

crystalline chloroplatinate of m.p. 232° (decomp.), this being about 10° higher than that given by Pinner for the same substance. For analysis the chloroaurate was prepared and purified from alcohol, acidified with a little hydrochloric acid, forming yellow pillars of m.p. 215° (decomp.). *Anal.* Calcd. for $C_{10}H_{12}ON_2HCl \cdot AuCl_3$: C, 23.3; H, 2.5; N, 6.1; Au, 38.2. Found: C, 23.3; H, 3.1; N, 6.1; Au, 39.4.

rac-Nicotine (IV)—The pyrrolidone (III: 0.8 g.) in tetrahydrofuran (20 cc.) was added dropwise into the solution of lithium aluminum hydride (0.2 g.) in the same solvent (15 cc.) with ice cooling and the mixture was then refluxed for 40 hrs. on a steam bath, depositing yellowish precipitate. Worked up as usual, the product yielded an oily substance (0.5 g.) having a nicotine-like odor. Pure base was obtained by purifying through alumina column. Gives a dipicrate of m.p. 216~218° (decomp.), which was proved to be identical with the one obtained from *rac*-nicotine prepared by racemizing natural nicotine.

Summary

A new synthesis of *rac*-nicotine is described. Ethyl β -nicotinoylpropionate, which was obtained by boiling diethyl nicotinoylsuccinate with dilute hydrochloric acid was catalytically reduced in the presence of methylamine, giving cotinine. This was then reduced by means of lithium aluminum hydride in tetrahydrofuran solution to give *rac*-nicotine in a fair yield. For the preparation of diethyl nicotinoylsuccinate the condensation of ethyl nicotinoylacetate with ethyl bromoacetate was recommended.

(Received December 15, 1953)

12. Kôzô Hayashi, Tatsuo Noguchi, and Yukihide Abe: Studien über Anthocyane. XXIV¹⁾. Karacyanin, ein Farbstoffprinzip in den feuerroten Blüten von *Canna generalis*.***

(Research Institute for Natural Resources, Tokyo*, and National Institute of Genetics, Mishima**.)

Ein leuchtend feuerroter Farbstoff in den Blüten von *Canna generalis* Bailey (Cannaceae) ist unseres Wissens noch nicht genauer untersucht worden. Wir fanden nur eine kurze Angabe von G. M. Robinson und R. Robinson²⁾, die unter Benutzung ihrer eigenen Arbeitstechnik gefunden haben, dass die Blüten von *Canna indica* ein Pento-seglykosid des Cyanidins enthält. Ob ihre Versuchspflanze mit der unseren identisch war, können wir zur Zeit nicht entscheiden, da die Bezeichnung *Canna indica* bisweilen auch den kultivierten *Canna*-Arten gegeben wird.

Im August, 1952, hat uns Herr N. Sasaki, Obergärtner im städtischen Garten „Shinjuku-gyoen“, ein beträchtliche Menge von feuerroten Blüten (aus einer Gartensorte „Louisiana“) im frisch gepflückten Zustand zur Verfügung gestellt, wodurch die Durchführung unserer Arbeit ermöglicht wurde.

Unsere vorläufig durchgeführten papier-chromatographischen Untersuchungen schienen darauf hinzuweisen, dass der Hauptfarbstoff der genannten Pflanze vorzugsweise auf das Cosmocyanin³⁾, d.h. ein Rhamnoglucosid des Cyanidins, zurückzuführen ist.

* 4-440 Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo (林 孝三, 野口辰男, 阿部幸穎).

** 1111 Yata, Mishima, Shizuoka-ken.

*** Mitteilung aus der Forschungsanstalt für Naturerzeugnisse, Nr. 661.

1) XXIII. Mitteil.: Misc. Repts. Research Inst. Natural Resources, 29, 1 (1953).

2) G. M. Robinson, R. Robinson: *Biochem. J.*, 28, 1714 (1934).

3) K. Hayashi: *Acta Phytochim.*, 12, 83 (1941).

Hierbei beobachteten wir einen zweiten, kleineren Anthocyaninflecken auf dem Chromatogramm. Es handelte sich wahrscheinlich um ein monoglykosidisches Cyanidin, welches wir leider noch nicht in kristallinischem Zustand isolieren konnten.

