹, Ascorbinsäure² und Fetten³ die Isoflavone Irogenin⁴ und Irisolon⁵ festgestellt werden.

Beim Abkühlen eines Petrolätherextraktes schied sich eine feste Masse ab, die in CHCl₃ gelöst und durch Säulenchromatographie in die Fraktionen I—VI getrennt wurde.

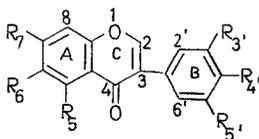
* Herrn Prof. Dr. F. Hecht mit den besten Wünschen zum 70. Geburtstag gewidmet.

Die in der Petrolätherlösung verbliebenen Verbindungen wurden durch Ausschütteln mit wäßriger NaHCO_3 -, Na_2CO_3 - und NaOH -Lösung in saure, phenolische und neutrale Bestandteile getrennt. Neben Fetten und Neutralstoffen konnten hier wieder die Verbindungen I und II festgestellt werden.

Die mit Petroläther behandelten Wurzeln wurden hierauf mit CH_2Cl_2 extrahiert. Beim Abkühlen der CH_2Cl_2 -Lösung fielen weiße Kristalle aus (VII), die abfiltriert wurden. Das Filtrat wurde nun wieder wie vorher mit NaHCO_3 - und Na_2CO_3 -Lösung ausgeschüttelt. Aus der angesäuerten NaHCO_3 -Lösung konnte durch Extraktion mit Äther VIII gewonnen werden. Die Na_2CO_3 -Lösung ergab beim Ansäuern ein Substanzgemisch, von dem ein Teil in Äther unlöslich (IX) und ein Teil löslich war. Die ätherlöslichen Anteile ließen sich chromatographisch in die Fraktionen X und XI trennen. Über die Untersuchung der im CH_2Cl_2 verbliebenen schwach sauren und neutralen Stoffe werden wir gelegentlich berichten.

Fraktion I, Schmp. 114—115°, ließ sich auf Grund der analytischen Daten und Mischprobe als 4-Hydroxy-3-methoxyacetophenon (= Acetovanillon) identifizieren, das schon bei einer orientierenden Untersuchung der Wurzeln am hiesigen Institut (*E. Haslinger*) aufgefunden worden war.

Fraktion II war einheitlich (Schmp. 188—189°). Auf Grund der Elementaranalyse und des Molgewichtes (314) kommt II die Bruttoformel $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$ zu. Die Bildung eines Diacetates und die spektroskopischen Daten beweisen für II die Konstitution des 5,7-Dihydroxy-6-methoxy-3-(4'-methoxyphenyl)-4*H*-1-benzopyran-4-ons (= 5,7-Dihydroxy-4,6'-dimethoxyisoflavon) [Formel 1: $\text{R}_5 = \text{R}_7 = \text{OH}$, $\text{R}_6 = \text{R}_{4'} = \text{OCH}_3$, $\text{R}_{3'} = \text{R}_{5'} = \text{H}$]. Diese, Irisolidon genannte, Verbindung wurde auch in *Iris nepalensis* aufgefunden⁴.



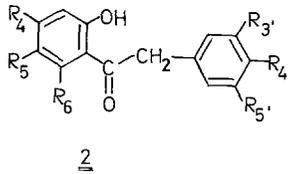
1

Fraktion III schien zunächst chromatographisch einheitlich, konnte aber schließlich doch in zwei Verbindungen, III A ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8$, Schmp. 167—168°) und III B, aufgetrennt werden.

III A gibt bei der üblichen Acetylierung kein Acetylderivat und zeigt keine OH-Absorption im IR. Auf Grund des UV-Spektrums erscheinen Isoflavon-, Flavanon- oder Dihydroflavonolstruktur möglich (stark ausgeprägte Absorption bei 264 nm, Schulter bei 322 nm). Im

NMR-Spektrum erkennt man neben vier Methoxygruppen, von denen drei die gleiche, eine davon eine deutlich verschiedene chemische Verschiebung zeigen, und einer Methylenedioxygruppe drei aromatische Protonen, die als zwei Singulette auftreten, sowie ein einzelnes Proton, dessen Lage bei extrem tiefem Feld für Protonen am C-2 [Formel 1] von Isoflavonen charakteristisch ist. Das Singulett zweier aromatischer Protonen und das Signal der drei Methoxygruppen weist auf die symmetrische Substitution des Ringes B hin.

Zur näheren Charakterisierung wurde III A in der bei Isoflavonen üblichen Weise durch Kochen mit verdünnter Lauge zum entsprechenden Benzylketon III A/1 [Formel 2, $R_4 + R_5 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_6 = R_{3'} = R_{4'} = R_{5'} = \text{OCH}_3$] und Ameisensäure gespalten.

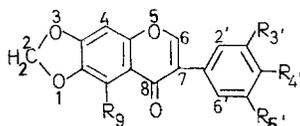


Dieses gab dann bei längerem Kochen mit konz. Lauge ein phenolisches Produkt, III A/1/a, für welches auf Grund der analytischen Daten und des Schmelzpunktes (89—90°) die Struktur des 5-Hydroxy-7-methoxy-1,3-benzodioxol (=3-Methoxy-4,5-methylenedioxyphenol) wahrscheinlich erschien, die dann durch Mischprobe bestätigt werden konnte.

Daneben entstand bei der Spaltung eine Trimethoxyphenylessigsäure III A/1/b vom Schmp. 116—119°, die auf Grund des NMR-Spektrums nur 3,4,5- oder 2,4,6-Trimethoxyphenylessigsäure sein konnte. Da der Schmp. der letzteren bei 180° liegt, scheidet diese Möglichkeit aus. Der Mischschmelzpunkt der Abbausäure mit authentischer 3,4,5-Trimethoxyphenylessigsäure zeigte hingegen keine Depression.

