

## CINNAMYLIDENBUTENOLIDE AUS PIPER SANCTUM

RUDOLF HÄNSEL

Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, Berlin, W. Germany

und

ANDREW PELTER

(Received 6 June 1970)

**Zusammenfassung**—Aus den Wurzeln von *Piper sanctum* (Miq) Schlecht haben wir eine Substanz isoliert, die wir die Bezeichnung Piperolid vorschlagen. Die Konstitution wurde ermittelt. Es handelt sich um 5-( $\gamma$ -Methoxy)-cinnamyliden-4-methoxy-but-3-enolid und damit um den ersten Vertreter einer substituierten Tetrosäure (5-Yilden-O-methyltetronsäure), die in höheren Pflanzen gefunden wurde. Begleitet wird Piperolid (III) von einer zweiten Substanz, dem Methylendioxyderivat von III (= MDO-III).

Abstract—From the subterranean parts of *Piper sanctum* (Miq) Schlecht (Piperaceae), two new compounds, piperolid (III) and methylendioxypiperolid were isolated. Piperolid was shown to be 5-( $\gamma$ -methoxy)-cinnamylidene-4-methoxybut-3-enolide, the first derivative of tetronic acid characterized from higher plants.

Die etwa 700 Arten umfassende Gattung *Piper*<sup>1</sup> (Piperaceae) ist in den Tropen und Subtropen beider Hemisphären beheimatet. In Ozeanian vorkommende endemische Arten wie z. B. *Piper methysticum* Forster<sup>2,3</sup> und verwandte Arten<sup>4</sup> enthalten substituierte 4-Methoxy-6-aryl- $\alpha$ -Pyrone, die in den altweltlichen Arten—nach einer chemotaxonomischen Zusammenstellung bei Hegnauer<sup>5</sup>—bisher nicht entdeckt wurden. Es erschien uns reizvoll, einige *Piper*-Arten Amerikas, die bisher so gut wie nicht untersucht worden sind, in die Untersuchungen einzubeziehen mit dem Ziel, ob vom vergleichend phytochemischen Standpunkt aus engere Verwandtschaft zu der altweltlichen oder zu der ozeanischen Artengruppe besteht. Wir berichten nachstehend über die ersten Untersuchungsergebnisse an einer in Mexiko, insbesondere den Provinzen Veracruz und Oaxaca, vorkommenden Art.<sup>6,7</sup> *Piper sanctum* (Miq) Schlecht.

Die beiden Inhaltsstoffe, über deren Isolierung und Konstitutionsaufklärung nachstehend berichtet wird, zeichnen sich durch eine außerordentlich große Kristallisationstendenz aus, so daß sie sich ohne jegliche Mühe isolieren lassen. Zur Isolierung wurde das Wurzelpulver mit Methylenchlorid (20 Std., Soxhletextraktion) extrahiert, das Lösungsmittel verjagt und der dunkle Rückstand mit Methanol aufgenommen. Nach einigen Tagen (Aufbewahren im Kühlschrank bei etwa 2°) scheidet sich ein Kristallbrei ab, bestehend aus einer gelben feinkristallinen Masse (MDO-III), die mit hellgelben, großen Kristallnadeln durchsetzt ist (Piperolid, III). Mechanisches Auslesen und mehrfaches Umkristallisieren von III aus Methanol und von MDO-III aus Aceton führt zu einheitlichen Stoffen (DC-Prüfung, siehe Versuchsteil). Wir erhielten durchschnittlich 0,02% Piperolid (III) und 0,06% MDO-III (bezogen auf die lufttrockene Droge).

<sup>1</sup> A. ENGLER, *Syllabus der Pflanzenfamilien* S. 149 H. Melchior Herausg., Berlin (1964).

<sup>2</sup> R. HÄNSEL, *Pacific Sci.* 23, 293 (1968).

<sup>3</sup> W. B. MORS, M. G. MAGELHAES und O. E. GOTTLIEB, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe* 20, 131 (1963).

<sup>4</sup> H. SAUER und R. HÄNSEL, *Planta Med.* 15, 443 (1967).

<sup>5</sup> R. HEGNAUER, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Bd. 5, S. 311-352 und 449451, Basel (1969).

<sup>6</sup> A. G. POMPA, *Estudios Botánicos en la Región de Misantla*, S. 140-152, Veracruz, Mexiko, D. F. (1966).

<sup>7</sup> M. MARTINEZ, *Las Plantas Medicinales de Mexico*, S. 184, 4. Aufl., Mexico (1959).

