

1743. S. Rangaswami und B. V. Rama Sastry

Über die Konstitution der Maxima-Substanz C

Aus dem „Department of Pharmacy, Andhra University“, Waltair, India
Direktor: Prof. Dr. S. Rangaswami

(Eingegangen am 30. Juli 1958)

Über die Konstitution der Maxima-Substanz A und der Maxima-Substanz B, zweier kristalliner Inhaltsstoffe von *Tephrosia maxima* Aers. (Fam.: Leguminosae) haben wir in früheren Veröffentlichungen^{1) 2) 3)} berichtet. In der vorliegenden Mitteilung wird die Konstitutionsaufklärung von Maxima-Substanz C, einer dritten kristallinen Komponente aus derselben Pflanze, beschrieben.

Maxima-Substanz C besitzt eine Methoxy- und eine Methylendioxy-Gruppe und hat die Summenformel $C_{22}H_{20}O_6$. Sie ist unlöslich in wässrigem Alkali und gibt keine Farbreaktion mit Eisenchlorid. Die Substanz blieb nach dreistündigem Kochen mit Natriumazetat und Essigsäureanhydrid und nach zweistündiger Behandlung mit Jod und Natriumazetat in kochendem Alkohol unverändert. Die Alkalischmelze (12%ig) führte zu Ameisensäure und einem unbekanntem phenolischen Keton der Summenformel $C_{21}H_{22}O_6$ (II); wir nahmen daher an, daß Maxima-Substanz C eine Isoflavonstruktur besitzt. Behandlung mit einem Essigsäure-Schwefelsäure- oder einem Essigsäure-Salzsäure-Gemisch verwandelte die Maxima-Substanz C in eine neue Verbindung der Formel $C_{17}H_{12}O_6$ (III), die phenolischen Charakter besitzen mußte, da sie in wässrigem Alkali löslich war und sowohl ein Monoazetat wie einen Monomethyläther bildete. Verbindung III enthielt noch die Methoxylgruppe und die Methylendioxygruppe der Maxima-Substanz C und war gleichfalls ein Isoflavon, da sie bei der Alkalischmelze (12%ig) Ameisensäure und ein phenolisches Keton $C_{16}H_{14}O_6$ (IV) lieferte. Die Bildung der phenolischen Substanz (III) aus der nichtphenolischen Maxima-Substanz C unter Verlust von C_5H_8 bei Einwirkung von Essigsäure-Schwefelsäure- oder Essigsäure-Salzsäure-Gemisch ist analog der Bildung von Pseudobaptigenin (VIII) (einer phenolischen Verbindung) aus der Maxima-Substanz B (VII), wobei unter den gleichen Bedingungen C_5H_8 verloren geht²⁾. Eine weitere Ähnlichkeit mit Substanz B besteht darin, daß auch Maxima-Substanz C beim Behandeln mit Chromsäure Azeton ergibt. Diese Befunde und die Tatsache, daß beide Maxima-Substanzen B und C Isoflavone mit einem Methylendioxy-Substituenten sind, führten zu der Annahme, daß die Strukturen der beiden Verbindungen eng miteinander verwandt sind. Die Konstitution der Maxima-Substanz B wurde als ein O- γ : γ -Dimethylallyl-pseudobaptigenin (VII)²⁾ festgelegt. Da sich die Strukturformel der Maxima-Substanz C von der der Substanz B nur darin unterscheidet, daß sie ein O-, ein C-, zwei H-Atome mehr und eine zusätzliche Methoxylgruppe enthält,

¹⁾ S. Rangaswami und B. V. Rama Sastry, *Curr. Sci.* 23, 397 (1954).

²⁾ S. Rangaswami und B. V. Rama Sastry, *Curr. Sci.* 24, 337 (1955).

³⁾ S. Rangaswami und B. V. Rama Sastry, *Proc. Indian Acad. Sci.* 44A, 279 (1956).

schien es wahrscheinlich, daß der Substanz C die Struktur eines Methoxy-methylen-dioxy- γ : γ -dimethylallyloxy-isoflavons zukommt.

