

Pflanzliche Naturstoffe mit einer Nitrogruppe II Die Konstitution der Aristolochiasäure-II

Von

M. Pailer und A. Schleppek

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 26. April 1957)

Es wird über die Konstitutionsermittlung der Aristolochiasäure-II, eines weiteren Inhaltsstoffes der *Aristolochia clematitis* L. berichtet.

Vor einiger Zeit konnten wir über die Konstitutionsermittlung der Aristolochiasäure, einer gelben Verbindung von der Zusammensetzung $C_{17}H_{11}O_7N$, berichten^{1, 2}, welche wir aus den Wurzeln der *Aristolochia clematitis* L. isolierten. Auf Grund unserer Abbauergebnisse ergab sich für den Naturstoff die Formel (I), einer 3,4-Methyldioxy-8-methoxy-10-nitro-phenanthrencarbonsäure-(1).

Neben der Aristolochiasäure konnten wir bei der Aufarbeitung des in Natriumbicarbonat löslichen Anteiles zumindest noch eine weitere ähnlich gebaute Substanz feststellen². Durch fraktionierte Kristallisation der Ammonsalze der in Dimethylformamid leichter löslichen Anteile, konnte die von uns sogenannte „Noraristolochiasäure“ erhalten werden, die wir in Hinkunft als Aristolochiasäure-II bezeichnen wollen. Sie hatte die Zusammensetzung $C_{16}H_9O_6N$ und unterschied sich von der Aristolochiasäure-I vor allem durch das Fehlen der Methoxygruppe. Sie ähnelte in ihrem chemischen Verhalten der Aristolochiasäure-I sehr, enthielt eine Methyldioxygruppe, eine Nitrogruppe, ließ sich katalytisch unter Aufnahme von 3 Molen Wasserstoff hydrieren und gab bei der Decarboxylierung eine indifferente Verbindung. Aus ver-

¹ M. Pailer, L. Belohlav und E. Simonitsch, Mh. Chem. 86, 676 (1955).

² M. Pailer, L. Belohlav und E. Simonitsch, Mh. Chem. 87, 249 (1956).

schiedenen Gründen mußte jedoch angenommen werden, daß der so erhaltene Naturstoff noch nicht in vollkommen reiner Form vorlag.

Nunmehr wurde die Isolierung und Reindarstellung der Aristolochiasäure-II eingehend studiert und die Konstitutionsermittlung durchgeführt.

Wir gingen wieder vom Alkoholextrakt der entfetteten Wurzeln von *Aristolochia clematidis* L. aus, isolierten die bicarbonatlöslichen Anteile — wie im experimentellen Teil näher ausgeführt ist — und erhielten so ein Rohsäuregemisch, das noch alle sauren Komponenten der Droge enthielt.

Da die Aufarbeitung dieses Säuregemisches durch fraktionierte Kristallisation der Ammonsalze, die wir anfänglich studiert hatten, zu keiner neuen Verbindung führte, wurde die Trennung über die verschiedenen schwer löslichen Kaliumsalze versucht. Auf diesem Wege ließ sich vorerst eine Anreicherung in zwei Verbindungsgruppen erzielen. Jene Gruppe, deren Kaliumsalze löslicher waren, wurden zunächst nicht untersucht, darüber soll gelegentlich berichtet werden. Die schwer löslichen Kaliumsalze lieferten, in Wasser gelöst, beim Ansäuern mit verdünnter HCl ein gelbes kristallines Pulver, das, wie wir später zeigen werden, in der Hauptsache aus den Aristolochiasäuren I und II bestand. Die völlige Auftrennung dieses Säuregemisches war uns mit den üblichen Methoden, wie Umlösen (aus Eisessig, Dimethylformamid-Wasser), Craigverteilung und Chromatographie vorerst nicht möglich. Beim Umlösen aus Dimethylformamid-Wasser oder Aceton ließ sich z. B. die schwerer lösliche Aristolochiasäure-I teilweise abtrennen, die ebenfalls in größerer Menge vorhandene Aristolochiasäure-II ließ sich auf diesem Wege nicht rein erhalten.

Die Trennung gelang dann durch Säulenchromatographie der Ester an Aluminiumoxyd, nach Methylierung der Säuren mit Diazomethan. Das entwickelte Chromatogramm zeigte scharf abgegrenzt fünf gelbe Zonen, davon zwei als starke gelbe Banden, denen drei schmale gelbe Ringe folgten. Die erste gelbe Bande ergab den Methylester der Aristolochiasäure-II (IIb), eine kristalline gelbe Substanz vom Schmp. 274°, die zweite dunkelgelbe Bande den bereits beschriebenen Aristolochiasäure-I-methylester vom Schmp. 287 bis 288°³. Die drei Ringe, welche der Bande des Aristolochiasäure-I-methylesters folgten, sind von dieser nur sehr schwer abzutrennen und ähneln ihr im chromatographischen Verhalten. Es ist daher anzunehmen, daß die diesen Estern zugehörigen Säuren große Ähnlichkeit mit der Aristolochiasäure-I aufweisen.

³ Durch die chromatographische Reinigung des Aristolochiasäure-I-methylesters erhielten wir für diesen den Schmp. 287 bis 288°, während wir seinerzeit 281° gefunden hatten.

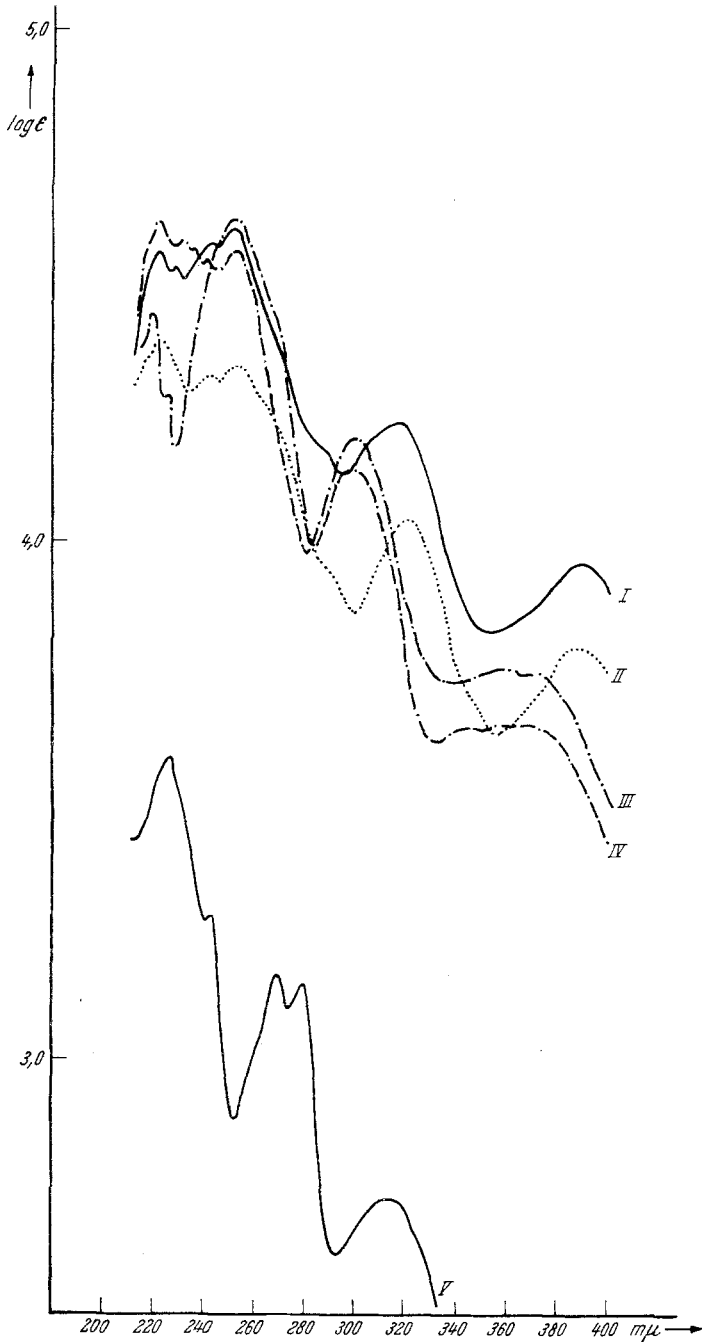


Abb. 1. I: Aristolochiasäure-I, II: Aristolochiasäure-I-methylester, III: Aristolochiasäure-II-methylester, IV: Aristolochiasäure-II, V: 3,4-Benzo-8-hydroxyeumarin

Der Aristolochiasäure-II-methylester vom Schmp. 274° ergab die erwartete Bruttoformel von $C_{17}H_{11}O_6N$, lieferte bei der Methoxylbestimmung nach *Zeisel* Werte für ein OCH_3 und nach *T. Pavolini* und *A. Malatesta*⁴ einen positiven Test auf die Methylendioxygruppe. Das UV-Absorptionsspektrum (Abb. 1) zeigte gegenüber dem Spektrum des Aristolochiasäure-I-methylesters eine hypsochrome Verschiebung, bedingt durch das Fehlen der Methoxylgruppe und die für Phenanthren-derivate typische Bande bei 2510 Å. Mit diesen Befunden war die Konstitution der Aristolochiasäure-II als die einer Methylendioxy-nitro-phenanthrencarbonsäure in Übereinstimmung.