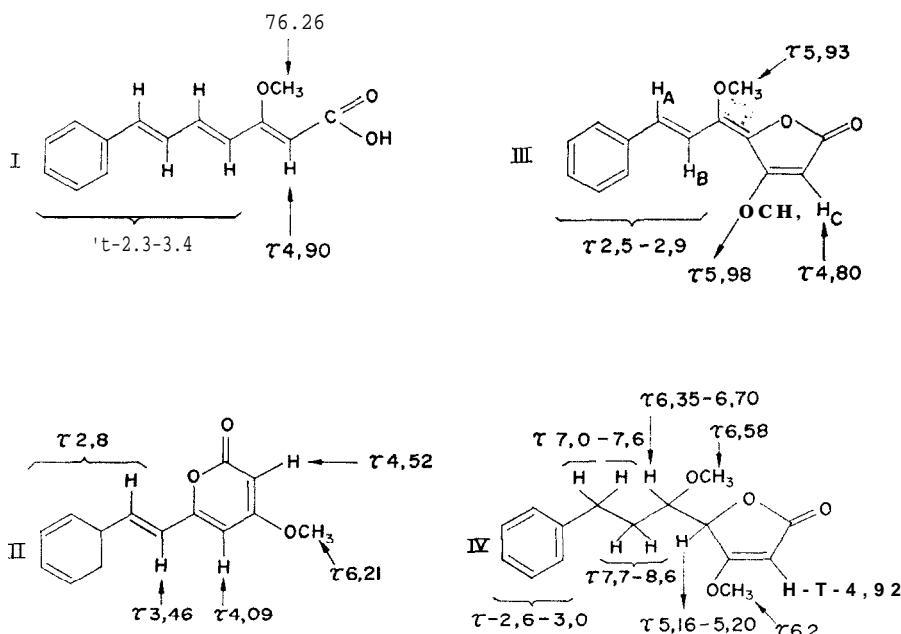


ABB. 1. FORMELBILDER UND CHEMISCHE VERSCHIEBIUNG (ppm,  $\tau$ -SKALA; 100 MHz-SPEKTREN IN  $\text{CDCl}_3$ ) VON PIPEROLID (III) UND TETRAHYDROPIPEROLID (IV). ZUM VERGLEICH: KAWASÄURE (I) UND DESMETHOXY-YANGONIN (II).

### Piperolid (III)

Gelbe Kristallnadeln vom Schmp. 110–112°, die keine optische Aktivität aufweisen [ $\alpha_D = \pm 0^\circ$ ] (Methanol; C = 0,2).  $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$  ( $\text{M}^+$ , m/e 258; gef. C 69,56%, H 5,25%; ber. C 69,75%, H 5,46%), davon zwei aromatische oder enolische  $\text{OCH}_3$ -Gruppen ( $\text{OCH}_3$  gef. 22,16%, ber. 24,0%); NMR: 60 Mc in  $\text{CDCl}_3$ : 5,95 s, 3 H und 6,03 s, 3 H) und ein monosubstituierter aromatischer Ring (I.R.: 690 und 760  $\text{cm}^{-1}$ ; Massenspektrum: m/e 77 und 91). Piperolid enthält keine acetylierbaren Hydroxygruppen. Es ist empfindlich gegenüber der Einwirkung von Säuren und Laugen: Schon in der Kälte beobachtet man das Entstehen mehrerer Reaktionsprodukte (DC-Priifung). Behandelt man III mit Kaliumcarbonatlösung ( $\text{K}_2\text{CO}_3$  gesättigt in Äthanol-Wasser, 1:1, v/v; 24 Std. bei 18°) und säuert man hiernach bis zum pH = 6 an, so zersetzt es sich ebenfalls quantitativ: Als definiertes Abbauprodukt konnten wir nach säulenchromatographischer Auf trennung trans-Zimtsäure fassen (Schmp. 131–133°; keine Depression im Mischschmp. mit authentischer Zimtsäure).

Nach diesen Daten und aus biogenetischen Gründen konnte es sich beim Piperolid (III) um eine Verbindung handeln, die nahe mit Desmethoxyyangonin (=Dehydrokawain) (II) verwandt ist, einem charakteristischen Inhaltsstoff aus der Kawadroge (von *Piper methysticum*).<sup>8</sup> Zwischen I und III bestehen jedoch die folgenden auffallenden Unterschiede: Die  $\nu_{\text{C=O}}$  der  $\alpha$ -Pyrone vom Yangonintypus I liegt bei  $1720 \text{ cm}^{-1}$ ,<sup>9a,10</sup> während III eine

<sup>8</sup> M. W. KLOHS, F. KELLER, R. E. WILLIAMS, M. I. TOEKES und G. E. CRONHEIM, *J. Med. Pharm. Chem.* 1 (1), 95 (1959).

