

Die Konstitution der Aristolochiasäure-IVa

(aus *Aristolochia argentina* Gris. und A. clem. Pflanzliche Naturstoffe mit einer Nitrogruppe, 8. Mitt.)

Von

E. A. Rúveda, S. M. Albonico, H. A. Priestap, V. Deulofeu

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Farmacia y Bioquímica,
und Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y
Naturales, Universidad de Buenos Aires

und

M. Pailer, E. Gössinger, P. Bergthaller

Organisch-Chemisches Institut der Universität Wien

(Eingegangen am 5. Juli 1968)

In früheren Untersuchungen^{1, 2} wurde die Anwesenheit zweier phenolischer Aristolochiasäuren in den Wurzeln der *Aristolochia clematitis* L. festgestellt. Der Anteil der phenolischen Säuren am Säuregemisch war jedoch so gering, daß die Konstitutionsermittlung nur noch für eine der beiden Säuren, die Aristolochiasäure-IIIa (*AS-IIIa*), erfolgreich durchgeführt werden konnte. Für die zweite phenolische Säure, die Aristolochiasäure-IVa (*AS-IVa*), blieb nach der Identifizierung ihres Permethylierungsproduktes mit dem Methylester der Aristolochiasäure-IV (*AS-IV-Me*) nur noch ein Strukturdetail offen, nämlich die Lage der massenspektrometrisch festgestellten Hydroxylgruppe.

Inzwischen ist aus der *Aristolochia argentina* ein Säuregemisch zugänglich geworden, in dem der Anteil an phenolischen Aristolochiasäuren offensichtlich höher liegt³. Die Gegenstromverteilung zwischen Butanol—Petroläther (7 : 3) und Phosphatpuffer (pH = 9) ermöglicht eine saubere

¹ M. Pailer, P. Bergthaller und G. Schaden, Mh. Chem. **96**, 863 (1965).

² M. Pailer und P. Bergthaller, Mh. Chem. **97**, 484 (1966).

³ E. A. Rúveda, H. A. Priestap und V. Deulofeu, Anales Asoc. Quim. Argent. **54**, 137 (1966).

Abtrennung der phenolischen Säuren von den nichtphenolischen. Versuche, die phenolische Fraktion der Aristolochiasäuren aus der *A. argentina* durch Gegenstromverteilung weiter aufzutrennen, blieben erfolglos. Immerhin waren durch Dünnschichtchromatographie der Permethylierungsprodukte zwei Flecken nachzuweisen, die mit dem Fleck des *AS-III-Methylesters* (*AS-III-Me*) und des *AS-IV-Methylesters* (*AS-IV-Me*) identisch waren. Durch Kristallisation des Säuregemisches aus *DMF*—Wasser konnte eine Probe der *AS-IVa* erhalten werden, die nach der Permethylierung nur noch aus *AS-IV-Me* bestand, in der also keine *AS-IIIa* mehr enthalten war. Die so erhaltene *AS-IVa* schmilzt unter Dunkelfärbung und Zersetzung bei 254—259°; sie verhält sich also nicht anders als die übrigen Aristolochiasäuren, die auf Grund ihrer Zersetzungsschmelzpunkte nicht hinreichend charakterisiert werden können.

Das NMR-Spektrum des Peräthylierungsproduktes der *AS-IVa* zeigte, daß als Haftstellen für die Äthergruppen nur zwei Atome in Frage kamen (C-6 und C-8 des Phenanthrensystems), wobei der Anordnung der Äthoxylgruppe (und damit der ursprünglich freien OH-Gruppe) am C-6 der Vorzug zu geben war. Die Formulierung der *AS-IVa* als 3,4-Methylendioxy-6-hydroxy-8-methoxy-10-nitrophenanthren-1-carbonsäure war somit als wahrscheinlichere Lösung anzusehen.

