

### 73. Über Andrographolid<sup>1)</sup>

von R. Schwyzer, H. G. Biswas und P. Karrer.

(31. I. 51.)

Frühere chemische Untersuchungen über Inhaltsstoffe von *Andrographis paniculata* Nees.

In einer Mitteilung von *M. K. Gorter*<sup>2)</sup> aus dem Jahre 1910 finden sich die ersten Angaben über eine chemische Untersuchung von *Andrographis paniculata* Nees. Er beschreibt die Isolierung und die Eigenschaften eines neutralen Bitterstoffes, den er wegen seines Lactoncharakters Andrographolid nennt (schon einige Jahre vorher hatte, nach den Angaben *Gorter's*, *M. Boorsma* auf Java diesen Stoff in etwas unreiner Form in den Händen). Dieser ersten Arbeit *Gorter's* folgte im Jahre 1914<sup>3)</sup> eine zweite und letzte über dieses Thema.

Etwas später (1914) isolierte auch *K. Bhaduri*<sup>4)</sup> angeblich zwei Bitterstoffe aus *Andrographis*. Möglicherweise waren beide Substanzen unreines Andrographolid. Im Jahre 1939 veröffentlichte *S. S. Guha-Sircar*, zusammen mit *A. Moktader*<sup>5)</sup>, die Ergebnisse seiner Untersuchungen über Andrographolid. Diese Arbeit widerspricht in manchen Punkten den Angaben *Gorter's*. Während unserer Untersuchungen fanden wir die Resultate des Holländers bestätigt.

*Gorter's* Untersuchungen lassen sich wie folgt zusammenfassen: Der Bitterstoff ist in allen Pflanzenteilen, ausser den Samen, enthalten und wird aus den getrockneten Blättern in etwa 4-proz. Ausbeute gewonnen. Andrographolid (I) ist eine farblose, stabile, gut kristallisierte Substanz von der Zusammensetzung  $C_{20}H_{30}O_5$ .

Zwei Sauerstoffatome sind in einer Lactongruppierung gebunden, die sich hydrolysieren lässt, wobei Andrographolsäure (II) entsteht. Diese lässt sich durch Einwirkung von Säuren oder durch Erhitzen über den Schmelzpunkt wieder in Andrographolid zurückführen. Drei Sauerstoffatome liegen als Hydroxylgruppen vor, was durch die Acetylierung zu einem Triacetylderivat III bewiesen wird.

Triacetyl-andrographolid lagert 2 Atome Brom zu einem noch ungesättigten Dibromid IV an, welches sich durch Zinkstaubbehandlung wieder in das Triacetylderivat zurückführen lässt. Aus dem Tri-

<sup>1)</sup> *H. G. Biswas* hat das für die vorliegende Untersuchung dienende Andrographolid rein hergestellt, *R. Schwyzer* führte die hier beschriebenen chemischen Untersuchungen an diesem Material aus.

<sup>2)</sup> *M. K. Gorter*, R. **30**, 151 (1911).

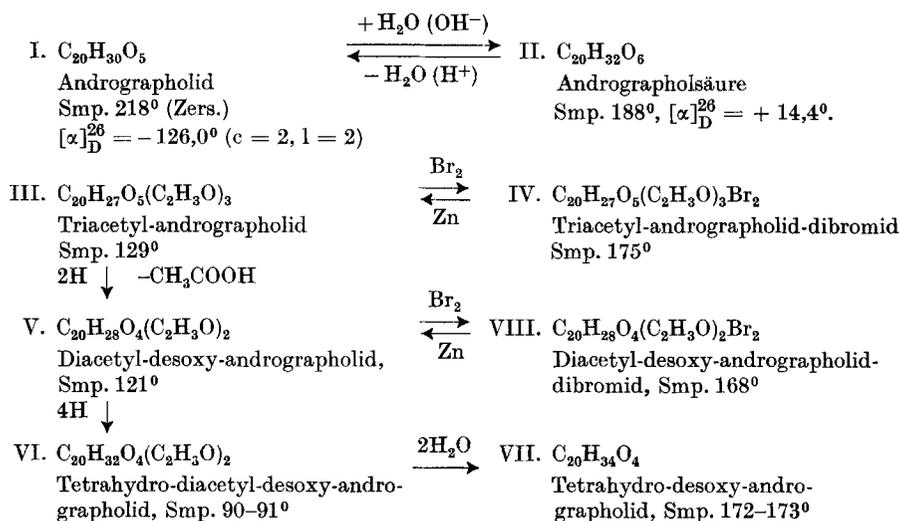
<sup>3)</sup> *M. K. Gorter*, R. **33**, 239 (1914).

<sup>4)</sup> *K. Bhaduri*, Am. J. Pharm. **86**, 349 (1914).

<sup>5)</sup> *S. S. Guha-Sircar & A. Moktader*, J. Ind. Chem. Soc. **16**, 333 (1939).

acetyl-andrographolid wird durch Aluminiumamalgam ein Acetoxyrest reaktiv entfernt. Bei der katalytischen Hydrierung nimmt das entstandene Diacetyl-desoxy-andrographolid (V) 4 Atome Wasserstoff auf und geht in das gesättigte Diacetyl-tetrahydro-desoxy-andrographolid (VI) über, welches sich zum Tetrahydro-desoxy-andrographolid (VII) verseifen lässt. Auch das Diacetyl-desoxy-andrographolid lagert nur 2 Atome Brom an, wobei ein ungesättigtes Dibromid (VIII) entsteht.

Nach *Gorter* ist also Andrographolid ein Lacton mit drei freien Hydroxylgruppen (wovon eine wahrscheinlich tertiärer Natur) und zwei Doppelbindungen (wovon nur eine mit Brom reagiert).



### Charakterisierung des Andrographolids.

Andrographolid gibt sich (wie bereits *Gorter* beobachtete) durch eine Farbreaktion zu erkennen: nach Zusatz von 5-proz. methanolischer (nicht aber wässriger!) Kalilauge zu einer alkoholischen Lösung von Andrographolid entsteht in kurzer Zeit ein intensives Rot in der Nuance einer alkalischen Phenolphthalein-Lösung. Nach einigen Minuten verblasst die Farbe zu einem schmutzigen Gelb. Diese Farbreaktion scheint mit der tertiären Hydroxylgruppe in engem Zusammenhang zu stehen (wir kommen später darauf zurück) und ist für Andrographolid und seine einfachen Derivate spezifisch.

Der Bitterstoff kristallisiert aus Alkohol in farblosen, derben, viereckigen Platten, die kein gebundenes Lösungsmittel enthalten. Den Schmelzpunkt der Substanz fanden wir bei  $227,5^\circ$  (nicht korr., *Gorter's* Präparat schmolz bei  $218^\circ$ ). Bei dieser Temperatur entweicht unter Aufbrausen Wasser, beim Abkühlen erstarrt die Schmelze zu einem harten, kolophonumartigen Harz.

Die Dichte des kristallisierten Andrographolids beträgt  $d_4^{21} = 1,2317$ . Die Verbindung ist stark linksdrehend; in Übereinstimmung mit *Gorter* und mit *Guha-Sircar* (loc. cit.) fanden wir  $[\alpha]_D^{17} = -126,6^0$  ( $\pm 2^0$ ) (Eisessig,  $c = 1$ ,  $l = 1$  dm).

Das Absorptionsspektrum einer alkoholischen Lösung von Andrographolid weist ein Maximum auf bei  $223 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,09$ ).

Andrographolid besitzt die Summenformel  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_5$ . Aus den Ergebnissen der Mikrohydrierung (Aufnahme von 2 Mol  $\text{H}_2$ ) lässt sich das Molekulargewicht 350 errechnen. Die Lactontitration ergibt das Äquivalentgewicht 360.

Das Spektrum des Andrographolids lässt eine Doppelbindung in  $\alpha, \beta$ -Stellung zum Lacton-carboxyl vermuten. Die einfachen  $\alpha, \beta$ -Butenolide absorbieren nach *Elderfield*<sup>1)</sup> zwischen 210 und 215  $\text{m}\mu$ . Das Absorptionsmaximum  $223 \text{ m}\mu$  des Andrographolids deutet auf Substitution des Chromophors hin (vgl. das Spektrum des Andrographolids, Fig. 1).

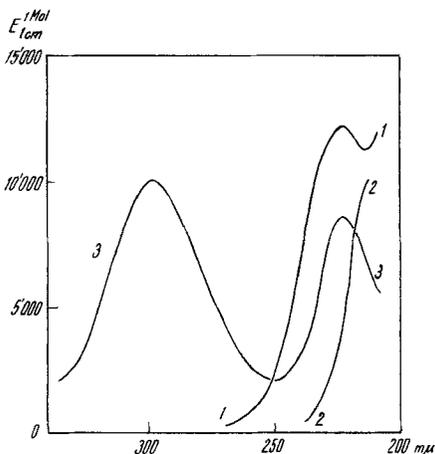


Fig. 1.

Kurve 1: Spektrum von Andrographolid (Alkohol).

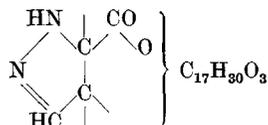
Kurve 2: Spektrum von Isoandrographolid (Alkohol).

Kurve 3: Spektrum von Diacetyl-anhydro-andrographolid (Alkohol).

In schwach alkalischer Lösung reagiert Andrographolid wie andere  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Lactone mit Nitroprussidnatrium (*Legal-Test*, modifiziert nach *Elderfield*) sowie mit Ferricyankalium, wobei sich die Lösung intensiv rot bis blaurot färbt. Die letztgenannte Reaktion ist besonders charakteristisch, weil mit Ferricyankalium nur dann eine Färbung entsteht, wenn die Doppelbindung sich in  $\alpha, \beta$ -Stellung zum Lacton-carboxyl befindetet;  $\beta, \gamma$ -ungesättigte Lactone reagieren nicht mit diesem Reagens (vgl. *Elderfield*, loc. cit.).

<sup>1)</sup> *Elderfield* et al., J. Org. Chem. **6**, 273 (1941).

Es gelang durch Umsatz des Andrographolids mit einem Überschuss von Diazomethan in Dioxan-Äther einen schön kristallisierten Pyrazolinkörper zu erhalten, dem die folgende Teilformel zukommt:



Die Reaktion ist typisch für  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Säureester<sup>1)</sup>.

Andrographolid erscheint somit als eines der zahlreichen, in der Natur vorkommenden, ungesättigten Lactone, welche sich fast alle durch mannigfaltige physiologische Wirkungen auszeichnen<sup>2)</sup>.

Die Andrographolidmolekel enthält zwei katalytisch hydrierbare Doppelbindungen. In Alkohollösung, mit Platin als Katalysator, werden schnell zwei Molekeln Wasserstoff verbraucht. Dabei entsteht das in kleinen Nadeln (aus Benzol) kristallisierende Tetrahydro-andrographolid  $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_5$ . Die Substanz verhält sich gegenüber sodaalkalischem Permanganat gesättigt. Der unscharfe Schmelzpunkt (186–189°) deutet auf das Vorliegen eines Isomerenmischens hin.

Schon den früheren Bearbeitern des Andrographolids ist die Verschiedenheit der beiden Doppelbindungen aufgefallen.

Wie bereits erwähnt, lagert die in Konjugation zum Lacton-carboxyl stehende Doppelbindung Diazomethan zu einem gut definierten Pyrazolinderivat an. Mit naszierendem Wasserstoff lässt sie sich nicht absättigen. Dagegen reagiert sie mit katalytisch angeregtem Wasserstoff ebenso schnell wie die isolierte Doppelbindung. Auch bei Verwendung verschiedener Katalysatoren lässt sich kein Unterschied in der Reaktionsfähigkeit der beiden Doppelbindungen feststellen (siehe experimenteller Teil). Wird die Reaktion nach Aufnahme der Hälfte der berechneten Menge Wasserstoff unterbrochen, so lässt sich Andrographolid neben der gleichen Menge Tetrahydro-andrographolid isolieren. Dieser Befund widerspricht einem Experiment *Guha Sircar's* (loc. cit.), der Andrographolid mit Palladiumkatalysator zu einem Dihydro-andrographolid reduziert haben will.