<sup>9</sup> R. HÄNSEL, H. RIMPLER und L. LANGHAMMER, (a), *Z. Anol. Chem.* 218, (1966); (b) *Arch. Pharmaz.* 300, 157 (1967).

<sup>10</sup> A. T. CHMIELEWSKA, J. CIESLAK, K. GORCZYNKA, B. KONTNIK und K. PITAKOWSKA, *Tetrahedron* 4, 36 (1958).

breite Carbonylabsorption zwischen 1730 und 1780 cm<sup>-1</sup> aufweist. **Sodann:** Die zwei **Methylätherbindungen** in III werden leicht alkalisch ( $K_3CO_3$ -Lösung, siehe oben) verseift, während die **Enolätherbindung** der **4-Methoxy-*a*-Pyrone** des Typs I und II unter **diesen** Bedingungen stabil ist. **Sodann:** Im NMR-Spektrum von III fehlen die für Verbindungen des Typus II typischen **Signale 4,09** (1 H) und **4,52** (1 H) mit kleiner (allylischer) Kopplung ( $J \sim 2$  Hz). Im U.V.-Spektrum von III (siehe Tabelle 1) fällt der hohe  $\epsilon$ -Wert (42,000) des

TABELLE 1. U.V.-SPEKTRUM DES PIPEROLIDIS (III) IM VERGLEICH ZU DEN SPEKTRUM VERWANDTER PIPERAZEEN-INHALTSSTOFFE MIT ÄHNLICHEN CHROMOPHOREN SYSTEMEN

Substanz	$\lambda_{\max}$	(Äthanol), (nm)	Max. (1)/Max. (2)
<b>Kawasäure (I)</b>	1:333	(42800)	<b>4,75</b>
	2:250	(9000)	
<b>Kawain (II)</b>	1:344	(26300)	<b>1,84</b>
	2:255	(14300)	
	3:231	(17400)	
<b>Piperolid (III)</b>	1:354	(42600)	<b>4,54</b>
	2:258	(9440)	
<b>Methylendioxypiperolid (MDO-III)</b>	1:376	(29700)	<b>3,55</b>
	2:263	(8430)	
<b>Methysticintiure (MDO-I)</b>	1:350	(44200)	<b>4,35</b>
	2:262	(10370)	

langwelligen Maximums bei 354 nm auf verglichen mit dem  $\epsilon$ -Wert des Maximums bei 258 nm (9400). In dieser Hinsicht ähnelt III viel stärker den offenkettigen Säuren vom Typus der **Kawasäure (I)** als den Kawapyronen des Typs II. Wenn III nach dem U.V.- und I.R.-Spektrum durchaus ein Methylester des Typs I sein könnte, so ist dazu wenig passend, daß im Massenspektrum kaum Abspaltung eines  $.OCH_3$ -Radikals beobachtet wird. Überdies bleibt zwischen einem Methylester von I und den Analysenwerten von III noch die Differenz eines **Doppelbindungsäquivalentes** zu erklären: In III sollte wie in II ein heterocyclisches Ringsystem vorliegen, jedoch mit einem chromophoren System ähnlich dem der Modellsubstanz I (siehe die Tabelle 1). Geht man von der Annahme aus, daß die hypochrome Lage der langwelligen Bande in II gegenüber der in I auf der (da innerhalb eines Ringes liegend) zwangsläufigen **s-cis-Anordnung** zweier konjugierter Doppelbindungen beruht,<sup>9b</sup> so muß für III eine Formel postuliert werden, welche die **s-trans-Anordnung** wie bei I beibehält. Als u. E. einzige Möglichkeit bietet sich die Formulierung III an, charakterisiert durch einen fünfgliedrigen Laktongring mit einer exocyclischen Doppelbindung. Die exocyclische Lage einer der Doppelbindungen erklärt zudem recht schön die relativ bathochromie Lage der langwelligen Bande:  $\Delta \text{nm } I \rightarrow III = +23 \text{ nm}$ . Steht nun das NMR-Spektrum mit der Formulierung III in Übereinstimmung? Das Proton **H<sub>c</sub>** (Singulett) bei  $\tau 4,8$  ppm in III hat sein Pendant im Proton H' der Formel I: Und in beiden Formeln befinden sie sich in gleicher chemischer Umgebung. Die Lage der olefinischen Protonen **H<sub>A</sub>** und **H<sub>B</sub>** hingegen beobachtet man bei unerwartet tiefem Feld unter  $\tau 2,9$  im Gebiete der aromatischen Protonen und überdies hinsichtlich ihrer chemischen Verschiebung beide nahe beieinanderliegend, so daß Kopplung zu vernachlässigen ist.