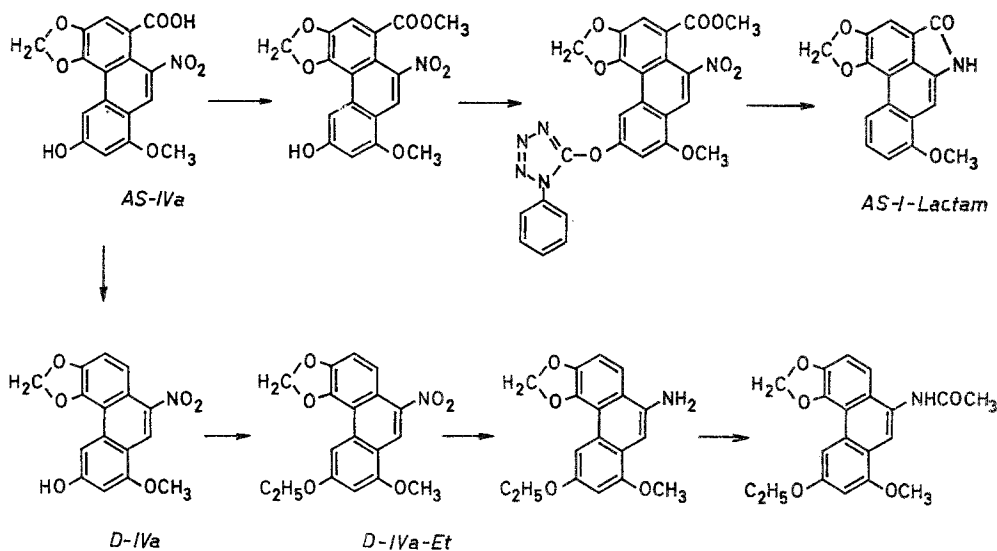
Die Struktur der Aristolochiasäure-IVa konnte auf zwei voneinander unabhängigen Wegen sichergestellt werden, von denen uns der erste als der methodisch interessantere erscheint.

In einer unlängst erschienenen Arbeit haben zwei von uns⁴ über eine einfache Methode berichtet, die es erlaubt, säure- und alkaliempfindliche Carbonsäuren unter sehr schonenden Bedingungen mit Dimethylsulfat in ihre Methylester überzuführen, ohne daß vorhandene phenolische Hydroxylgruppen mitmethyliert werden. Auch die *AS-IVa* kann nach dieser Methode mit Dimethylsulfat in trockenem *DMF* unter Zusatz von KHCO_3 zum Methylester methyliert werden, allerdings nicht so selektiv wie erwartet. Man trennt das Ausgangsmaterial durch Ausschütteln mit Bicarbonatlösung ab, entfernt das permethylierte Produkt (*AS-IV-Me*) durch Chromatographie an Al_2O_3 (Aktivität II—III) mit CHCl_3 und erhält den *AS-IVa-Methylester* in etwa 50% Ausbeute (Schmp. 243—250°, Zers.).

Die phenolische OH-Gruppe im *AS-IVa-Methylester* kann durch Umsetzung mit 1-Phenyl-5-chlortetrazol in trockenem Aceton in Gegenwart von K_2CO_3 unter Bildung des O-[5-(1-Phenyl)-tetrazolyl]-*AS-IVa-methylesters* veräthert werden. Der Tetrazolyläther wird in hoher Ausbeute erhalten und ist durch Chromatographie oder Kristallisation in gleicher Weise leicht zu reinigen (Schmp. 254°, Zers.).

⁴ M. Pailer und P. Berghaller, Mh. Chem. **99**, 103 (1968).

Wie kürzlich gefunden wurde⁵, lassen sich aus den leicht zugänglichen 5-(1-Phenyl)-tetrazolyläthern von Phenolen durch katalytische Hydrierung an Palladium—Tierkohle in Alkohol die den Phenolen entsprechenden aromatischen Kohlenwasserstoffe darstellen. Diese elegante Art der Enthydroxylierung mußte im Falle des *AS-IVa*-derivates zu einem Lactam führen, das entweder mit dem Lactam der *AS-III* oder, wie wir vermuteten, mit dem Lactam der *AS-I* identisch sein sollte. Tatsächlich verläuft die Hydrierung des O-[5-(1-Phenyl)-tetrazolyl]-*AS-IVa*-methylesters sehr



träge und unübersichtlich, aber sie liefert — neben anderen Produkten — in geringer Ausbeute, wie Dünnschichtchromatographie und IR-Spektrum bewiesen, das *AS-I*-Lactam.