Andrographolid wird von Benzopersäure in siedendem Chloroform rasch angegriffen. Neben amorphen Produkten entsteht in etwa 30-proz. Ausbeute ein Kristallgemisch der Bruttoformel  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_6$ , welches sich durch fraktionierte Kristallisation aus Essigester und Chloroform in die beiden isomeren Komponenten auftrennen lässt. Nach ihrer Zusammensetzung handelt es sich bei den beiden Verbin-

<sup>1)</sup> *Pechmann & Burkard*, B. **33**, 3590, 3597 (1900); *Auwers & Ungemach*, B. **66**, 1205 (1933).

<sup>2)</sup> Vgl. die Zusammenstellung von *Haynes*: Physiologically Active Unsaturated Lactones, *Quarterly Revs.* **1948**, 46.

dungen um Oxyde des Andrographolids. Das schwerer lösliche Oxyd, das  $\alpha$ -Andrographolid-oxyd, kristallisiert in Form kleiner Würfel und Prismen und schmilzt bei  $177^{\circ}$  (unkorr.), die andere, leichter lösliche Form, das  $\beta$ -Andrographolid-oxyd, entsteht in kleinerer Menge, kristallisiert in Nadeln vom Smp.  $164^{\circ}$  (Mischschmelzpunkt der beiden Isomeren zwischen  $155$  und  $175^{\circ}$ ).

Beide Isomere geben positiven *Legal*-Test und weisen in ihrem Absorptionsspektrum die charakteristische Bande des Andrographolids auf. Infolgedessen sind sie beide, wie zu erwarten war, durch Oxydation der isolierten Doppelbindung entstanden. Möglicherweise unterscheiden sie sich voneinander durch eine geometrische Isomerie wie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Santonin-oxyd<sup>1)</sup>.

Die isolierte Doppelbindung liegt sehr wahrscheinlich in Form einer Methylengruppierung vor; bei der Ozonspaltung werden ca. 25% Formaldehyd erhalten.

#### Die Funktion der Sauerstoffatome.

Von den 5 Sauerstoffatomen des Andrographolids gehören zwei, wie schon festgestellt, einem Lactonringe an. Die übrigen 3 liegen als Hydroxylgruppen vor. Mit Methyl-magnesiumjodid (nach *Zerewitinoff*) behandelt, liefert Andrographolid 3 Molekeln Methan, besitzt also 3 aktive Wasserstoffatome. Es löst sich im Verlaufe von 20 bis 50 Stunden in Essigsäureanhydrid auf (nach Zugabe von wenig Zinkchlorid). Dabei entsteht das von *Gorter* beschriebene Triacetyl-andrographolid, welches in Form feiner, bei  $126$ – $126,5^{\circ}$  schmelzender Kristallnadeln kristallisiert. Die Substanz zeigt positiven *Legal*-Test und färbt methanolische Kalilauge rot. Die Destillation mit Schwefelsäure nach der Vorschrift *Guha*'s liefert keinen Formaldehyd.

Aus dem Ergebnis der Oxydation von Tetrahydro-andrographolid ( $C_{20}H_{34}O_5$ ) mit Chromsäure in Eisessig ergibt sich die Natur des Andrographolids als die eines dreiwertigen Alkohols mit einem tertiär und zwei sekundär gebundenen Hydroxylen. Während der Reaktion beobachtet man das Auftreten einer bleibenden Rotfärbung, welche für die Oxydation tertiärer Alkohole charakteristisch ist<sup>2)</sup> und vermutlich von einem Chromsäureester hervorgerufen wird. Aus dem Reaktionsgemisch konnte, in etwa 20-proz. Ausbeute, ein kristallisiertes Diketon der Zusammensetzung  $C_{20}H_{30}O_5$  isoliert werden, welches noch eine Hydroxylgruppe enthält (nach *Zerewitinoff* ein aktives Wasserstoffatom).

<sup>1)</sup> *E. Wedekind & K. Tettweiler*, B. **64**, 1796 (1931).

<sup>2)</sup> *H. Wienhaus*, B. **47**, 322 (1914); *W. Treibs*, Diss. Tübingen 1917; *H. Wienhaus & W. Treibs*, B. **56**, 1648 (1923); *Hückel & Blöhm*, A. **502**, 114 (1938).

## Dehydrierungsversuche.

Eine Verbindung der Zusammensetzung  $C_{20}H_{30}O_5$ , die einen Lactonring, 2 Doppelbindungen und 3 Hydroxylgruppen enthält, muss in der Molekel noch 2 Kohlenstoffringe enthalten.

Als Hauptprodukt der Dehydrierung des Andrographolids mit Selen konnten wir einen Kohlenwasserstoff der Zusammensetzung  $C_{14}H_{16}$  isolieren, der jedoch, wie sich später erwies, ein schwer trennbares Gemisch darstellt. Durch wenige Versuche im Semimikro-Massstab wurden die optimalen Bedingungen der Dehydrierungsreaktion ermittelt, worauf die Kohlenwasserstoff-Fraktion in einer Ausbeute von 30% der theoretisch möglichen Menge erhalten wurde. Der Einfachheit halber möchten wir diese uneinheitliche Kohlenwasserstoff-Fraktion „Andrographen“ nennen. „Andrographen“ entsteht bei der Dehydrierung sowohl des Andrographolids als auch des gesättigten Tetrahydro-andrographolids. Schwefel als Dehydrierungsmittel zeitigte keine guten Ergebnisse, indem nur Verharzungsprodukte entstanden.

Das Spektrum des „Andrographens“ wies auf ein (3fach) alkylsubstituiertes Naphtalin hin; es gleicht demjenigen des Agathalins ( $\lambda_{\max} = 288 \text{ m}\mu, 324 \text{ m}\mu; \log E_{1 \text{ cm}}^{1 \text{ m}} = 3,87, 2,96$ )<sup>1)</sup>. Die Analysen des Pikrates, des Trinitrobenzolates und des Kohlenwasserstoffes wiesen auf die Formel  $C_{14}H_{16}$ . Die Oxydation des Kohlenwasserstoffgemisches mit Ferricyankalium in alkalischer Lösung<sup>2)</sup> lieferte ein Säuregemisch, woraus als einziges kristallines Produkt in kleiner Menge eine Naphtalin-tetracarbonsäure isoliert werden konnte. Folglich wurde auf das Vorhandensein eines Tetramethyl-naphtalins im „Andrographen“ geschlossen.

Die Naphtalin-tetracarbonsäure kristallisiert aus Wasser in Form kurzer, zugespitzter Plättchen, die sich beim Erhitzen im geschlossenen Schmelzpunktsröhrchen unter starker Sublimation (ab 250°) langsam in das Di-anhydrid verwandeln. Dieses schmilzt bei 335° unter Braunfärbung. Die Säure kann im Wasserstrahlvakuum leicht und ohne Zersetzung durch Sublimation über offener Flamme in das Di-anhydrid übergeführt werden. Folglich müssen in der Tetracarbonsäure die Carboxylgruppen (und im zugrundeliegenden Kohlenwasserstoff die Methylgruppen) paarweise in ortho- oder peri-Stellung zueinander stehen. Wie sich später erwies, handelt es sich bei dieser Säure sehr wahrscheinlich um die bisher noch nicht bekannte Naphtalin-1,2,5,6-tetracarbonsäure.

Die Einheitlichkeit des „Andrographens“ wurde also in Frage gestellt durch den Widerspruch seines spektralen Verhaltens und dem Ergebnis seines oxydativen Abbaues. Die Abtrennung eines chemischen Individuums erwies sich aber als schwierig.

<sup>1)</sup> Heilbronner, Fröhlicher & Plattner, *Helv.* **32**, 2479 (1949).

<sup>2)</sup> Weissgerber & Kruber, *B.* **52**, 346 (1919).

Versuche, durch Destillation in einer Mikrokolonne tiefer siedende Stoffe rein zu erhalten, verliefen wenig erfolgversprechend.

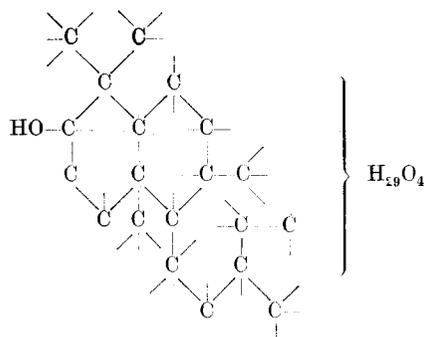
Die Abtrennung eines einheitlichen Stoffes gelang erst durch Chromatographie des über die Trinitrobenzol-Additionsverbindung vorgereinigten „Andrographens“ an einer grossen Menge Aluminiumoxyd. Dabei wurden einzelne Fraktionen erhalten, welche spontan kristallisierten. Aus den Fraktionen mit den am besten ausgebildeten Kristallen konnte durch häufiges Umkristallisieren aus Methanol eine hartnäckige Verunreinigung abgetrennt werden und 1 mg 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin (aus 40 mg Andrographen) gewonnen werden. Die Substanz wurde durch Vergleich mit einem authentischen Präparat<sup>1)</sup> charakterisiert (Mischschmelzpunkt, Kristallform und Absorptionsspektrum) und durch die bei 180° schmelzende Additionsverbindung mit Trinitrobenzol. Zweifellos enthält das „Andrographen“ einen weit grösseren Prozentsatz an 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin als dem angeführten Versuche entspricht.

Mit der Annahme eines bicyclischen diterpenoiden Baues des Andrographolidis lässt sich der Verlauf der Selendehydrierung zwanglos erklären.

1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin kann aus bicyclischen diterpenoiden Verbindungen entstehen, wenn Umlagerung der geminalen Methylgruppe am Kohlenstoffatom 1 erfolgt, wie *Lederer, Mercier & Pérot*<sup>2)</sup> am Beispiele des Sclareols gezeigt haben.

Ferner kann beim Andrographolid eine Retropinakolin-Umlagerung für die Methylwanderung verantwortlich gemacht werden, weil zur Dehydrierung Selen und nicht ein umlagerungsbegünstigender Dehydrierungskatalysator verwendet wurde. Ein solcher Verlauf der Dehydrierung bedingt die Annahme einer Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 2, ähnlich wie bei den Triterpen-alkoholen.

Auf Grund dieser Überlegungen lässt sich als Arbeitshypothese folgende Teilstruktur für Andrographolid ins Auge fassen:



<sup>1)</sup> Herrn Dr. O. Jeger (ETH.) sind wir für die Überlassung eines Vergleichspräparates zu Dank verpflichtet.

<sup>2)</sup> *Lederer, Mercier & Pérot*, Bl. 1947, 345.

Unseres Wissens ist am Beispiel des Andrographolids zum ersten Male die Dehydrierung einer  $C_{20}$ -Verbindung zu 1,2,5,6-Tetramethylnaphtalin mittels Selen beobachtet worden.

#### Isomerisierungsversuche.

Um eine eventuelle Verwandtschaft mit gewissen Harzsäuren abzuklären, haben wir Versuche unternommen, Andrographolid durch Einwirkung von Säuren zu einer tricyclischen Verbindung zu isomerisieren (in Analogie zu dem Übergang der Agathen-dicarbonsäure in die Isoagathen-dicarbonsäure<sup>1)</sup>): Eine solche Isomerisierung, hätte sie stattgefunden, wäre an Hand der Produkte der Selendehydrierung leicht feststellbar gewesen.

Bei der Einwirkung von Ameisensäure auf Andrographolid entstanden jedoch nur Formyl-Derivate, die bei der Selendehydrierung „Andrographen“ (und in Spuren höhere Homologe, siehe experimenteller Teil), aber keine Phenanthrenkohlenwasserstoffe lieferten.

Bei langer Einwirkungsdauer von siedender Ameisensäure auf Andrographolid bilden sich Harze, die stark acyliert sind und in der Kälte durch 3 bis 4 Mole Lauge verseift werden können.

Wenn Andrographolid hingegen nur kurze Zeit (5 Min.) mit Ameisensäure gekocht wird, kann nebst den Verharzungsprodukten auch ein kristallisierter Stoff in äusserst geringer Menge isoliert werden. Schon *Gorter* hat diese Substanz, die bei  $215^{\circ}$  schmilzt, dargestellt (*Guha-Sircar* konnte sie nicht erhalten). Auf Grund unserer Feststellungen handelt es sich um ein Triformyl-andrographolid. Die Verbindung (wie auch die Verharzungsprodukte) gibt positiven *Legal*-Test und Rotfärbung mit methanolischer Kalilauge. In dieser Hinsicht verhält sie sich gleich wie das später zu beschreibende Triacetyl-andrographolid.