Der aus III A durch vollständige Entmethylierung mit AlCl_3 in absol. Benzol und anschließende Methylierung mit Dimethylsulfat gebildete Permethyläther III A/2 konnte durch Mischschmelzpunkt und Vergleich der IR-Spektren als Irogenintrimethyläther [5,6,7-Trimethoxy-3-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-on = 3',4',5,5',6,7-Hexamethoxyisoflavon Formel 1, $R_5 = R_6 = R_7 = R_{3'} = R_{4'} = R_{5'} = \text{OCH}_3$] identifiziert werden. Da die Konstitution des Abbauphenols keine eindeutige Zuordnung der Stellungen der Methoxy- und Methylenedioxygruppe am Ring A in III A erlaubt, wurde III A mit AlCl_3 in absol. Äther behandelt. Unter diesen Reaktionsbedingungen wird die Methoxygruppe am C-9 [Formel 3] selektiv gespalten. Bei

III A war diese Spaltung zu III A/3 festzustellen und damit der Sitz der Methoxyl- und der Methylendioxygruppe gegeben. Die Verbindung III A ist also das 9-Methoxy-7-(3',4',5'-trimethoxyphenyl)-8*H*-1,3-dioxolo[4,5-*g*][1]-benzopyran-8-on [Formel (3): $R_9 = R_{3'} = R_{4'} = R_{5'} = \text{OCH}_3$] (= 3',4',5,5'-Tetramethoxy-6,7-methylendioxyisoflavinon)



3

Für III B, Schmp. 178,5—180°, lieferten Molekulargewicht (356) und Elementaranalyse die Bruttoformel $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_7$. Auf Grund des IR-Spektrums sind OH-Gruppen auszuschließen. Das UV-Spektrum ist für Isoflavone charakteristisch. Eine weitere Bestätigung für das Fehlen freier OH-Gruppen ergibt sich daraus, daß das Absorptionsmaximum (265 nm) durch Zusatz von Na-Methylat oder AlCl_3 keine bathochrome Verschiebung erfährt. Mit der Isoflavonstruktur steht auch das NMR-Spektrum im Einklang. Es zeigt insgesamt sechs Singulette, die den Protonen dreier Methoxyl- und einer Methylendioxygruppe sowie den am C-4 bzw. C-6 [Formel 3] sitzenden Protonen zugeordnet werden können. Weiters erkennt man drei aromatische Protonen des B-Ringes, die auf Grund der zwischen ihnen auftretenden Kopplungen 3',4'-Substitution wahrscheinlich machen. Im Massenspektrum findet man neben dem Molekulargewichtspike bei 356 die durch Spaltung des heterocyclischen Ringes entstandenen Spaltstücke $m/e = 194$ (Ring A) und $m/e = 162$ (Ring B).

III B wurde analog wie III A durch verd. Lauge zunächst zum Benzylketon III B/1 [Formel 2: $R_4 + R_5 = \text{OCH}_2\text{O}$, $R_6 = R_{3'} = R_{4'} = \text{OCH}_3$, $R_{5'} = \text{H}$] und Ameisensäure und hierauf durch drastischere Alkalibehandlung in ein phenolisches Produkt III B/1/a und eine Dimethoxyphenyllessigsäure III B/1/b gespalten.

Die auf Grund der spektroskopischen Befunde wahrscheinlichste Substitution ließ sich durch Identifizierung des Abbauphenols als 5-Hydroxy-7-methoxy-benzo-1,3-dioxol und der Abbausäure als 3,4-Dimethoxyphenyllessigsäure bestätigen. Somit ist III B das 9-Methoxy-7-(3',4'-dimethoxyphenyl)-8*H*-1,3-dioxolo[4,5-*g*][1]-benzopyran-8-on [Formel 3: $R_9 = R_{3'} = R_{4'} = \text{OCH}_3$, $R_{5'} = \text{H}$] (= 3',4',5-Tri-methoxy-6,7-methylendioxyisoflavinon).

Nach mehrmaligem Umlösen der Fraktion IV aus Äthanol war die Verbindung IV rein, Schmp. 188—190°. Die Elementaranalyse ergab

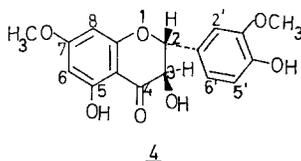
zusammen mit dem massenspektrometrisch gefundenen Molgewicht (332) die Bruttoformel $C_{17}H_{16}O_7$; Verbindung IV kann also weder ein Flavon oder Isoflavon, sondern muß ein Flavanon oder Dihydroflavonol sein. Auch das UV-Spektrum spricht für Dihydroflavon oder Dihydroflavonol-Struktur (287 nm). Eine Hydroxylgruppe in Stellung 7 [Formel 4] kann auf Grund des UV-Spektrums nach Zusatz von Na-Acetat ausgeschlossen werden. Dagegen stellt man beim Zufügen von $AlCl_3/HCl$ eine starke Rotverschiebung (um 25 nm) fest; dies ist für eine OH-Gruppe in Stellung 5 charakteristisch. Im NMR-Spektrum erkennt man vier Singulette, die von sechs Protonen zweier OCH_3 -Gruppen und zwei Protonen zweier OH-Gruppen stammen. Daneben sind zwei in meta-Stellung befindliche Protonen des A-Ringes (H-6 und H-8 [Formel 4]) durch zwei eng nebeneinanderliegende Dublette und drei Protonen des B-Ringes (zwei Dublette und ein dublett. Dublett mit den Kopplungskonstanten 8 bzw. 2 Hz) zu sehen. Außerdem tritt eine Signalgruppe im Bereich 4,5—5,3 ppm auf, die drei Protonen entspricht. Von diesen insgesamt 16 Protonen sind drei durch Deuterium austauschbar: bei Zugabe von D_2O verschwinden die Signale der beiden phenolischen Protonen. Die Signalgruppe bei 4,5—5,3 vereinfacht sich markant und läßt ein AB-System ($J = 12$ Hz), 2 Protonen entsprechend, erkennen. Diese Kopplungskonstante ist für *trans*-diaxiale Protonen charakteristisch und macht Dihydroflavonolstruktur wahrscheinlich. Das Massenspektrum zeigt intensive Bruchstückbildung durch Spaltung des heterocyclischen Ringes zu den Fragmenten $m/e = 167$ und $m/e = 166$. Damit ist die Verteilung von je einer OH- bzw. OCH_3 -Gruppe auf die Ringe A und B nochmals bewiesen, was auf Grund der UV-Spektren (OH in 5, OCH_3 in 7) bereits feststand. Zur genauen Feststellung der OH- bzw. OCH_3 -Substitution am Ring B, aber auch zum weiteren Beweis für die Konstitution des Dihydroflavonols, wurde IV mit Jod zum entsprechenden Flavonol IV/1, Schmp. 218—220°, dehydriert.