Der Aristolochiasäure-I-methylester ist sehr schwer verseifbar⁵ und es bereitete auch die Verseifung des Aristolochiasäure-II-methylesters Schwierigkeiten. Beim Kochen mit alkoholischer KOH wurde die Substanz tiefgreifend verändert. Die so erhaltenen Verbindungen zeigten jedenfalls nicht mehr die für das Phenanthrengerüst charakteristische UV-Absorption. Es gelang schließlich unter Einhaltung bestimmter Bedingungen, durch Verseifung von 104 mg Aristolochiasäure-II-methylester, 6 mg der Aristolochiasäure-II (IIa) vom Schmp. 269 bis 271° (Zers.) rein zu erhalten. Daß die so erhaltene Aristolochiasäure-II sowohl dem durch Chromatographie rein erhaltenen Aristolochiasäure-II-methylester bzw. der ursprünglich im Extrakt vorhandenen Säure entsprach, konnte durch folgende Untersuchungen bestätigt werden.

Beim Vergleich der UV-Spektren der Aristolochiasäure-II und ihres Methylesters traten dieselben relativen Verschiebungen auf, wie bei den UV-Spektren der Aristolochiasäure-I und deren Methylester (Abb. 1). Ferner konnte die durch Verseifung erhaltene Aristolochiasäure-II wieder mit Diazomethan in den Methylester vom Schmp. 274° übergeführt werden. Die Aristolochiasäure-II ließ sich auch durch Kochen mit Naturkupfer C in Chinolin glatt decarboxylieren; es wurde so ein gelber Neutralstoff vom Schmp. 174 bis 175° erhalten.

Da auf oben beschriebenem Weg (Veresterung, Chromatographie und Verseifung) die Darstellung einer für die Konstitutionsermittlung ausreichenden Menge Aristolochiasäure-II zu verlustreich war, wurden der durch Chromatographie erhaltene Aristolochiasäure-II-methylester und die decarboxylierte Aristolochiasäure-II, die wir direkt aus dem Rohsäuregemisch herstellten, für die weiteren Untersuchungen verwendet.

Die katalytische Hydrierung des Aristolochiasäure-II-methylesters (IIb) wurde mit Pd-Tierkohle in Eisessig durchgeführt. Durch Aufnahme von 3 Molen Wasserstoff und unter Austritt von 2 Molen

⁴ Ann. chim. appl. **37**, 495 (1947).

⁵ *H. Rosenmund* und *T. Reichstein*, Pharmaceut. Acta Helv. **18**, 243 (1943).

Wasser und 1 Mol Methanol entstand ein Neutralstoff der Formel $C_{16}H_9O_3N$ (IV) vom Schmp. 305 bis 306°.

Die Hydrierung verläuft hier analog der des Aristolochiasäure-I-methylesters. Der als Zwischenprodukt anzunehmende Aminoester (V)

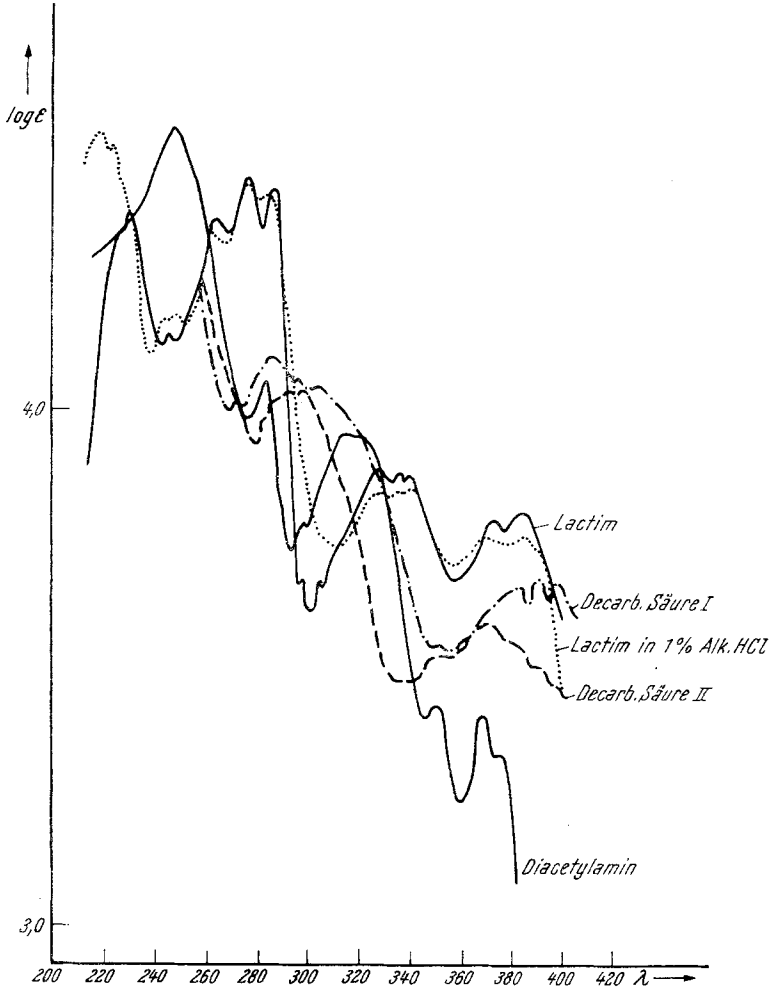


Abb. 2

ist jedoch nicht beständig, er geht bereits in der Kälte unter Methanolabspaltung in eine Verbindung von der Formel eines Lactams über. Dies konnte ebenfalls spektroskopisch bewiesen werden, denn das UV-Absorptionsspektrum einer bei 20° in Alkohol aushydrirten Lösung des Aristolochiasäure-II-methylesters zeigte bereits die charak-

teristischen Bandengruppen und Maxima des UV-Spektrums des Neutralstoffes (Abb. 2). Dem Spektrum ist ferner zu entnehmen, daß dieses „Lactam“ (IVa) in der Lactimform (IVb) vorliegen muß. Es verschwindet das für Phenanthrenderivate charakteristische Maximum bei 2510 Å, alle Banden sind stark bathochrom verschoben und die Absorption der längerwelligen Banden ist stark erhöht. Dies steht mit der Formulierung des Neutralstoffes als tetracyclisches durchkonjugiertes Ringsystem (IVb) in Übereinstimmung.

Die Cyclisierungstendenz des Aminoesters (V) ist so groß, daß auch in alkohol. 1%iger Salzsäure bereits in der Kälte Ringschluß zum Lactim (IVb) eintritt. Demnach war auch zu erwarten, daß die Nitrogruppe und die Carboxylgruppe der Aristolochiasäure-II — so wie bei der Aristolochiasäure-I — an den sterisch begünstigten Stellungen 8,9 oder 1,10 haften.

Oxydation des Aristolochiasäure-II-methylesters mit Perhydrol in alkalischer Tetrahydrofuranlösung ergab eine Methylendioxy-tricarbonsäure, die als Trimethylester (VIIb) isoliert und charakterisiert wurde. Dieser Trimethylester hatte die erwartete Formel $C_{16}H_{16}O_8$, enthielt noch die Methylendioxygruppe und schmolz bei 145 bis 146°. Die daraus durch alkalische Verseifung gewonnene Tricarbonsäure (VIIa) schmolz unscharf und unter Gasentwicklung bei 176 bis 184°. Der Grund dieses großen Schmelzintervalls scheint Anhydridbildung zu sein, da auch andere im Zuge dieser Arbeit hergestellte substituierte Diphensäuren ähnlich unscharfe Schmelzpunkte ergaben.

Durch die Bildung der Biphenylcarbonsäure war die Stellung der Nitrogruppe auf 9 oder 10 und damit, unter Berücksichtigung der Bildung des Lactims, die der Carboxylgruppe auf 8 oder 1 festgelegt.

Der Aristolochiasäure-II-methylester wurde weiters nach *Späth* und *Quietensky*⁶ mit Resorcin und Salzsäure im Bombenrohr erhitzt und so die Methylendioxygruppe gespalten. Das Spaltprodukt (VI) wurde ohne Isolierung und Reindarstellung mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung oxydiert und dabei als einziges Abbauprodukt Phthalsäureanhydrid (VIII) erhalten. Es war somit bewiesen, daß die Methylendioxygruppe und die Carboxylgruppe in der Aristolochiasäure-II am selben Ring haften, da andernfalls Hemimellithsäure entstehen müßte. Damit war aber die Konstitution der Aristolochiasäure-II als die einer 3,x-Methylendioxy-10-nitrophenanthrencarbonsäure-(1) festgelegt.

Die genaue Stellung der Methylendioxygruppe wurde durch Abbau der decarboxylierten Aristolochiasäure-II (III) ermittelt. Da diese aber über den Aristolochiasäure-II-methylester zu schwer zugänglich war,

⁶ *E. Späth* und *H. Quietensky*, Ber. dtsch. chem. Ges. **60**, 1883 (1927).

wurde, wie bereits anfangs erwähnt, das Gemisch der Säuren mit Kupferpulver in Chinolin decarboxyliert und die so gewonnenen Substanzen an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Auftrennung in die einzelnen Komponenten erfolgte sehr leicht und wesentlich besser als die Trennung der Methylester. Dies war zu erwarten, da durch den Fortfall der stark polaren Carbomethoxygruppe der relative Polaritätsunterschied der einzelnen decarboxylierten Verbindungen stark erhöht wurde. So wie bei der Chromatographie der Methylester wurden auch hier wieder 5 Zonen erhalten, davon zwei starke Bänder und drei schwache Ringe. Das erste gelbe Band ergab die decarboxylierte Aristolochiasäure-II (III) vom Schmp. 174 bis 175°.