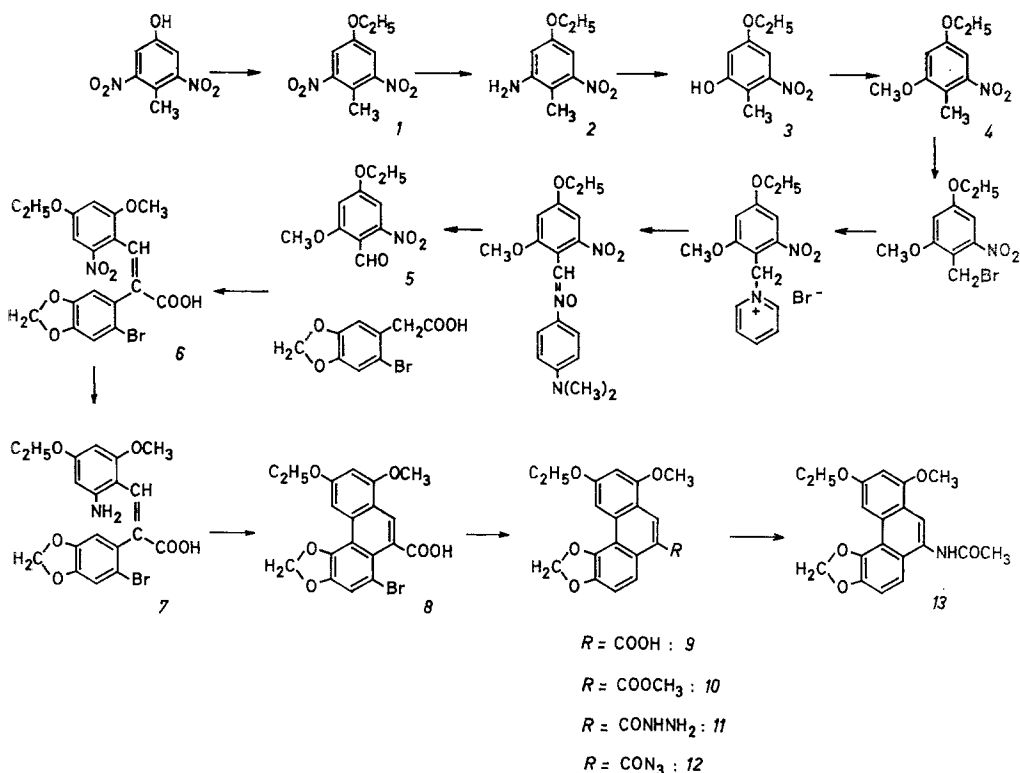
Der zweite Strukturbeweis entspricht ganz dem Abbau, der zur Ermittlung der Struktur der *AS-IV*⁶ herangezogen worden war. Die *AS-IVa* läßt sich unter Stickstoff in Chinolin mit Kupferpulver decarboxylieren, das empfindliche phenolische Decarboxylierungsprodukt kann in *DMF* in Gegenwart von K₂CO₃ mit Diäthylsulfat äthyliert werden. Der Äthyläther (*D-IVa-Et*) schmilzt nach chromatographischer Reinigung und Sublimation bei 269—273°. Mit dem Produkt, das seinerzeit bei der Aufarbeitung der Säuren aus *A. clematitis* L. angefallen war¹ und das bei 260—262° schmolz, gab er keine Depression. Durch Hydrierung an Palladium—Tierkohle in Eisessig und nachfolgende Behandlung mit

⁵ W. J. Musliner und J. W. Gates, jr., J. Amer. Chem. Soc. **88**, 4271 (1966).

⁶ M. Pailer und P. Bergthaller, Mh. Chem. **98**, 579 (1967).

Essigsäureanhydrid entstand eine weiße Acetaminoverbindung, die den Zers.-Schmp. 280—286° aufwies. Mit dem 1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylendioxy-9-acetaminophenanthren (13, Zers.-Schmp. 288—289°), über dessen Synthese abschließend noch berichtet werden soll, gab die Abbauverbindung keine Schmelzpunktsdepression (Mischschmp. 286—288°), die IR-Spektren waren identisch.

Damit ist die Struktur der Aristolochiasäure-IVa (*AS-IVa*) eindeutig festgelegt: *AS-IVa* ist 3,4-Methylendioxy-6-hydroxy-8-methoxy-10-nitrophenanthren-1-carbonsäure, nach den Nomenklaturregeln der IUPAC ist sie als 6-Nitro-8-methoxy-10-hydroxy-phenanthro[3,4-*d*]-1,3-dioxol-5-carbonsäure zu bezeichnen.



Die Synthese unserer Vergleichsverbindung, des 1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylendioxy-9-acetaminophenanthrens, erfolgte bis auf geringe Abänderungen analog der des 1,3-Dimethoxy-5,6-methylendioxy-9-acetaminophenanthrens⁶, nämlich ausgehend vom 2,4,6-Trinitrotoluol. Dieses wurde in bekannter Weise mit H_2S in Dioxan reduziert⁷, das

⁷ G. D. Parkes und A. C. Farthing, J. Chem. Soc. [London] **1948**, 1275.