Für das Rhamnacin [3,5-Dihydroxy-2-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-7-methoxy-4H-1-benzopyran-4-on] wird Schmp. 214—218° angegeben⁶. Auch die Schmelzpunkte des Triacetyl-IV/1/1 (152—154°) und des Tribenzoylderivates IV/1/2 (205—207°) stimmen mit den angegebenen überein⁷.

Damit ist die Konstitution von IV als 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-2-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-7-methoxy-4H-1-benzopyran-4-on [= 4',5-Dihydroxy-3',7-dimethoxy-dihydroflavonol = Dihydroquercetin-3',7-dimethyläther, Formel 4] bewiesen.

Für die absolute Konfiguration an den beiden Asymmetriezentren C-2 und C-3 ließ sich durch Messung der CD-Kurve und deren Vergleich mit den CD-Kurven anderer, in ihrer absoluten Konfiguration geklärter Dihydroflavonole eine 2*R* : 3*R*-Anordnung feststellen. Bekanntlich geben

alle einfachen Dihydroflavonole, die *trans-2R*:*3R*-Konfiguration aufweisen, *CD*- und *ORD*-Kurven, welche vier *Cottoneffekte* in der Reihenfolge (+), (−), (+), (+) von 400—220 nm zeigen⁸. Auch bei IV konnten diese vier *Cottoneffekte* in der richtigen Reihenfolge festgestellt werden.



Die Verbindung IV wurde kürzlich auch als Inhaltstoff von *Artemisia pygmaea*⁹ und eines Hybrides von *Eupatorium capillifolium* und *E. perfoliatum* L.¹⁰ aufgefunden.

Verbindung V, die in größerer Menge (0,05% ber. auf trockene Wurzeln) gewonnen wurde, erwies sich auf Grund des Schmelzpunktes und der spektroskopischen und analytischen Befunde als Iridigenin [5,7-Dihydroxy-3-(3'-hydroxy-4',5'-dimethoxyphenyl)-6-methoxy-4*H*-1-benzopyran-4-on = 3',5,7-Trihydroxy-4',5',6-trimethoxyisoflavon]. Als Derivate wurden das Triacetat und der Trimethyläther dargestellt, deren Schmelzpunkte mit der Lit.¹¹ übereinstimmten.

VI erwies sich als mit VII (siehe CH₂Cl₂-Extraktion) identisch. Es handelt sich um das bereits aus *Iris nepalensis* isolierte Irisolon 7-(4'-Hydroxyphenyl)-9-methoxy-8*H*-1,3-dioxolo[4,5-*g*][1]-benzopyran-8-on = 4'-Hydroxy-5-methoxy-6,7-methyldioxyisoflavon¹². Für den Methyläther des Irisolons fanden wir Schmp. 152—153,5°, während *Gopinath* und Mitarb.¹² 184—185° angeben. Auch für das Acetat wurde von uns ein von der Literatur abweichender Schmp. von 162—163,5° gefunden (Lit. Schmp.: 156—157°).

VIII wurde in Form schwach gelber Kristalle vom Schmp. 228—230° erhalten. Auf Grund der analytischen Daten konnte die Verbindung als Tectorigenin [5,7-Dihydroxy-3-(4'-methoxyphenyl)-6-methoxy-4*H*-1-benzopyran-4-on = 4',5,7-Trihydroxy-6-methoxyisoflavon] identifiziert werden. Ein Glucosid des Tectorigenins wurde bereits in *Iris tectorum* max. gefunden¹³.

IX (C₁₆H₁₀O₆) bildete ein Diacetat IX/1. Das UV-Spektrum von IX deutet wieder auf Isoflavonstruktur. AlCl₃/HCl bewirkt eine kräftige bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums, wogegen das Spektrum bei Zugabe von Na-Acetat keine Veränderung zeigt. Dies beweist die Anwesenheit einer OH-Gruppe in Stellung 5 [Formel 1] und die Abwesenheit einer OH-Gruppe in 7. Im Massenspektrum zeigen sich charakteristische Bruchstücke bei *m/e* = 180 und *m/e* = 118, deren

Massen zusammengenommen die Molekülmasse ergeben. Aus dem Bruchstück bei $m/e = 118$ folgt, daß eine OH-Gruppe am Ring B sitzt. Aus der Bruttoformel läßt sich bei Annahme einer Isoflavonstruktur die Zahl der Ringe mit 4 errechnen. Nach Abzug des bereits bekannten Molekülteiles von der Summenformel bleibt CH_2O_2 für den 4. Ring übrig. Die Anwesenheit einer Methylendioxygruppe wird auch durch das NMR-Spektrum bestätigt. Es zeigt außerdem zwei hydroxyliche und zwei aromatische Protonen als Singulette und ein vier Protonen entsprechendes A_2B_2 -System, wie es für para-disubstituierte Benzolderivate charakteristisch ist. Die aromatischen Singulette sind den Protonen am C-4 und C-6 [Formel 3] bzw. dem Ring B des Isoflavons zuzuordnen.