Das zweite, orange gefärbte Band ergab die schon beschriebene decarboxylierte Aristolochiasäure-I vom Schmp. 212°, während die drei folgenden rotorange gefärbten Ringe, so wie bei der Estertrennung, nicht weiter untersucht wurden.

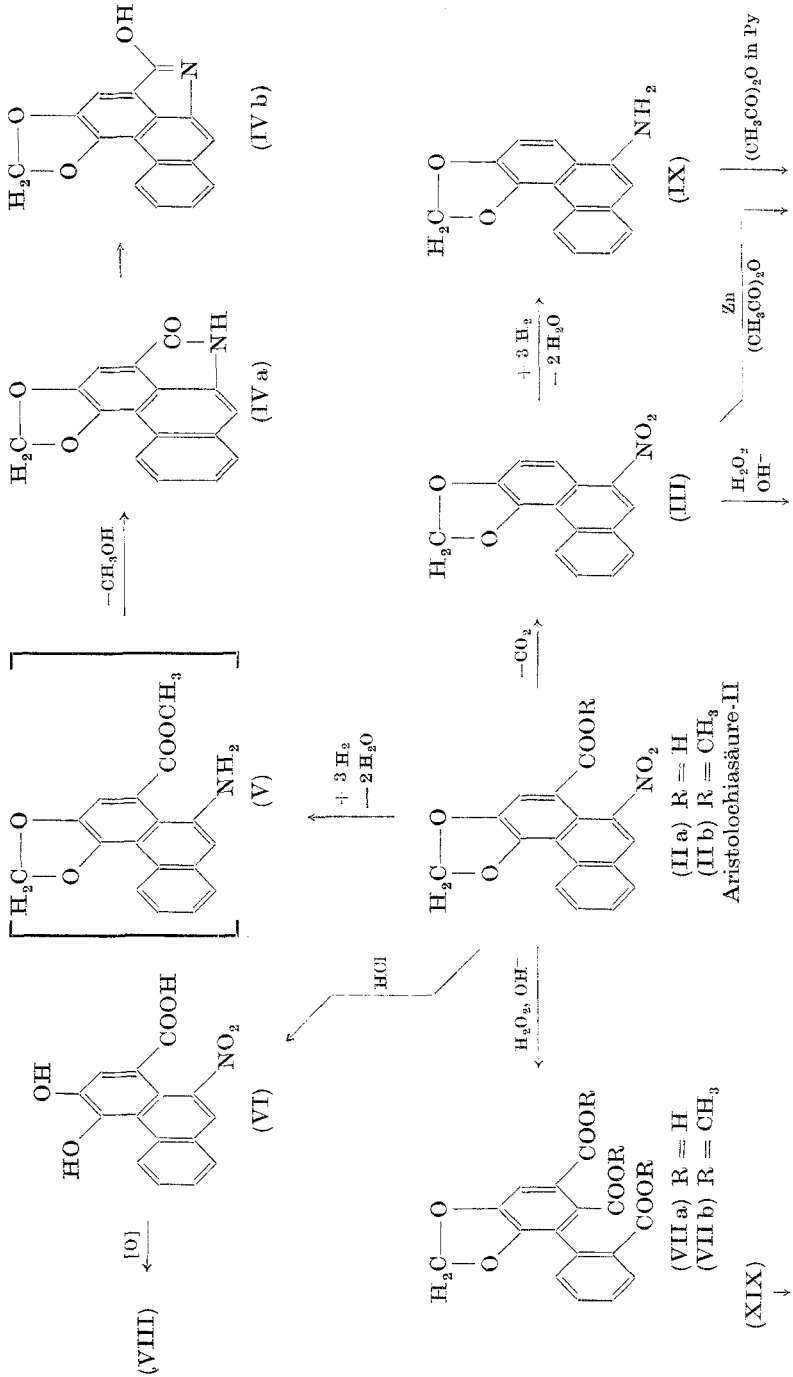
Die decarboxylierte Aristolochiasäure-II (III) ließ sich in Alkohol mit Pd-Tierkohle unter Aufnahme von 3 Molen Wasserstoff zum Amin (IX) reduzieren, doch bereitete die Isolierung desselben große Schwierigkeiten. Die aushydrierte Lösung, die eine intensiv blauviolette Fluoreszenz aufwies, wurde unter Stickstoff eingeengt und lieferte einen gelben Rückstand, der sich an der Luft sofort braun färbte und bei der Destillation im Hochvak. nur wenig einer bei 150° übergehenden Substanz vom Schmp. 154° ergab. Wurde diese mit Acetanhydrid acetyliert, so entstand eine Verbindung vom Schmp. 275 bis 276°, deren Analysenwerte auf das Diacetylderivat $C_{19}H_{15}O_4N$ stimmten. Dieselbe Substanz (X) wurde in sehr guter Ausbeute erhalten, als wir die decarboxylierte Aristolochiasäure-II in Eisessig mit Pd-Tierkohle aushydrierten, dann noch unter Wasserstoff mit Acetanhydrid versetzten und erwärmten. Sie erwies sich nach Schmp. und Mischschmp. identisch mit einem synthetisch auf eindeutigen Wege hergestellten 10-Diacetylamino-3,4-methylen-dioxy-phenanthren⁷.

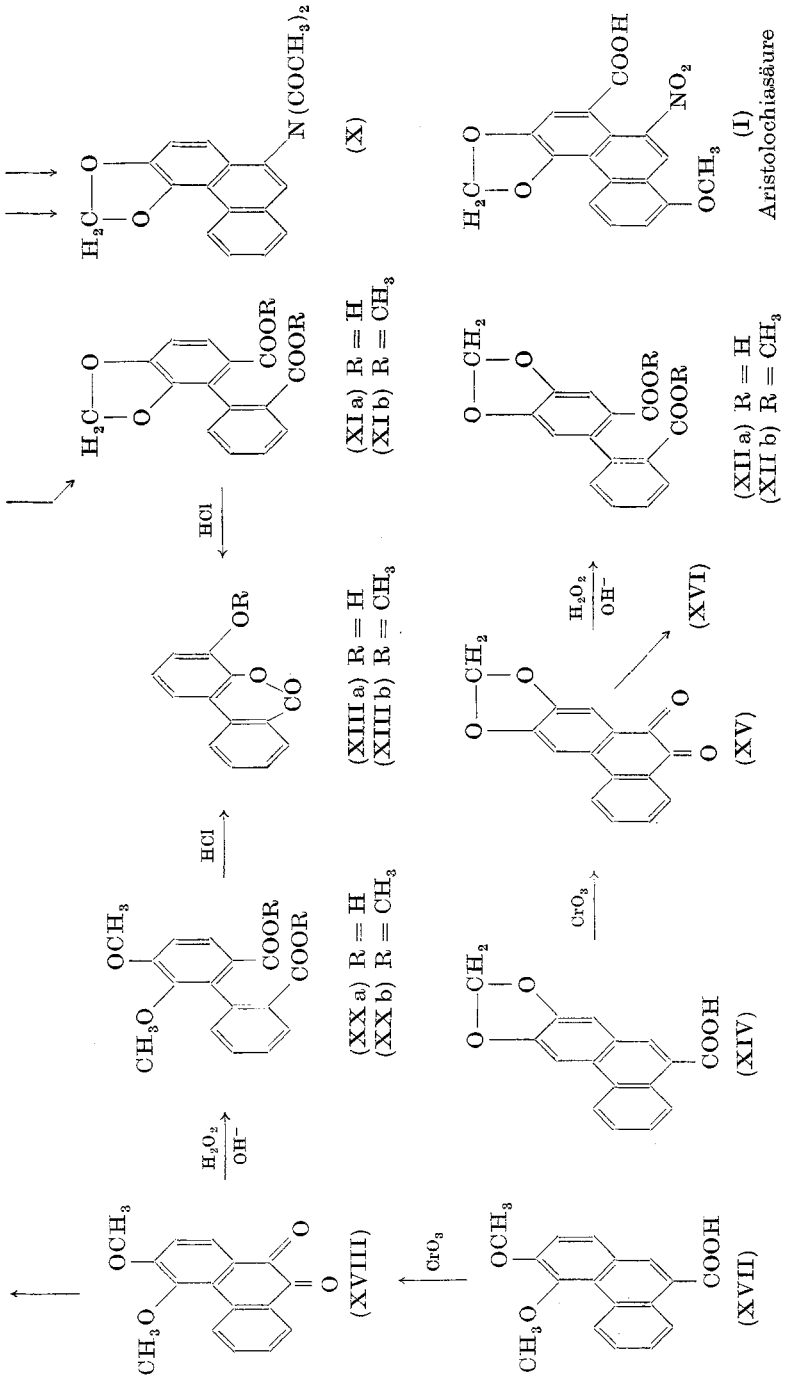
Der oxydative Abbau der decarboxylierten Aristolochiasäure-II wurde mit Perhydrol in alkalischer Tetrahydrofuranlösung vorgenommen. So konnte eine Methylenedioxy-biphenyl-dicarbonsäure erhalten werden, welche die Zusammensetzung $C_{15}H_{10}O_6$ hatte und mit einer von uns synthetisch gewonnenen 4,5-Methylenedioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XIIa) nicht identisch war. Auch die Ester waren nicht identisch.