Die besonders bezüglich der Stellung der Methoxylgruppen im Molekül noch unsichere Formel III lässt sich beweisen durch sorgfältige Analyse der NMR-Spektren des Tetrahydroderivates von III (=Tetrahydro-III). Man erhält Tetrahydro-III (Formel IV)

durch katalytische Hydrierung (Pd-Kohle, in Essigester, 18°, 15 Min). Im NMR-Spektrum von Tetrahydro-III finden sich im Vergleich zum Spektrum von III die folgenden auffallenden Veränderungen: (1) eines der beiden Singulets der Methoxylprotonen verschiebt sich nach höherem Feld; (2) das Singulett des olefinischen Protons  $\tau$  4,79 wird zu einem Dublett  $\tau$  4,92 mit allylischer Kopplung ( $J = 2$  Hz); (3) die Signalgruppe (7 H) im Bereich  $\tau$  2,5–2,9 wird zu einem Singulett (5 H); (4) vier neue Signale für insgesamt 6 Protonen treten neu auf  $\tau$  5,16–5,20 qu ( $J_1 = 2$  Hz;  $J_2 = 2$  Hz) [1 H];  $\tau$  6,3–6,8 m [1 H];  $\tau$  7,1–7,5 m [2 H];  $\tau$  7,7–8,6 m [2 H]. Diese in Formel IV eingezeichnete Zuordnung der NMR-Daten wurde durch Spinentkopplungsexperimente gesichert. Einstrahlen bei  $\tau$  4,92 verändert das Quartett  $\tau$  5,16–5,20 zu einem Dublett ( $J = 2$  Hz); alle anderen Signalgruppen bleiben unverändert. Einstrahlen bei  $\tau$  6,5 entkoppelt das Proton bei  $\tau$  5,16, das jetzt als ein breites Singulett erscheint, wobei gerade noch (an der Spitze) die Aufspaltung zu einem Dublett ( $J = 2$  Hz) erkennbar ist; sodann wird das Multiplett bei  $\tau$  7,7–8,6 sehr stark vereinfacht, wohingegen das Multiplett bei  $\tau$  7,0–7,5 unbeeinflußt bleibt. Einstrahlen bei  $\tau$  5,16 macht das Dublett  $\tau$  4,92 zu einem Singulett; zugleich wird neben dem Methoxy-Signal ein Quartett mit dem Zentrum  $\tau$  6,5 ( $J_1 = 4$  Hz;  $J_2 = 10$  Hz) sichtbar.

Die im Massenspektrum von Piperolid (III) und von Tetrahydropiperolid (IV) auftretenden Buchstcke sind ebenfalls mit der angegebenen Struktur sehr schön vereinbar\* (siehe die Fragmentierungs-Schemata Abb. 2 und Abb. 3) und bestätigen die angegebene Struktur.

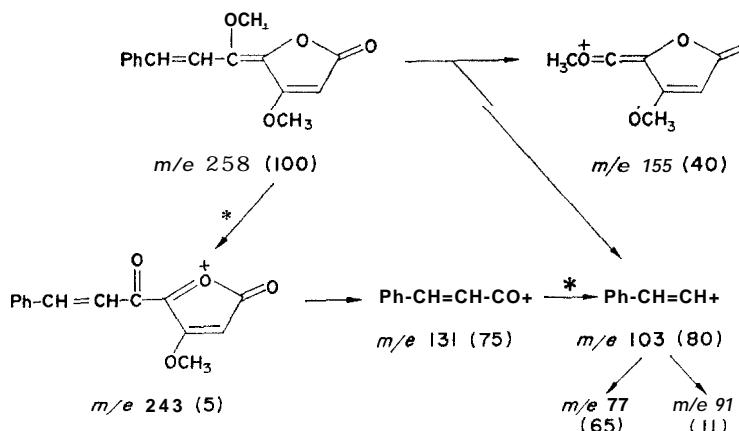


ABB. 2. FRAGMENTIERUNGSSCHEMA DES PIPEROLIDS (III). (ZAHLEN IN KLAMMERN = RELATIVE INTENSITÄTEN.)

### *Methylendioxypiperolid (MDO-III)*

Wie eingangs erwähnt, wurde neben Piperolid (III) eine zweite Substanz mit ähnlichen Eigenschaften isoliert. Bei der Trennung der beiden Stoffe auf Einheitlichkeit erweist sich neben der DC-Technik (siehe Versuchsteil) ihr unterschiedliches chromogenes Verhalten beim Tüpfeln mit konzentrierter Schwefelslure nützlich: Piperolid färbt sich gelb, DOM-III hingegen kräftig rot, allmählich in olivgrün übergehend.