2,6-Dinitro-4-aminotoluol über das Diazoniumsalz in das 2,6-Dinitro-4-hydroxytoluol⁸ übergeführt. Mit Diäthylsulfat in *DMF* bei Gegenwart von K_2CO_3 entstand daraus in guter Ausbeute das 2,6-Dinitro-4-äthoxytoluol (1), das sich ohne Schwierigkeiten mit Zinn(II)-chlorid zum 2-Nitro-4-äthoxy-6-aminotoluol (2) reduzieren ließ. Das Amin 2 ergab über das Diazoniumsalz in ausgezeichneter Ausbeute das 2-Nitro-4-äthoxy-6-hydroxytoluol (3) und daraus durch Methylierung nach der *DMF*-Methode⁴ das 2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxytoluol (4). 4 war bei sorgfältiger Temperaturkontrolle mit N-Bromsuccinimid in CCl_4 unter Zusatz katalytischer Wasserspuren ohne Schwierigkeiten in das 2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxybenzylbromid überzuführen. Mit Pyridin in trockenem Benzol entstand daraus das 1-(2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxybenzyl)-pyridiniumbromid als zäher brauner Sirup, von dem als kristallisiertes Derivat das Perchlorat erhalten werden konnte. Das Pyridiniumbromid ließ sich in üblicher Weise zum 2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxyphenyl-N-p-dimethylaminophenylnitron umsetzen und dieses mit verdünnter Mineralsäure zum 2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxybenzaldehyd (5) spalten.

Die Kondensation des Aldehyds 5 mit der 6-Bromhomopiperonylsäure in Essigsäureanhydrid mit Triäthylamin bereitete zunächst Schwierigkeiten. Befriedigende Ausbeuten an 2-Brom-4,5-methylendioxy-2'-nitro-4'-äthoxy-6'-methoxy-*cis*-stilben- α -carbonsäure (6) wurden jedoch bei der Umsetzung des Aldehyds mit 2 Mol 6-Bromhomopiperonylsäure und Triäthylamin erhalten. Die 2-Brom-4,5-methylendioxy-2'-amino-4'-äthoxy-6'-methoxy-*cis*-stilben- α -carbonsäure (7), aus 6 durch Reduktion mit Eisen(II)-sulfat—verd. Natronlauge erhalten, läßt sich in absol. methanol. Salzsäure diazotieren und gibt beim Behandeln des Diazoniumsalzes mit Naturkupfer-C in stürmischer Reaktion die 1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylendioxy-8-bromphenanthren-9-carbonsäure (8) in etwa 20% Ausbeute. Nach Abspaltung des Broms mit aktiviertem Zinkstaub in wäßrig-alkohol. Lauge wird die extrem schwerlösliche 1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylendioxyphenanthren-9-carbonsäure (9) erhalten. Mit Diazomethan läßt sich die Säure leicht in den Methylester 10 überführen, aus dem mit Hydrazinhydrat in Methanol im Einschlußrohr bei 120° das Hydrazid 11 zugänglich ist. Dieses gibt mit Isoamylnitrit in methanol. Salzsäure das Azid 12. Oberhalb 80° setzt sich das Azid unter Stickstoff in Essigsäureanhydrid, das etwas Essigsäure enthält (7%), zunächst rasch zum Isocyanat, dann langsam zum 1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylendioxy-9-acetaminophenanthren (13) um. Das Acetamid 13 ist durch Säulenchromatographie, Kristallisation und Sublimation leicht zu reinigen. Die Reinsubstanz schmilzt scharf bei 288—289°.

⁸ A. Robertson und W. F. Sandrock, J. Chem. Soc. [London] 1933, 819.

Experimenteller Teil

Isolierung der AS-IVa

Die Säuren wurden nach der üblichen Methode isoliert. Das Gemisch wurde einer Gegenstromverteilung zwischen Butanol—Petroläther (*PÄ*, Sdp. 60—70°) 7 : 3 und Phosphatpuffer (pH = 9) unterworfen und zeigte nach 70 Durchgängen eine gute Auftrennung in phenol. und nichtphenol. Säuren.

Der phenol. Anteil wurde aus Dimethylformamid (*DMF*)—Wasser umkristallisiert. Schmp. 254—259° (Zers. ab 230° merklich).