Zur endgültigen Charakterisierung wurde IX methyliert, wobei man sowohl einen Monomethyl- (IX/2) als auch den Dimethyläther (IX/2/1) erhielt. Der Monomethyläther wurde mit dem aus Irisolonmethyläther durch partielle Entmethylierung ($\text{AlCl}_3/\text{Äther}$) gebildeten 9-Hydroxy-7-(4'-methoxyphenyl)-8H-1,3-dioxolo[4,5-g][1]-benzopyran-8-on identisch gefunden; der Dimethyläther war mit Irisolonmethyläther identisch. Schließlich wurde noch IX mit dem aus Irisolon durch Entmethylierung gebildeten 9-Hydroxy-7-(4'-hydroxyphenyl)-8H-1,3-dioxolo[4,5-g][1]-benzopyran-8-on [Formel 3: $R_9 = R_{4'} = \text{OH}$, $R_{3'} = R_{5'} = \text{H}$] (= 5,4'-Dihydroxy-6,7-methylendioxyisoflavon) identifiziert, wodurch die Konstitution von IX bewiesen ist.

Fraktion X lieferte das auch aus dem Petroläther-Extrakt isolierte Acetovanillon (s. oben).

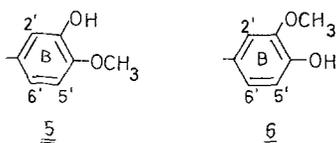
Aus Fraktion XI konnten drei reine Verbindungen, XI A, XI B und XI C isoliert werden.

XI A, Schmp. 188—190°, war mit Irogenin (V) identisch.

XI B zeigte nach mehrmaligem Umlösen aus Äthanol Schmp. 163—166 °C. Die Verbindung bildet ein Triacetat XI B/1. Das Molekulargewicht von XI beträgt auf Grund des Massenspektrums 330. Das Fragmentierungsschema, welches völlig dem des um 30 Masseneinheiten schwereren Irogenins ($m/e = 360$) gleicht, legt den Schluß nahe, daß sich XI B nur durch das Fehlen einer OCH_3 -Gruppe von Irogenin unterscheidet. Das UV-Spektrum zeigt einen für Isoflavone charakteristischen Verlauf. Das Absorptionsmaximum bei 267 nm trägt an seiner längerwelligen Seite eine schwach ausgebildete Schulter bei 332 nm. Die mit NaOAc bzw. AlCl_3/HCl auftretenden bathochromen Verschiebungen beweisen das Vorliegen von Hydroxylgruppen in den Stellungen 5 und 7 [Formel 1]. Im NMR-Spektrum erkennt man neben vier Singuletten, die zwei Methoxygruppen und zwei aromatischen Protonen (H-2 bzw. H-8) zuzuordnen sind, eine Signalgruppe dreier aromatischer Protonen des B-Ringes als zwei Dublette und ein dublett. Dublett mit den Kopplungskonstanten 8 bzw. 2 Hz. Da das NMR-Spektrum in CD_3OD auf-

genommen werden mußte, ließen sich die drei hydroxyl. Protonen, die durch die Bildung des Triacetates angezeigt worden waren, nicht feststellen. Das Auftreten eines einzelnen, nicht gekoppelten Protons sowie das dreier miteinander in Wechselwirkung stehender Protonen beweist, daß der Ring A dreifach, der Ring B zweifach durch insgesamt 3 Hydroxyl- und 2 Methoxygruppen substituiert ist. Da auf Grund des UV-Spektrums OH-Gruppen in den Stellungen 5 und 7 vorliegen und vicinale OH-Gruppen wegen des Fehlens einer Rotverschiebung bei Zusatz von H_3BO_3 ausgeschlossen werden können, ergibt sich die Substitution des Ringes A in folgender Weise: 5,7-Dihydroxy-6-methoxy.

Um die Substitution des Ringes B zu klären, wurde XI B mit Dimethylsulfat in üblicher Weise methyliert und der dabei entstandene Trimethyläther (XI B/2) durch Oxydation mit $KMnO_4$ zu einer Dimethoxybenzoesäure XI B/2/1 abgebaut, die sich als 3,4-Dimethoxybenzoesäure (Veratrumsäure) erwies. Zur eindeutigen Festlegung der Stellung der OH- bzw. der OCH_3 -Gruppe wurde der Nuclear-Overhauser-Effekt benutzt.



Beim Einstrahlen auf die Methoxygruppe wurde nur bei H-5' ein Overhauser-Effekt, und zwar von 32%, gemessen. Dies beweist die Nachbarschaft von H-5' zur Methoxygruppe, wodurch die Teilformel (6) ausgeschlossen werden kann. Diese Ergebnisse ließen sich auch auf chemischem Weg bestätigen. XI A bildete bei der Äthylierung mit Diäthylsulfat einen Triäthyläther XI B/3, der bei der Oxydation mit $KMnO_4$ 3-Äthoxy-4-methoxy-benzoesäure XI B/3/1 ergab. Somit ist XI B das 5,7-Dihydroxy-3-(3'-hydroxy-4'-methoxyphenyl)-6-methoxy-4H-1-benzopyran-4-on [Formel 1: $R_5 = R_7 = R_{3'} = OH$, $R_6 = R_{4'} = OCH_3$, $R_{5'} = H$] (= 5,7,3'-Trihydroxy-6,4'-dimethoxyisoflavon).

XI C bildete aus Methanol Kristalle, Schmp. 237—240°. Die spektroskopischen Daten dieser Verbindung stimmten mit denen von XI B so weitgehend überein, daß eine enge strukturelle Verwandtschaft nahelag.

XI C besitzt auch dieselbe Summenformel wie XI B. Die Massenspektren der beiden Verbindungen sind identisch. Aus den UV-Spektren kann geschlossen werden, daß die Substitution der Ringe A in beiden Verbindungen gleich ist. Da das Kernresonanzspektrum auch bei XI C eine 3',4'-Substitution wahrscheinlich macht, liegt die Vermutung nahe, daß XI C sich von XI B nur durch den Tausch der OH- und der OCH_3 -

Gruppe unterscheidet. Um dies zu bestätigen, wurde XI C unter milden Bedingungen zum Diäthyläther XI C/1 äthylisiert und dieser zur 4-Äthoxy-3-methoxy-benzoesäure XI C/1/1 oxydiert. XI C ist demnach 5,7-Dihydroxy-3-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-6-methoxy-4H-1-benzopyran-4-on [Formel 1: $R_5 = R_7 = R_{4'} = \text{OH}$, $R_6 = R_{3'} = \text{OCH}_3$, $R_{5'} = \text{H}$].