\* Über Massenspektren der Kavalaktone siehe.<sup>11</sup>

<sup>11</sup> M. PAILER, G. SCHADEN und R. HÄNSEL, *Monatsh. Chem.* **96**, 1842 (1965).

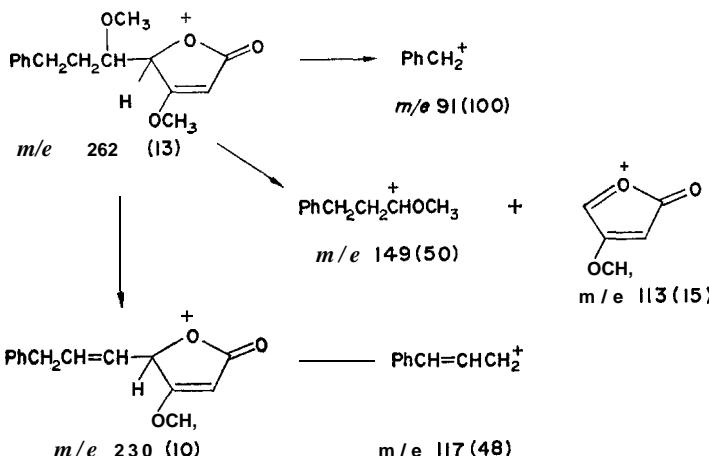


Abb. 3. FRAGMENTIERUNGSSCHEMA DES TETRAHYDRO-PIPEROLIDIS (IV). (ZAHLEN IN KLAMMERN = RELATIVE INTENSITÄTEN.)

$C_{16}H_{14}O_6(M^+; m/e 302;$  gef. C 63,77%, H 4, 90%,  $OCH_3$  20,09%; ber. C 63,57%, H 4, 67%,  $OCH_3$  20,5%. I.R. (KBr): Im Bereich zwischen 1550-1780  $\text{cm}^{-1}$  sind beide Substanzen III und MDO-III nahezu deckungsgleich; MDO-III weist zusätzliche Banden auf bei 982 (s), 1033 (s), 1250 (s) und 2780 (w)  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$ ) sowie bei 838 (m)  $\text{cm}^{-1}$  (2 H, ar., benachbart). U.V.: Beide Banden erweisen sich als bathochrom verschoben, die langwellige gleichzeitig hypo-, die kurzwellige hyperchrom (siehe Tabelle 1). NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): Übereinstimmend mit III finden sich bei DOM-III die drei Singulets bei  $\tau$  4,79 (1 H),  $\tau$  5,94 (3 H) und  $\tau$  5,99 (3 H); abweichend eine Signalgruppe für 5 H (bei III dagegen 7 H) im Bereich  $\tau$  2,8-3,3 ppm und ganz neu auftretend ein Singulett bei  $\tau$  4,02 (2 H). Im Massenspektrum fällt auf, daß das Molekül-Ion außerordentlich stabil ist. Daß es hinsichtlich der Intensität völlig dominiert, wurden relative Intensitäten nicht angegeben (Fragmentierungsschema : Abb. 4).

Vergleicht man die Spektren der Substanz MDO-III mit denen der Substanz III, so lassen sie sich kaum anders interpretieren als mit der Annahme, daß MDO-III das Methylendioxyderivat von III darstellt. Die beiden Inhaltsstoffe aus der Wurzel von *Piper sanctum* stehen demnach zueinander in derselben Relation wie beispielsweise Kawain und Methysticin, die nebeneinander in *Piper methysticum* vorkommen.<sup>3</sup>

#### DISKUSSION

Die beiden aus *Piper sanctum* isolierten Verbindungen lassen sich chemisch als Derivate der Tetrosäure auffassen. Substituierte Tetrosäuren wurden im Pflanzenreich, und zwar in Flechten, bereits mehrfach gefunden.<sup>12</sup> Abweichend von dem Baumuster der Flechten-tetronide handelt es sich bei den beiden aus *P. sanctum* isolierten Piperoliden um Cinnamyliden-O-Methyltetronide. Vom biogenetischen Standpunkt aus betrachtet liegen bei den Piperoliden Varianten vor eines bei Piper-Arten auftretenden  $C_{13}$ -Körpers, der beispielsweise bei *P. methysticum* zu den bekannten Kawa-Pyronen führt (siehe Abb. 5).

<sup>12</sup> F. M. DEAN, *Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds*, S. 53, 71, 74, 597, 621, Academic Press, London (1963).