Beiläufig möchten wir bemerken, dass der rote Farbstoff, welcher die Blätter der gewöhnlich kultivierten *Canna* häufig dunkelrot färbt, ebenfalls dem genannten Blütenfarbstoff zuzuschreiben ist, insofern es sich um eine chromatographische Aufarbeitung handelt. Weiter wurde auf dieselbe Weise bewiesen, dass das gleiche Anthocyanin auch in den Blüten einer anderen Gartensorte von *Canna*, „Windsor's Colossal“, vorkommt.

Auf Grund der obigen Erfahrungen haben wir uns mit der Vorbereitung zur Aufarbeitung der Blüten von „Louisiana“ befasst. Zur Darstellung des Anthocyanins aus frischem Ausgangsmaterial haben wir die übliche Arbeitsmethode mit Bleiacetat-Fällung als sehr erfolgreich gefunden. Aus der gewonnenen Bleiverbindung wurde das Anthocyanin sofort in ein Chlorid zurückverwandelt. Weitere Reinigung ging durch Umkrystallisation aus Salzsäure-Äthanol sehr leicht vor sich, und die reine Substanz wurde schliesslich als schöne Stäbchenkristalle erhalten, die sich bei 175° zersetzen. Die hydrolytische Spaltung hat gezeigt, dass dieses Anthocyanin, wie erwartet, aus Cyanidin, Glucose und Rhamnose besteht.

Bisher ist in der Natur das Rhamnoglucosid des Cyanidins aus den Kirschenbeeren⁴⁾, den magenta-farbigen Löwenmaulblüten⁵⁾, und aus den dunkelroten Kosmosblüten³⁾ bekannt gewesen. Die ersten zwei sind das Keracyanin selbst, und das letztere ist von diesem etwas verschieden. Unser *Canna*-Anthocyanin stimmt in allen Punkten mit Keracyanin gut überein. Wie bereits von Scott-Moncrieff⁵⁾ mitgeteilt wurde, erzeugt diese Substanz ein charakteristisches „*fan hydrate*“ aus 20-proz. Salzsäure, sowie ein „*red hydrate*“ aus 5-proz. Salzsäure. Aus einer mit Chrysanthem in übereinstimmenden Lichtabsorption unseres Präparates geht hervor, dass an beiden Farbstoffen die Stellung der Zuckerbindung dieselbe ist. Deshalb nehmen wir an, dass dem *Canna*-Anthocyanin die Struktur von 3-O-Rhamnoglucosidyl-cyanidin (=Keracyanin) zukommt.

An dieser Stelle möchten wir unseren besten Dank aussprechen Herrn Dr. Y. Asahina, Direktor der Forschungsanstalt für Naturerzeugnisse, und Herrn Dr. K. Oguma, Direktor des Nationalen Instituts für Genetik, für ihre stetige Anregung und gütige Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit. Wir sind auch dankbar Herrn D. Ohata in Iatrochemischem Institut für Durchführung der Elementaranalysen. Der eine von uns (T.N.) wurde von dem Unterrichtsministerium finanziell unterstützt.

Beschreibung der Versuche

Darstellung des Rohanthocyanins—Zu diesem Zweck extrahierten wir 320 g frische Blütenhülle mit 760 ccm 1-proz. methanolischer Salzsäure, und behandelten die klar filtrierten Auszüge mit gesättigtem, wässrigem Bleiacetat. Die dabei gebildete Bleiverbindung fiel in Form von gräulich blauen, voluminösen Flocken aus, die nach dem Absaugen und Trocknen etwa 23 g wogen. Aus der Mutterflüssigkeit, die noch dunkel violett gefärbt blieb, wurden durch sorgfältiges Abstumpfen der überschüssigen Säure mit Ammoniak weitere 60 g von grünlich-blau gefärbten Bleisalz ausgefällt. Hierauf haben wir beide Bleifällungen gesondert verarbeitet; nach dem Zerlegen des Bleisalzes mit 20 ccm 7-proz. methanolischer Salzsäure und darauffolgendem Fällen mit Äther trennte sich das Farbstoffchlorid sogleich in körnigem Zustand ab. Diese Abscheidung wurde darauf in kleinster Menge von Methanol aufgenommen, und dazu abs. Äthanol hinzugefügt, bis keine unlöslichen Verunreinigungen mehr entstanden. Nach dem Abtrennen der letzten wurde das Filtrat im Vakuum abgedampft. Dann wurde der Rückstand in 1~2 ccm 20-proz. Salzsäure gelöst und kalt stehen gelassen. Das Anthocyanin schied sich nach einigen Tagen in halbkristalliner Form ab. In diesem Zustand erhielten wir 150 mg Rohanthocyanin aus dem ersten Anteil der Bleiverbindung und 220 mg davon aus dem zweiten. Demnach betrug die Gesamtausbeute etwa 0.12 proz. des frischen Ausgangsmaterials.