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroschmelzpunktapparat nach *Kofler* bestimmt und sind unkorrigiert. Herr Dr. *J. Zak* vom Mikroanalytischen Laboratorium des Physikal.-Chem. Institutes der Universität Wien führte die Elementaranalysen durch. Die UV-Spektren wurden auf einem Beckman DB Spectrophotometer, die IR-Spektren auf einem IR-Spektrometer der Firma Perkin Elmer 237 gemessen.

Die NMR-Spektren wurden teils auf einem HA-100 Gerät der Fa. Varian von Herrn Dr. *E. Haslinger*, teils auf einem A-60 A Gerät der Fa. Varian von Fr. *H. Martinek* aufgenommen.

Herrn Ing. *H. Begutter* sei für die Aufnahme der Massenspektren auf dem *GS-MS* MAT 111 der Fa. Varian herzlich gedankt.

Experimenteller Teil

20 kg zerkleinerte, luftgetrocknete Rhizome von *Iris germanica*, die in der Nähe Wiens gezogen worden waren, wurden 48 Stdn. mit Petroläther (*PÄ*) extrahiert. Die nach Stehen über Nacht ausgeschiedene Masse wurde abfiltriert (20 g), in wenig CHCl_3 gelöst, und diese Lösung auf eine Kieselgelsäule gebracht. Hierauf wurde mit CHCl_3 , dem laufend steigende Mengen Methanol (bis zu 10%) zugesetzt wurden, entwickelt. So konnten die Fraktionen I (5 g), II (0,5 g), III (0,7 g), IV (0,2 g), V (12 g) und VI (1,5 g) erhalten werden.

Die *PÄ*-Lösung wurde mit 3proz. NaHCO_3 -Lösung mehrmals geschüttelt, diese wieder mit *PÄ* gewaschen, mit verd. HCl angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen der mit Na_2SO_4 getrockneten äther. Lösung hinterblieben 5 g einer dunkelbraunen Masse, die in wenig CHCl_3 aufgenommen und auf Kieselgel aufgetrennt wurde. Die Elution mit CHCl_3 ergab wieder I als Hauptfraktion.

Durch Schütteln des *PÄ* mit 3proz. Na_2CO_3 -Lösung und weiterer Aufarbeitung wie vorher wurden schließlich 18 g Substanz gewonnen. Die säulenchromatographische Trennung der in CHCl_3 gelösten Substanzen auf Kieselgel mit einem Gemisch CHCl_3 — CH_3OH (97 : 3) ergab als Hauptmenge 14 g I und 0,5 g II.

Die *PÄ*-Phase wurde zur Abtrennung der restlichen Phenole schließlich mit 2proz. NaOH ausgeschüttelt. Die so gewonnene Fraktion (1,5 g) wurde vorerst nicht weiter untersucht. An Neutralstoffen verblieben nach Verdampfen des getrockneten *PÄ* 38 g.

Die mit *PÄ* behandelte Droge wurde mit CH_2Cl_2 48 Stdn. extrahiert. Aus dem Extrakt schieden sich beim Einengen und Stehen über Nacht 50 g gelbe Kristalle (VII) aus, die abfiltriert wurden. Die CH_2Cl_2 -Lösung

wurde mit 3proz. NaHCO_3 -Lösung geschüttelt, diese mit CH_2Cl_2 gewaschen, angesäuert und mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen des getrockneten Äthers hinterblieben 6 g Substanz, die durch Säulenchromatographie auf Kieselgel mit CHCl_3 als Elutionsmittel von Nebenprodukten getrennt wurde. So konnten 3,5 g VIII gewonnen werden.

Die CH_2Cl_2 -Lösung wurde weiter mit 3proz. Na_2CO_3 -Lösung geschüttelt und die wäbr. Phase nach Ansäuern mit Äther extrahiert. Ein Teil der beim Ansäuern ausgefallten Substanzen wurde in Äther nicht gelöst und daher abfiltriert (IX). Die getrockn. äther. Lösung wurde eingedampft, der Rückstand (13 g) in CHCl_3 gelöst und auf Kieselgel getrennt. Durch Eluieren mit CHCl_3 , das 2% CH_3OH enthielt, wurden die Fraktionen X (6 g) und XI (4,5 g) gewonnen.

Fraktion III konnte bei oftmaliger Wiederholung der präparativen Dünnschichtchromatographie (Trocknen und Wiederlaufenlassen mit reinem CHCl_3) in das schneller laufende III A und III B aufgetrennt werden.

III A: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8$ Ber. C 62,18, H 4,70. Gef. C 62,03, H 4,89.

Schmp. 167—168 °C.

UV (in Methanol): 322, 264 nm; keine Verschiebungen mit AlCl_3 , NaOMe oder H_3BO_3 .

IR (KBr): Banden bei 3000, 2950, 2840, 1660, 1590, 1510, 1475, 1360, 1340, 1310, 1275, 1220, 1180, 1130, 1110, 1055, 925, 850, 840 cm^{-1} .

NMR (in CDCl_3): $\delta = 3,92$ (s, 3 OCH_3), 4,10 (s, OCH_3), 6,10 (s, OCH_2O), 6,67 (s, H-4), 6,80 (s, H-2'/H-6'), 7,84 (s, H-6).

MS: 386 (100%), 371 (18%), 368 (15%), 358 (20%), 343 (73%), 325 (15%), 177 (33%), 149 (23%), 134 (12%).

Keton III A/1

50 mg III A wurden mit 150 mg NaOH in 2,5 ml H_2O 1½ Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wurde angesäuert und mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wurde aus Äther—*PA* umkristallisiert. Schmp. 120°; Ausb. 32 mg.