Veresterung nach der DMF-Methode

9,3 mg *AS-IVa* wurden in 3 ml trockenem *DMF* (über Molekularsieb aufbewahrt) gelöst und mit KHCO_3 versetzt. Nach Zugabe von 0,05 ml Dimethylsulfat wurde noch 45 Min. in der Kälte gerührt und schließlich innerhalb 15 Min. auf 70° erwärmt, wobei ein Farbumschlag von gelb nach rot festgestellt wurde. Das Gemisch wurde in Wasser gegossen, 7mal mit Äther extrahiert; die Ätherextrakte gaben bei 4maligem Durchschütteln mit 10proz. KHCO_3 -Lösung noch etwas Säure ab. Der Eindampfrückstand der Ätherextraktion wurde an einer Al_2O_3 -Säule (5 g Al_2O_3 Akt. II—III nach *Brockmann*) chromatographiert, wobei das Permethylierungsprodukt (*AS-IV-Me*) mit CHCl_3 ausgewaschen wurde. Der *AS-IVa*-Methylester lief nach Zusatz von 2% Methanol zum Laufmittel ab. Ausb. 6,5 mg, Schmp. 243—250° (Zers.).

O-[5-(1-Phenyl)tetrazolyl]-AS-IVa-methylester

6,5 mg *AS-IVa*-Methylester wurden in 3 ml trockenem Aceton unter Zusatz von K_2CO_3 mit 5,8 mg 1-Phenyl-5-chlortetrazol versetzt und unter Rückfluß bis zur Entfärbung der Lösung gekocht (6 Stdn.). Die Salze wurden abfiltriert und mit insgesamt 120 ml heißem, trockenem Aceton gewaschen. Die vereinigten Acetonauszüge wurden eingedampft und auf zwei verschiedene Arten gereinigt.

Ein Teil wurde an einer Al_2O_3 -Säule mit CHCl_3 + 1% Methanol chromatographiert und dann aus Äthanol umkristallisiert.

Der zweite Teil wurde mit CHCl_3 aufgenommen, die Lösung mit Äthanol versetzt, bis zur Sättigung eingeengt und abkühlen gelassen. Beide Methoden liefern ein Produkt mit Schmp. 253—254°, Ausb. 6,8 mg, das dünn-schicht-chromatographisch (Al_2O_3 -G, 0,25 mm, Benzol + 2% Dioxan) einheitlich ist.

Katalytische Hydrierung des O-[5-(1-Phenyl)tetrazolyl]-AS-IVa-methylesters

6,6 mg des Tetrazolyläthers wurden in 4 ml Äthanol bei 35° an Pd-Tierkohle hydriert. Nach 6 Stdn. Reaktionsdauer entsprach der H_2 -Verbrauch der Reduktion der Nitrogruppe. Die Hydrierung kam zum Stehen, sie wurde durch Zugabe von frischem Katalysator wieder in Gang gebracht und durch weitere 12 Stdn. fortgesetzt. Dann wurde die Lösung vom Katalysator abfiltriert, zur Trockene eingedampft, mit etwas CH_2Cl_2 aufgenommen und dünn-schicht-chromatographisch aufgearbeitet (Kieselgur G, 0,30 mm, Benzol + 2% Dioxan). Die Bande bei $R_f = 0,55$ (identisch mit Vergleichschromatogramm des *AS-I*-Lactams) wurde herausgeschnitten, mit Methanol eluiert, der Rückstand im Kugelrohr sublimiert (220—240°/0,001 Torr). Der Schmp. von 308° (Zers.) läßt sich durch Wiederholung der Reinigungsoperation nicht wesentlich verbessern.

Decarboxylierung der AS-IVa und Äthylierung des Decarboxylierungsproduktes (D-IVa-Et)

11 mg AS-IVa wurden mit 150 mg Naturkupfer-C unter N_2 durch 15 Min. in 5 ml frisch destill. Chinolin auf 220—245° erhitzt. Die Lösung wurde abgekühlt, mit 100 ml Äther aufgenommen, vom Cu abfiltriert, 5mal mit 250 ml HCl (1 : 1) ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und dann 5mal abwechselnd mit je 20 ml 5proz. NaOH und 50 ml Wasser extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden angesäuert, 2mal mit Äther extrahiert, die Ätherextrakte getrocknet und eingedampft. Der rote Rückstand wurde in 5 ml DMF (trocken) aufgenommen, mit 500 mg K_2CO_3 und 2 Tropfen Diäthylsulfat versetzt, 2 Min. am Wasserbad erwärmt, in 100 ml Wasser eingetragen, dann 2mal mit je 30 ml Äther extrahiert, der Extrakt mit Wasser, 5proz. NaOH gewaschen, mit $CaCl_2$ getrocknet und eingedampft. Durch Chromatographie wurde das Rohprodukt in Form einer einheitlichen roten Bande isoliert (Al_2O_3 Akt. II—III, $P\check{A}$ —Benzol), das Eluat sublimiert (200—220°, 0,005 Torr). Schmp. 269—273°, Ausb. 3,5 mg D-IVa-Et.