Unsere Abbausäure konnte demnach nur mehr die 5,6-Methylenedioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') sein, deren Konstitution wir auf Grund nachfolgender Untersuchung bestätigen konnten. Wurde sie nämlich nach *Späth* und *Quietensky*⁶ entalkyliert, so konnte eine Ver-

⁷ *M. Pailer* und *A. Schleppechnik*, noch nicht veröffentlicht.

Formelübersicht





bindung isoliert werden, die bei 176 bis 178° schmolz und nach Schmp., Mischschmp. und UV-Spektren (Abb. 1) mit einem synthetisch gewonnenen 3,4-Benzo-8-hydroxycumarin (XIIIa) identisch war. Damit war die Konstitution der Aristolochiasäure-II als 3,4-Methylenedioxy-10-nitro-phenanthren-carbonsäure-(1) (IIa) bewiesen.

Die Synthese der 4,5-Methylenedioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') ging von der von *E. Mosettig* und *A. Burger*⁸ beschriebenen 2,3-Methylenedioxy-phenanthren-carbonsäure-(9) (XIV) aus, die mit Natriumbichromat in Eisessig zum 2,3-Methylenedioxy-phenanthren-chinon-9,10 (XV) oxydiert wurde. Dieses Chinon konnte durch sein Chinoxalin (XVI) mit *o*-Phenylendiamin charakterisiert werden und ergab bei weiterer Oxydation in alkalischer Lösung mit Wasserstoffsperoxyd die 4,5-Methylenedioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XIIa), deren Dimethylester (XIIb) auf üblichem Wege mit Diazomethan bereitet wurde.

Das 3,4-Benzo-8-hydroxy-cumarin (XIIIa) wurde analog synthetisiert. Wir gingen von der 3,4-Dimethoxy-phenanthren-carbonsäure-(9)⁹ (XVII) aus, oxydierten diese mit Natriumbichromat in Eisessig zum 3,4-Dimethoxy-phenanthren-chinon-(9,10) (XVIII), dem Morpholchinon, das wieder durch sein Chinoxalin (XIX) mit *o*-Phenylendiamin charakterisiert wurde und bauten dieses Chinon mit alkalischem Wasserstoffsperoxyd zur 5,6-Dimethoxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XXa) ab. Diese Säure lieferte dann bei der Ätherspaltung mit konz. Salzsäure im Bombenrohr das gesuchte 3,4-Benzo-8-hydroxy-cumarin (XIIIa), das noch durch seinen Methyläther (XIIIb) charakterisiert wurde.

Experimenteller Teil

Alle Schmelzpunkte wurden am Heizmikroskop nach *Kofler* bestimmt, bis 250° sind sie auf $\pm 1^\circ$ korrigiert.

Alle Sublimationen wurden im Kugelrohr durchgeführt, es wird daher die Temperatur des Luftbades angegeben. Die UV-Absorptionsspektren wurden mit einem UNICAM-Spektralphotometer, Modell SP 500 aufgenommen.

Anreicherung der Aristolochiasäure-II

30 g braune Rohsäure, die nach der Vorschrift von *W. Reifschneider*¹⁰ gewonnen worden waren, wurden 96 Stdn. lang im *Soxhlet*-Extraktor mit Äther extrahiert und dieser am Wasserbad verdampft. Nach Trocknen im Vak. bei 100° wurden so 8,55 g einer braungelben, zähen, noch intensiv nach der Droge riechenden Masse erhalten, die in Chloroform aufgenommen wurde. Aus dieser Lösung wurden die sauren Bestandteile mit NaHCO_3 -Lösung extrahiert, die Extrakte filtriert und das klare rote Filtrat in der Hitze stark mit Salzsäure angesäuert. Die Säuren schieden sich in Form brauner Flocken ab, die abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vak. getrocknet wurden. Ausbeute an braunem Produkt 6,2 g.

⁸ *E. M. Mosettig* und *A. Burger*, J. Amer. Chem. Soc. **52**, 2988 (1930).

⁹ *R. Pschorr* und *C. Sumuleanu*, Ber. dtsch. chem. Ges. **33**, 1810 (1900).

¹⁰ *W. Reifschneider*, Dissertation Universität Wien (1953).

Das Filtrat der braunen Säuren war intensiv gelb gefärbt, es wurde im Vak. zur Trockne verdampft und die Salzmasse mit heißem Aceton ausgelaugt; der braune Acetonextrakt hinterließ nach Abdampfen des Lösungsmittels 1,1 g einer schmierigen braunen Masse, die nicht weiter untersucht wurde.

Die Chloroformlösung war nach Entzug der sauren Substanzen noch immer braungelb gefärbt und zeigte intensiv grüne Fluoreszenz. Nach Abdampfen des Chloroforms wurden nur mehr Schmierer erhalten, die ebenfalls verworfen wurden. Die 6,2 g der braunen Rohsäuren wurden in 100 ml Wasser unter Zusatz von 7 ml 10%iger NaOH gelöst und von einer geringen Trübung abfiltriert. Dann wurde das klare rote Filtrat mit 100 ml kalt gesättigter KCl-Lösung versetzt und über Nacht stehen gelassen. Das Gemisch der Kaliumsalze schied sich als rotorange gefärbtes kristallines Pulver ab, das abgesaugt, mit wenig Eiswasser gewaschen und im Vak. bei 110° getrocknet wurde. Ausbeute 4,4 g.

Die roten Mutterlaugen wurden mit Salzsäure angesäuert, die gallertartig ausgefallenen organischen Säuren abzentrifugiert, wieder in der gerade zur Lösung benötigten Menge Wasser und 10%iger Natronlauge gelöst und diese Lösung mit dem gleichen Volumen kalt gesättigter KCl-Lösung versetzt. Es konnten noch weitere 0,8 g des Gemisches der Kaliumsalze erhalten werden.

Aus der Mutterlauge wurden die organischen Säuren wieder mit Salzsäure ausgefällt, abzentrifugiert und mehrfach mit Wasser gewaschen. Sie wurden dann im Vak. getrocknet und so 4,4 g einer amorphen, braungelben Masse, die noch immer Mineralsalze enthielt, gewonnen. Diese Fraktion (B) wurde beiseite gestellt und soll gelegentlich weiter untersucht werden.

Aus den Kaliumsalzen (Fraktion A) konnte durch Lösen in heißem Wasser, Abfiltrieren einer geringen Trübung und Ansäuern des Filtrats eine in gelben schweren Flocken ausfallende „gelbe Rohsäure“ erhalten werden. Sie wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vak. getrocknet. Ausbeute 3,757 g.

Methylierung der „gelben Rohsäuren“

1,078 g Säuregemisch wurden in Aceton-Äther gelöst und mit dem 10fachen Überschuß äther. Diazomethanlösung versetzt. Nach 28stünd. Stehen bei Zimmertemp. wurden am Wasserbad Lösungsmittel und überschüssiges Diazomethan abdestilliert, der gelb-bräunliche Rückstand in Chloroform gelöst, von einer geringen flockigen Trübung abfiltriert und das Filtrat mit 1%iger Kalilauge ausgeschüttelt, bis diese farblos blieb. Dann wurde die Chloroformlösung mit Wasser gewaschen, über Calciumchlorid getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Es wurden so 1,05 g einer braungelben Substanz erhalten, die bei 235 bis 245° nach vorhergehendem Sintern undeutlich durchschmolz.

Chromatographische Trennung des Gemisches der Methylester der „gelben Rohsäuren“

In ein Chromatographierohr von 400 mm × 45 mm wurde Aluminiumoxyd nach *Brockmann*, Aktivität Standard 1 bis 2, in kleinen Portionen eingestampft. 1,24 g des Estergemisches wurden in wenig Chloroform in der Hitze gelöst, mit Aluminiumoxyd nach *Brockmann*, Standard 3, versetzt und Chloroform im Vak. abgedunstet. Der Rückstand wurde fein gepulvert und auf die Adsorptionssäule aufgetragen. Die so beschickte Säule wurde mit Petroläther durchgewaschen und dann das Chromatogramm

mit Benzol entwickelt und eluiert. Die Trennung der Methylester ergab zuerst 3 Zonen: eine hellgelbe breite Bande, der eine orange Bande folgte, über der sich ein dunkelorange gefärbter schmaler Ring ausbildete. Bei weiterem Entwickeln trennten sich die Zonen auf und der dunkle Ring wurde in 3 schmale Ringe aufgespalten. Das Eluat wurde in 500-ml-Fractionen aufgefangen und ergab nach der üblichen Aufarbeitung folgende Fractionen:

Vorlauf: 96 mg braunes Öl.

Aristolochiasäure-II-methylester: 422 mg gelbe Kristalle, Schmp. 268 bis 275°.

Zwischenfraction: 189 mg gelbe Kristalle, Schmp. 233 bis 266°.

Aristolochiasäure-I-methylester: 216 mg gelbe Kristalle, Schmp. 278 bis 285°.

Nachlauf: 141 mg gelbe Kristalle.