Endlich haben wir noch die Einwirkung von Salzsäure auf Andrographolid untersucht. Wird Andrographolid in der Kälte in konzentrierter Salzsäure gelöst (es löst sich leicht), und nach 24 Stunden die Säure im Vakuumexsikkator über NaOH verdunstet, entsteht ein schön kristallisierendes Isomeres des Andrographolids, Iso-andrographolid ( $C_{20}H_{30}O_5$ ). Es kristallisiert aus Essigester in Form langer, glasklarer, prismenförmiger Kristalle, die bei  $198-198,5^{\circ}$  schmelzen.

Isoandrographolid reduziert *Tollen's* Reagens, gibt positiven *Legal*-Test, färbt aber methanolisches Alkali nicht mehr rot. Im UV.-Spektrum ist die Bande des Andrographolids bei  $223 m\mu$  verschwunden und im Absorptionsgebiet der ungesättigten Lactone oberhalb  $212 m\mu$  ist in Alkohol keine selektive Absorption feststellbar (vgl. Fig. 1). Nach den Ergebnissen der Mikrohydrierung hat bei der Isomerisierung kein Ringschluss stattgefunden, da noch zwei hydrierbare Doppelbindungen vorhanden sind (die Wasserstoffaufnahme erfolgt stufenlos).

<sup>1)</sup> *L. Ruzicka & J. R. Hosking, Helv. 13, 1402 (1930).*

## Die tertiäre Hydroxylgruppe.

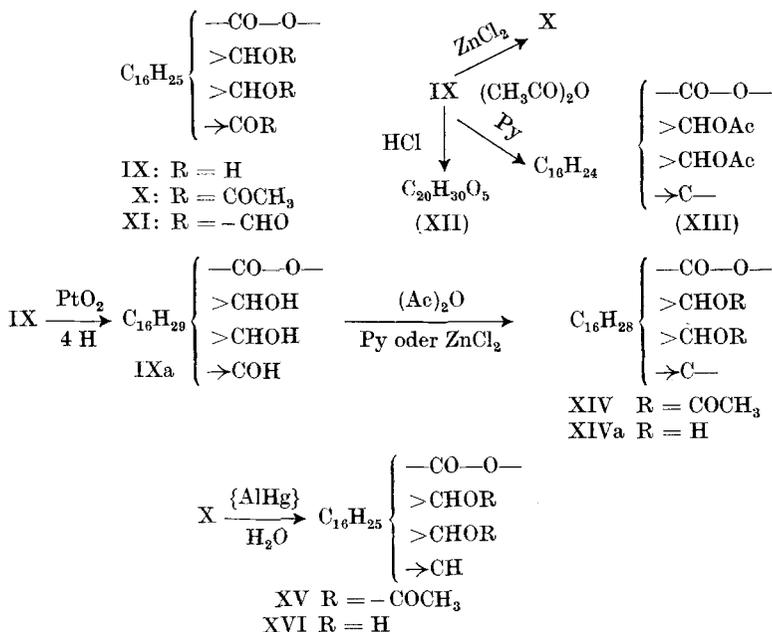
Im Andrographolid (IX) selbst ist die tertiäre Hydroxylgruppe gegenüber sauren Reagenzien verhältnismässig stabil. Wie schon erwähnt, wird sie von Essigsäureanhydrid (mit  $\text{ZnCl}_2$ ) quantitativ acetyliert und von kochender Ameisensäure formyliert, indem als Reaktionsprodukte Triacetyl- und Triformyl-andrographolid (X und XI) entstehen. Sogar von konzentrierter Salzsäure (bei Zimmertemperatur) wird sie nicht als Wasser abgespalten, sondern es entsteht lediglich ein Isomeres (XII) des Andrographolids.

Anders aber verhält sich die tertiäre Hydroxylgruppe gegenüber Pyridin-Essigsäureanhydrid. Wird Andrographolid in Pyridin gelöst und der Lösung Essigsäureanhydrid zugesetzt, so kann in der Kälte schon nach kurzer Zeit eine allmählich stärker werdende, braunrote Färbung beobachtet werden. Als Reaktionsprodukt entsteht ein dunkles Harz, aus dem sich durch chromatographische Analyse eine schön kristallisierte Verbindung in schlechter Ausbeute abtrennen lässt. Diese stellt flache Nadeln dar, schmilzt bei  $162\text{--}163^\circ$  und besitzt die Zusammensetzung  $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_2(\text{OCOCH}_3)_2$  (XIII). Sie ist entstanden durch Abspaltung von Wasser aus Andrographolid und Acetylierung der verbleibenden beiden sekundären Hydroxylgruppen. Dieses Diacetyl-anhydro-andrographolid enthält eine zusätzliche Doppelbindung: bei der Mikrohydrierung verbraucht es drei Molekeln Wasserstoff (stufenlose Anlagerung). Es zeigt positiven *Legal*-Test, färbt aber methanolisches Alkali nicht mehr rot.

Bei der Behandlung von Tetrahydro-andrographolid (IXa) mit Essigsäureanhydrid in Gegenwart von Zinkchlorid oder von Pyridin in der Kälte, entsteht in beiden Fällen dasselbe Reaktionsprodukt in quantitativer Ausbeute. Es ist dies ein zähes, farbloses Öl, das nach dem Filtrieren durch eine Aluminiumoxydschicht (in benzolischer Lösung) fast analysenrein war. Es lässt sich bei einer Blocktemperatur von  $175\text{--}180^\circ$  und einem Drucke von 0,005 mm unzersetzt und ohne Rückstand destillieren. Nach der Analyse enthält die Verbindung keinen aktiven Wasserstoff, besitzt die Bruttoformel  $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2(\text{OCOCH}_3)_2$ , ist somit Diacetyl-anhydro-tetrahydro-andrographolid (XIV). Die Substanz wird von wässerig-alkoholischer Lauge bei Zimmertemperatur leicht zum Anhydro-tetrahydro-andrographolid (XIVa),  $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}_4$ , verseift.

Schon *Gorter* hat die leicht erfolgende, reduktive Entfernung der tertiären Acetoxygruppe des Triacetyl-andrographolids (X) mittels naszierendem Wasserstoff beobachtet. Er hat Triacetyl-andrographolid mit Aluminiumamalgam in Äther behandelt und dabei Diacetyl-desoxy-andrographolid (XV)  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_2(\text{OCOCH}_3)_2$  erhalten. Die Angaben *Gorter's* haben wir bestätigen können. Diacetyl-desoxy-andrographolid (XV) kann alkalisch leicht zum Desoxy-andrographolid

(XVI) verseift werden. Dieses ist etwas leichter löslich als Andrographolid, schmilzt bei 169,5–170° (unkorr.) und absorbiert etwas kürzerwellig ( $\lambda_{\max} = 220 \text{ m}\mu$ ,  $E_{1\text{cm}}^{1\text{m}} = 10200$ ). Es zeigt positiven *Legal*-Test und bleibt, in methanolischer Kalilauge gelöst, farblos.



### Die Lage der tertiären Hydroxylgruppe:

In diesem Abschnitte sollen die aus dem beschriebenen Verhalten der tertiären Hydroxylgruppe sich ergebenden Folgerungen als Arbeitshypothese dargelegt werden. Zum Schlusse werden Oxydationsversuche beschrieben, welche die Lage der „tertiären“ Hydroxylgruppe ausserhalb des hydrierten Naphtalin-Ringsystemes festlegen.

Die starke Rotverschiebung der Absorption bei der Abspaltung von Wasser aus Andrographolid ist eine auffallende Erscheinung. Neben der Bande des Andrographolids bei 223  $\text{m}\mu$  tritt im Spektrum des Diacetyl-anhydro-andrographolids eine neue, scharfe und stärkere Bande bei 299  $\text{m}\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\text{m}} = 10000$ ) auf (siehe Fig. 1). Eine solche Farbvertiefung kann nur dem Einflusse einer verstärkten Konjugation zugeschrieben werden.

Die in der Gegend von 300  $\text{m}\mu$  absorbierenden, ungesättigten Lactone und Säuren leiten sich hauptsächlich von zwei Typen ab:

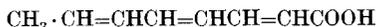
Die erste Gruppe umfasst doppelt ungesättigte Lactone mit  $\alpha$ -Pyron-Struktur, z. B. von der Art des Scillaridins<sup>1)</sup>. Für Anhydro-andrographolid erscheint eine solche Struktur jedoch wenig wahr-

<sup>1)</sup> A. Stoll & A. Hofmann, *Helv.* **18**, 461, 644 (1935).

scheinlich, weil bei der katalytischen Hydrierung solcher Verbindungen in der Regel mehr als die zur Absättigung der Doppelbindungen berechnete Menge Wasserstoffs verbraucht wird. Vom zusätzlichen Wasserstoff wird die Lactongruppierung weiter reduziert, und es entstehen z. B. aus dem Scillaridin Verbindungen vom Cholansäure-Typus.

Ferner zeigen, im Gegensatz zum Diacetylanhydro-andrographolid  $\alpha$ -Pyrone keinen positiven *Legal*-Test (*Stoll*, loc. cit.).

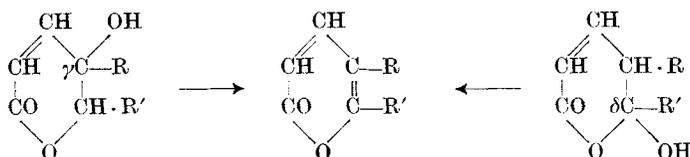
Die zweite Gruppe umfasst dreifach ungesättigte Carboxylverbindungen, die sich von der Octatriensäure



ableiten. Diese Struktur wurde anfänglich ebenfalls für Scillaridin in Betracht gezogen.

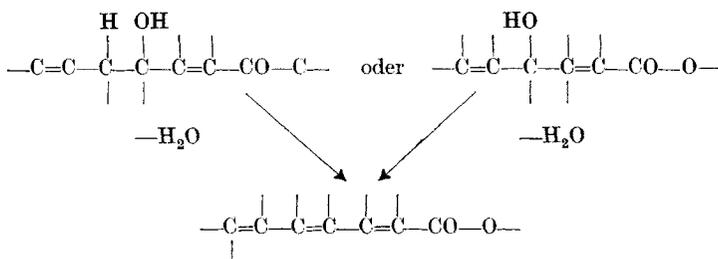
Eine Verbindung mit  $\alpha, \beta$ -ungesättigtem Lactonring, einer isolierten Doppelbindung und einer tertiären Hydroxylgruppe könnte durch Wasserabspaltung

1. in eine Verbindung mit  $\alpha$ -Pyrone-Struktur übergehen, wenn die tertiäre Hydroxylgruppe am  $\gamma$ -C-Atom (Allylstellung) oder am  $\delta$ -C-Atom der Lactongruppierung haftet:



(beim Andrographolid wäre  $\delta$ -Stellung der tertiären Hydroxylgruppe im Dihydro- $\alpha$ -pyronring ausgeschlossen, weil Andrographolsäure nicht Keton-Charakter besitzt).

2. in eine Verbindung der Struktur von der Art der Octatriensäure übergehen, wenn die isolierte Doppelbindung 2 C-Atome von der  $\alpha, \beta$ -Doppelbindung entfernt steht und die tertiäre Hydroxylgruppe an einem der beiden trennenden C-Atome haftet (Allylstellung zur  $\alpha, \beta$ -oder zur isolierten Doppelbindung):

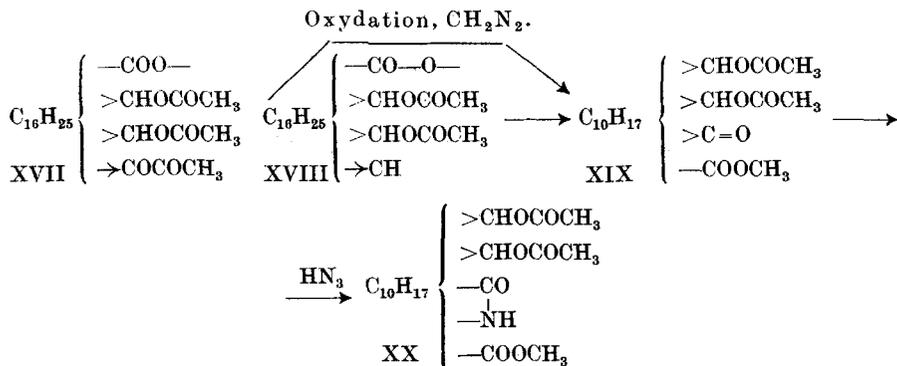


Vorläufig wird das Verhalten des Andrographolids und seiner Derivate am besten durch diese letzten Formelbilder erklärt.