Katalytische Hydrierung und Acetylierung von D-IVa-Et

2,5 mg D-IVa-Et wurden in 3 ml Eisessig in der Wärme gelöst, die Lösung gekühlt, mit etwa 10 mg 10proz. Pd-Tierkohle versetzt und unter intensivem Rühren unter geringem H_2 -Überdruck hydriert. Die Lösung war innerhalb einer halben Minute entfärbt. Sie wurde noch unter H_2 mit 1 ml Ac_2O versetzt, 10 Min. weitergerührt, dann vom Katalysator abfiltriert und zwischen CH_2Cl_2 und Wasser verteilt. Die CH_2Cl_2 -Phase enthielt nach 2stdg. Rühren mit 10proz. K_2CO_3 -Lösung nur noch Spuren von Ac_2O , sie wurde verdampft und der Rückstand sublimiert (220—240°/0,001 Torr). Die Zone der in Form von weißen Nadeln übergegangenen Acetaminoverbindung wurde abgetrennt, die letzten Reste eines braunen Öles blieben bei der Kristallisation aus CH_2Cl_2 — $P\check{A}$ in der Mutterlauge. Die Substanz selbst zeigte nach erneuter Sublimation den Schmp. 280—286° (Zers.) Mischschmp. mit synthet. Material 286,5—288,5°.

2,6-Dinitro-4-äthoxytoluol

13,5 g 2,6-Dinitro-4-hydroxytoluol⁸ und 19 g K_2CO_3 wurden in 30 ml DMF (trocken) unter Rühren mit 16 g Diäthylsulfat versetzt. Nach 1 Sde. wurde in Wasser gegossen, das Rohprodukt abgesaugt, in Benzol aufgenommen und durch Chromatographie auf Al_2O_3 gereinigt. Nach Kristallisation aus Isopropylalkohol: Schmp. 108—109°, Ausb. 14,2 g, d. s. 88% d. Th.

2-Nitro-4-äthoxy-6-aminotoluol (2)

23,2 g **1** wurden in 150 ml Eisessig gelöst und bei 25—30° mit der Lösung von 61,5 g $SnCl_2$ in 50 ml gesätt. methanol. HCl reduziert. Die Lösung wurde im Scheidetrichter mit 150 g gepulv. Oxalsäure versetzt, mit Äther überschichtet und mit $KHCO_3$ auf pH 1,5—2 eingestellt. Amin und Ausgangsmaterial wurden mit dem Äther entfernt, das Amin nach dem Einengen der Ätherlösung durch Ausschütteln mit verd. H_2SO_4 (200 ml H_2O + 30 ml H_2SO_4 konz.) als kristallisiertes Sulfat isoliert und mit K_2CO_3 in die freie Base übergeführt, Schmp. 87—88,5°, Ausb. 8,3 g (auf umgesetztes **1** ber.: 58% d. Th.).

2-Nitro-4-äthoxy-6-hydroxytoluol (3)

8,2 g **2** wurden in 100 ml verd. H_2SO_4 (25 ml H_2SO_4 + 75 ml Wasser) suspendiert und mit der Lösung von 2,9 g NaNO_2 in wenig Wasser bei 0° diazotiert. Überschüssiges Nitrit wurde mit etwas Harnstoff abgefangen, die Diazoniumlösung in verd. H_2SO_4 (200 ml H_2SO_4 konz. + 800 ml Wasser) eingegossen und durch 1 Stde. zum Sieden erhitzt. Das Rohprodukt wird nach dem Erkalten abgesaugt und samt dem mitgebildeten Harz weiterverarbeitet. Ausb. 7,6 g **3** (92% d. Th.), Schmp. 115—117°.