Die Stellungen der drei Substituenten konnten durch folgende Überlegungen bestimmt werden. Die Behandlung der Maxima-Substanz C mit alkalischem Wasserstoffperoxyd ergab zwei Säuren der Formel $C_{12}H_{14}O_4$ (V) und $C_9H_8O_5$ (VI). Von diesen wurde nur (V) durch Eisenchlorid gefärbt. Daher mußte sich V als o-Hydroxysäure vom Benzopyronteil des Moleküls, die Säure VI hingegen vom Seitenphenylkern des Isoflavons ableiten. Säure VI enthielt eine Methoxy- und eine Methylenedioxygruppe. Aus der nahen Verwandtschaft zwischen den Maxima-Substanzen B und C, aus dem Schmelzpunkt der Säure VI und aus allgemeinen Überlegungen, die die Stellung von Substituenten im Seitenphenyl in der Anthoxanthinreihe zum Gegenstand haben, konnte man annehmen, daß Säure VI eine 6-Methoxypiperonylsäure ist. Diese Annahme wurde durch den Mischschmelzpunkt mit synthetisierter 6-Methoxy-piperonylsäure, hergestellt nach der Methode von Arnold und Bortnick⁴⁾, bestätigt. Säure V mußte eine Salicylsäure mit zusätzlicher C_5H_9O -Gruppe sein. Diese Gruppe in V und in Maxima-Substanz C entspricht offenbar dem gleichen Substituenten in Maxima-Substanz B (ein Äther des Pseudobaptigenins). Säure VI wurde ebenfalls durch Schmelze der phenolischen Substanz III mit alkalischem Wasserstoffperoxyd erhalten. Diese Reaktionen können nach dem Schema der Abbildung 1 dargestellt werden. Für Maxima-Substanz C schreiben wir demnach die Struktur eines γ : γ -Dimethylallyloxy-3'-4'-methylenedioxy-6'-methoxy-isoflavons (oder auch eines γ : γ -Dimethylallyloxy-2'-methoxy-4'-5'-methylenedioxyisoflavons (I), was im folgenden Abschnitt erläutert werden soll.

Die Entdeckung von 2'-Hydroxy- und 2'-Methoxy-Isoflavonen in der Natur ist verhältnismäßig neuen Datums, andererseits ist auch das Vorkommen der 2'-Methoxyverbindungen für die Biogenese von Verbindungen der Rotenongruppe von Bedeutung. So wurde das Isoflavon (IX) von Harper⁵⁾ zusammen mit Toxicarol (X) aus *Derris malaccensis* isoliert; IX ist wahrscheinlich eine Vorstufe des Toxicarols. Man könnte annehmen, daß Maxima-Substanz C einen Ringschluß durch den Sauerstoff und den Kohlenstoff der 2'-Methoxygruppe zwischen den 2- und 2'-Stellungen des Isoflavons und eine Claisen-Umlagerung der Dimethylallyloxy-Gruppe erfährt, wobei die Verbindung XI entsteht. Diese ist mit Rotenonsäure (XII) verwandt und jene wiederum mit Rotenon (XIII).

Aus den Schoten einer *Tephrosia*-Spezies, die als *Tephrosia purpurea* var. *maxima* (T. *Maxima* Pers.) deklariert wird, isolierte Rao⁷⁾ drei kristalline Substanzen, die er als Purpuranin A, $C_{21}H_{18}O_7$, Schmp. 188—191°, Purpuranin B, $C_{23}H_{17}O_7$, Schmp. 224—225° und Maximin, $C_{23}H_{22}O_6$, Schmp. 143—145° bezeichnete. Es ist möglich, daß das von Rao beschriebene Maximin und die von