5-Hydroxy-7-methoxy-benzo-1,3-dioxol III A/1/a

25 mg III A/1 wurden mit 2 ml 10proz. KOH 22 Stdn. im Stickstoffstrom unter Rückfluß gekocht. Die Lösung wurde angesäuert und mit Äther extrahiert. Der Ätherextrakt wurde mit NaHCO_3 und H_2O gewaschen, getrocknet, der Äther abgedampft. Das Phenol III A/1/a konnte durch dünnschichtchromatographische Trennung auf Kieselgel PF_{254} und Destillation bei 0,005 Torr rein erhalten werden. Ausb. 6 mg, Schmp. 89—90°.

3,4,5-Trimethoxyphenyllessigsäure III A/1/b

Die bei der Aufarbeitung zum Phenol III A/1/a angefallene NaHCO_3 -Waschlösung wurde angesäuert und mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand ergab nach Destillation bei 0,005 Torr 4 mg III A/1/b. Schmp. 116—119°.

Irigenintrimethyläther III A/2

25 mg III A wurden mit 300 mg AlCl_3 in 5 ml absol. Benzol 10 Stdn. unter Rückfluß erwärmt. Die Lösung wurde auf ca. 2 ml eingengt, mit

einer Mischung von 1 ml konz. HCl und 2 ml Eisessig $\frac{1}{2}$ Stde. gekocht, mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Der rohe Ätherrückstand, eine braune Masse, wurde durch 36stdg. Erhitzen unter Rückfluß mit 0,1 ml Dimethylsulfat, 250 mg K_2CO_3 in 2 ml trockenem Aceton permethyliert. Die Lösung wurde filtriert, der anorg. Rückstand mit heißem Aceton gewaschen. Chromatographische Reinigung auf Kieselgel und anschließendes Umkristallisieren aus Äthanol ergab 9 mg III A/2, Schmp. 165—166°.

III A/3

8 mg III A wurden mit 120 mg feingepulv. $AlCl_3$ in 1,5 ml absol. Äther 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Der bei Zugabe von Eis entstandene Niederschlag wurde gesammelt, mit 1 ml HCl konz. und 1,2 ml Eisessig gekocht, mit Wasser verdünnt und mit Äther extrahiert. Der nach Verdampfen des Äthers verbliebene Rückstand wurde aus Essigester umkristallisiert. Ausb. 4 mg, Schmp. 238—240°.

III B: $C_{19}H_{16}O_7$ (356). Ber. C 64,04, H 4,53.
Gef. C 63,42, H 4,68.

Schmp. 178,5—180 °C.

UV (in Methanol): 322, 265 nm; keine Verschiebungen mit $AlCl_3$, $NaOMe$ oder H_3BO_3 .

IR (KBr): Banden bei 3060, 2970, 2940, 2900, 2820, 1640, 1610, 1520, 1470, 1330, 1260, 1220, 1175, 1145, 1100, 1055, 1025, 935 cm^{-1} .

NMR (in $CDCl_3$): $\delta = 3,90$ (s, OCH_3), 3,91 (s, OCH_3), 4,10 (s, OCH_3), 6,04 (s, OCH_2O), 6,61 (s, H-4), 6,87 (d, H-5'), 7,01 (dd, H-6'), 7,19 (d, H-2'), 7,77 (s, H-6); $J_{5',6'} = 8$ Hz, $J_{2',6'} = 2$ Hz.

MS: 356 (100%), 338 (22%), 328 (55%), 313 (26%), 310 (65%), 285 (16%), 194 (11%), 162 (13%), 147 (18%).

Keton III B/1

40 mg III B wurden mit 100 mg NaOH + 1 ml H_2O $1\frac{1}{2}$ Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die Aufarbeitung zum entsprechenden Benzylphenylketon III B/1 erfolgte wie bei III A/1; Ausb. 31 mg, Schmp. 125—127°.

III B/1/a

30 mg des Ketons III A/1 wurden mit 2 ml 10proz. KOH 40 Stdn. im Stickstoffstrom unter Rückfluß erhitzt. Die Aufarbeitung zu III B/1/a erfolgte wie unter III A/1/a beschrieben. Ausb. 5 mg, Schmp. 90°.

Die Verbindung III B/1/a ist mit III A/1/a identisch.

3,4-Dimethoxyphenylelessigsäure III B/1/b

Die $NaHCO_3$ -Waschlösung ergab nach Aufarbeitung in der üblichen Weise und Reinigung durch Destillation bei 0,005 Torr und Umkristallisieren aus Äther— PA (40—60°) 3 mg III B/1/b; Schmp. 93—96°.

IV: $C_{17}H_{16}O_7$ (332). Ber. C 61,44, H 4,85.
Gef. C 60,66, H 4,70.

Schmp. 188—190°.

UV (in Methanol): 325_{sh}, 287; + $NaOMe$: 353, 288; + $AlCl_3$: 333, 315; + $AlCl_3/HCl$: 380, 312; + $NaOAc$: 336, 288; + H_3BO_3 : 325_{sh}, 288 nm.

IR: (KBr) Banden bei 3460, 3010, 2925, 2830, 1630, 1620, 1560, 1520, 1460, 1360, 1280, 1185, 1165, 1095, 1040, 1010, 820, 780 cm^{-1} .

NMR [in $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$]: $\delta = 3,85$ (s, OCH_3), $3,87$ (s, OCH_3), $4,5-5,3$ (m, H-2/H-3/OH), $6,04$ (d, H-6), $6,08$ (d, H-8), $6,87$ (d, H-5'), $7,04$ (dd, H-6'), $7,22$ (d, H-2'), $7,70$ (s, OH), $11,69$ (s, OH); $J_{6,8} = 2,5$ Hz, $J_{5',6'} = 8$ Hz, $J_{2',6'} = 2$ Hz.

MS: 332 (15%), 330 (7%), 314 (15%), 303 (26%), 179 (30%), 167 (100%), 166 (26%), 164 (39%), 137 (44%).