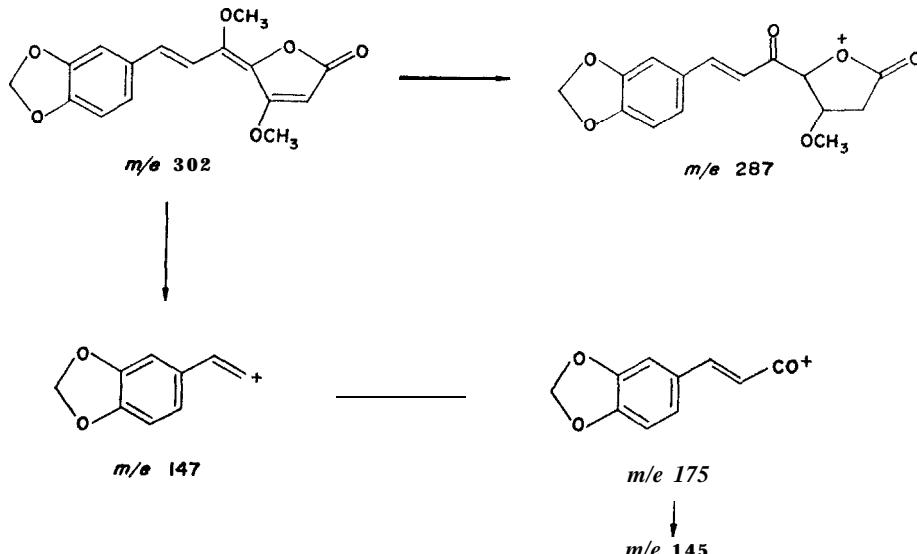


ABB. 4. FRAGMENTIERUNGSSCHEMA DES METHYLEDIOXYPEROLIDS (MDO-III). (ANM.: DAS MOLEKÜL-ION IST EXTREM STABIL.)

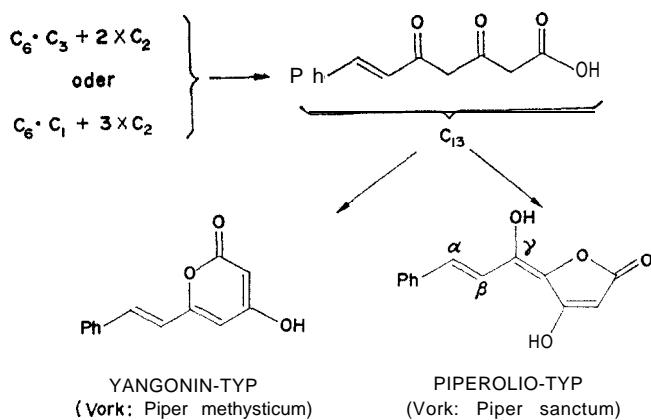


ABB. 5. GEMEINSAME BIOSYNTHETISCHE HERKUNFT DER INHALTSSTOFFE VON *Piper methysticum* (TYPUS YANGONIN) UND VON *Piper sanctum* (TYPUS PIPEROLID).

## EXPERIMENTELLER TEIL

### Allgemeines

Die CH-Analysen wurden ausgeführt vom Laboratorium I. Beetz (Kronach). Die Proben wurden zuvor bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

**Dünnschichtchromatographie.** Wenn nicht besonders erwähnt, Standardbedingungen nach Stahl.<sup>13</sup> Trockenkammer mit Kammerlüftigung; Platten 20 x 20 cm. Schichtdicke 0,2 mm; Kieselgel F WOELM mit Fluoreszenzindikator 254 nm (ca. 0,2%); Betrachten vor der Analysenquarzlampe. **Schmelzpunkte.** Durchgeführt mit dem Kofler-Heiztischmikroskop.

### Isolierung von Piperolid (ZZZ) und Methylendioxypiperolid (MDO-III)

Die an der Luft sorgfältig getrockneten Wurzeln der Pflanze *Piper sanctum* (gesammelt im August 1969 in der Provinz Veracruz) wurden fein (Schlagbolzenmühle, Korngröße etwa 1 mm) zermahlen und im Soxhlet 20 Std. mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  extrahiert. 410 g Drogenpulver ergeben nach Verjagen des Extraktionsmittels 16 g

<sup>13</sup> E. STAHL (Herausg.): *Dünnschichtchromatographie*, Verlag, Berlin, S. 85 (1967).