Ausbeute: 1064 mg.

176 mg Substanz gingen durch Zersetzung verloren und bildeten einen braunen Ring am Säulenkopf.

Der rohe Aristolochiasäure-I-methylester wurde aus Methanol-Chloroform umgelöst und schmolz nach Sublimation im Hochvak. (180°/0,001 Torr) bei 286 bis 288°. Der Mischschmp. mit einem Aristolochiasäure-I-methylester, der durch Methylierung einer durch fraktionierte Kristallisation gewonnenen Aristolochiasäure erhalten worden war und der bei 282° schmolz, lag bei 284 bis 286°. Die UV-Spektren der beiden Substanzen waren identisch.

Der Aristolochiasäure-II-methylester (IIa) wurde ebenfalls aus Chloroform-Methanol umgelöst und schmolz nach Sublimation bei 180°/0,001 Torr scharf bei 274°.

Das UV-Spektrum zeigte im Vergleich mit dem Aristolochiasäure-I-methylester eine ausgeprägte hypochrome Verschiebung (Abb. 1).

Aristolochiasäure-I-methylester: 251 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,35$), 320 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,50$), 390 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,81$).

Aristolochiasäure-II-methylester: 252 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,64$), 298 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,22$), 358 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,76$).

$C_{17}H_{11}O_6N$. Ber. C 62,76, H 3,33, N 4,40, OCH_3 9,54.

Gef. C 62,73, H 3,36, N 4,31, OCH_3 9,41.

Verseifung des Aristolochiasäure-II-methylesters

104 mg Aristolochiasäure-II-methylester (IIb) wurden unter Stickstoff mit 15 ml einer 10%igen alkohol. Kalilauge 5 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt, bis eine klare gelbe Lösung entstanden war. Dann wurde erkalten gelassen, mit 50 ml Wasser versetzt, der Alkohol im Vak. abdestilliert und von einer geringen Trübung abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vak. auf 10 ml eingengt und dann mit Salzsäure angesäuert. Es schied sich sofort ein gelber, schwerer, flockiger Niederschlag ab, der abgesaugt, mit destilliertem Wasser gewaschen und im Vak. getrocknet wurde. Das so erhaltene gelbe Pulver schmolz unscharf nach vorhergehendem Sintern bei 102 bis 106°. Es wurde in Chloroform aufgenommen, wobei bis auf einen geringen Rückstand alles in Lösung ging. Dieser wurde abgesaugt und schmolz nach Trocknen im Vak. bei 250 bis 260°, nach Sintern ab 210°. Zweimaliges Umlösen aus Eisessig ergab eine gelbe kristalline Substanz, die bei 269 bis 271° unter Zers. schmolz. Ausbeute 6 mg (IIb).

Das UV-Absorptionsspektrum (Abb. 1) zeigte Maxima bei $251\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,51$), $297\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,15$) und $353\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,65$).

Zum Beweis, daß das Verseifungsprodukt tatsächlich die Aristolochiasäure-II ist, wurde 1 mg der Substanz mit Diazomethan in der bereits beschriebenen Weise methyliert und bei $180^\circ/0,001$ Torr sublimiert. Der so gewonnene Aristolochiasäure-II-methylester hatte einen Schmp. von 273 bis 274° ; Mischschmp. mit dem ursprünglichen, durch Chromatographie gewonnenen Ester vom Schmp. 274° zeigte keine Schmp.-Depression.

Die Säure ließ sich weiters analog der unten beschriebenen Decarboxylierung des gelben Rohsäuregemisches leicht decarboxylieren. Die dabei erhaltene decarboxylierte Aristolochiasäure-II (III) zeigte den Schmp. 174° .

Katalytische Hydrierung des Aristolochiasäure-II-methylesters

Die Mikrohydrierung erfolgte in der Apparatur nach *Bretschneider* und *Burger*¹¹. Als Lösungsmittel wurde Eisessig und als Katalysator 30%ige Pd-Tierkohle verwendet.

Verbrauch: Für $1,876$ mg Substanz ($13,4^\circ$, $748,5$ Torr) $0,429$ ml,
ber. für 3 H_2 ($M = 325,67$) $0,425$ ml.

Die aushydrierte Lösung zeigte starke blauviolette Fluoreszenz, sie wurde vom Katalysator abfiltriert. Das Lösungsmittel wurde im Vak. abdestilliert und der Rückstand im Hochvak. sublimiert; er ging bei 280° ohne sichtliche Zersetzung in gelben Nadeln über. Die Substanz (IV) schmolz bei 304 bis 306° .

In einem zweiten Versuch wurden wie vorstehend $16,5$ mg Aristolochiasäure-II-methylester aushydriert, vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat im Vak. zur Trockne verdampft, der Rückstand in möglichst wenig Eisessig aufgenommen, mit Tierkohle aufgeköcht, filtriert und das Filtrat mit Wasser bis zur bleibenden Trübung versetzt. Beim Erkalten schied sich eine Substanz in weißen Flocken ab, die abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vak. getrocknet wurde. So wurde eine hellgelbe amorphe Masse erhalten, die ab 200° zu langen gelben Nadeln umsublimierte und bei 298 bis 299° schmolz. Zur Analyse wurde im Hochvak. bei $280^\circ/0,001$ Torr sublimiert; das Sublimat schmolz bei 304 bis 306° .

$\text{C}_{16}\text{H}_9\text{O}_3\text{N}$. Ber. C $73,00$, H $3,45$, N $5,32$. Gef. C $73,38$, H $3,83$, N $5,22$.

Das Lactim zeigte folgendes UV-Absorptionsspektrum (Abb. 2) mit Maxima bei $265\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,36$), $276\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,45$), $287\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,42$), $327\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,88$), $336\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,87$), $340\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,86$), $374\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,78$), $391\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,79$).

Wurde der Aristolochiasäure-II-methylester in Alkohol mit Pd-Tierkohle aushydriert und die filtrierte Lösung spektroskopiert, so konnte wieder das Spektrum des Lactams mit den charakteristischen Maxima bei $265\text{ m}\mu$, $278\text{ m}\mu$, $286\text{ m}\mu$, $327\text{ m}\mu$, $340\text{ m}\mu$ erhalten werden. Lediglich die langwelligste Bande zeigte eine geringe Verschiebung nach $370\text{ m}\mu$ und $387\text{ m}\mu$ (Abb. 2).

Ätherspaltung und oxydativer Abbau des Aristolochiasäure-II-methylesters

40 mg Aristolochiasäure-II-methylester (IIa) wurden mit 50 mg Resorcin und 3 ml konz. Salzsäure im Bombenrohr 3 Stdn. lang auf 150° erhitzt, wobei sich aus einer rotorange gefärbten Lösung eine schwarze krümelige Masse abschied. Diese wurde abfiltriert, in etwas Lauge und 100 ml Wasser gelöst und in der Siedehitze so lange 5%ige KMnO_4 -Lösung zugetropft,

¹¹ *H. Bretschneider* und *G. Burger*, Chem. Fabrik **11/12**, 124 (1937).

bis deren Farbe auch nach weiterem halbstündigem Kochen bestehen blieb. Dann wurde die Lösung mit einem Tropfen Ameisensäure entfärbt, vom Braunstein abfiltriert, dieser mit heißem Wasser gewaschen, Filtrat und Waschwasser im Vak. zur Trockne gedampft. Der weiße kristalline Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen, durch kurzes Kochen mit Tierkohle entfärbt und die farblose Lösung angesäuert. Sie blieb dabei klar und wurde daher 24 Stdn. mit Äther extrahiert. Der über Natriumsulfat getrocknete Ätherextrakt ergab nach Abdampfen des Lösungsmittels 24 mg eines weißen kristallinen Rückstandes, der durch ein gelbes Öl verunreinigt war. Ein Teil des Öles konnte durch Waschen mit wenig Äther entfernt werden. Dann wurde in Chloroform aufgenommen, mit Tierkohle gekocht, filtriert und das Filtrat mit Petroläther (Sdp. 35 bis 50°) bis zur eben bleibenden Trübung versetzt und erkalten gelassen. Es schieden sich lange weiße Nadeln ab, die abgesaugt, mit Petroläther gewaschen und im Vak. getrocknet wurden. Nach mehrmaligem Umsublimieren bei 130°/14 Torr wurden so 5 mg farbloser, stark glitzernder Nadeln erhalten, welche bei 130 bis 132° schmolzen und mit frisch sublimiertem Phthalsäureanhydrid (VIII) keine Schmp.-Depression ergaben.

$C_8H_4O_3$. Ber. C 64,80, H 2,70. Gef. C 64,80, H 2,80.