2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxytoluol (4)

7,6 g **3** wurden mit 9,7 g Dimethylsulfat und 16 g K_2CO_3 in 25 ml trockenem *DMF* in üblicher Weise methyliert, das Produkt wie üblich chromatographisch gereinigt und aus Isopropylalkohol umkristallisiert. Ausb. 6,7 g, d. s. 82% d. Th., aus nicht gereinigtem Ausgangsmaterial. Schmp. 89—90°.

2-Nitro-4-äthoxy-6-methoxybenzaldehyd (5)

3,6 g **4** wurden mit 3,0 g frisch umkristall. N-Bromsuccinimid in 50 ml reinem CCl_4 unter Zusatz von 2 Tropfen Wasser innerhalb von 2 bis 3 Stdn. bei 40 bis maximal 50° intensiv gerührt und mit einer 200 W-Glühlampe bestrahlt. Vom obenauf schwimmenden Succinimid wurde abfiltriert, im Vak. schonend eingedampft (40°), in 50 ml Benzol aufgenommen und mit 6 ml Pyridin 2 Stdn. am Wasserbad gekocht. Vom öligen Pyridiniumsalz wurde abgegossen (Ausb. 3,3—5,2 g); der zähe Sirup des Pyridiniumsalzes wurde in Äthanol aufgenommen (30 ml), mit 3,5 g p-Nitrosodimethylanilin in 30 ml Äthanol versetzt, auf 0° gekühlt und mit 10 ml 20proz. wäbr. NaOH behandelt. Das ausgeschiedene Nitron wurde nach einer Stde. abgesaugt, mit Wasser gewaschen, in 30 ml Eisessig eingetragen und unter Rühren in einem Guß mit 30 ml 30proz. H_2SO_4 vereinigt. Der rohe Aldehyd **5** wurde abgesaugt und aus Eisessig umkristallisiert. Zur Analyse wurde eine Probe in die Bisulfitverbindung übergeführt, diese mit Na_2CO_3 -Lösung gespalten; der reine Aldehyd zeigte nach Sublimation Schmp. 195—196°, Ausb. 1,2—2 g **5** (31—52% d. Th.).

$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NO}_5$. Ber. C 53,33, H 4,88, N 6,22.

Gef. C 53,12, H 4,75, N 6,27.

2-Brom-4,5-methylenedioxy-2'-nitro-4'-äthoxy-6'-methoxy-cis-stilben- α -carbonsäure (6)

900 mg **5**, 2000 mg 6-Bromhomopiperonylsäure, 1,1 ml Triäthylamin wurden in 20 ml frisch destill. Ac_2O 24 Stdn. in einem verschlossenen Kollbehen auf 90° gehalten und dann mit 10 ml Wasser behandelt, bis die Lösung wieder klar war. Schließlich wurde die noch heiße Lösung in 100 ml 15proz. NaOH eingetragen und das Gemisch zwischen Äther und Lauge verteilt. Die Ätherphase wurde noch 3mal mit verd. Lauge ausgezogen, die vereinigten Laugenphasen mit verd. HCl unter Eiskühlung angesäuert und die in Form von gelben harzigen Flocken ausgefallene Rohsäure zur Entfernung des Überschusses an 6-Bromhomopiperonylsäure mit heißem Eisessig digeriert und abfiltriert. Ausb. 1068 mg **6**, d. s. 64% d. Th.

Zur Analyse wurde **6** mit Diazomethan in den *Methylester* übergeführt, der Ester durch präparative DSC (Kieselgel PF 254 + 336, Benzol) gereinigt und aus Isopropylalkohol umkristallisiert; Schmp. 160—161,5°.

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{NO}_8\text{Br}$. Ber. C 50,00, H 3,75.

Gef. C 49,44, H 3,67.

2-Brom-4,5-methylenedioxy-2'-amino-4'-äthoxy-6'-methoxy-cis-stilben- α -carbonsäure (7)

972 mg **6** wurden mit 5,5 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ und der Lösung von 3,5 g NaOH in 100 ml Wasser 10 Min. unter Rühren gekocht; die schwarze Suspension wurde über Celit abfiltriert und der Rückstand noch mehrmals nachgewaschen. Die vereinigten wäßr. Lösungen gaben nach Ansäuern mit 20proz. Essigsäure 820 mg der Aminosäure **7** in Form eines weißen Pulvers mit unscharfem Schmelzbereich (110—125°); 90% d. Th.