**Extraktrückstand.** Der Extraktrückstand wurde mit etwa 100 ml **MeOH** aufgenommen und im **Külschrank** beiseite gestellt. Nach einigen Tagen wurde der ausgefallene Niederschlag abdekantiert und durch Waschen mit **MeOH** von harzigen Anteilen befreit. Es hinterbleiben 2,1 g eines Kristallgemisches, deutlich sich zusammensetzend aus zweierlei Kritallformen: eingebettet in eine eigelbe feinkristalline Grundmasse finden sich massenhaft Biischel langer Kristallnadeln von gelblich-brauner Farbe (an Melasse-Rohrzucker erinnernd). Mit der Pinzette wurden die groben Kristallanteile aussortiert und mehrmals aus **MeOH** unter Kohlezusatz (Aktivkohle) umkristallisiert, bis sie scharf bei 110–112° schmolzen (Piperolid, 310 mg). Der eigelbe Rückstand wird mehrfach, ebenfalls unter Zusatz von Aktivkohle. aus **Aceton** bis zum konstanten Schmp. 221–224° umkristallisiert (MDO-III, 105 mg). Die hier wiedergegebene Isolierungsmethode ist außerordentlich verlustreich; der tatsächliche Gehalt an beiden Substanzen in der Droge liegt bedeutend höher. Über siulenbromatographische Verfahren der Isolierung und Abtrennung weiterer Inhaltsstoffe wird an anderer Stelle berichtet werden.

### Einige Eigenschaften der Substanzen III und MDO-III

(a) **Vorproben.** DC-geprift (Kieselgelfertigplatte MERCK 254, Standardbedingungen wie oben, Fließmittel: Cyclohexan-Essigester, 1: 1, v/v), einheitlich, und zwar III ( $R_f$ , 100 = 29) und MDO-III ( $R_f$ , 100 = 25). Auf eine Tüpfelplatte gebracht färben sich die Kristallnadeln von III tiefer gelb, MDO-III hingegen wird rasch kräftig violettblau, später olivgrün. Die Reduktionsprobe nach Shinoda auf Flavonoide fällt negativ aus. Die Substanzen drehen nicht die Ebene des polarisierten Lichtes: Lösungsmittel **MeOH**, c = 0,2, lichtelektr. Prilizationspolarimeter Fa. Zeiss (0,005°): [an] = ± 0°.

(b) **Acetylierungsversuch.** Substanz III und MDO-III wurden in Pyridin-Essigsäureanhydrid acetyliert, und nach 24 Std. wie üblich aufgearbeitet (auf Eiswassergießen, Niederschlag auf Nutsche sammeln). Nach DC und Schmp. und Mischschmp. wurde in jedem Falle unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen.

(c) **Alkaliabbau.** Ansatz 1. Substanz III bzw. MDO-III wurden mit einem Gemisches aus Äthanol und 50%iger wässriger KOH-Lösung versetzt und unter Erwärmen bei 50° gelöst. Nach 3 Tage wurde das Reaktionsgemisch mit H<sub>2</sub>O verdünnt, mit Essigsäure angesäuert und die saure Lösung mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ausgeschüttelt, neutralisiert, wasserfrei gemacht und eingeengt. Rückstand kristallisiert nicht. DC-Prüfung (Standardtechnik wie oben mit Cyclohexan-Essigester, 1: 1, v/v als Fließmittel) zahlreiche Flecke etwa gleicher Konzentration mit  $R_f$ -Werten teils tiefer, teils höher als das Ausgangsprodukt. Ansatz 2: Wie soeben beschrieben, jedoch abweichend anstelle mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> nacheinander mit Äther und Essigester ausgeschüttelt. Es gelang keine bei Zimmertemperatur kristallisierbaren Reaktionsprodukte zu erhalten. Zum Vergleich unterwarfen wir Yangonin = 6-(p-Methoxy)-styryl-4-Methoxy-pyron-II denselben Reaktionsbedingungen. In Übereinstimmung mit Angaben der Literatur<sup>14</sup> gelang es ohne Mühe, aus 100 mg Yangonin 32 mg Yangonasäure zu isolieren. M.s. III: 258, 227, 215, 189, 187, 181, 171, 155, 144, 131, 128, 115, 103, 77, 69 m/e (60 eV, 28 A, 60°, 2·10<sup>-7</sup> torr). Massenspektrum MDO-III: 302, 271, 259, 231, 215, 199, 175, 149, 117, 89, 69 m/e (60 eV, 28 A, 130°, 2·10<sup>-7</sup> torr.).

