

## Die absolute Konfiguration des Phyllodulcins

Von Hisao ARAKAWA

(Eingegangen am 30. April 1959)

Es sind verhältnismässig geringere Dihydroisocoumarinderivate in der Natur gefunden worden; als erstes hatten Asahina und Asano<sup>1)</sup> 1931 die Struktur des Phyllodulcins (I), des Süßstoffs der Blätter von *Hydrangea macrophylla* Seringe var. *Thunbergii* MAKINO („Amacha“), festgestellt; seither sind Hydrangenol<sup>1,2)</sup>, Ochracin<sup>3)</sup> (Mellein)<sup>4,5)</sup>, 3-Me-6-MeO-8-hydroxy-3,4-dihydroisocoumarin<sup>6)</sup> und Bergenin<sup>7)</sup> als Dihydroisocoumarinderivat charakterisiert und synthetisch sichergestellt worden.

Zur Aufklärung der Beziehung zwischen der optischen Aktivität und der absoluten Konfiguration der Verbindungen dieser Reihe, wählte der Verfasser als Repräsentanten das Phyllodulcin zuerst aus, und beabsichtigte die absolute Konfiguration ihres C-3-Atoms zu bestimmen.

Andererseits hatten vor einigen Jahren Hardegger et al.<sup>8)</sup> durch erschöpfende Ozonisierung die absolute Konfiguration des (+)-Catechins, eines Naturstoffs von C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Gerüst, ähnlich wie I sichergestellt, also wünschte der Verfasser I dieser Methode zu unterwerfen.

Aber es ist schwer, optisch reinstes Präparat von I zu gewinnen. Das von Asahina et al.<sup>1,9)</sup> als stärkst drehbares

erhaltene Phyllodulcin zeigte den Schmerzpunkt 120° und  $[\alpha]_D + 67.7 \sim 69.70$ , aber da hatte man nur eine geringere Masse; und es ist dem Verfasser gelungen als stark drehbares Präparat Prismen von Schmerzpunkt 119~121°C und  $[\alpha]_D + 70.7 \sim 80.8^\circ$ , ausserdem als schwach drehbare Kristalle von  $[\alpha]_D + 22.4^\circ$  zu erhalten.

Deshalb wurde Phyllodulcin von  $[\alpha]_D + 70.7 \sim 80.8^\circ$  in Essigsäure einer Ozonisierung unterworfen und Oxydation mit Peressigsäure, Entfernung der Oxalsäure und kontinuierliches Extrahieren mit Äther führten zu Äpfelsäure\*. Die Veresterung der Säure mit Diazomethan lieferte Methylester von  $[\alpha]_D + 6.5^{***}$ , dessen IR-Spektrum mit solchem der authentischen DL-Äpfelsäure identisch ist. Schließlich führte Ammonolyse des Esters zu prismatischem Kristall von Schmerzpunkt 154~155°C,  $[\alpha]_D + 56.7^\circ$ . Durch Mischprobe, Vergleichen des IR-Spektrums mit solchem des authentischen Präparates von R-Äpfelsäure und spezifische Drehung, ist es sichergestellt, daß das R-Äpfelsäure-diamid gewonnen worden ist.

Mit der Isolierung der R-Äpfelsäure (II) ist es nun bestimmt, daß die absolute Konfiguration des C-3 in Phyllodulcin R-Konfiguration ist.

1) Y. Asahina und J. Asano, *Ber.*, **62**, 171 (1929); **63**, 429, 2059 (1930); **64**, 1252 (1931).

2) Hydrangenol: Inhaltstoff von *Hydrangea Hortensia* DC. var. *Otakusa* MAXIM.

3) Stoffwechselprodukt von *Aspergillus ochraceus*; E. Nishikawa, *J. Agric. Soc. Japan (Nippon Nōgei-kagaku Kaishi)*, **9**, 772, 1059 (1933).

4) Stoffwechselprodukt von *Aspergillus melleus* YUKAWA; T. Yabuta und Y. Sumiki, ebenda, **9**, 1284 (1933); **10**, 703 (1934).

5) J. Blair und G. T. Newbold, *J. Chem. Soc.*, **1955**, 2871.

6) Inhaltstoff der in der Kühle bewahrten Möhren; E. Sondheimer, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 5036 (1957).

7) J. E. Hay und L. J. Haynes, *J. Chem. Soc.*, **1958**, 2231.

8) E. Hardegger, H. Gempeler und A. Züst, *Helv. Chim. Acta*, **40**, 1819 (1957).