Die angenommene Lage der tertiären Hydroxylgruppe in Allylstellung zu einer der beiden Doppelbindungen vermag — obwohl sie noch nicht bewiesen ist — auch die leicht erfolgende reduktive Entfernung der tertiären Hydroxylgruppe, sowie ihre ebenfalls leicht erfolgende Abspaltung als Wasser zu erklären. Die Rotfärbung alkoholischer Lauge durch Andrographolid ist noch ungeklärt. Sehr wahrscheinlich ist sie durch die tertiäre Hydroxylgruppe und deren besondere Stellung in Bezug auf das Doppelbindungssystem bedingt; denn sie bleibt aus bei Derivaten, deren Doppelbindungen aushydriert sind (Tetrahydro-andrographolid) oder deren tertiäre Hydroxylgruppe entfernt ist (Desoxy-andrographolid, Diacetyl-anhydro-andrographolid). Auch Iso-andrographolid färbt methanolische Kalilauge nicht rot, woraus auf die veränderte Lage der tertiären Hydroxylgruppe, der Doppelbindungen oder beider zu schliessen ist.

Bei der milden Oxydation von Triacetyl-andrographolid (XVII) mit Kaliumpermanganat in Aceton lässt sich ein kristallisierter, gesättigter Ketosäure-methylester (nach Veresterung der Reaktionsprodukte mit Diazomethan) in kleiner Ausbeute isolieren. Es handelt sich bei dieser Verbindung um das Diacetylderivat des Methylesters einer Dioxy-ketosäure  $C_{14}H_{22}O_5$  (XIX, in Bezug auf Einzelheiten sei auf den experimentellen Teil verwiesen).

Nach ihrer Entstehungsweise und ihrer Summenformel zu schliessen enthält diese Säure das hydrierte Naphthalinskelett des Andrographolids sowie dessen zwei sekundäre Hydroxyle. Die Ketogruppe ist in einem Ringe eingebaut, wie das Ergebnis der *Schmidt'schen* Reaktion und die Verseifungsversuche am entstandenen Amid (XX) lehren. Sie steht wahrscheinlich nicht in  $\beta$ -Stellung zur Carboxylgruppe; denn die freie Säure ist stabil und gibt keine Färbung mit Eisen(III)-chlorid. Abgespalten wurden bei der Reaktion 6 C-Atome, darunter wohl der Lactonring oder ein Teil desselben, sowie sicher dasjenige C-Atom, an dem die tertiäre Hydroxylgruppe haftet. Dieser Schluss ist berechtigt, weil dieselbe Ketosäure auch bei der Permanganatoxydation des Diacetyl-desoxy-andrographolids (XVIII) entsteht,



in welcher Verbindung die tertiäre Hydroxylgruppe durch Wasserstoff ersetzt ist.

Die Selendehydrierung (welche mit einer sehr kleinen Stoffmenge ausgeführt werden musste) bot weitgehenden Einblick in die Konstitution des Ketosäureesters XIX. Unter den Dehydrierungsprodukten konnten zwei Naphtalinderivate identifiziert werden. Die Verbindung XIX enthält also sicherlich das hydrierte Naphtalinskelett des Andrographolids.

Wie zu erwarten war, entstanden zur Hauptsache phenolische Produkte, da es sich um die Dehydrierung eines cyclischen Ketones handelte<sup>1</sup>). Durch Sublimation und Kristallisation konnte ein Naphtol-Homologes vom Smp. 161,5–162° rein isoliert werden. Seine spektrographische Untersuchung ergab vollständige Übereinstimmung (bis auf eine Rotverschiebung von ca. 5 m $\mu$  wegen der Alkylsubstitution) mit dem Verhalten des  $\beta$ -Naphtols und deutliche Verschiedenheit vom  $\alpha$ -Naphtol (Fig. 2 und 3). Dadurch war die Lage der phenolischen Hydroxylgruppe in  $\beta$ -Stellung und somit auch die Lage der Ketogruppe im Ausgangsmaterial festgelegt.

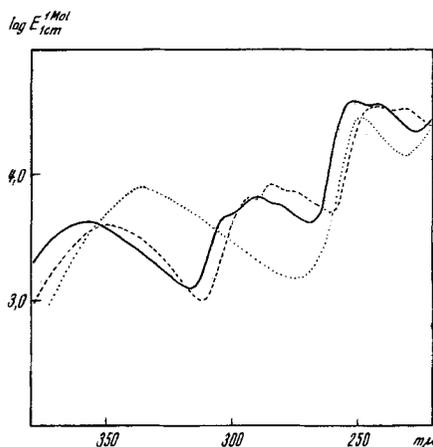


Fig. 2.

Spektren von 1,5-Dimethyl-6-oxy-naphtalin —,  $\beta$ -Naphtol - - - und  $\alpha$ -Naphtol ..... in Alkohol (neutral).

Die Hydrierung von 6,9 mg des Naphtols mit Platin und Wasserstoff in Eisessig führte zum entsprechenden Dekalol. Die Menge des verbrauchten Wasserstoffes entsprach genau einem Naphtolhomologen mit 2-CH<sub>2</sub>-Gruppen, vermutlich einem Dimethyl- $\beta$ -naphtol.

Das Hydrierungsprodukt liess sich mit Pd-Kohle bei 300° dehydrieren, wobei ein teilweise kristallisierendes Reaktionsprodukt erhalten wurde. Eine Sublimation und zwei Kristallisationen lieferten

<sup>1</sup>) L. Ruzicka & E. Mörgele, Helv. **19**, 377 (1936).

0,5 mg 1,5-Dimethylnaphtalin (durch Schmelzpunkt, Mischschmelzpunkt und Spektrum charakterisiert<sup>1)</sup>).

Das Naphtol ist also das 1,5-Dimethyl-6-oxy-naphtalin, welches schon bei der Dehydrierung von Keto-trioxy-abietinsäure erhalten worden war<sup>2)</sup>. (Smp. 162°, das isomere 1,5-Dimethyl-7-oxy-naphtalin schmilzt bei 152°).

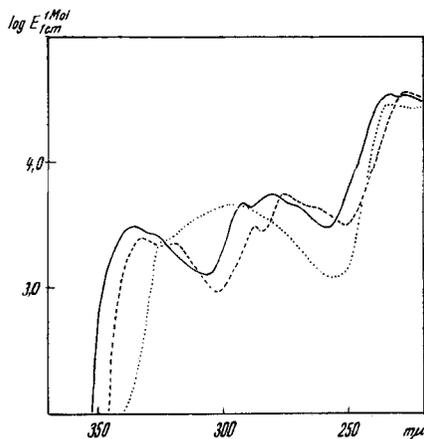
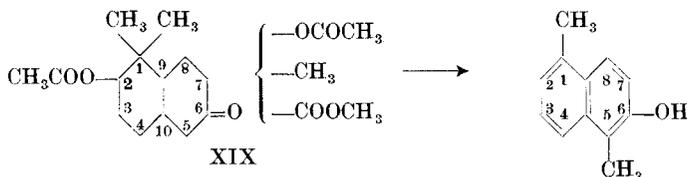


Fig. 3.

Spektren von 1,5-Dimethyl-6-oxy-naphtalin —,  $\beta$ -Naphtol - - - und  $\alpha$ -Naphtol ..... in 0,01-n. alkoholischer NaOH.

Die aus der Selendehydrierung des Ketoesters XIX isolierte Kohlenwasserstofffraktion enthielt ebenfalls 1,5-Dimethyl-naphtalin.

Die Entstehung des Naphtols aus dem Ketosäureester XIX lässt sich folgendermassen erklären:



Die angenommene geminale Methylgruppe am Kohlenstoffatom 1 wird abgespalten und unterliegt keiner Retropinakolin-Umlagerung, weil die Hydroxylgruppe in 2-Stellung verestert ist<sup>3)</sup>.

Die Methylgruppe in 5-Stellung des Naphtols könnte durch Reduktion der Carboxylgruppe<sup>4)</sup> oder aus deren Ersatz durch eine

<sup>1)</sup> Auch dieses Vergleichspräparat verdanken wir Herrn Dr. O. Jeger.

<sup>2)</sup> L. Ruzicka & L. Sternbach, *Helv.* **23**, 355 (1940); L. Ruzicka & Ed. Rey, *Helv.* **26**, 2136 (1943).

<sup>3)</sup> L. Ruzicka & A. H. Lamberton, *Helv.* **23**, 1341 (1940); L. Ruzicka & G. Rosenkranz, *Helv.* **23**, 1318 (1940).

<sup>4)</sup> A. Windaus & W. Thiele, *A.* **521**, 160 (1936).

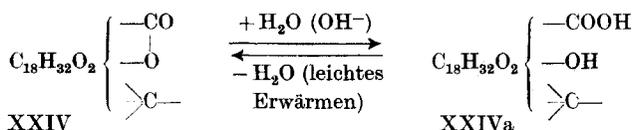
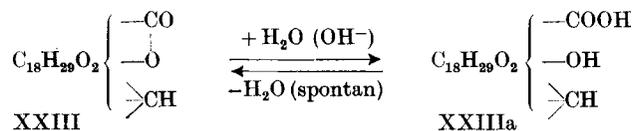
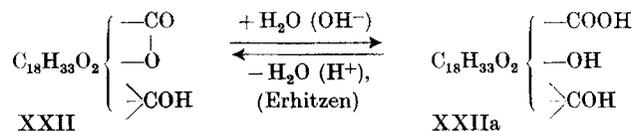
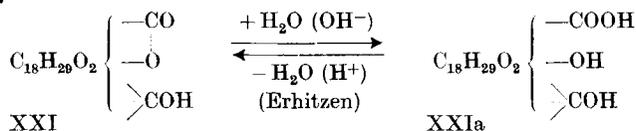
Methylgruppe in 10-Stellung des Ketosäureesters hervorgegangen sein. Diesen Möglichkeiten widerspricht allerdings der Befund, dass der Ketosäureester keine Reaktionen einer  $\beta$ -Ketocarbonsäure gibt. Bis zur endgültigen Aufklärung dieser Fragen wird man vorläufig in 5-Stellung des Ketoesters XIX eine Methylgruppe oder eine Carboxymethylgruppe annehmen müssen.

### Der Lactonring.

Über die Gliederzahl und den Bau des Lactonringes des Andrographolid ist bis jetzt noch nichts bekannt. Die Versuche, die wir angestellt haben, um in diese Verhältnisse Einblick zu bekommen, beschränkten sich (neben der bereits beschriebenen Ermittlung der  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Natur) auf das Öffnen und Schliessen des Lactonringes verschiedener Abkömmlinge des Andrographolid.

Mit wässriger Natronlauge lassen sich alle untersuchten Verbindungen (Andrographolid XXI, Tetrahydro-andrographolid XXII, Desoxy-andrographolid XXIII und Anhydro-tetrahydroandrographolid XXIV) leicht zu den zugehörigen Säuren aufspalten, welche sich wiederum mehr oder weniger leicht zu den Ausgangsverbindungen lactonisieren lassen. Die Beständigkeit der Oxyssäuren in freier Form hängt weitgehend vom Vorhandensein der tertiären Hydroxylgruppe in der Molekel ab.

Ist die tertiäre Hydroxylgruppe vorhanden, wie bei der Andrographolsäure (XXIa) und der Tetrahydro-andrographolsäure (XXIIa), so muss man die Säuren zur Lactonisierung längere Zeit über ihren Schmelzpunkt erhitzen oder in alkoholischer Lösung mit Schwefelsäure erwärmen.