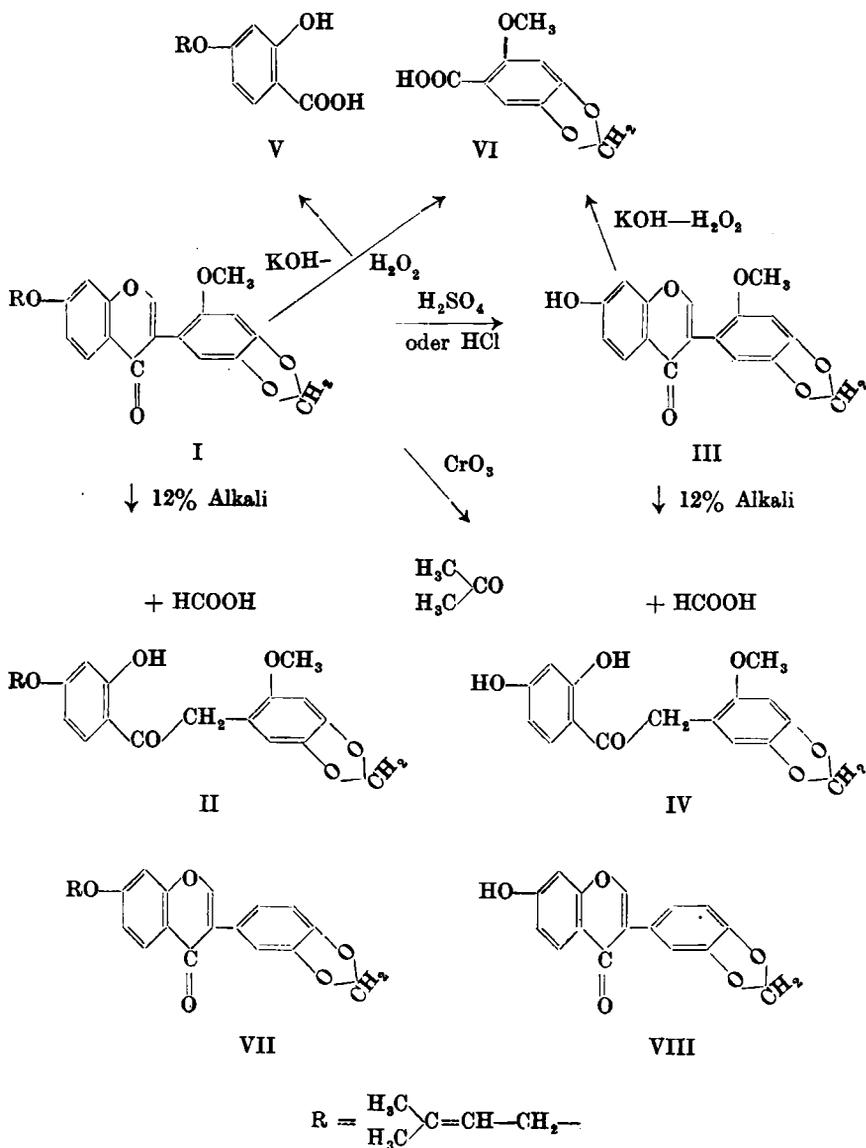
4) R. T. Arnold und N. Bortnick, J. Amer. chem. Soc. 67, 1797 (1945).

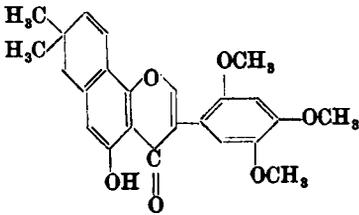
5) S. H. Harper, J. chem. Soc. [London] 1940, 1178.

6) S. H. Harper, J. chem. Soc. [London] 1942, 595.

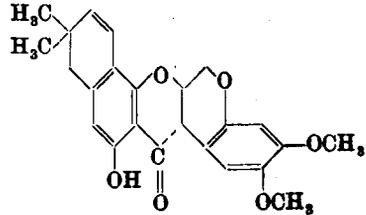
7) N. V. S. Rao, Curr. Sci. 25, 398 (1956).

uns beschriebene Maxima-Substanz C miteinander identisch sind; jedoch wird berichtet, daß Maximin bei der Alkalischmelze eine neutrale Komponente vom Schmp. 80° liefert, während Maxima-Substanz C bei der Schmelze mit 12%igem Alkali ein phenolisches Keton, $C_{21}H_{22}O_6$, Schmp. $79-81^{\circ}$ ergibt. Aus den wenigen Angaben, die über Maximin bekannt sind, ist aber eine definitive Aussage schwer möglich.

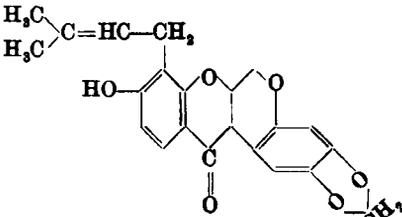




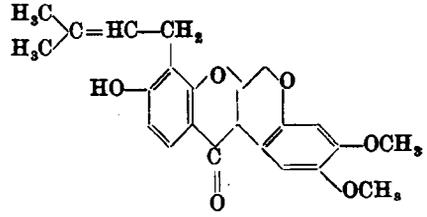
IX



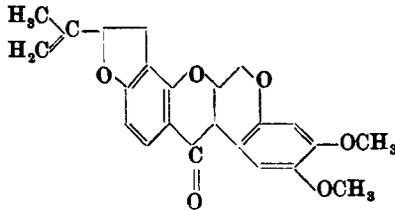
X



XI



XII



XIII

Zusammenfassung

Die Konstitution der Maxima-Substanz C wurde durch chemische Abbauversuche studiert. Auf Grund der gewonnenen Resultate und ihres gemeinsamen Vorkommens mit Maxima-Substanz B (O- γ : γ -Dimethylallyl-pseudobaptigenin) wurde für Maxima-Substanz C die Struktur eines 7- γ : γ -Dimethylallyloxy-2'-methoxy-4',5'-methylenedioxy-isoflavons abgeleitet.