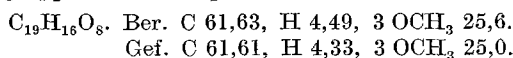
Oxydativer Abbau des Aristolochiasäure-II-methylesters

250 mg Aristolochiasäure-II-methylester wurden in 100 ml Tetrahydrofuran gelöst, zum Sieden erhitzt und unter starkem Rühren mit 5 ml 2 n Sodalösung versetzt. Dann wurden innerhalb 1 Std. 300 ml 35%iges H_2O_2 in Portionen zu je 25 ml zugesetzt und jeweils so viel Sodalösung, daß das Gemisch deutlich alkalisch blieb. Es färbte sich nach kurzer Zeit intensiv kirschrot, verblaßte dann langsam, war nach 1 Std. nur mehr strohgelb und nach weiteren 30 Min. farblos. Die Lösung wurde dann im Vak. bis zur beginnenden Kristallisation eingeeengt, die Trübung mit etwas Wasser gelöst und mehrfach mit Äther ausgeschüttelt. Die so von Neutralstoffen befreite Lösung färbte sich gelb und trübte sich beim Ansäuern mit Salzsäure 1 : 1, sie wurde mit Äther erschöpfend ausgeschüttelt, die äther. Lösung über Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert. Es wurde so ein gelbes, stechend riechendes Öl erhalten, das auch nach längerem Aufbewahren im Vak. über KOH nicht durchkristallisierte. Das Produkt wurde daher in der üblichen Weise mit Diazomethan methyliert und das so erhaltene ölige Estergemisch durch Chromatographie weiter gereinigt. Es wurde in CCl_4 gelöst und auf eine Säule 350 × 30 mm aufgetragen. Adsorptionsmittel war Aluminiumoxyd nach Brockmann, Aktivität Standard 2. Entwickelt wurde zuerst mit Benzol- $CHCl_3$ 1 : 1, wobei eine rasch wandernde, im UV gelbgrün fluoreszierende Bande erhalten wurde, während am Säulenkopf ein im UV intensiv blau fluoreszierender Ring haften blieb. Nachdem die erste Zone eluiert war, wurde das Chromatogramm mit Äther weiter entwickelt, wobei die blaue Kopfzone abgelöst wurde und an ihrer Stelle ein nun im UV gelbgrün fluoreszierender Ring haften blieb. Nachdem auch diese blau fluoreszierende Zone eluiert worden war, wurde mit Methanol weiter entwickelt. Die Kopfzone spaltete sich dabei in drei schmale, im UV gelbgrün fluoreszierende Ringe auf, die jedoch nur sehr langsam wanderten.

Das Eluat der im UV gelbgrün fluoreszierenden Zone ergab ein schwach gelbes Öl, das nach längerer Aufbewahrung im Vakuumexsikkator weitgehend durchkristallisierte. Das Eluat der im UV blau fluoreszierenden Zone lieferte eine geringe Menge gelbes Öl, das nicht zur Kristallisation gebracht werden

konnte. Die Menge der aus den weiteren Eluaten isolierten Stoffe war zu gering, um weiter untersucht zu werden.

Das Kristallisat aus dem Eluat der ersten Zone wurde mit wenig Äther gewaschen, so der größte Teil der gelben öligen Verunreinigungen entfernt, der kristalline Rückstand wie vorstehend beschrieben nochmals chromatographiert und wieder die im UV gelbgrün fluoreszierende Zone gesondert aufgefangen. Der Rückstand nach Abdampfen des Lösungsmittels kristallisierte rasch durch, war aber immer noch mit etwas gelbem Öl verunreinigt. Es wurde wieder mit Äther gewaschen und dann bei 130°/0,005 Torr destilliert. Nach einem geringen gelblichen Vorlauf wurde so ein farbloses Destillat erhalten, das nach Anreiben rasch durchkristallisierte. So wurden 70 mg eines Methylesters erhalten, der bei 144 bis 146° schmolz. Der Test auf die Methylendioxygruppe war stark positiv.



Dies entspricht einem Methylendioxy-biphenyl-tricarbonsäure-trimethylester (VIIb).

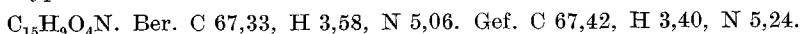
Eine Probe des Esters wurde mit methanol. KOH wieder verseift. Die daraus isolierte Säure (VIIa) schmolz jedoch nach Geschwindigkeit des Anheizens bei 176 bis 184°.

Decarboxylierung des Gemisches der „gelben Rohsäuren“

1,00 g des Rohsäuregemisches wurde mit 1 g Naturkupfer C und 50 ml frisch destilliertem Chinolin am Steigrohr 15 Min. zum gelinden Sieden erhitzt. Das dunkle Gemisch wurde nach dem Erkalten mit 200 ml Äther verdünnt, vom Kupfer abfiltriert und das Filtrat mit HCl 1 : 1, mit Wasser, dann mit 1%iger KOH durchgeschüttelt, bis diese nicht mehr gefärbt wurde, und schließlich nochmals mit Wasser gewaschen und über CaCl₂ getrocknet. Nach Abdampfen des Äthers und Trocknen im Vak. wurden 870 mg einer gelbbraunlichen amorphen Masse erhalten.

Die roten Laugeextrakte wurden mit HCl angesäuert und mit Äther extrahiert. Es konnten so 12 mg eines gelben harzigen Produktes erhalten werden.

Die neutralen Anteile wurden nun durch Chromatographie getrennt. Sie wurden in Petroläther-Benzol 3 : 2 gelöst und auf eine Säule 370 × 45 mm, Adsorbens Aluminiumoxyd nach *Brockmann*, Aktivität Standard 1 bis 2, aufgetragen und mit Petroläther mit steigenden Anteilen Benzol entwickelt. Zuerst lief eine schwach gelbe diffuse Bande vor, der eine hellorange Zone folgte, die von einer dunkelorange gefärbten Zone gefolgt wurde, über der sich drei scharf ausgeprägte Ringe ausbildeten. Es wurde dann mit Benzol eluiert und die einzelnen Fraktionen besonders aufgefangen. Die erste gelbe diffuse Bande ergab nur wenig gelbes Öl, die darauf folgende breite hellorange Zone insgesamt 350 mg gelber Kristalle, die bei 174 bis 182° schmolzen. Diese wurden dann aus Chloroform-Methanol umgelöst und so 270 mg rein gelber Kristalle erhalten, die scharf bei 174° schmolzen. Sie ergaben einen positiven Test nach *Pavolini* und *Malatesta* auf die Methylendioxygruppe, enthielten kein Methoxyl und gaben Analysenwerte, die auf ein Nitromethylendioxyphenanthren stimmten.



Der Mischschmp. mit der decarboxylierten Aristolochiasäure-II (III) vom Schmp. 174° lag bei 174°. Der Mischschmp. mit Acetantranilsäure

bei 160°, übereinstimmend mit dem Mischschmp. der decarboxylierten Aristolochiasäure-II mit Acetantranilsäure.

Die UV-Spektren der beiden Verbindungen waren identisch, sie zeigten wieder eine hypochrome Verschiebung gegen das Absorptionsspektrum der decarboxylierten Aristolochiasäure-I. Lage der Maxima (Abb. 2):

Decarboxylierte Aristolochiasäure-I: 297 m μ (log ϵ = 4,04), 370 m μ (log ϵ = 3,59).

Decarboxylierte Aristolochiasäure-II: 285 m μ (log ϵ = 4,107), 390 m μ (log ϵ = 3,67).

Die Feinstruktur der Banden zeigte eine starke Abhängigkeit vom Lösungsmittel.

Die dunkelorange gefärbte Zone ergab ein bei 203 bis 213° schmelzendes gelbes kristallines Rohprodukt, das nach Umlösen bei 212° scharf schmolz und mit dem schon beschriebenen decarboxylierten Aristolochiasäure-I identisch war. Ausbeute 226 mg.

Katalytische Hydrierung der decarboxylierten Aristolochiasäure-II

Die Mikrohydrierung wurde wieder in der Apparatur nach *Bretschneider* und *Burger*¹¹ in Eisessig mit 10%iger Pd-Tierkohle vorgenommen.

Verbrauch: Für 5,125 mg Substanz (14°, 752 Torr) 1,430 ml,
ber. für 3 H₂ ($M = 267,23$) 1,390 ml.

Die aushydrierte Lösung zeigte wieder stark blaue Fluoreszenz, die jedoch an der Luft sehr rasch erlosch. Alle Versuche, das Amin (IX) zu isolieren, blieben vergeblich, da sich die Substanz an der Luft sehr rasch unter Dunkel-färbung zersetzte.

In einem weiteren Versuch, ausgehend von 30 mg decarboxylierter Aristolochiasäure-II, wurde die aushydrierte Lösung rasch vom Katalysator abgesaugt, das Filtrat im Vak. unter Durchleiten von Stickstoff eingedampft, der Rückstand aus einem Kugelrohr im Hochvak. bei 0,001 Torr destilliert. Bei 180° ging ein gelbliches, bald kristallin erstarrendes Öl über, das unscharf bei 141 bis 148° schmolz. Durch 2maliges Umlösen aus Äther-Petroläther wurden so 8 mg weißer Nadeln erhalten, die nach abermaligem Sublimieren bei 152 bis 154° schmolzen. Da sie sich schon nach kurzer Aufbewahrung neuerlich dunkel färbten, wurde die Base in Pyridin gelöst und mit einem Tropfen Acetanhydrid 24 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen. Dann wurden 3 ml Wasser zugesetzt, nach mehrstündigem Stehen kristallisierten weiße Nadeln aus, die nach Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen im Vak. bei 110°, scharf bei 276° schmolzen (X).