9) Y. Asahina und S. Ueno, *J. Pharm. Soc. Japan (Yakugaku Zasshi)*, Nr. **408**, 146 (1916); *Chem. Abstr.*, **10**, 1524 (1916).

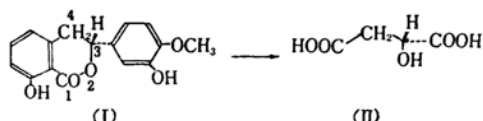
\* Papierchromatographisch charakterisierte man als Äpfelsäure. Noch dazu wurde aus dem Kristall von  $[\alpha]_D + 22.4^\circ$  Äpfelsäure als Kristalle erhalten und ihre IR-Spektren stimmten mit solchen der authentischen DL-Äpfelsäure überein und ihre Drehungen in 10-proz. Ammoniummolybdat zeigten links drehend bis  $[\alpha]_D - 46.3^\circ$ . Darum ist die erhaltene Säure ein Gemisch von DL-Körper mit wenigem D-Körper, denn es ist bekannt<sup>10)</sup>, daß der Drehungssinn einer optisch aktiven Äpfelsäure sich in der Lösung von Ammoniummolybdat umkehrt und ihr Drehungsvermögen mehr als 10-mals vergrößert worden ist.

10) H. D. Dakin, *J. Biol. Chem.*, **59**, 9 (1924).

\*\* Aus dem Phyllodulcin von  $[\alpha]_D + 22.4^\circ$  wurde Methylester von  $[\alpha]_D + 2.3^\circ$  erhalten. (s. Versuche).

TABELLE I

Fraktion (Ausbeute)	Schmerzsp. °C	Optische Aktivität (in Aceton)	Analysenwert	Ber. für C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>
A (11.7 g)	129~130	$[\alpha]_D^{25} +22.4^\circ$ (c=1.16)	C 67.27 H 5.10	
B (1.0 g)	118~119	$[\alpha]_D^{25} +71.7^\circ$ (c=1.14)	C 67.06 H 5.10	C 67.12 H 4.93
C (2.8 g)	119~121	$[\alpha]_D^{25} +70.7^\circ$ (c=1.02)	C 67.16 H 5.08	
D (1.7 g)	120~121	$[\alpha]_D^{25} +80.8^\circ$ (c=1.14)	C 66.97 H 5.13	



## Beschreibung der Versuche

**Extrahieren des Phyllodulcins.**—Der zu 5.5 kg käufliche „Amacha“ wurde mit essigsäurehaltigem wässer. Methanol extrahiert (einmal, einige Tage lang). Nach im Vakuum Abdampfen des Methanols ausgeschiedene grüne rohe Kristalle wurden mit Äther, Chloroform, Äthanol und Methanol gereinigt. Die Kristalle jeder Fraktion wurden mehrmals fraktioniert aus Äthanol umkristallisiert. Es wurden die Prismen erhalten, die rein süß schmecken (Tabelle I).

Die IR-Spektren von B, C, D in Nujol stimmen überein. Die IR-Spektren von A und B in Chloroform sind identisch.

**Ozonspaltung von Fraktion A**  $[\alpha]_D^{25} +22.4^\circ$ .—Durch eine Lösung von Fraktion A (10 g) in 100 ccm 90-proz. Essigsäure wurde bei 5°C Ozon geleitet. Die Lösung färbte sich bald dunkelbraun und hellte dann auf, schließlich wurde sie nach 67 Stdn. ganz farblos und teils kristallisierte Oxalsäure, die bei 98~100°C schmolz und durch Mischprobe mit authentischem Präparat identifiziert wurde. Nach Zugabe von 15 ccm Perhydrol wurde die Lösung 24 Stdn. lang stehen gelassen und mit 50 ccm Wasser versetzt, dann wurde die Lösung nach Hardegger et al.<sup>9)</sup> behandelt und von Oxalsäure befreit und dann im Vakuum eingedampft. Der erhaltene Rückstand wurde nach Zugabe von Wasser wiederholt im Vakuum eingedampft, und der getrocknete Rückstand (6 g) in warmem Wasser gelöst, und dann mit Äther kontinuierlich extrahiert.