Fehlt jedoch die tertiäre Hydroxylgruppe, so tritt die Lactonisierung viel leichter ein. Die Desoxy-andrographolsäure (XXIIIa), (durch Verseifung von Diacetyl-desoxy-andrographolid) konnte in Substanz gar nicht gefasst werden. Bei der vorsichtigen Neutralisation der wässrigen Lösung ihres Natriumsalzes geht sie spontan in Desoxy-andrographolid über. Die Anhydro-tetrahydro-andrographolsäure (XXIVa, Verseifung von Diacetyl-anhydro-tetrahydro-andrographolid) konnte noch gefasst werden. Aber auch sie lactonisiert sich schon beim vorsichtigen Umkristallisieren. Die Säure schmilzt bei ungefähr 85–90°, die Schmelze wird beim weiteren Erhitzen wieder fest, um bei 145° nochmals zu schmelzen (Smp. des reinen Lactons 154°).

Aus diesen Versuchen geht wiederum die enge Beziehung zwischen tertiärer Hydroxylgruppe und Lactonring hervor. Offensichtlich übt die tertiäre Hydroxylgruppe eine Hinderung auf den Lacton-Ringschluss aus.

### Experimenteller Teil.

Andrographolid. Umkristallisieren aus Alkohol, Trocknen im Hochvakuum bei 100° während 2 Stunden.

$C_{20}H_{30}O_5$	Ber. C 68,54	H 8,63	3 akt. H 0,86%
(350,44)	Gef. „ 68,52; 68,28	„ 8,86; 8,83	„ „ 0,716; 1,021%

Lactontitration. 106 mg Andrographolid und 10,0 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH wurden in 20 cm<sup>3</sup> Alkohol 1 Stunde zum Sieden erhitzt. Ein Parallelversuch wurde ohne Andrographolid durchgeführt. Nach dem Erkalten hat man die unverbrauchte Lauge mit 0,1-n. HCl gegen Phenolphthalein zurücktitriert. Verbrauch 2,95 cm<sup>3</sup>, berechnet 3,02 cm<sup>3</sup>.

Pyrazolinderivat aus Andrographolid. 30 mg Andrographolid wurden in einem Gemisch von Dioxan und Äther gelöst und bei Zimmertemperatur während 15 Stunden mit einem Überschuss von Diazomethan behandelt. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels im Vakuum haben wir den farblosen, harzigen Rückstand mit wenig Äther unter Druck auf 80° erhitzt. Die Kristallisation war nach 3 Stunden beendet. Umkristallisieren aus Alkohol. Derbe Kristallnadeln, Smp. 228–230° u. Z.

$C_{21}H_{32}O_5N_2$	Ber. C 64,26	H 8,21	N 7,13%
(392,5)	Gef. „ 64,25	„ 8,45	„ 7,13%

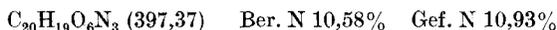
Dehydrierung von Andrographolid mittels Selen: „Andrographen“. 1 g Andrographolid wurde mit 1 g Selen im Bombenrohr während 4 Stunden auf 300° erhitzt und weitere 5 Stunden bei 310–320° belassen. Den Inhalt des abgekühlten Rohres hat man in Äther aufgenommen, wobei 600 mg braune, harzige Substanz in Lösung gingen. Nach dem Verdampfen des Äthers wurde der Rückstand mit Hexan ausgezogen und der Hexanauszug durch 3 g Aluminiumoxyd filtriert. Nach dem Abdestillieren des Hexans hinterblieben 190 mg hellgelbes Öl, welche bei 90°/0,01 mm überdestillierten. Ausbeute 160 mg, das sind 30% der Theorie. Zur Analyse wurde das „Andrographen“ über das Trinitrobenzolat gereinigt und destilliert.

$C_{14}H_{16}$ (184,14)	Ber. C 91,27	H 8,74%	Gef. C 91,45	H 8,84%
-------------------------	--------------	---------	--------------	---------

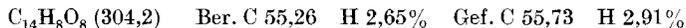
Pikrat des „Andrographens“: 30 mg „Andrographen“ wurden in 0,2 cm<sup>3</sup> Benzol gelöst und mit der Lösung von 40 mg Pikrinsäure in 1 cm<sup>3</sup> Benzol versetzt. Die tiefrote Lösung hat man im Vakuum verdampft und den Rückstand aus 1 cm<sup>3</sup> Alkohol umkristallisiert. Lange, rote Nadeln, deren Schmelzpunkt beim weiteren Umkristallisieren konstant bei 130–130,5° (korr.) blieb Trocknen während 2 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur. Ausbeute 60 mg.

$C_{20}H_{19}O_7N_3$	Ber. C 58,11	H 4,63	N 10,17%
(413,37)	Gef. „ 58,38	„ 5,03	„ 10,27%

Trinitrobenzolat des „Andrographens“: Zu 190 mg unreinem Andrographen (Hexanauszug) wurde die warme alkoholische Lösung von 300 mg Trinitrobenzol zugefügt. Beim Abkühlen schieden sich 320 mg haarfeine, lange, gelbe Nadeln aus. Ausbeute 96%. Nach dem Trocknen bei Zimmertemperatur im Hochvakuum wurde das Trinitrobenzolat analysiert. Smp. 134° u. Z. (korr.).



Oxydation des „Andrographens“. 300 mg „Andrographen“ wurden mittels eines schnellen Rührwerkes in einer Mischung von 12 g rotem Blutlaugensalz und 2,1 g Kalilauge in 100 cm<sup>3</sup> Wasser suspendiert. Diese Mischung haben wir 10 Tage bei 60–70° gerührt, wobei man an jedem zweiten Tage die gleiche Menge Kaliumferricyanid und Kalilauge wie zu Beginn zusetzte. Nach 8 Tagen war das Öl verschwunden. Zum Schlusse wurde die Flüssigkeit alkalisch ausgeäthert; dabei konnten aber keine Neutralstoffe abgetrennt werden. Nach dem Ansäuern der wässrigen Phase mit HCl bis pH = 2 liessen sich durch Extraktion mit Chloroform ölige Säuren entfernen, danach konnte durch kontinuierliche Extraktion mit Äther 120 mg fast farblose, feste Substanz isoliert werden. Diese festen Säuren wurden unter Zusatz von Kohle mehrmals aus Wasser umkristallisiert, wobei man zugespitzte, plättchenförmige Kristalle erhielt. Im geschlossenen Schmelzpunktsröhrchen erhitzt, begann die Substanz bei 250° zu sublimieren und erst bei 355° unter Zersetzung zu schmelzen. Zur Analyse wurde sie während 12 Stunden im Hochvakuum bei Zimmertemperatur getrocknet.



Die Säure löst sich unter Aufbrausen in Natriumhydrogencarbonat-Lösung.

Zur weiteren Identifizierung haben wir die Säure in ihr Di-anhydrid übergeführt. 6 mg der Säure wurden mit der freien Flamme im Wasserstrahlvakuum sublimiert, wobei das kristalline, in kalter Sodalösung unlösliche Di-anhydrid (4 mg) entstand. Bezüglich des Schmelzpunktes verhält sich dieses wie die Säure.



Es handelt sich bei diesen Oxydationsprodukten um eine Naphtalin-tetracarbonsäure und ihr Di-anhydrid.

Isolierung von 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin aus „Andrographen“. 100 mg Trinitrobenzolat des „Andrographens“ wurden mit 10 g Aluminiumoxyd innig verrieben und auf eine Säule von 40 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) geschichtet. Zur Zerlegung der Additionsverbindung und zur Elution des Kohlenwasserstoffes haben wir Petroläther vom Sdp. 36–40° verwendet. Das Filtrat wurde in Fraktionen von je 3 cm<sup>3</sup> aufgefangen.

Nr. der Fraktionen	Eluat
1–4	—
5–6	Wenig farbloses Öl.
7–10	Öl, mit Kristallnadeln durchsetzt, Hauptmenge.
11–14	Öl, mit Kristallnadeln und -platten durchsetzt, geringe Menge.

Die Fraktionen 7–10 wurden vereinigt und aus 0,07 cm<sup>3</sup> Methanol umkristallisiert. Die farblosen Kristallnadeln (ca. 5 mg) hat man auf der Zentrifuge abfiltriert und mit wenig Lösungsmittel gewaschen. Bei 101° erweichte die Substanz und bei 112° verschwanden die letzten Kristalle. Drei gleiche Kristallisationen erhöhten den Smp. auf 112–114°; durch Sublimation im Wasserstrahlvakuum (Blocktemperatur 85°) wurde er nicht verändert.

Vergleich mit authentischem 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin:

	Kristalle	Smp.	Mischsmp.
Authentisches Präparat*) . . .	flache Nadeln	115–116°	113–115°
Präparat aus „Andrographen“:	flache Nadeln	112–114°	

Die Trinitrobenzolate beider Präparate schmolzen bei 180°.

Die Absorptionsspektren der beiden Verbindungen zeigen dieselben Bande bei 287, 315, 322 und 330 m $\mu$ .

Einwirkung von Ameisensäure auf Andrographolid. Selendehydrirung des entstandenen Produktes. 1 g Andrographolid wurde während 3 Stunden mit 10 cm<sup>3</sup> 85-proz. Ameisensäure zum Sieden erhitzt, die Lösung darauf in Wasser gegossen und mit Essigester extrahiert. Das Reaktionsprodukt haben wir im Bombenrohr mit 1 g Selen 8 Stunden lang auf 310° erhitzt. Nach dem Abkühlen zog man den Rohrinhalt mit Äther aus, verdampfte den Äther und extrahierte den Rückstand mit Petroläther. Die gelbe Petrolätherlösung haben wir an 7 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert und mit je 50 cm<sup>3</sup> Petroläther zwei Fraktionen durchgewaschen. Die Fraktionen wurden im Kugelrohr destilliert.

1. Eluat, fraktionierte Destillation:

Fraktion 1: Sdp.<sub>28</sub> = 125–130° (Badtemperatur), 90 mg

Fraktion 2: Sdp.<sub>11</sub> = 105–115° (Badtemperatur), 90 mg

Fraktion 3: Sdp.<sub>0,07</sub> = 135–140° (Badtemperatur), 10 mg

Fraktion 4: Sdp.<sub>0,05</sub> = 160–170° (Badtemperatur), 10 mg

2. Eluat, fraktionierte Destillation:

Fraktion 5: Sdp.<sub>0,005</sub> = 170° (Badtemperatur), 10 mg

Die Fraktionen 1 und 2 wurden vereinigt und wieder destilliert: Sdp.<sub>11</sub> = 105–115°. Die Fraktionen 3, 4 und 5 gemischt, destillierten bei 160–170°/0,05 mm.

Die Substanz vom Sdp.<sub>11</sub> = 105–115° lieferte ein rotes Pikrat, das aus „Andrographenpikrat“ bestand (Kristallisation aus Alkohol): Smp. 130–130,5°.

C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub> (413,3) Ber. C 58,11 H 4,63% Gef. C 58,39 H 4,66%

Aus den alkoholischen Mutterlaugen liessen sich 5 mg eines Pikrates (braunrot) vom Smp. 140–142° (korr.) isolieren – es dürfte sich um ein noch unreines Homologes des „Andrographens“ handeln; spektroskopisch ist ein Phenanthrenderivat ausgeschlossen ( $\lambda_{\max}$  = 290 m $\mu$ ).

C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>, Pikrat von C<sub>15</sub>H<sub>18</sub> Ber. C 59,04 H 4,92%  
(427,3) Gef. „ 58,88 „ 4,46%

Die Fraktion vom Sdp.<sub>0,05</sub> = 160–170° lieferte neben sehr wenig Andrographenpikrat eine kleine Menge eines Pikrates vom Smp. 144–146° (korr.) von braunroter Farbe. Die Analyse deutet auf ein Homologes des „Andrographens“ hin, das Spektrum des Kohlenwasserstoffes schliesst ein Phenanthrenderivat aus.

C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>, Pikrat von C<sub>17</sub>H<sub>22</sub> Ber. C 60,68 H 5,50%  
(455,3) Gef. „ 60,50 „ 5,01%

Triformyl-andrographolid. 500 mg Andrographolid mit Ameisensäure nach Gorter<sup>1)</sup> behandelt lieferten 15 mg in Alkohol sehr schwer lösliche Kristalle, welche aus viel Alkohol umkristallisiert bei 241–215° schmolzen.

C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>8</sub> (434,25) Ber. C 63,60 H 6,91% Gef. C 63,71 H 7,65%

\*) Herrn Dr. O. Jeger (ETH.) sind wir für die freundliche Überlassung der Substanz zu Dank verpflichtet.

<sup>1)</sup> M. K. Gorter, R. 33, 239 (1914).