### Abbau von Piperolid (III) mit Kaliwncarbonat

Substanz III wurden gelöst in Äthanol-Wasser 1: 1, v/v. Die Lösung wurde bis zur Sättigung mit festem K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> versetzt. Noch bevor ein Bodensatz verblieb, wurde der Ansatz zweiphasig. Wir beließen ihn 24 Std. bei Zimmertemperatur, verdünnten mit H<sub>2</sub>O und säuersten mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf den pH 6 an. Hierauf wie üblich: Ausschütteln mit Äther, Waschen, Trocknen und Einengen der Ätherphase. Die DC-Prüfung zeigt an, daß noch unverändertes Ausgangsmaterial neben zwei neuen Substanzen vorhanden ist. Ein neuer Ansatz wurde hinsichtlich der Einwirkungszeit der K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-lösung modifiziert: Nach 3 Tagen ist kein Ausgangsmaterial mehr nachweisbar. Zwei Ansätze lieferten einen Rückstand von 110 mg, die aber nicht kristallisierten. Daher entschlossen wir uns zu einer säulenchromatographischen Reinigung. **Isolierung von Zimtsäure.** Eine kleine Säule wurde mit 10 g Kieselgel (Woelm beschickt und 100 mg Abbauprodukt nach Aufbringen mit Cyclohexan-Essigester (7: 3, v/v), später (6:4, v/v)-insgesamt 400 ml-eluiert. Die ersten Anteile des Eluates enthielten eine Substanz (sehr wenig) mit einem  $R_f$  < als das Ausgangsprodukt, während dienachfolgenden Fraktionen die Hauptmenge eines Abbauproduktes mit tieferem  $R_f$  Wert ergaben ( $R_f \times 100 = 0\text{--}5$  d. h. am Start bleibend; zum Vergleich Piperolid  $R_f \times 100 = 19$ ; Fertigplatten Merck, Cyclohexan-Essigester, 6: 4, v/v). Zusammengehörige Fraktionen wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand aus Mischungen Äther/Petroläther umkristallisiert. Ausbeute: 16 mg, Schmp. 131–133°. Die spektralen Daten (I.R., NMR, m.s.) sprachen für das Vorliegen von trans-Zimtsäure. Im Mischschmelzpunkt mit authentischer trans-Zimtsäure keine Depression. Übereinstimmung im U.V.- und I.R.-Spektrum.

### Tetrahydro-Piperolid (IV)

100 mg Pd-Kohle-Katalysator (10% ig) wurden in 50 ml Essigester aufgeschwämmt und mit H<sub>2</sub> gesättigt; hinzugefügt wurde eine Lösung von 200 mg Piperolid (III) in 100 ml Essigester. Es wurden sehr rasch, innerhalb von 12 Min. 47 ml H<sub>2</sub> (etwa 760 mm Druck und 18°) aufgenommen. Nach 15 Minuten wurde der

<sup>14</sup> E. WINZHEIMER, Arch. Pharmaz. 246, 338 (1908)

Versuch abgebrochen, der Katalysator abfiltriert, der Essigester verjagt. Es hinterbleibt ein gelbliches Öl, das nicht zur Kristallisation gebracht werden kann. DC-geprägt handelt es sich jedoch um einen einheitlichen Stoff ( $R_f \times 100 = 23$ ; im Vergleich III:  $R_f \times 100 = 25$ ). Massenspektrum: 262, 230, 202, 185, 157, 149, 139, 135, 117, 113, 105, 92, 85, 77, 69, 58, 45, 39, 29, 27, 15 m/e.  $C_{15}H_{18}O_4$  (262,3): Ber. 68,68% C; 6,92% H; Gef. 68,15% C, 92% H.

**MDO-III: Modifizierter Chromatropsäuretest nach Eegriwe<sup>15</sup>**

1 mg MDO-III wurde mit 3 ml Phosphorsäure ( $d = 1,7$ ) langsam erhitzt, das Destillat (3 Tropfen) in wechselnden Vorlagen aufgefangen und je mit 0,5 ml 72 %iger  $H_2SO_4$  und einer Spatelspitze Chromatropsäure versetzt. Nach Erwärmen auf dem Wasserbad Violettfärbung. Zum Vergleich: Methysticin ebenfalls positiv, Piperolid III hingegen negativ.

Anerkennung-Das von uns untersuchte Material wurde in Arroyo Basuras, Santecomapan (60 m ii. M., Provinz Veracruz) gesammelt und von Herrn Prof. Dr. A. G. Pompa botanisch bestimmt. Belegexemplare der Pflanze werden im Institut für Pharmakognosie der Freien Universität aufbewahrt. Wir schulden den Herren Professor Dr. Arturo Gomez Pompa, Instituto de Biología (UNAM), Mexico und Herrn Dr. Rainer Schwarz, c/o Proquina, Orizaba (Mexico) außerordentlichen Dank für ihre Hilfe bei der Beschaffung authentischen Pflanzenmaterials: Nur durch die Mitwirkung dieser beiden Forscher wurde unsere Untersuchung ermöglicht.

<sup>15</sup> O. A. STAMM, H. SCHMID und J. BÜCHI, *Helv. Chim. Acta* 41, 2006 (1958); E. EEGRIWE, *Z. Anl. Chem.* 110, 22 (1937).