Experimenteller Teil

Maxima-Substanz C kristallisiert aus Azeton in farblosen Prismen vom Schmelzpunkt 142—144° C. Sie löste sich in konzentrierter Schwefelsäure mit oranger Farbe, die beim Erwärmen mit Gallussäure tief grün wurde. Sie gab nicht die für Rotenoide typischen Farbreaktionen.

$C_{22}H_{20}O_6$ (380,38)	Gef.: C 70,0%	H 5,6%	OCH_3 8,0%
	Ber.: „ 69,4%	„ 5,3%	„ (1) 8,2%

Hydrolyse mit 12%igem Natriumhydroxyd: Herstellung des phenolischen Ketons (II)

Eine Lösung von Maxima-Substanz C (480 mg) in heißem, absolutem Alkohol (15 ml) wurde zu einer heißen Lösung von Natriumhydroxyd (6 g in 10 ml Alkohol + 25 ml Wasser)

gegeben. Die Mischung wurde 15 Min. am Rückfluß erhitzt, abgekühlt, mit 100 ml Wasser verdünnt, mit 20%iger Phosphorsäure angesäuert (Kongorot) und im Eisschrank gekühlt. Die überstehende Flüssigkeit wurde von dem klebrigen Bodensatz abdekantiert und der Rückstand mit kleinen Portionen Wasser gewaschen. Die Mutterlauge und die Waschwässer wurden vereinigt, mit Petroläther extrahiert, der Petrolätherextrakt mit Wasser gewaschen und die Waschwässer mit der wässrigen Hauptphase, die zur Identifizierung und Bestimmung von Ameisensäure verwendet wurde, vereinigt.

Das gummiähnliche Material wurde zusammen mit dem Rückstand des Petrolätherextraktes in Äther aufgenommen und die Ätherlösung mit Natriumbikarbonat und anschließend mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der Rückstand ergab nach dem Umkristallisieren aus Methanol-Äther farblose Plättchen vom Schmp. 79—81° (Ausbeute 300 mg). Weiteres Umkristallisieren aus Methanol-Azeton führte zu keiner Schmelzpunkterhöhung. Die Substanz gab mit alkoholischem Eisenchlorid eine weinrote Farbe, die nach einiger Zeit in Braun überging. Sie löste sich in konzentrierter Schwefelsäure unter Gelbfärbung, die zuerst in Rot und dann in Rotbraun umschlug. Beim Erwärmen mit Schwefelsäure und Gallussäure entstand eine grüne Lösung.

$C_{21}H_{23}O_6$ (370,38) (phenolisches Keton II) Gef.: C 68,5% H 6,4% OCH_3 9,0%
Ber.: „ 68,1% „ 6,0% $OCH_3(1)$ 8,4%

Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des obigen phenolischen Ketons II, das in der üblichen Weise hergestellt wurde, kristallisierte aus Methanol-Benzol in hellroten Plättchen mit dem Schmp. 200—202°.

$C_{27}H_{26}O_9N_4$ (450,51) Gef.: C 59,0% H 5,2% N 9,5%
Ber.: „ 58,9% „ 4,8% „ 10,2%

Isolierung, Nachweis und quantitative Bestimmung der Ameisensäure

Die saure wässrige Lösung und die oben erwähnten Waschwässer wurden vereinigt und bis auf 50 ml eingeeengt. Das Destillat wurde qualitativ auf Ameisensäure geprüft (durch Reduktion zu Formaldehyd und Nachweisreaktion auf Formaldehyd) und anschließend quantitativ auf 2 Wegen (a) durch direkte Titration mit Standard Alkali und (b) nach der *Riesser*-Methode, die in der Reduktion von Mercuri- zur Mercurochlorid und Titration mit Standard-Jodlösung besteht. Die zwei quantitativen Bestimmungen ergaben eine Ausbeute von 65 bzw. 62%.

Auch die Hydrolyse der Maxima-Substanz C mit 10%igem alkoholischen Kaliumhydroxyd in Gegenwart von Zinkstaub ergab das oben beschriebene phenolische Keton II.