Als Hauptprodukt entstand bei der Reaktion ein glasiges Harz, welches in Alkohol leichter löslich war und folgende Analysenwerte lieferte:

Gef. C 64,28 H 7,43%

0,285 g Harz in Alkohol-Wasser (1:4) aufgeschlämmt, verbrauchten gegenüber einer Blindprobe in 12 Stunden bei 40° 23,20 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH. Berechnet für ein Molekulargewicht von 434 und 4 Säuregruppen: 26,25 cm<sup>3</sup>, für 3 Säuregruppen 19,7 cm<sup>3</sup>. Verbrauch entsprechend 3,54 Säuregruppen.

Iso-andrographolid. 200 mg Andrographolid wurden in 3,5 cm<sup>3</sup> kalter, konzentrierter Salzsäure gelöst. Nach 24 Stunden Aufbewahren bei Zimmertemperatur wurde die Säure im Vakuumexsikkator über NaOH verdunstet. Der ölige Rückstand kristallisierte beim Verreiben mit wenig Methanol. Durch häufiges Umkristallisieren aus diesem Lösungsmittel liess sich ein Schmelzpunkt von 195—196° erreichen. Durch Kristallisation aus Essigester stieg dieser auf 198—198,5°. Prismenförmige, durchsichtige Kristalle. Trocknen 2 Stunden bei 110°/0,01 mm.

C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (350,4) Ber. C 68,54 H 8,63% Gef. C 68,79 H 8,67%

Die Substanz schmeckt bitter, reduziert *Tollen's* Reagenz, gibt violetten *Legal*-Test und färbt methanolische Kalilauge (5-proz.) nicht.

Tetrahydro-andrographolid. Eine Lösung von 108,7 mg Andrographolid in 5 cm<sup>3</sup> Alkohol verbrauchte bei der katalytischen Hydrierung mit Platin innerhalb von 40 Minuten 16,40 cm<sup>3</sup> Wasserstoff (729 mm, 18,8°), was 2,09 Mol. H<sub>2</sub> entspricht. Das Tetrahydroderivat wurde aus Äther kristallisiert, wobei farblose, kleine Kristalle entstanden. Bei der Kristallisation aus Essigester-Benzol erhielten wir die Substanz in Form von langen Nadeln, die nach leichtem Sintern bei 180° unscharf bei 188° schmolzen. Trocknen 2 Stunden bei 100°/0,01 mm.

C<sub>20</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> (354,5) Ber. C 67,77 H 9,66% Gef. C 67,38 H 9,56%

Tetrahydro-andrographolsäure. 200 mg Tetrahydro-andrographolid wurden mit 4 cm<sup>3</sup> 2-n. NaOH bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach 4 Stunden war eine klare Lösung entstanden. Unter Kühlung wurden nun 5 cm<sup>3</sup> 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugegeben und die ausgeschiedenen Kristalle abgetrennt. Die Tetrahydro-andrographolsäure wurde mehrmals aus Essigester umkristallisiert und dabei in Form kleiner, farbloser Nadeln vom (unscharfen) Smp. 141° (Erweichen bei 138°) erhalten. Trocknen 2 Stunden bei 50°/0,005 mm.

C<sub>20</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub> (372,5) Ber. C 64,49 H 9,74% Gef. C 64,42 H 9,12%

Ein Teil der Substanz wurde in 2 cm<sup>3</sup> Alkohol, dem ein Tropfen konz. Schwefelsäure zugesetzt worden war, 2 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Darauf hat man den Alkohol i. V. z. T. verdampft und Wasser zugesetzt. Das ausfallende Öl wurde in Essigester aufgenommen, die Lösung mit Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel bis auf einen kleinen Teil i. V. entfernt, der Rückstand heiss mit Benzol versetzt und die Lösung in der Siedehitze eingengt, bis Kristallisation einsetzte. Schmelzpunkt der farblosen Nadeln 188°; mit Tetrahydro-andrographolid keine Depression.

#### Versuche zur partiellen Hydrierung des Andrographolids.

Reduktionsmittel	Lösungs- mittel	Ergebnis
Zn + HCl . . . . .	Alkohol	Andrographolid
Pd-Kohle, mit Chinolin behandelt + Wasserstoff . . . . .	Alkohol	Keine Wasserstoffaufnahme
Pd-Kohle (5-proz.), H <sub>2</sub> (1 Mol) .	Alkohol	Andrographolid + Tetrahydro- andrographolid
Pd-BaSO <sub>4</sub> (8-proz.), H <sub>2</sub> (1 Mol)	Alkohol	Andrographolid + Tetrahydro- andrographolid

Oxydation von Andrographolid mit Benzopersäure. 2 g reinstes Andrographolid wurden fein verrieben und in 350 cm<sup>3</sup> Chloroform aufgeschlämmt. Nach Zugabe der 1,1 molaren Menge an Benzopersäure hat man das Reaktionsgemisch 1,5 Stunden zum Sieden erhitzt, wobei der grösste Teil des Oxydationsmittels verbraucht und viel Andrographolid gelöst wurde. Nach Zusatz der gleichen Menge Oxydationsmittel erhitzte man 2 weitere Stunden zum Sieden. Nach Abfiltrieren von 0,1 g unverbrauchtem Andrographolid wurde die Lösung mit Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und das Chloroform im Vakuum entfernt. Es hinterblieben 1,4 g farbloses Öl, welches in heissem Essigester aufgenommen wurde. Beim Erkalten der filtrierten Lösung schied sich 610 mg rohes  $\alpha$ -Andrographolid-oxyd aus und nach dem Einengen der Lösung kristallisierten 110 mg rohes  $\beta$ -Andrographolid-oxyd. Durch mehrmaliges Umkristallisieren erhielten wir die beiden Formen in reinem Zustande: das  $\alpha$ -Isomere schmolz bei 177° (Würfel und Prismen), das  $\beta$ -Isomere bei 164° (Nadeln, Sterne). Der Mischschmelzpunkt lag bei 155–175°.

Das farblose Harz, welches beim Verdampfen der Mutterlaugen zurückblieb, zeigte, wie auch die beiden kristallisierten Oxyde, positiven *Legal*-Test. Es wurde mit wenig Essigester kalt verrieben, wobei ein kleiner Teil des Öles in Lösung ging. Den Rückstand kochte man mehrmals mit Äther aus und verdampfte die einzelnen Auszüge, wobei feste, amorphe Substanzen erhalten wurden.

Nach dem Trocknen bei 100°/0,01 mm während 2 Stunden ergab die Analyse:

$C_{20}H_{30}O_6$	Ber. C 65,55	H 8,28%		
(366,4)	Gef. $\alpha$ -Oxyd (Smp. 177°)	C 65,21	H 8,19%	
	$\beta$ -Oxyd (Smp. 164°)	„ 65,77	„ 8,16%	
	Harze, 1. Auszug	„ 63,19	„ 8,07%	
	Harze, 3. Auszug	„ 61,84	„ 7,82%	

Spezifische Drehungen:

$\alpha$ -Isomeres:  $[\alpha]_D^{16} = -102,1^\circ$  (c = 0,78, d = 1, Pyridin)

$\beta$ -Isomeres:  $[\alpha]_D^{16} = -90,6^\circ$  (c = 0,569, d = 1, Pyridin)

Triacetyl-andrographolid. 20 mg Andrographolid wurden, fein verrieben, in 0,7 cm<sup>3</sup> frisch destilliertes Essigsäureanhydrid aufgeschlämmt und ein Körnchen ZnCl<sub>2</sub> beigemischt. Nach 30 Stunden war eine farblose Lösung entstanden. Sie wurde mit 2 cm<sup>3</sup> Wasser geschüttelt, um das überschüssige Essigsäureanhydrid zu zersetzen; dabei schied sich das acetylierte Produkt in Kristallen aus. Diese hat man abfiltriert und aus Äther und 50-proz. Alkohol umkristallisiert. Ausbeute: 27 mg 2–4 mm lange, dünne Kristallnadeln vom Smp. 126–126,5°. Trocknen 2 Stunden bei 75°/0,01 mm.

$C_{26}H_{36}O_8$  (476,5) Ber. C 65,54 H 7,62% Gef. C 65,55 H 7,81%

Diacetyl-anhydro-andrographolid. 335 mg Andrographolid wurden in 3 cm<sup>3</sup> trockenem Pyridin gelöst und unter Kühlung 2 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid zugefügt. Innerhalb von 5 Minuten begann sich die Lösung braun zu färben. Nach 16 Stunden bei Zimmertemperatur wurde mit Chloroform verdünnt und die Lösung mit eiskalter, verdünnter Schwefelsäure, dann mit kalter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und zuletzt mit Wasser gewaschen. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels haben wir das verbleibende, dunkel gefärbte Öl (470 mg) in 5 cm<sup>3</sup> heissem Alkohol aufgenommen. Nach dem Behandeln mit Tierkohle schied sich stark verunreinigte Kristalle ab. Sie wurden in Benzollösung durch eine kleine Säule von Aluminiumoxyd filtriert und aus Alkohol umkristallisiert. Nadeln vom Smp. 162–163°, leicht löslich in Benzol, Chloroform und Essigester, schwerer in Äther und Alkohol. Trocknen 2 Stunden bei 75°/0,01 mm.

$C_{24}H_{32}O_6$  (420,50) Ber. C 69,20 H 7,74% Gef. C 69,22 H 7,59%

Aus der ersten, dunkel gefärbten, alkoholischen Mutterlauge liessen sich durch Chromatographie keine Kristalle mehr gewinnen.

Oxydation von Tetrahydro-andrographolid mit Chromsäure. Die Lösung von 840 mg Tetrahydro-andrographolid in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig wurde mit einer Lösung von 500 mg CrO<sub>3</sub> in verdünnter Essigsäure (6 cm<sup>3</sup> Wasser, 3 cm<sup>3</sup> Eisessig) versetzt und 30

Stunden bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Zuletzt hat man die rot schillernde Lösung 1 Stunde auf 40° erwärmt und wie üblich aufgearbeitet, wobei 650 mg in Aceton leicht lösliche Substanz anfielen. In 4 cm<sup>3</sup> heissem Alkohol gelöst, schied das Öl 110 mg nadelförmige Kristalle vom Smp. 170—175° aus. Diese lieferten beim Umkristallisieren aus Alkohol 80 mg lange, nadelförmige Kristalle vom Smp. 192,5—194,5° (unter leichter Zersetzung). Durch Kristallisation konnte der Schmelzpunkt nicht weiter verändert werden. Trocknen 2 Stunden bei 100°/0,01 mm.

C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	Ber. C 68,54	H 8,63	Akt. H 0,288%
(350,4)	Gef. ,, 68,61	„ 8,66	„ „ 0,258%

Nach der Analyse ist die Verbindung ein Diketon mit einer (tertiären) Hydroxylgruppe.

Aus den Mutterlaugen der Kristallisation wurden Öle gewonnen, aus denen sich kein Semicarbazon abscheiden liess. Bei der Oxydation mit CrO<sub>3</sub>-Eisessig-verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (½ Stunde bei 35°) änderten sich die Eigenschaften nicht.

Diacetyl-anhydro-tetrahydro-andrographolid. 100 mg Tetrahydro-andrographolid, 1,0 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid und 0,2 cm<sup>3</sup> Pyridin wurden vermischt und verschlossen bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach 20 Stunden erwärmte man die farblose Lösung 1 Stunde lang auf 40°, vertrieb nach dem Entfernen der Lösungsmittel im Vakuum den Rückstand mit wenig Wasser und Pyridin und arbeitete das Reaktionsgemisch in der üblichen Weise auf. Das sehr zähe Öl war leicht löslich in Alkohol, Äther und Benzol. Es wurde in Benzollösung an 3 g Aluminiumoxyd (neutral, Aktivität II) chromatographiert. Die Substanz erschien in den ersten Eluaten. Zur Analyse wurde sie im Hochvakuum (0,005 mm) bei einer Blocktemperatur von 175—180° destilliert. Äusserst zähes, farbloses Öl, das bisher nicht kristallisierte.