Flavonol IV/1

25 mg IV, gelöst in 2 ml Eisessig, wurden 2 Stdn. mit 150 mg K-Acetat und 20 mg J_2 unter Rückfluß erhitzt. Die Essigsäure wurde im Vak. entfernt, Wasser hinzugefügt und der Überschuß von J_2 durch SO_2 -Wasser beseitigt. Das Flavonol IV/1 wurde mit Äther ausgeschüttelt und der nach Abdampfen des gewaschenen und getrockneten Äthers verbliebene Rückstand auf Kieselgel PF_{254} mit Benzol: $\text{CHCl}_3 = 1:1$ aufgetrennt. Um-lösen aus Isopropylalkohol, dann aus Eisessig ergab 13 mg IV/1, Schmp. $218-220^\circ$.

Triacetylderivat IV/1/1

5 mg IV/1 wurden 24 Stdn. mit 0,5 ml Ac_2O und 3 Tropfen Pyridin bei 60° stengelassen. Der durch Zugabe von Eis entstandene Niederschlag wurde filtriert und aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 3 mg; Schmp. $152-154^\circ$.

Tribenzoylderivat IV/1/2

5 mg IV/1 wurden mit je 0,05 ml CHCl_3 und Pyridin versetzt und 0,01 ml Benzoylchlorid zugesetzt. Nach kurzem Erwärmen auf dem Wasserbade wurde mit verd. H_2SO_4 versetzt und mit CHCl_3 ausgeschüttelt. Von dem nach Abdampfen des CHCl_3 verbliebenen Rückstand wurde die entstandene freie Benzoesäure durch Sublimation bei 0,005 Torr entfernt. Das Benzoyl-derivat IV/1/2 schmolz (aus Äthanol) bei $205-207^\circ$; Ausb. 1 mg.

9-Hydroxy-7-(4'-hydroxyphenyl)-8H-1,3-dioxolo[4,5-g] [1]-benzopyran-8-on, IX

Schwach fluoreszierende Kristalle, Schmp. $227-228,5^\circ$.

$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_6$ (298). Ber. C 64,44, H 3,38. Gef. C 64,57, H 3,40.

UV (in Methanol): 328_{sh} , 270; + NaOMe : 352_{sh} , 280; + AlCl_3/HCl : 386 , 320_{sh} , 285; + NaOAc : 336_{sh} , 273; + H_3BO_3 : 330_{sh} , 272 nm.

IR (KBr): 3420 , 3060 , 1680 , 1625 , 1615 , 1590 , 1555 , 1515 , 1470 , 1270 , 1210 , 1095 , 1055 , 920 , 845 , 725 cm^{-1} .

NMR: [in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$]: $\delta = 6,17$ (s, OCH_2O), $6,82$ (s, H-4), $6,85$ (d, H-3'/H-5'), $7,42$ (d, H-2'/H-6'), $8,40$ (s, H-6), $9,64$ (s, OH), $13,02$ (s, OH). $J_{2',3'} = J_{5',6'} = 8,5$ Hz.

MS: 298 (100%), 297 (28%), 269 (7%), 241 (8%), 240 (12%), 180 (36%), 149 (11%), 118 (10%).

Diacetat IX/1

20 mg IX wurden mit 0,4 ml dest. Ac_2O und 2 Tropfen Pyridin 15 Stdn. bei 80° stehengelassen. Der bei Zugabe von Eis entstandene Niederschlag wurde filtriert und aus Äthanol umkristallisiert. Ausb. 12 mg, Schmp. $212\text{--}214^\circ$.

Mono- IX/2 und Dimethyläther IX/2/1

20 mg IX wurden mit 300 mg K_2CO_3 und 0,5 ml Dimethylsulfat in 5 ml trockenem Aceton 48 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Das erhaltene Gemisch von Mono- und Dimethyläther wurde auf Kieselgel PF₂₅₄ mit $CHCl_3$ —Methanol (95 : 5) aufgetrennt. Der Monomethyläther besitzt einen etwas höheren R_f -Wert als der Dimethyläther.

Monomethyläther IX/2: Ausb. 9 mg; Schmp. (aus Methanol) $212\text{--}214^\circ$.

Dimethyläther IX/2/1: Ausb. 2 mg; Schmp. (aus Methanol) $151\text{--}154^\circ$.

IX aus Irisolon

30 mg Irisolon wurden mit 300 mg feingepulv. $AlCl_3$ in 3 ml absol. Äther 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die Aufarbeitung erfolgte wie unter III A/3 beschrieben. 17 mg Dihydroxyverbindung, Schmp. (aus Äthanol) $227\text{--}230^\circ$; mit IX identisch (Mischprobe).

XI

Die Fraktion XI erschien auf Grund des chromatographischen Verhaltens einheitlich. Trotz oftmaligem Umkristallisierens konnte aber kein scharfer Schmelzpunkt beobachtet werden. Erst bei Verwendung von reinem $CHCl_3$ als Laufmittel ergab sich eine Auftrennung in XI A, XI B und XI C (in der Reihenfolge steigender R_f -Werte).

XI B

Schmp. $163\text{--}166^\circ$.

UV (in Methanol): 332_{sh} , 286_{sh} , 267; + NaOMe: 336, 271; + $AlCl_3$: 378, 312_{sh} , 276; + $AlCl_3/HCl$: 384, 278; + NaOAc: 338, 272; + H_3BO_3 : 334_{sh} , 269 nm.

IR (KBr): Banden bei 3470, 2990, 2930, 2830, 1650, 1620, 1575, 1510, 1460, 1375, 1285, 1190, 1170, 1125, 1025, 990, 825, 810, 730 cm^{-1} .

NMR: (in CD_3OD): $\delta = 3,84$ (s, OCH_3); 3,85 (s, OCH_3); 6,42 (s, H-8); 6,89 (d, H-5'); 7,00 (dd, H-6'); 7,09 (d, H-2'); 8,08 (s, H-2). $J_{5',6'} = 8$ Hz, $J_{2',6'} = 2$ Hz.