Dieselbe Substanz konnte besser erhalten werden, als auf die Isolierung der Base (IX) überhaupt verzichtet wurde. Es wurden 40 mg decarboxylierter Aristolochiasäure-II, wie vorstehend beschrieben, mit Pd-Tierkohle in Eisessig aushydriert, dann noch unter Wasserstoff 1 ml Acetanhydrid zugegeben und durch elektrische Beheizung des Hydriergefäßes 1 Std. lang auf 60° erwärmt. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat am Wasserbad zur Trockne gebracht, der bräunliche Rückstand mit Methanol in ein Kugelrohr übergeführt und im Hochvak. sublimiert. Bei 180 bis 190° und 0,001 Torr ging die Substanz in weißen, zu Rosetten vereinigten Nadeln über, welche bei 275 bis 276° schmolzen. Der Mischschmp. mit der acetylierten Base (X) zeigte keine Depression.

C₁₉H₁₅O₄N. Ber. C 71,17, H 4,79, N 4,36. Gef. C 71,02, H 4,71, N 4,66.

Es hatte sich demnach, entsprechend der Bruttoformel, ein Diacetyl-derivat gebildet. Nach Abschluß der Strukturermittlung konnte dieses Diacetylphenanthrylamin als 10-Diacetylamino-3,4-methylendioxyphenanthren erkannt werden, es zeigte mit einem synthetischen Produkt⁷ keine Depression.

Reduktive Acetylierung der decarboxylierten Aristolochiasäure-II

50 mg decarboxylierte Aristolochiasäure-II wurden in 10 ml Acetanhydrid gelöst und in der Siedehitze 50 mg wasserfreies Natriumacetat und 100 mg Zinkstaub zugesetzt, wobei sich die Mischung augenblicklich entfärbte. Es wurde vom Zinkstaub abfiltriert und die schwach gelbe Lösung, die starke violette Fluoreszenz zeigte, sofort am Wasserbad im Vak. zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde mit Aceton ausgekocht und der Acetonextrakt wieder zur Trockene gebracht. So wurde eine gelbe, amorphe Substanz erhalten, die zur weiteren Reinigung wieder bei 0,001 Torr sublimiert wurde. Bei 140 bis 150° ging ein gelbliches Öl über, das teilweise zu weißen Kristallen erstarrte, bei 180° wenige, zu Büscheln vereinigte weiße Nadeln, welche bei 275 bis 276° schmolzen und mit vorstehend beschriebenem Diacetylprodukt (X) identisch waren. Der Vorlauf wurde zur Abtrennung der gefärbten Anteile über eine 100 mm lange Säule aus neutralem Aluminiumoxyd, Standard 1, filtriert. Es blieb am Säulenkopf ein schmaler brauner Ring haften, während die Hauptmenge mit Benzol-Chloroform 1:1 als diffuses, im UV blauviolett fluoreszierendes Band durchlief. Das Eluat ergab nach Abdampfen des Lösungsmittels einen weißen kristallinen Rückstand, der durch neuerliche Sublimation im Hochvak. gereinigt wurde. Bei 110 bis 120° und 0,001 Torr gingen weiße, zu Rosetten vereinigte Nadeln über, die bei 150 bis 151° schmolzen und nach Umlösen aus Äther-Petroläther den Schmp. 153 bis 154° zeigten. Eine weitere Fraktion ging bei 180 bis 190° über und bildete wieder das Diacetylprodukt (X) vom Schmp. 276°.

Oxydativer Abbau der decarboxylierten Aristolochiasäure-II

200 mg decarboxylierte Aristolochiasäure-II (III) wurden in 40 ml Tetrahydrofuran gelöst, 10 ml 10%ige KOH zugegeben und am Wasserbad zum Sieden erhitzt. Dann wurde unter heftigem Rühren so lange 35%iges H₂O₂ zugetropft, bis das Reaktionsgemisch fast farblos wurde und auch bei weiterer Zugabe des Oxydationsmittels und längerem Erhitzen keine Änderung der Farbe mehr zeigte. Die hellocker gefärbte alkalische Lösung wurde dann im Vak. zur Trockne verdampft und der weiße kristalline Rückstand in wenig Wasser gelöst, von einigen Flocken abfiltriert und zur Entfernung von Neutralstoffen mehrfach mit Äther ausgeschüttelt. Dann wurde mit HCl 1:1 angesäuert, mit Äther einige Male ausgeschüttelt, der Ätherextrakt mit Wasser gewaschen und kurz über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abdestillieren des Äthers wurde ein hellgelbes, leicht bewegliches, scharf riechendes Öl erhalten, das bei 100° im Vak. getrocknet wurde. Es wurde dann mit Chloroform angerieben, wobei teilweise Kristallisation eintrat, die sich auf Zusatz von Petroläther noch vermehrte. Die feste Substanz wurde scharf abgesaugt, mit Petroläther gewaschen und die Mutterlaugen wieder zur Trockne verdampft. Bei neuerlicher Behandlung des Abdampfrückstandes mit Chloroform-Petroläther wurde noch weitere kristallisierte Substanz gewonnen. Es wurden so insgesamt 60 mg weiße Kristalle erhalten, die je nach Geschwindigkeit des Erhitzens zwischen 250 und 260° unscharf schmolzen. Die Reaktion auf die Methylendioxygruppe war stark positiv

und es wurden Analysenwerte erhalten, die auf eine Methylendioxy-biphenyl-dicarbonsäure (XIa) stimmten:

$C_{15}H_{10}O_6$. Ber. C 62,94, H 3,52. Gef. C 62,79, H 3,38.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 180°/0,001 Torr sublimiert, sie schmolz dann, noch immer unscharf, bei 255 bis 262°.

Die Abbausäure war mit einer synthetisch gewonnenen 4,5-Methylendioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XIIa) nicht identisch.

Schmp. Abbausäure (XIa): 255 bis 262°; Schmp. synthetische Säure (XIIa): 260 bis 264°; Mischschmp. XIa + XIIa: 228°; Mischschmp. Abbausäure + Oxanilid: 236°; Mischschmp. synth. Säure + Oxanilid: 232°; ternärer Mischschmp. XIa + XIIa + Oxanilid: 220°.

Methylierung der Abbausäure (XIa)

13 mg Abbausäure wurden in 5 ml Methanol gelöst und mit einem Überschuß äther. Diazomethanlösung versetzt, 3 Stdn. bei Zimmertemp. stehen gelassen und dann überschüssiges Diazomethan und Lösungsmittel am Wasserbad abdestilliert. Es wurde so ein Öl erhalten, das bei 100° und 0,001 Torr destilliert wurde. Es ging ein farbloses, zähes Öl über, das nach einigen Tagen durchkristallisierte und dann bei 106 bis 109° schmolz.

$C_{17}H_{14}O_6$. Ber. C 64,96, H 4,50. Gef. C 64,94, H 4,80.

Der Dimethylester (XIb) war nicht identisch mit dem synthetisch gewonnenen 4,5-Methylendioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2')-dimethyl-ester (XIIb), der bei 46 bis 49° schmolz.

Ätherspaltung der Abbausäure (XIa)

6 mg der Abbausäure wurden in einem Mikrobombenrohr mit 10 mg Resorcin und 2 ml konz. HCl 3 Stdn. lang erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die dunkelrote Lösung, in der sich nur wenige dunkle Flocken abgeschieden hatten, in ein Kugelrohr übergeführt, zur Trockne verdampft und der Rückstand bei 0,001 Torr sublimiert. Nach einem geringen Vorlauf bei 80 bis 100°, der aus nicht umgesetztem Resorcin bestand, ging bei 110 bis 130° ein weißes kristallines Sublimat über, das bei 170 bis 181° schmolz. Es wurde aus Methanol-Wasser umgelöst und so 2 mg einer bei 180 bis 181° schmelzenden Substanz erhalten, deren Mischschmp. mit einem synthetisch erhaltenen 3,4-Benzo-8-hydroxy-cumarin (XIIIa) vom Schmp. 180 bis 181° bei 180° lag. Zur weiteren Kontrolle der Identität beider Substanzen wurde von beiden Stoffen das UV-Absorptionsspektrum aufgenommen (Abb. 1). Die beiden Spektren waren identisch und zeigten Maxima bei 225 m μ (log ϵ = 3,58), 242 m μ (log ϵ = 3,27), 268 m μ (log ϵ = 3,16), 278 m μ (log ϵ = 3,14) und 312 m μ (log ϵ = 2,72).

Damit war die Identität beider Substanzen sichergestellt.

2,3-Methylendioxy-phenanthren-chinon-(9,10) (XV)

1,00 g 2,3-Methylendioxy-phenanthren-carbonsäure-(9) (XIV) wurde in 30 ml heißem Eisessig gelöst, unter heftigem Rühren am siedenden Wasserbad mit der Lösung von 2 g Natriumbichromat in 2 ml Wasser und 3 ml Eisessig versetzt und noch weitere 30 Min. am siedenden Wasserbad belassen. Dann wurde das Reaktionsgemisch mit so viel Wasser versetzt, daß eine sich abscheidende Trübung eben wieder gelöst wurde, und die erkaltete

braune Lösung so lange mit Chloroform ausgeschüttelt, bis dieses nicht mehr rot, sondern nur mehr schwach gelb gefärbt war. Die roten Chloroformextrakte wurden mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurden so 450 mg dunkelrote Kristalle erhalten, die bei 252 bis 253° schmolzen. Einmal aus Eisessig umgelöst, wurde die Substanz in dunkelroten, zu Büscheln vereinigten Nadeln erhalten, die scharf bei 253 bis 254° schmolzen. Ausbeute 400 mg, das sind 42% d. Th. Zur Analyse wurde die Substanz (XV) bei 180° und 0,001 Torr sublimiert, der Schmp. blieb unverändert.