C <sub>24</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub>	Ber. C 68,54	H 8,63	Akt. H 0,000%
(420,53)	Gef. ,, 68,99	„ 9,16	„ „ 0,077%

Anhydro-tetrahydro-andrographolid. 150 mg Diacetyl-anhydro-tetrahydro-andrographolid wurden mit 3 cm<sup>3</sup> 2-n. NaOH und 2 cm<sup>3</sup> Alkohol 18 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten und dann 1 Stunde lang auf 80° erhitzt. Beim Kühlen und Ansäuern mit 4 cm<sup>3</sup> 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> schieden sich Kristallnadeln der Säure ab, die bei 85—90° schmolzen, infolge Lactonbildung bei 100° wieder fest wurden, um bei 145° erneut zu schmelzen.

Die Substanz wurde, nachdem sie säurefrei gewaschen worden war, aus 30-proz. Alkohol umkristallisiert, wobei sich das Lacton bildete. Nach wiederholter Kristallisation blieb der Schmelzpunkt bei 152—153°, nach Kristallisation aus Benzol-Äther war eine nur bei der Analyse sich bemerkbar machende, kohlenstoffreichere Verunreinigung abgetrennt (vgl. auch die Analyse von Diacetyl-anhydro-tetrahydro-andrographolid). Flache Nadeln, Smp. 154°. Trocknen 2 Stunden bei 100°/0,005 mm.

C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> (336,48)	Ber. C 71,40	H 9,58%	Gef. C 71,39	H 9,48%
---	--------------	---------	--------------	---------

Desoxy-andrographolid. 100 mg fein verriebenes Diacetyl-desoxy-andrographolid wurden in 4 cm<sup>3</sup> 1-n. NaOH, welche einige Tropfen Alkohol enthielten, aufgeschlämmt. Unter häufigem Umschütteln erwärmte man solange, bis die Substanz in Lösung gegangen war. Nun neutralisierte man die Lösung unter Eiskühlung sorgfältig mit verdünnter Schwefelsäure und wusch die ausgefallene, kristalline Verbindung mit viel Wasser. Lactonisierung war bereits eingetreten; die Kristalle lösten sich nicht mehr in Sodalösung. Aus Essigester umkristallisiert, stellte die Substanz kleine Nadelbüschel dar, die bei 167,5° schmolzen. Sie zeigte starken, violetten Legal-Test und war bei 160°/0,01 mm sublimierbar. Nach der Sublimation lag der Smp. bei 169,5—170°.

C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> (334,4)	Ber. C 71,88	H 8,98%	Gef. C 71,44	H 8,78%
--	--------------	---------	--------------	---------

Ozonisierung von Triacetyl-andrographolid. 1 g Triacetyl-andrographolid wurde in Tetrachlorkohlenstoff bei 0° mit einem Überschuss an Ozon behandelt. Ein Teil des Ozonides war im Verlaufe der Reaktion ausgefallen, ein anderer Teil schied sich beim vorsichtigen Verdampfen des Lösungsmittels aus. Das ölige Ozonid wurde mit Wasser zerlegt und mit Wasserdampf destilliert. Aus dem Destillat konnten 15 mg Formaldehyd als Dimedonderivat isoliert werden (eine Blindprobe mit Lösungsmittel allein ergab keinen Formaldehyd).

Nach dem Ansäuern mit Salzsäure wurde der Rückstand gründlich ausgeäthert. In der wässerigen Schicht liess sich Oxalsäure als Calciumsalz nachweisen. Die im Äther gelösten Säuren zeigten keine Reaktion mit  $\text{FeCl}_3$  und wurden, da ihre Menge sehr gering war, mit den Säuren vereinigt, welche durch Verdampfen der wässerigen Schicht gewonnen worden waren. Diese Säuren haben wir mit Diazomethan verestert. Mit wenig Petroläther liess sich Oxalsäure-dimethylester ausziehen. Alle übrigen Säureester (730 mg) waren petrolätherunlöslich und wurden mit Essigsäureanhydrid und Pyridin in der Kälte in üblicher Weise acetyliert. Das acetylierte Estergemisch haben wir nach gründlichem Trocknen mit Benzol an 15 g Aluminiumoxyd (neutral, Aktivität II) chromatographiert:

- |   |                                       |
|---|---------------------------------------|
| 1. 25 cm <sup>3</sup> Benzol . . . . .        | 10 mg farbloses Öl                    |
| 2. 20 cm <sup>3</sup> Benzol . . . . .        | 100 mg Öl, teilweise kristallisierend |
| 3. 20 cm <sup>3</sup> Benzol-Essigester (4:1) | 110 mg Öl                             |
| 4. 20 cm <sup>3</sup> Benzol-Essigester (4:1) | 100 mg Öl                             |
| 5. 20 cm <sup>3</sup> Äther . . . . .         | 100 mg Öl                             |
| 6. 20 cm <sup>3</sup> Äther . . . . .         | —                                     |

Den Rückstand des Eluates Nr. 2 haben wir an 5 g Aluminiumoxyd gleicher Aktivität aus Benzol-Lösung nochmals chromatographiert und Fraktionen von 2,5 cm<sup>3</sup> aufgefangen:

- |                               |                               |
|-------------------------------|-------------------------------|
| 1. 12 mg Öl                   | 4. 15 mg Öl, kristallisierend |
| 2. 25 mg Öl, kristallisierend | 5. 10 mg Öl, kristallisierend |
| 3. 10 mg Öl, kristallisierend | 6. 20 mg Öl, kristallisierend |

Aus Petroläther mehrmals kristallisiert stellte die kristalline Substanz lange, flache Nadeln dar, die bei 119,5° schmolzen. Trocknen 2 Stunden bei 180° im Hochvakuum. Die öligen Fraktionen haben bisher nicht kristallisiert.

Oxydation von Triacetyl-andrographolid mit Permanganat. Eine Lösung von 500 mg Triacetyl-andrographolid in 25 cm<sup>3</sup> reinem Aceton wurde unter Rühren und Kühlen (mit Wasser, ca. 15°) im Verlaufe von 2 Stunden mit kleinen Portionen von fein gepulvertem  $\text{KMnO}_4$  (insgesamt 1,15 g) versetzt, bis die Permanganat-Färbung einige Zeit bestehen blieb. Das Aceton verdampfte man hierauf bei 30° im Vakuum, versetzte den Rückstand mit viel Essigester, fügte einige Kubikzentimeter 2-n. Schwefelsäure hinzu und filtrierte die Lösung durch eine Glasfilternutsche. Die Essigesterschicht wurde darauf mit Wasser gewaschen und die Säuren von den Neutralteilen in der üblichen Weise mit Soda getrennt: Neutralteile: 100 mg Öl, Säuren: 300 mg Öl.

Die Säuren wurden mit Diazomethan verestert und das entstandene Gemisch der Methylester wiederholt mit Hexan ausgekocht. Die vereinigten Hexanauszüge haben wir eingeeengt, das Ausgeschiedene in Benzol gelöst und die Lösung durch eine Schicht neutralen Aluminiumoxydes filtrierte. Die ersten Eluate waren ölig, die mit reinem Benzol durchgewaschenen Anteile kristallisierten: 50 mg. Umkristallisieren aus Äther-Petroläther und aus Petroläther: flache Nadeln, Smp. 119,5—120°, im Mischschmelzpunkt mit dem durch Ozonisierung dargestellten Ester keine Depression.

Oxydation von Diacetyl-desoxy-andrographolid mit Permanganat. Bei dieser Oxydation sind wir gleich verfahren wie bei der oben beschriebenen Oxydation von Triacetyl-andrographolid. 200 mg Substanz verbrauchten ungefähr 0,5 g Kaliumpermanganat. Es entstanden 120 mg Säuren und 60 mg Neutralprodukte. Die Säuren wurden mit Diazomethan in Benzol-Äther behandelt und die Ester aus Benzol an 3 g Aluminiumoxyd (neutral, Aktivität II) chromatographiert (Fraktionen von je 3 cm<sup>3</sup>).

- |                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| 1. Benzol —                           |  |
| 2. Benzol 10 mg                       | Die Fraktionen 2–7 hat man in Petroläther gelöst und die Lösung angeimpft: 30 mg Nadeln. Nach dem Umkristallisieren erwies sich die Substanz als identisch mit dem Ester vom Smp. 119,5–120° aus Triacetyl-andrographolid. |
| 3. Benzol 10 mg                       |  |
| 4. Benzol 10 mg                       |  |
| 5. Benzol 10 mg                       |  |
| 6. Benzol 5 mg                        |  |
| 7. Benzol 3 mg                        |  |
| 8–11. Benzol-Chloroform 9:1, 20 mg Öl |  |
| 11–12. Chloroform: 40 mg Öl           |  |

## Analysenzusammenstellung:

$C_{19}H_{26}O_7$ (366,21)	Ber. C 62,31	H 7,11	$OCH_3$ 8,47%
$C_{19}H_{28}O_7$ (368,21)	Ber. ,, 61,99	„ 7,79	„ 8,42%
$C_{19}H_{30}O_7$ (370,21)	Ber. ,, 61,65	„ 8,14	„ 8,38%
aus Ozonierung	Gef. C 61,87	H 7,64	$OCH_3$ 8,65%
aus Triacetyl-andrographolid	Gef. ,, 62,12	„ 7,85%	
aus Diacetyl-desoxy-andrographolid	Gef. ,, 62,13	„ 7,76	„ 8,59%
gleiches Produkt sublimiert bei 105°/0,01 mm	Gef. ,, 62,26	„ 7,61%	

Die Substanz besitzt sehr wahrscheinlich die Zusammensetzung  $C_{19}H_{28}O_7$ . Spezifische Drehung:

$$[\alpha]_D^{16} = +41,6^{\circ} \quad (c = 0,639, d = 1, \text{Chloroform}).$$

Charakterisierung der Verbindung  $C_{19}H_{28}O_7$  als Diacetyl-derivat des Methyl-esters einer Säure  $C_{14}H_{22}O_5$ . Verseifung des Methyl-esters  $C_{19}H_{28}O_7$ : 19,756 mg der analysenreinen Verbindung wurden in 2,00 cm<sup>3</sup> ca. 0,1-n. KOH aufgeschlämmt. Beim Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur hatte sich der grösste Teil der Verbindung gelöst. Zur Vervollständigung der Reaktion wurde das Gemisch noch 2 Stunden auf dem siedenden Wasserbade erhitzt.

Blindprobe verbraucht an 0,1-n. HCl: 2,11 cm<sup>3</sup>

Probe verbraucht an 0,1-n. HCl: 0,53 cm<sup>3</sup>

Differenz (Verbrauch 0,1-n. KOH): 1,58 cm<sup>3</sup>

19,76 mg  $C_{19}H_{28}O_7$  (368,2) entsprechen (einbasisch) 0,537 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH  
(dreibasisch) 1,611 cm<sup>3</sup> 0,1-n. KOH

Bei der Verseifung entstehen drei Säuregruppen. Versuche zur Kristallisation der entstandenen Säure nach dem Eindampfen der neutralisierten Lösung schlugen fehl. Hingegen konnte durch Versetzen der neutralen Lösung mit 2-n. HCl, die mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin gesättigt war, das schön kristallisierte 2,4-Dinitrophenylhydrazon dargestellt werden. Ausbeute 20 mg. Das Produkt wurde 7mal aus Alkohol-Wasser umkristallisiert. Auch so war es noch nicht analysenrein. Orange-gelbe Nadeln, Smp. 263° (unkorr.) u. Z. Trocknen 2 Stunden bei 110°/0,01 mm Hg.

$C_{20}H_{26}O_5N_4$  (450,46) Ber. C 53,34 H 5,82 N 12,43%

7. Kristallisation (Smp. 263°) Gef. ,, 53,75 „ 6,54 „ 11,97%

Zusammen mit dem Ergebnis der folgenden Acetylbestimmung ergibt sich eine Formel  $C_{14}H_{22}O_5$  für die zugrundeliegende Säure.

Acetylbestimmung: Verseifen während 15 Minuten in der Siedehitze mit 5 cm<sup>3</sup> 2-n. NaOH in einem kleinen *Claisen*-Kolben. Zugabe von 6 cm<sup>3</sup> 2-n.  $H_2SO_4$  und Destillation von 35 cm<sup>3</sup> Wasser. Titration nach Aufkochen (7 Sekunden).

6,5 mg Triacetyl-andrographolid: Verbrauch 4,36 cm<sup>3</sup> 0,01-n. Lauge

Ber. 4,09 cm<sup>3</sup>

Gef. 3,2 Acetylgruppen

7,05 mg  $C_{19}H_{28}O_7$ : Verbrauch 4,25 cm<sup>3</sup> 0,01-n. Lauge

Ber. 3,84 cm<sup>3</sup>

Gef. 2,2 Acetylgruppen.