Reinigung und Beschreibung des Anthocyanins—Das Anthocyanin lässt sich aus äthanolischer

4) R. Willstätter, E. H. Zollinger: Ann., 412, 164 (1916).

5) R. Scott-Moncrieff: Biochem. J., 24, 753 (1930).

Salzsäure oder besser aus 5-proz. Salzsäure sehr leicht in hübschen Kristallen abscheiden. Zur Reinigung hat man z. B. 60 mg Rohsubstanz in 0.9 ccm 2-proz. Salzsäure warm aufgelöst und mit gleichem Volumen Äthanol versetzt, wobei sehr bald einheitlich aussehende, rotbraune, prismatische Stäbchen (Fig. 1) in Erscheinung traten. Schmp. 175° (Zers.) in lufttrockenem Zustand. Die Verbindung enthielt keine Methoxygruppe und ergab die folgenden Analysenwerte:

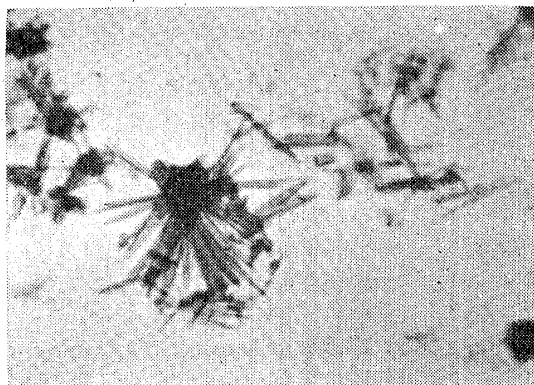


Fig. 1. Keracyanin (aus Äthanol-Salzsäure)



Fig. 2. Keracyanin (aus 5-proz. Salzsäure)

Bestimmung von Kristallwasser:

Sbst.	3.812 mg:	Gew.-Verl.	0.384 mg	(100°, P ₂ O ₅ , 2~3 mm Hg).
"	49.55 "	"	4.45 "	(" " ")
"	243.3 "	"	22.7 "	(100~120°, P ₂ O ₅ , 4 mm Hg).

$C_{27}H_{31}O_{15}Cl \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$.—Ber.: H₂O, 9.08. Gef.: H₂O, 9.16, 8.98, 9.33.

C-H-Bestimmung von lufttrockenem Präparat:

Sbst.	4.133 mg:	CO ₂	7.089 mg,	H ₂ O	2.095 mg.
"	3.812 "	"	6.500 "	"	1.746 "

$C_{27}H_{31}O_{15}Cl \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$.—Ber.: C, 46.72, H, 5.48.
Gef.: " 46.81, 46.50, " 5.67, 5.13.

Die Kristallisation aus Salzsäure ging viel besser vor sich, wenn man 70 mg der Verbindung in 7 ccm heissem Wasser aufgenommen und dazu 2.5 ccm 20-proz. Salzsäure zugegeben hat. Hierbei schied sich der Farbstoff in Büscheln von dünnen, karminroten Nadeln (Fig. 2) reichlich ab⁶⁾. Der Zersetzungspunkt lag gleich hoch wie bei dem obigen Kristallisat.

Kristallwasser-Bestimmung:

Sbst.	3.533 mg:	Gew.-Verl.	0.225 mg	(110°, P ₂ O ₅ , 2 mm Hg).
-------	-----------	------------	----------	--

$C_{27}H_{31}O_{15}Cl \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$.—Ber.: H₂O, 6.66. Gef.: H₂O, 6.37.