$C_{15}H_8O_4$. Ber. C 71,43, H 3,20. Gef. C 71,69, H 3,38.

Das Chinon wurde durch sein Chinoxalin (XVI) mit o-Phenylendiamin charakterisiert. 100 mg des Chinons wurden in 20 mg Eisessig gelöst und mit 100 mg o-Phenylendiamin in 5 ml Alkohol versetzt. Dann wurde 30 Min. lang zu gelindem Sieden erhitzt, wobei sich die rote Lösung bald bräunlich-gelb färbte. Dann wurde so viel heißes Wasser zugegeben, daß eine auftretende Trübung eben verschwand, und erkalten gelassen. Es schied sich ein gelbes Kristallpulver ab, das abgesaugt, mit Wasser gewaschen und im Vak. bei 110° getrocknet wurde. Es wurden so 80 mg des Chinoxalins (XVI) vom Schmp. 252 bis 263° erhalten, das zur weiteren Reinigung bei 180°/0,001 Torr sublimiert wurde. Das Chinoxalin ging in gelben Stäbchen über, in der Kugel verblieb nur ein geringer dunkler Rückstand. Die sublimierte Substanz schmolz bei 261 bis 263°.

$C_{21}H_{12}O_2N_2$. Ber. N 8,64. Gef. N 8,52.

4,5-Methylendioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XIIa)

200 mg 2,3-Methylendioxy-phenanthren-chinon-(9,10) (XV) wurden in 30 ml Tetrahydrofuran und 20 ml Methanol gelöst, die Lösung zum Sieden erhitzt, 2 ml 35%iges H_2O_2 zugegeben und schließlich 5 ml 10%ige KOH zugetropft. Unter heftigem Aufschäumen schlug die Farbe von rot auf schwach rosa um. Es wurde nochmals mit Lauge auf pH 10 gestellt, noch 1 ml H_2O_2 zugegeben und weitere 30 Min. zum Sieden erhitzt. Die nun farblos gewordene Lösung wurde am Wasserbad im Vak. zur Trockne gebracht, der Rückstand mit 20 ml Wasser aufgenommen, von einer geringen Trübung abfiltriert und das alkalische Filtrat mehrfach mit Äther ausgeschüttelt. Dann wurde mit Salzsäure 1:1 angesäuert, die nunmehr trübe Lösung mit Äther ausgeschüttelt, der Äther mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurden 229 mg weiße Kristalle erhalten, die bei 244 bis 255° schmolzen. Zur Analyse wurde bei 170° und 0,001 Torr sublimiert. Die so erhaltenen weißen Nadeln schmolzen bei 260 bis 264°.

$C_{15}H_{10}O_6$. Ber. C 62,94, H 3,52. Gef. C 63,21, H 3,73.

4,5-Methylendioxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2')-dimethylester (XIIb)

100 mg Säure (XIIa) wurden in Methanol mit äther. Diazomethanolösung in üblicher Weise methyliert, das nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltene bräunliche Öl bei 100 bis 110° und 0,001 Torr destilliert. Das farblose Öl kristallisierte nach einigen Tagen zu weißen Kristallen vom Schmp. 46 bis 49°.

$C_{17}H_{14}O_6$. Ber. C 64,96, H 4,49. Gef. C 64,41, H 4,61.

Zur weiteren Reinigung wurde der Ester an neutralem Aluminiumoxyd an einer kleinen Säule chromatographiert; er erwies sich als einheitlich und zeigte keine Änderung des Schmp.

3,4-Dimethoxy-phenanthren-chinon-(9,10) (XVIII)

5,6 g 3,4-Dimethoxy-phenanthren-carbonsäure-(9) (XVII) wurden in 180 ml heißem Eisessig gelöst und unter Erwärmen und Rühren auf dem siedenden Wasserbad die Lösung von 12 g $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ in 10 ml Wasser und 12 ml Eisessig innerhalb von 5 Min. zugegeben. Nach beendeter Zugabe des Oxydationsmittels wurde noch weitere 30 Min. am Wasserbad gerührt und dann in 300 ml kaltes Wasser eingegossen. Die Lösung wurde mit Chloroform erschöpfend ausgeschüttelt, die Chloroformlösung mit Wasser gewaschen, dann mit 1%iger NaOH so lange ausgeschüttelt, bis diese farblos blieb und zuletzt wieder mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen über CaCl_2 wurde das Lösungsmittel abdestilliert und so 2,55 g eines braugelben Rückstandes erhalten. Dieser wurde in verd. Aceton aufgenommen, von einigen braunen Flocken abfiltriert und das klare rote Filtrat am Wasserbad vorsichtig eingeeengt. Das Chinon schied sich beim Erkalten in braunorange gefärbten Kristallen ab, die abgesaugt, mit wenig Alkohol gewaschen und im Vak. getrocknet wurden. Es wurden so 1,56 g Chinon (XVIII) vom Schmp. 180° erhalten. Aus den Mutterlaugen ließen sich noch weitere 0,30 g Chinon vom gleichen Schmp. isolieren, so daß sich die Gesamtausbeute an Reinprodukt auf 1,86 g, das sind 36% d. Th. erhöhte. Zur Analyse wurde im Hochvak. sublimiert.

$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Ber. C 71,63, H 4,51. Gef. C 71,68, H 4,44.

Das 3,4-Dimethoxy-phenanthren-chinon-(9,10) (XVIII) wurde durch das Chinoxalin (XIX) mit o-Phenylendiamin charakterisiert, das bei 214° schmolz. Zur Analyse wurde es im Hochvak. bei 170° und 0,001 Torr sublimiert.

$\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2$. Ber. N 8,23. Gef. N 7,92.

5,6-Dimethoxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XXa)

600 mg 3,4-Dimethoxy-phenanthren-chinon-(9,10) (XVIII) wurden in 50 ml Methanol und 20 ml Tetrahydrofuran gelöst, 2 ml 35%iges H_2O_2 zugesetzt und zum Sieden erhitzt. Dann wurden 5 ml 10%ige KOH zugegeben, wobei rasch Entfärbung eintrat. Es wurde noch 30 Min. in gelindem Sieden gehalten, dann 50 ml Wasser zugesetzt und das Methanol und Tetrahydrofuran am Wasserbad abdestilliert. Die etwas trübe Lösung wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, wobei geringe Verunreinigungen mit gelber Farbe in das Chloroform gingen. Dann wurde von einigen Flocken abfiltriert und das klare Filtrat angesäuert. Es trübte sich etwas, schied aber auch nach längerem Stehen keine Kristalle ab. Daher wurde die Säure mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformextrakte über Magnesiumsulfat getrocknet und nach Abdampfen des Lösungsmittels 620 mg 5,6-Dimethoxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XXa) erhalten, die bei 197 bis 207° schmolz. Die Substanz wurde aus Eisessig umgelöst, bei $210^\circ/0,001$ Torr sublimiert, hierauf nochmals aus Eisessig und zuletzt aus Chloroform-Methanol umgelöst. Sie wurde so in rein weißen Nadeln vom Schmp. 207 bis 208° erhalten.

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$. Ber. C 63,57, H 4,67. Gef. C 63,35, H 4,63.

Der auf üblichem Wege mit Diazomethan hergestellte Dimethylester (XXb) konnte nach Destillation im Hochvak. als farbloses zähes Öl erhalten werden, das nicht zur Kristallisation zu bringen war.

$C_{18}H_{18}O_6$. Ber. C 65,44, H 5,49. Gef. C 65,47, H 5,69.

3,4-Benzo-8-hydroxy-cumarin (XIIIa)

340 mg 5,6-Dimethoxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2,2') (XXa) wurden im Bombenrohr mit 5 ml konz. HCl 4 Stdn. lang auf 150° erhitzt. In der Lösung hatten sich nach dem Erkalten feine weiße Flocken abgeschieden. Das Gemisch wurde ausgeäthert, die Ätherlösung mit Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurden weiße Blättchen von charakteristischem, an Naphthalin erinnernden Geruch erhalten. Ausbeute 187 mg, das sind 79% d. Th. Das Rohprodukt schmolz bei 176 bis 178° , zur Analyse wurde bei 110° und 0,001 Torr sublimiert. Die Reinsubstanz schmolz dann bei 180 bis 181° .

$C_{13}H_8O_3$. Ber. C 73,58, H 3,80. Gef. C 73,52, H 4,05.

Der Methyläther (XIIIb) wurde wieder auf üblichem Weg mit Diazomethan erhalten. Aus 81 mg 3,4-Benzo-8-hydroxy-cumarin wurden 70 mg, das sind 81% d. Th. des 3,4-Benzo-8-methoxy-cumarins (XIIIb) gewonnen, die bei 166 bis 168° schmolzen. Zur Analyse im Hochvak. bei 150° und 0,001 Torr sublimiert, zeigte die Substanz den Schmp. 168 bis 169° .

$C_{14}H_{10}O_3$. Ber. C 74,33, H 4,46, OCH_3 13,72.
Gef. C 73,96, H 4,48, OCH_3 13,97.

Die Analysen wurden von Herrn Dr. G. Kainz im Mikrolaboratorium des II. Chemischen Universitätsinstitutes ausgeführt.