

Über die Chinone und verwandte Stoffe in höheren Pflanzen. IV.*¹⁾
Zur Biosynthese von Catalpalacton und Catalponol im
Holz der *Catalpa ovata*

HIROYUKI INOUYE, SHINICHI UEDA, KENICHIRO INOUE,
TOSHIMITSU HAYASHI und TORU HIBI

Pharmazeutische Fakultät der Universität Kyoto²⁾

(Eingegangen am 30. April 1975)

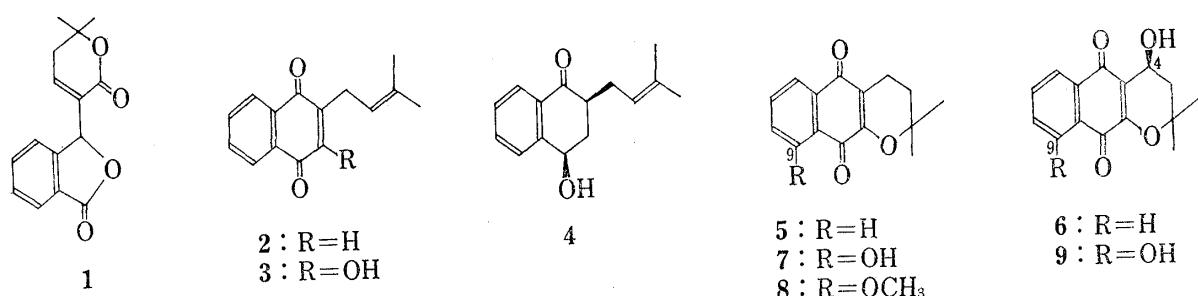
Durch Applikation der 1-(¹⁴C-Carboxy)-o-succinylbenzoësäure (OSB) bzw. 1-(¹⁴C-Carboxy)-(2'-³H₂)-OSB an die *Catalpa ovata*-Pflanze wurde die Einbauart von OSB in den Catalpalacton (**1**) und Catalponol (**4**) untersucht. Somit wurde bewiesen, dass es sich bei den beiden Stoffen (**1**) und (**4**) um Prenylnaphthochinonabkömmlinge handelt, die über OSB gebildet werden, und darüber hinaus, dass die Prenylierung dabei an der der Stellung 3' von OSB entsprechenden Position erfolgt, ohne dass die beiden Stoffe bei ihrer Bildung ein Intermediat mit aromatischem B-Ring durchlaufen.

Früher hatten wir bereits aus dem Holz von *Catalpa ovata* G. Don das Catalpalacton isoliert und ihm die Struktur **1** zuerteilt.³⁾ Diese Struktur legt die Vermutung nahe, dass der Stoff **1** durch Aufspaltung des chinoiden Ringes des Desoxylapachols (**2**) bzw. seines Äquivalents gebildet wird. Nach den Angaben der Literatur⁴⁾ kommen wirklich mehrere Prenylnaphthochinone wie Desoxylapachol (**2**), Lapachol (**3**) und dgl. in den Bignonaceen vor, zu denen die *Catalpa*-Pflanze gehört. Bei weiteren Untersuchungen über die Stoffe der *C. ovata*-Pflanze ist es uns sogar gelungen, erneut das Catalponol (**4**), ein hydriertes Derivat von **2**, und fünf Prenylnaphthochinone wie α -Lapachon (**5**), 4-Hydroxy- (**6**), 9-Hydroxy- (**7**), 9-Methoxy- (**8**) und 4,9-Dihydroxy- α -lapachon (**9**) zu isolieren und ihre Strukturen aufzuklären.^{1,5)}