MS: 330 (100%), 315 (58%), 312 (65%), 301 (6%), 297 (8%), 287 (76%), 284 (12%), 272 (12%), 149 (33%), 135 (16%).

Triacetat XI B/1

Aus 50 mg XI B, 5 ml Ac_2O und 0,5 ml trock. Pyridin wurde in üblicher Weise das Triacetat, Schmp. $158,5\text{--}160^\circ$ (aus Äthanol), Ausb. 35 mg, gewonnen.

Trimethyläther XI B/2

25 mg XI B wurden mit 400 mg K_2CO_3 und 0,5 ml Dimethylsulfat in 5 ml Aceton zum Trimethyläther XI B/2 umgesetzt, 18 mg, Schmp. $175\text{--}178^\circ$ (aus Methanol).

3,4-Dimethoxybenzoesäure XI B/2/1

18 mg des Trimethyläthers XI B/2, gelöst in Aceton, wurden mit kleinen Portionen von insgesamt 156 mg pulv. KMnO_4 in der Hitze oxydiert. Das Aceton wurde verdampft, SO_2 -Wasser zugesetzt, die wäßr. Lösung mit verd. H_2SO_4 angesäuert und mit Äther extrahiert. Die entstandene Säure wurde mittels NaHCO_3 -Lösung extrahiert und durch Ansäuern mit verd. H_2SO_4 und Ätherextraktion gewonnen. Nach Sublimation im Kugelrohr bei 0,001 Torr lagen 6 mg XI B/2/1, Schmp. 177—180°, vor.

Triäthyläther XI B/3

40 mg XI B wurden mit 0,3 ml Diäthylsulfat und 400 mg K_2CO_3 in 5 ml trockenem Aceton 48 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde chromatographisch auf Kieselgel PF₂₅₄ getrennt; Schmp. des gewonnenen Triäthyläthers III B/3 (26 mg) (aus Methanol) 116—118°.

3-Äthoxy-4-methoxybenzoesäure XI B/3/1

Die durch Oxydation von 5 mg des Triäthyläthers mit 42 mg KMnO_4 in 5 ml Aceton in der beim Trimethyläther beschriebenen Weise dargestellte Säure XI B/3/1 ließ sich durch Umkristallisieren aus verd. Äthanol und Kugelrohrsublimation reinigen. Schmp. 160—163°. Ausb. 1 mg.

XI C

$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_7$ (330). Ber. C 61,82, H 4,27.

Gef. C 61,30, H 4,33.

Schmp. 237—240°.

UV (in Methanol): 330_{sh}, 288_{sh}, 267; + NaOMe: 330, 276; + AlCl_3 : 376, 316_{sh}, 275; + AlCl_3/HCl : 384, 314_{sh}, 277; + NaOAc: 336, 272; + H_3BO_3 : 330_{sh}, 288_{sh}, 268 nm.

IR (KBr): Banden bei 3440, 3400, 2940, 2830, 1655, 1615, 1580, 1525, 1465, 1420, 1385, 1300, 1195, 1155, 1070, 1030, 980 cm^{-1} .

NMR (in CD_3OD): $\delta = 3,86$ (s, OCH_3); 3,87 (s, OCH_3); 6,44 (s, H-8); 6,84 (d, H-5'); 7,03 (dd, H-6'); 7,22 (d, H-2'); 8,16 (s, H-2). $J_{5',6'}$ = 8 Hz, $J_{2',6'}$ = 2 Hz.

MS: 330 (100%), 315 (62%), 312 (69%), 301 (6%), 287 (72%), 284 (15%), 272 (13%), 149 (37%), 135 (15%).

Diäthyläther XI C/1

20 mg XI C wurden mit 0,2 ml Diäthylsulfat und 300 mg K_2CO_3 in 5 ml trockenem Aceton 48 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Aufarbeitung in der üblichen Weise; anschließende dünnschichtchromatographische Reinigung auf Kieselgel PF₂₅₄ ergab den Diäthyläther XI C/1 in einer Ausb. von 9 mg; Schmp. (aus Methanol) 130—133°.

4-Äthoxy-3-methoxybenzoesäure XI C/1/1

9 mg XI C/1 wurden in der beim Triäthyläther der Verbindung XI B beschriebenen Weise durch 84 mg KMnO_4 zur Säure XI C/1/1 oxydiert. Reinigung durch Kugelrohrsublimation bei 0,005 Torr, Schmp. 186—190°, Ausb. 2 mg.

Literatur

- ¹ *A. Augem*, Rev. gen. botan. **40**, 456, 537, 591 (1928).
- ² *J. Erkama*, Suomen Kemistilehti **19 A**, 21 (1946).
- ³ *M. Miric*, Arh. Farm. [Beograd] **17** (1), 7 (1967).
- ⁴ *L. Prakash, A. Zaman, A. R. Kidwai*, J. Org. Chem. **30**, 3561 (1965).
- ⁵ *K. L. Dhar und A. K. Kalla*, Phytochem. **11**, 3098 (1972).
- ⁶ *K. R. Markham und T. J. Mabry*, Tetrahedron **24**, 823 (1968).
- ⁷ *A. G. Perkin und J. Geldard*, J. Chem. Soc. **67**, 496 (1895).
- ⁸ *A. G. Perkin und J. R. Allison*, J. Chem. Soc. **81**, 469 (1902).
- ⁹ *E. Rodriguez, N. J. Carman, G. Velde, J. H. McReynolds, T. J. Mabry, M. A. Irwin und T. A. Geissman*, Phytochem. **11**, 3509 (1972).
- ¹⁰ *W. Herz, S. Gibaja, S. V. Bhat und A. Srinivasan*, Phytochem. **11**, 2859 (1972).
- ¹¹ *W. Baker*, J. Chem. Soc. **1928**, 1022.
- ¹² *K. W. Gopinath, A. R. Kidwai und L. Prakash*, Tetrahedron **16**, 201 (1961).
- ¹³ *Y. Asahina, B. Shibata und Z. Ogawa*, J. Pharm. Soc. [Japan] **48**, 1087 (1928).