1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylenedioxy-8-bromphenanthren-9-carbonsäure (8)

820 mg **7** wurden in 10 ml DMF gelöst, mit 10 ml Methanol vermischt, auf 0° gekühlt, mit 9 ml gesätt. methanol. HCl versetzt, auf — 5° gekühlt und mit 0,26 ml Isoamylnitrit diazotiert. Nach 10 Min. wurde 1 g Naturkupfer-C zugegeben, die stürmische Reaktion abgewartet, die Lösung am Wasserbad aufgewärmt und vom Cu abfiltriert. Beim Eintragen in 100 ml Wasser fiel ein feines Pulver aus, aus dem durch Digerieren mit heißem Eisessig 146 mg an Kristallen mit dem Schmp. 273—275° (Zers.) gewonnen wurden. Die Ausb. lag gewöhnlich zwischen 17 und 20% d. Th.

Zur Analyse wurde **8** mit CH_2N_2 in den *Methylester* übergeführt, Schmp. 184°.

$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{Br}$. Ber. C 55,40, H 3,93.

Gef. C 55,46, H 4,02.

1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylenedioxyphenanthren-9-carbonsäure (9)

100 mg **8** wurden wie üblich mit aktiviertem⁶ Zinkstaub in Lauge entbromt und aufgearbeitet. Ausb. 73 mg **9**, d. s. 90% d. Th.

1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylenedioxyphenanthren-9-carbonsäuremethylester (10)

59 mg **9** wurden in DMF in der Hitze gelöst und in 20 ml äther. CH_2N_2 -Lösung eingegossen; das Produkt wurde nach Verdampfen der Lösungsmittel über Al_2O_3 chromatographiert (CH_2Cl_2) und aus CH_2Cl_2 —Methanol umkristallisiert. Zur Analyse wurde noch 2mal aus Essigester umkristallisiert. Schmp. 210°. Ausb. 50 mg **10**.

$\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_6$. Ber. C 67,78, H 5,08. Gef. C 67,52, H 5,03.

1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylenedioxyphenanthren-9-carbonsäurehydrazid (11)

40 mg **10** wurden mit 1,5 ml frisch destill. Hydrazinhydrat und 8 ml Methanol im Einschmelzröhrchen 6 Stdn. lang auf 120° gehalten. Die beim Abkühlen ausgefallenen feinen Nadeln wurden abfiltriert, Ausb. 30 mg; **11** zeigt keinen Schmelzpunkt, zersetzt sich ab 225°.

1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylenedioxyphenanthren-9-carbonsäureazid (12)

wurde in üblicher Weise⁶ hergestellt und ohne Reinigung rasch weiterverarbeitet.

1-Methoxy-3-äthoxy-5,6-methylenedioxy-9-acetaminophenanthren (13)

20 mg **12** wurden mit 4 ml Ac_2O und 0,3 ml Eisessig unter N_2 im Einschmelzröhrchen 16 Stdn. lang auf 100° gehalten, dann wurde mit Wasser ver-

setzt, im Vak. zur Trockene eingedampft, mit CH_2Cl_2 aufgenommen und zur Abtrennung unpolarer Verunreinigungen mit CH_2Cl_2 über Al_2O_3 (Akt. II—III) chromatographiert. Bis auf eine gelb fluoreszierende Bande ungeklärter Herkunft konnten alle im UV sichtbaren Verunreinigungen abgetrennt werden. Die Acetaminoverbindung, die sich durch tief kornblumenblaue Fluoreszenz zu erkennen gab, wurde auf Zusatz von 1% MeOH zum Laufmittel eluiert und durch Sublimation vorgereinigt (240—250°, 0,0005 Torr). Danach wurde **13** aus $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + P\ddot{A}$ umkristallisiert und noch einmal sublimiert. Das in feine weiße Nadeln übergehende Acetamid war chromatographisch einheitlich; Schmp. 288—289°, Ausb. 14 mg **13**.

$\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_5$. Ber. C 67,90, H 5,38, N 3,96.
Gef. C 67,65, H 5,31, N 4,09.

Alle Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach *Kofler* bestimmt und sind unkorrigiert.

Sublimationen wurden im Kugelrohr durchgeführt, Temperaturangaben beziehen sich auf das Luftbad.

Die Analysen wurden im Mikrolaboratorium des Physikalisch-Chemischen Institutes der Universität Wien von Herrn Dr. *J. Zak* durchgeführt.

Wir danken herzlich für Zuwendungen seitens des Consejo Nacional de Investigaciones (Argentina: *E. A. R.*, *S. M. A.*) und seitens des National Institute of Health (USA: *V. D.*).