Einwirkung von Mineralsäuren auf Maxima-Substanz C: Bildung der phenolischen Verbindung III

a) Mit Essigsäure und Schwefelsäure: Maxima-Substanz C (200 mg) wurde in warmem Eisessig (8 ml) gelöst, mit konz. Schwefelsäure (2 ml) versetzt und die Lösung 15 Min. auf 60° gehalten. Die anfänglich rote Farbe verwandelte sich hierbei in Rotbraun. Die Lösung wurde abgekühlt, in eiskaltes Wasser (200 ml) gegossen, das Präzipitat abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Anschließend wuschen wir mit Äther, um farbige Verunreinigungen zu entfernen, und erhielten durch Kristallisation aus Azeton eine farblose mikrokristalline Substanz vom Schmp. 298—301°. Die Substanz war frei von Schwefel. Sie war unlöslich in wässrigem Natriumbikarbonat, jedoch unter Gelbfärbung löslich in wässrigem Natriumhydroxyd. Während sie keine Farbreaktion mit Eisenchlorid gab, fiel der Test für die Methylen-Dioxygruppe positiv aus.

$C_{17}H_{12}O_4$ (312,26) (phenolische Substanz III) Gef.: C 65,8% H 4,3% OCH_3 9,9%
Ber.: „ 65,4% „ 3,9% $OCH_3(1)$ 9,9%

b) Mit Essigsäure und Salzsäure: 100 mg Maxima-Substanz C wurden in 4 ml Eisessig gelöst, mit 1 ml konz. Salzsäure behandelt und die Lösung 30 Min. auf 60° erwärmt. Bei der Aufarbeitung, wie unter (a), erhielten wir das gleiche Produkt.

Das Azetat der Verbindung III, das in üblicher Weise mit Natriumazetat und Essigsäureanhydrid hergestellt wurde, kristallisierte aus Methanol-Azeton in farblosen Nadeln; Schmp. 176—178°.

$C_{19}H_{14}O_7$ (354,30)	Gef.: C 64,2%	H 4,5%	OCH_3 9,4%
	Ber.: „ 64,4%	„ 4,0%	$OCH_3(1)$ 8,8%

Der Methyläther der Verbindung III, der mit Dimethylsulfat und wasserfreiem Kaliumcarbonat in azetoniger Lösung hergestellt wurde, kristallisierte aus Methanol-Äthylazetat in farblosen Nadeln; Schmp. 210—212°.

$C_{18}H_{14}O_6$ (326,29)	Gef.: C 66,4%	H 4,8%	OCH_3 19,2%
	Ber.: „ 66,3%	„ 4,3%	$OCH_3(2)$ 19,0%

Hydrolyse der phenolischen Substanz III mit 12%igem Natriumhydroxyd:
Darstellung des phenolischen Ketons IV:

Verbindung III (300 mg) wurde in 25 ml einer 12%igen Lösung von Natriumhydroxyd in 50%igem Alkohol gelöst und 15 Min. am Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde in derselben Weise wie beim entsprechenden Versuch mit Maxima-Substanz C aufgearbeitet. Das phenolische Keton (IV) erhielten wir als farblose Plättchen aus Methanol-Benzol vom Schmp. 74—76°. Die Substanz lieferte mit Eisenchlorid eine rötlichbraune Farbe und eine grüne Farbe mit Schwefelsäure-Gallussäure-Gemisch.

$C_{16}H_{14}O_6 \cdot H_2O$ (320,29)	Gef.: C 60,6%	H 5,2%
	Ber.: „ 60,0%	„ 5,0%

Nach zweistündigem Trocknen bei 70° im Hochvakuum:

$C_{16}H_{14}O_6$ (302,27) (phenolisches Keton IV)	Gef.: C 62,9%	H 4,9%
	Ber.: „ 63,6%	„ 4,7%

Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des obigen Ketons IV kristallisierte aus Methanol-Chloroform in hellroten Plättchen, die bei 244—245° schmolzen.

$C_{22}H_{18}O_8N_4$ (482,4)	Gef.: C 55,2%	H 4,3%	N 11,0%
	Ber.: „ 54,8%	„ 3,8%	„ 11,6%

Isolierung, Nachweis und quantitative Bestimmung von Ameisensäure, die bei der obigen Hydrolyse entstand, wurden ebenso durchgeführt wie im Fall der Hydrolyse von Maxima-Substanz C beschrieben. Die Ausbeute an Ameisensäure betrug nach beiden Methoden 52%.