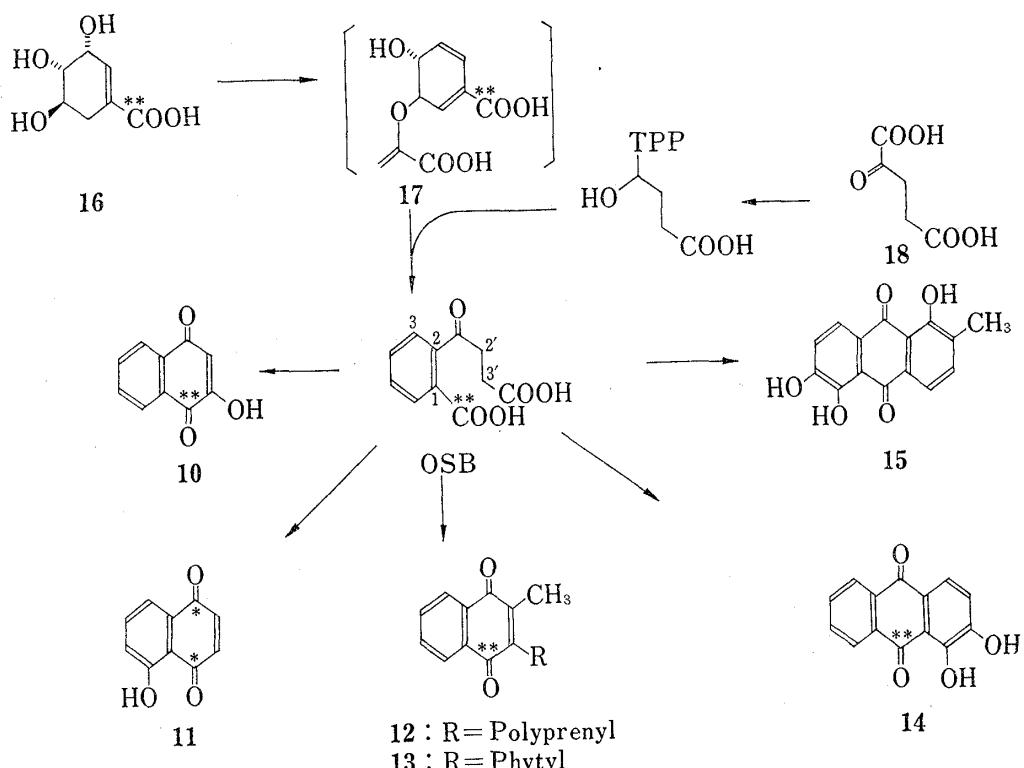
Als Biosyntheseroute der Naphthochinone in höheren Pflanzen sind bisher je nach den Stoffklassen vier verschiedene Wege bekannt.⁶⁻⁹⁾ Die obigen Stoffe der *Catalpa*-Pflanze scheinen indessen ihren Strukturen nach auf dem Weg über die o-Succinylbenzoësäure (OSB)⁶⁾ gebildet zu werden. Wie man aus Schema 2 ersehen kann, wurde schon bestätigt, dass diese Säure für die Biosynthese der Naphthochinone wie Lawson (**10**),^{6,10,11)} Juglon (**11**),⁶⁾ Menachinon (**12**)^{6,12,13)} und Phyllochinon (**13**)¹⁴⁾ sowie für diejenige der Anthrachinone wie

* Der Erinnerung an Herrn Professor Dr. Eiji Ochiai gewidmet.

- 1) III. Mitteil.: H. Inouye, T. Hayashi, und T. Shingu, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **23**, 392 (1975). Ein Teil dieser Arbeit wurde als vorläufige Mitteil. in *Tetrahedron Letters*, **1975**, 2395 und 2399 publiziert.
- 2) Anschrift: Yoshida-Shimoadachi-cho, Sakyo-ku, Kyoto.
- 3) H. Inouye, T. Okuda, Y. Hirata, N. Nagakura, und M. Yoshizaki, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **15**, 786 (1967).
- 4) R.H. Thomson, „Naturally Occurring Quinones“ Academic Press, London und New York, 1971, S. 198.
- 5) H. Inouye, T. Okuda, und T. Hayashi, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **23**, 384 (1975).
- 6) P. Dansette und R. Azerad, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **40**, 1090 (1970).
- 7) K.H. Bolkart und M.H. Zenk, *Z. Pflanzenphysiol.*, **61**, 356 (1969).
- 8) H.V. Schmid und M.H. Zenk, *Tetrahedron Letters*, **1971**, 4155.
- 9) R. Durand und M.H. Zenk, *Tetrahedron Letters*, **1971**, 3009; *Phytochemistry*, **13**, 1483 (1974).
- 10) I.M. Campbell, *Tetrahedron Letters*, **1969**, 4777.
- 11) E. Grotzinger und I.M. Campbell, *Phytochemistry*, **11**, 675 (1972); *Ibid.*, **13**, 923 (1974).
- 12) D.J. Robins, I.M. Campbell, und R. Bentley, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **39**, 1081 (1970).
- 13) D.J. Robins und R. Bentley, *J.C.S. Chem. Comm.*, **1972**, 232.
- 14) G. Thomas und D.R. Threlfall, *Phytochemistry*, **13**, 807 (1974).