Nach Abdampfen von Äther und nach Trocknen

TABELLE II

Schmerzsp. °C	Ausbeute g	Spezifisches Drehungsvermögen in 10-proz. Ammoniummolybdat
131~132	0.3	—***
125~127	0.2	$[\alpha]_D^{25} -4.9^\circ$ (c=3.05)
119~121	0.4	$[\alpha]_D^{25} -11.7^\circ$ (c=5.03)
113~116	0.1	$[\alpha]_D^{25} -46.3^\circ$ (c=1.12)

\*\*\* Misch-Schmerzsp. mit authentischer DL-Äpfelsäure: 131~132°C.

dann abfiltriert. Der erhaltene gelbe Rückstand betrug 470 mg. Dreimaliges Umkristallisieren aus Methanol gab 60 mg fast farblose Prismen von Schmerzsp. 154~155°C,  $[\alpha]_D^{25} +56.7^\circ$  (c=1.18 in Methanol).

war der Extrakt größtenteils kristallisiert. Fraktioniertes Umkristallisieren aus Essigester gab farblose Kristalle (Tabelle II).

Nach Trocknen des Kristalls von Schmerzsp. 113~116°C bei 80°C im Vakuum.

C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub>

Ber.	C 35.83	H 4.51
Gef.	C 35.85	H 4.63

Die Mutterlauge wurde in Vakuum-Exsiccator abgedampft, wonach der Rückstand in Methanol gelöst, mit Diazomethan verestert und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Vorlauf von Kochp. 62°C/2 mmHg wurde 490 mg Hauptfraktion von Kochp. 110~111°C/10 mmHg,  $[\alpha]_D^{25} +2.7^\circ$  (c=16.3 in Methanol) erhalten.

C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>

Ber.	C 44.44	H 6.22
Gef.	C 44.19	H 6.42

Das IR-Spektrum stimmte mit solchem des authentischen DL-Äpfelsäuredimethylesters von Kochp. 115~117°C/14 mmHg (in CS<sub>2</sub>, CCl<sub>4</sub>) überein.

**Abbau der Fraktionen B, C und D von  $[\alpha]_D^{25} +70.7\sim80.8^\circ$  mit Ozon und Isolierung von R-Äpfelsäure als Diamid aus dem Ätherextrakt.**—Durch eine Lösung von 5.2 g Kristalle (0.9 g B+2.7 g C+1.6 g D) in 50 ccm 95-proz. Essigsäure wurde 3-proz. Ozon 31 Stdn. lang eingeleitet, wonach sie mit 7.5 ccm Perhydrol versetzt, 18 Stdn. lang stehen gelassen und dann wie oben behandelt, mit Äther 20 Stdn. extrahiert. Der erhaltene Rückstand wog 3.3 g und sein Papierchromatogramm (Xylol, Phenol, 85-proz. Ameisensäure, 5:5:2)<sup>11)</sup> lieferte die Flecke der Äpfelsäure. Seine Methanollösung wurde dann verestert. Die Destillation des getrockneten Methylesters ergab bei 111~112°C/10 mmHg 700 mg von  $[\alpha]_D^{25} +6.5^\circ$  (c=12.89). Das IR-Spektrum stimmt mit solchem von DL-Äpfelsäuredimethylester überein.

666 mg Methylester wurde in verzweigtem Reagenzrohr (unter Abkühlung durch eine Mischung von fester Kohlensäure mit Äthanol) mit 12 ccm von verflüssigtem Ammoniak aus der Bombe versetzt und dann das Reagenzrohr in einem Autoklav geschlossen. Nach Stehenlassen bei Zimmertemperatur 24 Stdn. lang, dampfte man Ammoniak ab und mischte mit Äther und

11) Vgl. H. Kalbe, Z. physiol. Chem., 297, 19 (1954).



Ber. C 36.36 H 6.10 N 21.20

Gef. C 36.59 H 6.34 N 21.07

Misch-Schmerzp. mit authentischem Präparat<sup>12)</sup>  
von Schmerzp. 156°C,  $[\alpha]_D +60.3^\circ$  zeigte 154~  
156°C. Beide IR-Spektren sind praktisch ganz  
identisch.

12) Herrn Ryonosuke Yoshida, Naturwissenschaftliche  
Fakultät, Universität Osaka, sei für die freigebige  
Überlassung des Präparates von *R*-Äpfelsäurediamid  
gedankt.

Herrn Prof. Dr. Masao Nakazaki danke  
ich bestens für sein reges Interesse an  
der vorliegenden Arbeit und seine Unter-  
stützung durch wertvolle Hinweise.

*Organisch-chemisches Laboratorium  
Institute of Polytechnics  
Osaka City University  
Kita-ku, Osaka*