C-H-Bestimmung:

Lufttrockene Subst.	2.904 mg:	CO ₂	5.088 mg,	H ₂ O	1.419 mg.	
$C_{27}H_{31}O_{15}Cl \cdot 2\frac{1}{2}H_2O$.—Ber.:		C,	47.98;	H,	5.33.	
		Gef.:	C,	47.81;	H,	5.47.
Wasserfreie Subst.	3.308 mg:	CO ₂	5.225 mg,	H ₂ O	1.522 mg.	
$C_{27}H_{31}O_{15}Cl$.—Ber.:		C,	51.39;	H,	4.92.	
		Gef.:	C,	51.35;	H,	5.15.

Das reine Farbstoffchlorid ergibt die Verteilungszahl 9.1 (zwischen 0.5 Proz. Salzsäure und *iso*-Amylalkohol)⁷⁾. Es zeigt in einem 60-proz. Äthanol, welches den Chlorwasserstoff zu 0.1 Proz. enthält, 3 Absorptionsmaxima: (1/λ) 1900, 3000 und 3550. Das Chlorid löst sich leicht in Äthanol mit rosa-roter Farbe und in Wasser braunrot. Seine äthanolische Lösung zeigt überhaupt die mit Cyanidin-3-glycosid stimmenden Farbenreaktionen, die in nachstehender Tabelle zusammengestellt sind. Bemerkenswert ist seine violette Reaktion mit Soda, die nach R. Robinson und seinen Mitarbeitern⁸⁾

- 6) Dieselbe Abscheidung wurde bereits von Scott-Moncrieff beobachtet und als „red hydrate“ des Keracyanins bezeichnet. Das Produkt sollte nach ihr 3½ mole Kristallwasser enthalten; dagegen haben wir an unserem Präparat, welches unter gleichen Bedingungen dargestellt war, nur 2½ mole Kristallwasser ermittelt. Ferner konnten wir auch das sogenannte „fan hydrate“ beim Umkristallisieren aus 20-proz. Salzsäure leicht darstellen. Hierbei haben wir aber den Kristallwasser-Gehalt nicht genauer untersucht.
- 7) Dieser Wert ist viel höher als der von R. Willstätter für Keracyanin angegeben (6.5 bzw. 6.7 in der ursprünglichen Angabe).
- 8) D. D. Pratt, R. Robinson: J. Chem. Soc., 127, 1131 (1925); A. Robertson, R. Robinson: *Ibid.*, 1927, 2198. Vgl. auch R. Scott-Moncrieff: *Biochem. J.*, 24, 756 (1930).

darauf hinzuweisen scheint, dass an dem *Canna*-Anthocyanin die Zuckerreste sich mit dem 3-Hydroxyl des Cyanidins verbinden.

Eine wässrige Farbstofflösung reduziert die Fehling'sche Lösung. Dieses Anthocyanin bildet kein schwer lösliches Pikrat, dagegen scheidet sich das Sulfat aus 7-proz. Schwefelsäure sehr leicht in Büscheln von feinen roten Nadeln fast quantitativ aus.

Einige qualitative Reaktionen des *Canna*-Anthocyans

Lösungsfarbe in C ₂ H ₅ OH Farbenreaktion einer alk. Lösung:	Glycosid*	Aglykon
mit verd. NaOH aq.	rosa-rot	rosa-rot
" Na ₂ CO ₃ aq.	azur-blau	azur-blau (bald grünlich)
" NH ₄ OH aq.	violett bis purpur	blau (")
" FeCl ₃ (alkoholisch)	blau	blau
" Pb-acetat aq.	himmel-blau	himmel-blau
" Na-acetat aq.	rein blauer Nd.	rein blauer Nd.
	rotviolett	—

* Die Reaktionen des Glycosids stimmen mit denen des Chrysanthemins (Cyanidin-3-glucosids) praktisch überein.