Schmidt'sche Reaktion mit dem Keto-ester  $C_{19}H_{28}O_7$ . 368 mg Keto-ester wurden in 8 cm<sup>3</sup> Benzol gelöst und 2,6 cm<sup>3</sup> einer 0,44-n. Lösung von  $HN_3$  in Benzol (getrocknet) zugefügt. Unter Kühlen mit Eis und starkem Rühren tropfte man 1 cm<sup>3</sup> konz.  $H_2SO_4$  derart hinzu, dass die Temperatur im Kolben 5° nicht überschritt. Sofort setzte eine starke Stickstoffentwicklung ein, die etwa 15 Minuten dauerte. Nach  $\frac{3}{4}$  Stunden wurde die Reaktion unterbrochen und das Gemisch auf Zimmertemperatur gebracht. Das Benzol enthielt keine organische Substanz, diese befand sich in der Schwefelsäureschicht. Nach dem Zersetzen mit Eis wurde die saure Lösung wiederholt mit Essigester ausgezogen. Nach dem Trocknen und Verdampfen des Essigesters hinterblieben 402 mg farblose, ölige Substanz, die alsbald durchkristallisierte. Ausbeute 98% der Theorie.

Zur Analyse hat man einen Teil der in Äther schwer löslichen Substanz aus Benzol-Petroläther und aus Wasser umkristallisiert. Der Schmelzpunkt blieb konstant bei 165° (bis 270° tritt in der Schmelze keinerlei Veränderung ein). Aus beiden Lösungsmitteln schied sich die Verbindung in Form von Nadeln aus. Trocknen 2 Stunden bei 85°/0,01 mm.

$C_{19}H_{28}O_7N$  Ber. C 59,52 H 7,63 N 3,65  $OCH_3$  8,08%  
(383,44) Gef. „ 59,78 „ 7,69 „ 4,00 „ 7,90%

Verseifung des Amids  $C_{19}H_{29}NO_7$ . 320 mg des Amids wurden in 12 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, 0,6 cm<sup>3</sup> konz.  $H_2SO_4$  zugesetzt und die Mischung während 3 Stunden auf dem siedenden Wasserbade erhitzt. Darauf extrahierte man die saure Lösung mit Essigester im Apparat; auf diese Weise konnte jedoch nichts abgetrennt werden, bei der Verseifung sind also keine neutrale oder saure, Essigester-lösliche Spaltstücke entstanden.

Aus der extrahierten wässrigen Phase wurde die Schwefelsäure möglichst genau mit Barytlaugung entfernt. Nach dem Zentrifugieren und Verdampfen im Vakuum hinterblieben 192 mg eines farblosen, stickstoffhaltigen (*Lassaigne*-Probe) Harzes, das bisher nicht kristallisierte. Es ist in Wasser und in Alkohol leicht löslich, in Äther unlöslich und reagiert in Wasser sauer (pH = ca. 4–5).

In der alkalischen Lösung dieser Substanz liess sich kein Amin nachweisen (Geruch, alkalische Dämpfe, Carbylamin-Reaktion). Es liessen sich auch keine Salze mit Säuren darstellen (HCl in Alkohol und in Wasser, Reineckat, Pikrolonat, Anthrachinon- $\beta$ -sulfonat). Der Stickstoff liegt nicht als Amino-Stickstoff vor (Bestimmung nach *van Slyke*), sondern vermutlich in einer schwer verseifbaren Amid-Bindung.

Energischere Verseifung (3 Stunden kochen mit 20 Vol.-proz.  $H_2SO_4$ ) führte nur zu einer leichten Verharzung (die dunkeln Harze liessen sich mit Äther abtrennen, waren aber im Vakuum nur zersetzt destillierbar), wobei die Hauptmenge der Substanz anscheinend unverändert zurückgewonnen wurde. Flüchtige Amine oder Aminosäuren liessen sich auch jetzt keine nachweisen.

Selendehydrierung des Keto-esters  $C_{19}H_{28}O_7$ . 500 mg kristallisierter Keto-ester wurden zusammen mit 500 mg Selen im Bombenrohr während 15 Stunden auf 325° erhitzt. Nach dem Erkalten haben wir den Rohrinhalt mit Äther aufgenommen und diese Lösung durch eine kleine Schicht Aluminiumoxyd filtriert. Mit 1-n. Natronlauge liessen sich phenolische Anteile abtrennen, die man nach dem Ansäuern mit HCl durch Ausäthern isolierte. Die Ätherschicht mit den nichtphenolischen Anteilen wurde verdampft und der Rückstand mit Petroläther ausgezogen.

Die in Petroläther unlöslichen Anteile lieferten bei der Behandlung mit Natronlauge weitere Mengen phenolischer Produkte, welche mit den früher gewonnenen vereinigt wurden.

Der Petrolätherauszug (80 mg) wurde an der 500fachen Menge Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert und das Chromatogramm mit Petroläther entwickelt. Das Filtrat hat man in Fraktionen von 3 cm<sup>3</sup> aufgefangen:

Nr. der Fraktionen	Eluat
1–3	Leichtbewegliches Öl (Hauptmenge)
4	Öl, mit vielen Kristallen durchsetzt
5	Wenig, mit Kristallen durchsetztes Öl
6–10	—

Die Fraktion 4 lieferte beim Umkristallisieren aus Methanol 2 mg farblose Kristallplättchen, welche im Wasserstrahlvakuum bei 115° sublimierten. Smp. 116–117°, der Mischschmelzpunkt mit 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin zeigte eine Schmelzpunktserniedri-

gung von 34°. Die Substanz lieferte ein Trinitrobenzolat vom Smp. 145—148° (gelbe, flache Nadeln). Das Spektrum in Alkohol wies folgende Maxima auf:

$$300 \text{ m}\mu \left( E_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 944 \right); 315 \text{ m}\mu \left( E_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 700 \right); 333 \text{ m}\mu \left( E_{1 \text{ cm}}^{1\%} = 787 \right)$$

Die Fraktionen 1—3 lieferten bei 122—135° unscharf schmelzende Trinitrobenzolate. Beim Zerlegen dieser Additionsverbindungen wurden teilweise kristallisierende Produkte erhalten, deren Trennung schwierig war (sehr kleine Mengen).

Diese wurden durch fraktionierte Destillation in folgende fünf Fraktionen zerlegt:

Nr.	Badtemp.	Druck	Aussehen
1	64—65°	12 mm	Öl und Kristalle, Smp. 30—60°
2	70°	12 mm	Kristalle und wenig Öl, Smp. 30—60°
3	75°	12 mm	Kristalle und wenig Öl, Smp. 30—60°
4	80°	12 mm	Kristalle und wenig Öl, Smp. 50—100°
5	100—120°	12 mm	Kristalle und wenig Öl, Smp. 80—100°

Wir haben die Fraktionen 1—3 zusammengenommen und nochmals bei 65—70°/12 mm destilliert, wobei 2 mg Kristalle (mit Öl verunreinigt) vom Smp. 70—80° erhalten wurden. Diese schmolzen nach dem Umkristallisieren aus einem Tropfen Methanol bei 80° (Mikroschmelzpunkt n. *Kofler*). Lange, flache Blättchen, welche bei 76° zu sublimieren beginnen. Der Mischschmelzpunkt mit authentischem 1,5-Dimethyl-naphtalin (Smp. 81—81,5°) lag bei 80—81°.

Spektrum (in Alkohol):  $\lambda_{\text{max}} = 276, 286 \text{ m}\mu$

Vergleichspräparat:  $\lambda_{\text{max}} = 276, 286 \text{ m}\mu$

*1,5-Dimethyl-6-oxy-naphtalin*: Die phenolischen Produkte wurden zusammengenommen, bei 80°/0,01 mm sublimiert und aus Toluol und aus Äther-Petroläther umkristallisiert. Flache Kristalle, Smp. 161,5—162° (Mikroschmelzpunkt n. *Kofler*).

6,9 mg dieses Produktes haben wir mit Platin und Wasserstoff in Eisessig zum Dekalol hydriert (21°, 723 mm). Verbrauch 5,00 cm<sup>3</sup> Wasserstoff in 80 Minuten. Für ein Dimethylnaphtol berechnet sich der Wasserstoffverbrauch zu 5,07 cm<sup>3</sup> (für ein Monomethyl-Derivat zu 5,52 und für ein Trimethyl-Derivat zu 4,70 cm<sup>3</sup>). Nach der Hydrierung wurde die Lösung vom Katalysator abgezogen und mit Wasser und Äther das Reaktionsprodukt, ein farbloses Öl, vom Lösungsmittel getrennt.

Das Hydrierungsprodukt haben wir in einer kurzen Mikrobombe mit 80 mg 5-proz. Pd-Kohle auf 300° erhitzt (15 Minuten); dann wurde der obere Teil des Rohres vorsichtig aus dem Ofen hervorgezogen, damit sich die Reaktionsprodukte kondensieren konnten. Die Reaktionsprodukte nahm man in Äther auf und destillierte sie bei 95° im Vakuum im zugeschmolzenen Sublimationsrohr. Das Destillat, welches teilweise kristallisierte, wurde aus einem Tropfen Methanol bei -80° umkristallisiert. Die kristalline Substanz (0,5 mg) haben wir nochmals aus CH<sub>3</sub>OH umkristallisiert und die Mutterlauge abzentrifugiert. Lange, flache Blättchen, Smp. 80°, Mischschmelzpunkt mit 1,5-Dimethyl-naphtalin 80—81°. Beide Proben sublimieren bei 76° in Form rechteckiger Blättchen.

### Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Konstitutionsaufklärung des Andrographolids, eines Bitterstoffes der indischen Medizinalpflanze *Andrographis paniculata* Nees. Verschiedene, in der früheren Literatur vorkommende Widersprüche und Unstimmigkeiten konnten dabei abgeklärt werden.

Andrographolid besitzt die Zusammensetzung  $C_{20}H_{30}O_5$  und ist wahrscheinlich ein bicyclisches Diterpenoid-lacton.

Benachbart zu einer geminalen Methylgruppe am Kohlenstoffatom 1 des Diterpenoidgerüsts trägt Andrographolid wahrscheinlich eine sekundäre Hydroxylgruppe (am Kohlenstoffatom 2). Dies würde die Entstehung von 1,2,5,6-Tetramethyl-naphtalin bei der Selendehydrierung erklären.

Andrographolid lässt sich nicht wie Agathendicarbonsäure zu einer tricyclischen Verbindung isomerisieren.

Auffallend ist der für ein Diterpenoid hohe Hydroxylgehalt: 2 sekundäre und eine tertiäre OH-Gruppe.

Der Lactonring ist  $\alpha,\beta$ -ungesättigt, was aus dem Spektrum, dem positiven *Legal*-Test und der Anlagerung von Diazomethan hervorgeht.

Die zweite Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung der Andrographolid-Molekel liegt wahrscheinlich in einer Methylengruppierung und steht in einer solchen Lage zur Lacton-Doppelbindung, dass bei der Abspaltung der tertiären OH-Gruppe als Wasser eine durchgehende Konjugation eintritt.

Die tertiäre OH-Gruppe liegt möglicherweise in Allylstellung zur  $\alpha,\beta$ -Doppelbindung des Lactonringes. Diese Lage scheint für eine Farbreaktion des Andrographolids mit methanolischer Kalilauge und für das Entstehen eines Isomeren des Andrographolids verantwortlich zu sein. Die tertiäre Hydroxylgruppe beeinflusst ausserdem die Bildungstendenz des Lactonringes.

Bei der Oxydation des Andrographolids und verschiedener seiner Derivate entsteht eine Ketosäure  $C_{14}H_{22}O_5$ , welche den hydrierten Naphtalinkern und die beiden sekundären Hydroxylgruppen des Andrographolids besitzt. Die Ketogruppe dürfte durch Oxydation aus der Methylengruppe und die Carboxylgruppe aus der, den Lactonring und die tertiäre Hydroxylgruppe tragenden Seitenkette hervorgegangen sein. Das Ergebnis der Dehydrierung der Ketosäure unterstützt die Annahme der Lage der einen sekundären Hydroxylgruppe in Nachbarstellung zur geminalen Methylgruppe.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

---