Hydrolyse der Maxima-Substanz C mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung: Bildung der Säuren V und VI

Maxima-Substanz C (250 mg) wurde in Alkohol (15 ml) gelöst und mit 20%igem wässrigem Kaliumhydroxyd (5 ml) behandelt und 30%iges Wasserstoffperoxyd (2 ml) nach und nach hinzugefügt. Die anfänglich rote Farbe schlug langsam in Gelb um. Nachdem die Heftigkeit der Reaktion nachließ, wurde die Lösung mit Wasser (100 ml) verdünnt, mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Der Ätherextrakt wurde in der üblichen Weise in eine saure, phenolische und eine neutrale Fraktion aufgeteilt. Die phenolische und die neutrale Fraktion konnten nicht kristallisiert werden. Der saure Anteil wurde in eine benzollösliche und eine benzolunlösliche Phase durch Behandeln mit diesem Lösungsmittel unterteilt. Der benzolunlösliche Anteil kristallisierte aus Azeton-Benzol in

federartigen Plättchen vom Schmp. 131—133° (25 mg). Er gab eine violette Färbung mit alkoholischer Eisenchloridlösung und war frei von Methoxyl.

$C_{12}H_{14}O_4$ (Säure V) (222,23)	Gef.: C 64,5%	H 6,8%
	Ber.: „ 64,9%	„ 6,4%

Die benzollösliche Fraktion kristallisierte aus Petroläther nach Ausscheidung harzartiger Verunreinigungen in farblosen Prismen vom Schmp. 136—138° C aus, welche nach weiterer Kristallisation aus Benzol-Petroläther bei 143—145° C schmolzen (30 mg). Die Substanz gab keine Farbreaktion mit Eisenchlorid, wurde aber mit Gallussäure und Schwefelsäure blau gefärbt.

$C_9H_8O_6$ (Säure VI) (196,15)	Gef.: C 55,9%	H 4,6%	OCH_3 13,4%
	Ber.: „ 55,1%	„ 4,1%	$OCH_3(1)$ 15,8%

Der etwas geringere Methoxylwert dürfte auf schwer zu entfernende Verunreinigungen zurückzuführen sein. Der Mischschmelzpunkt mit synthetischer 6-Methoxy-Piperonylsäure (Schmp. 147—148°) ergab keine Depression.

Hydrolyse der phenolischen Verbindung III mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung: Herstellung von Säure VI

Substanz III (200 mg) wurde in Alkohol (15 ml) gelöst und mit einer wässrigen Lösung von Kaliumhydroxyd (1 g in 5 ml) behandelt und 30%iges Wasserstoffperoxyd (2 ml) in Anteilen zugegeben. Die einzige kristalline Substanz, die in reiner Form erhalten werden konnte, war die Säure VI (Schmp. und Misch-Schmp.).

Oxydation von Maxima-Substanz C mit Chromsäure und Auffindung von Azeton

Maxima-Substanz C (0,3 g) wurde in Eisessig (10 ml) gelöst und mit einer Lösung von Chromsäure (0,4 g Chromsäureanhydrid in 4 ml Wasser + 4 ml Eisessig) behandelt und die Mischung bei Zimmertemperatur 40 Stdn. stehen gelassen. Die dunkelbraune Lösung wurde mit wässrigem Natriumhydroxyd unter Kühlung alkalisch gemacht und von der alkalischen Lösung langsam 20 ml abdestilliert. Das Destillat wurde vorsichtig zurückdestilliert und 3 ml davon aufgefangen. Dieses zweite Destillat wurde mit 10%igem Natriumhydroxyd (2 Tropfen) und Benzaldehyd (2 Tropfen in 2 ml Alkohol) behandelt. Die blattähnlichen Kristalle, die sich langsam absetzten, wurden nach 3 Tagen filtriert. Nach Umkristallisation aus verdünntem Alkohol erhielten wir blaßgelbe Kristallplättchen vom Schmp. 92—94°. Der Mischschmelzpunkt mit authentischem Dibenzalazeton (Schmelzpunkt 92—94°) ergab keine Depression.

Die Mikroanalysen wurden in unserem eigenen Laboratorium von Herrn E. Venkata Rao durchgeführt, dem wir an dieser Stelle danken möchten.

Wir danken Herrn Prof. Dr. L. Hörhammer herzlich für seine Hilfe bei der Übersetzung des Manuskripts.

Anschrift: Prof. Dr. S. Rangaswami, Andhra University, Waltair/India.