Hydrolytische Spaltung des Anthocyanins—(i) 38.2 mg eines wasserfrei getrockneten Glycosidchlorids (100~105°, Vak., P₂O₅) wurden in 2.5 ccm 1-proz. Salzsäure aufgenommen und die Lösung zum Sieden gebracht; dann fügten wir ein gleiches Volumen konz. Salzsäure zu und kochten die Flüssigkeit 3 Minuten lang. Bereits während des Siedens schied sich das Aglykon in langen, rotbraunen Nadeln ab, welche, wie unten gezeigt, mit dem Cyanidin identifiziert werden konnten. Sie wurden abgenutscht, mit verd. Salzsäure gewaschen und schliesslich im Vakuum bei 100° getrocknet. Ausbeute 20.1 mg.

Das sehr wenig gefärbte, saure Filtrat wurde zur Entfärbung mit *iso*-Amylalkohol geschüttelt, dann mit Äther nachgewaschen, um die Amylalkoholreste zu entfernen. Nach dem Abstumpfen der Säure mit Soda hat man die Lösung im Vakuum aufs Trockne abgedampft, und den Rückstand zur titrimetrischen Bestimmung des Gesamtzuckers nach Bertrand gebraucht. Berechnet auf Glucose, erhielten wir 19 mg Zucker, da die Reduktionskraft der Glucose und der Rhamnose gleich hoch liegt.

(ii) Ein zweiter Hydrolyseversuch ergab dieselbe Prozentausbeute des Aglykons, wie beim obigen Versuch (i); d.h. 23.8 mg wasserfreien Cyanidins aus 45.2 mg trockenen Glycosids. Hierbei haben wir die saure Mutterlauge für qualitative Prüfungen der Zuckerkomponenten benutzt. An Hand dieser Lösung wurde gefunden, dass die Pentose-Reaktion nach Bial sowie Keto-hexose-Reaktion nach Seliwanoff ganz negativ ausfielen, und dass sich die Phloroglucid-Reaktion nach Tollens und die Aceton-Reaktion nach Rosenthaler deutlich erkennen liessen. Hieraus folgt, dass Methylpentose (wahrscheinlich Rhamnose) am Aufbau des Glycosidmoleküls teilnimmt. Das Vorliegen von zwei Zuckern wurde auch durch den folgenden Versuch bewiesen: Eine Rohausscheidung von Zuckerosazon, welche unterm Mikroskop in Büscheln angeordnete, nadelige, gelbe Kristalle zeigte, schmolz sehr unscharf gegen 150~155°; woraus sich die Verbindung als eine Mischung erkennen liess. Wegen spärlichen Materials waren Trennung und Reinigung nach den üblichen Operationen kaum möglich. Hierbei leistete die papierchromatographische Trennung der freien Zuckerkomponenten gute Dienste. Wir konnten dadurch die zwei Zucker, Glucose und Rhamnose, in der Hydrolyseflüssigkeit deutlich nachweisen.

Demnach können wir die gewonnenen Ergebnisse folgendermassen zusammenfassen:

C ₂₇ H ₃₁ O ₁₅ Cl	→	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ Cl	+	C ₆ H ₁₂ O ₆	+	C ₆ H ₁₂ O ₅
(Keracyanin)		(Cyanidin)		(Glucose)		(Rhamnose)
Ber.		Cyanidin 51.2,		Glucose + Rhamnose 54.6%		
Gef. (i)		" 52.6,		" 49.7 "		
(ii)		" 52.7,		" —		

Zuckerfreier Farbstoff (Cyanidin)—Bei der hydrolytischen Spaltung mit 20-proz. Salzsäure schied sich das Aglykon, schon während des Siedens, in rotbraunen, dünnen Nadeln oder selten in breiten Nadeln reichlich ab. Dieses Produkt liess sich glatt aus Salzsäure-Alkohol umkristallisieren, unter ganz gleichen Bedingungen wie beim Cyanidin. Seine Identität mit dem letzten konnten wir durch sorgfältigen Vergleich der Kristallform, Lösungsfarbe, Farbenreaktionen, Absorptionsspektrum, und schliesslich durch Elementaranalyse bestätigen.

C-H-Bestimmung (im Vak. bei 100° üb. P₂O₅ getrockn.):

Sbst. 3.410 mg: CO₂ 6.965 mg, H₂O 1.032 mg.

C₁₅H₁₁O₆Cl.—Ber.: C, 55.81; H, 3.41. Gef.: C, 55.74; H, 3.39.

Zusammenfassung

Zur Charakterisierung des Anthocyanins in den feuerroten Blüten von *Canna generalis* Bailey haben wir sowohl auf papierchromatographischem Wege als auch durch präparative Darstellung und chemische Analyse bewiesen, dass der genannte Farbstoff nichts anderes als das Keracyanin (3-O-Rhamnoglucosidyl-cyanidin) ist.

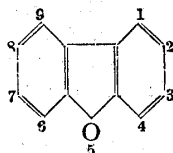
(Eingegangen am 15. Dezember 1953)

13. Shoji Shibata, Shinsaku Natori, Tomokichi Kawakami, Minoru Okano, and Yasuyoshi Tsuchimoto: Antibacterial Effect of Lichen Substances and Related Compounds. IV¹⁾. Dibenzofuran Derivatives. (2).

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Tokyo*)

In the course of studies on the relationship between the antibacterial action and the chemical structure of lichen substances²⁾, the behavior of some dibenzofuran compounds, such as didymic acid derivatives, seemed to be of interest and synthesis of dibenzofuran derivatives was undertaken in order to examine their antibacterial action. In the previous paper,¹⁾ the synthesis and antibacterial effects of 20 kinds of dibenzofurans substituted in the 3-position and their 8-chloro derivatives were reported by Shibata, Natori, and Sumi.

The present paper describes further studies on the dibenzofuran derivatives containing substituents in 3-, 3,8-, or 2,3-positions.



Experimental

I. Syntheses of Dibenzofuran Derivatives—Following 22 compounds were synthesized:

Dibenzofurans Substituted in 3-Position and their 2- or 8-Chloro Derivatives—3-Dibenzofuranurea (I), 3-hydrazino-(II), 3-tosylamino-(III), 2-chloro-3-acetylamino-(IV), 2-chloro-3-amino-(V), 3-diacetylamino-8-chloro-(VI), 3-cyano-8-chloro-dibenzofuran (VII), 8-chloro-3-dibenzofurancarboxylic acid (VIII), ethyl 8-chloro-3-dibenzofurancarboxylate (IX), 8-chloro-3-dibenzofurancarboxylic acid amide (X), and hydrazide (XI).

Dibenzofurans Substituted in 3,8-Positions—3,8-Dinitro-(XII), 3,8-diamino-(XIII), 3-amino-8-nitro-(XIV), 3-chloro-8-nitro-(XV), 3-chloro-8-amino-(XVI), 3-nitro-8-acetyl-dibenzofuran (XVII), 3-nitro-8-dibenzofurancarboxylic acid (XVIII), ethyl 3-nitro-8-dibenzofurancarboxylate (XIX), 3-amino-8-dibenzofurancarboxylic acid (XX), ethyl 3-amino-8-dibenzofurancarboxylate (XXI), and 3-amino-8-dibenzofurancarboxylic acid hydrazide (XXII).

Of these, (I)³⁾, (II)⁴⁾, (III)⁵⁾, (XII)⁶⁾, (XIII)⁶⁾, (XIV)⁶⁾, (XVII)³⁾, and (XVIII)³⁾ are known com-

* Motofuji-cho, Bunkyo-ku, Tokyo (柴田承二, 名取信策, 川上知吉, 岡野 実, 土本康喜)

1) Part III: S. Shibata, S. Natori, Y. Sumi: *J. Pharm. Soc. Japan*, **72**, 1333 (1952).

2) S. Shibata, Y. Miura, H. Sugimura, Y. Toyozumi: *J. Pharm. Soc. Japan*, **68**, 300, 303 (1948); *Japan Med. J.*, **1**, 518 (1948), **2**, 22 (1949).

3) H. Gilman, P. T. Parker, J. C. Bailie, G. E. Brown: *J. Am. Chem. Soc.*, **61**, 2836 (1939).

4) W. Borsche, W. Bothe: *Ber.*, **41**, 1949 (1908).

5) W. H. Kirkpatrick, P. T. Parker: *Ibid.*, **57**, 1123 (1935); colorless needles, m.p. 142.5°.

6) N. M. Cullinane: *J. Chem. Soc.*, 1932, 2365.