Schema 1



Schema 2

Alizarin (**14**)¹⁵⁾ und Morindon (**15**)¹⁶⁾ als Precursor eine wichtige Rolle spielt, während angenommen wurde, dass sie ihrerseits wohl durch Kondensation von Shikimisäure (**16**)¹²⁾ (oder Chorismsäure (**17**)⁶⁾) mit Ketoglutarsäure (**18**) unter Beteiligung des Thiaminpyrophosphats (TPP) gebildet wird.⁶⁾

Was den näheren Biosyntheseprozess zwischen der OSB und diesen Chinonen angeht, so ist aber nur die Position aufgeklärt, wo die Substitution in Bezug auf die Carboxylgruppe der Shikimisäure (**16**) und folglich auf die der *o*-Succinylbenzoësäure (OSB) erfolgt. So wurde in den letzten Jahren durch Applikationsversuche mit (¹⁴C-Carboxy)-shikimisäure (**16**) jeweils an die Pflanzen und Mikroorganismen nachgewiesen, dass die Hydroxylierung¹¹⁾ bzw. Prenylierung¹⁶⁾ auf der Biosyntheseroute von Lawson (**10**) und Menachinon (**12**) an dem der Stellung 3' von OSB herstammenden C-Atom erfolgt, dagegen, dass die Hydroxylierung¹⁷⁾ auf dem Bildungsweg des Juglons (**11**) an einem Vorläufer mit einer symmetrischen Struktur an den beiden C-Atomen geschieht, die den Stellungen 3 und 6 von OSB entsprechen. Weiterhin wurde kürzlich darauf hingewiesen, dass die Prenylierung bei der Biosynthese des Alizarins

15) E. Leistner, *Phytochemistry*, **12**, 1669 (1973).

16) R.M. Baldwin, C.D. Snyder, und H. Rapoport, *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 276 (1973).

17) E. Leistner und M.H. Zenk, *Z. Naturforsch.*, **23b**, 259 (1968).

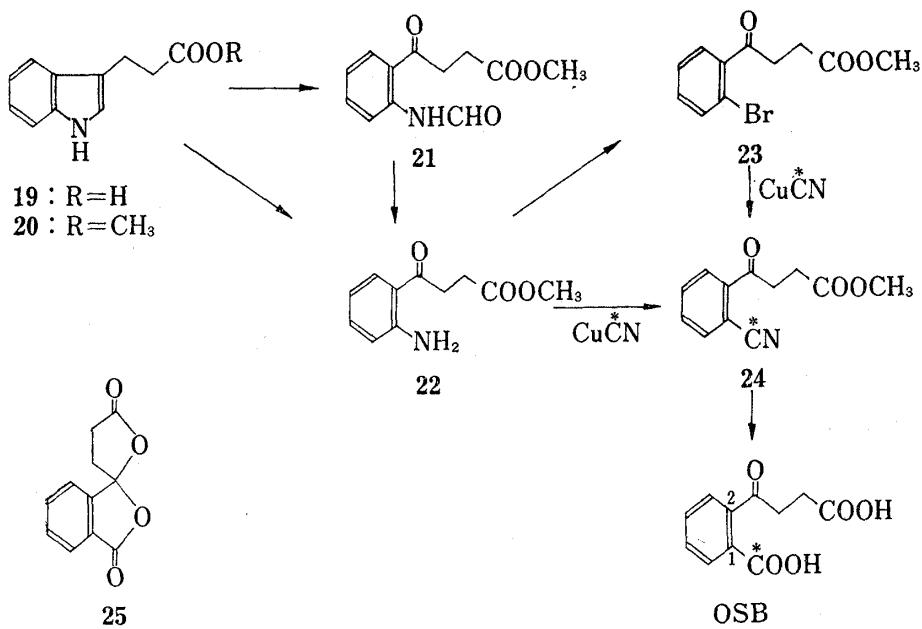
(14), welches über Desoxylapachol (2) oder dessen Abkömmling gebildet zu werden scheint, anders als bei Menachinon (12) an dem der Stellung 2' von OSB entsprechenden C-Atom erfolgen dürfte.¹⁸⁾

An vorliegender Arbeit wird über die Applikationsversuche von der mit ^{14}C sowie ^3H markierten OSB an die *C. ovata*-Pflanze berichtet, die den OSB-Ursprung des Catalpalactons (1) und des Catalponols (4) bestätigen und die wichtige Hinweise auf den Prenylierungsmechanismus bei dem Bildungswege der beiden Stoffe geben.

Wenn Catalpalacton (1), wie am Anfang erwähnt wurde, wirklich durch Aufspaltung des chinoiden Ringes eines Prenylnaphthochinonabkömmings entstanden ist, muss es für die Lokalisierung des aus der 1-Carboxylgruppe der OSB (d.h. der Carboxylgruppe der Shikimsäure (16)) herstammenden C-Atoms, nämlich für die Feststellung der Prenylierungsposition in Bezug auf die OSB sehr günstig sein, da in seinem Molekül die eine Carbonylgruppe des chinoiden Ringes in Alkohol reduziert, die andere dagegen in der Carboxylgruppe oxydiert ist.

In Heranziehung des strukturellen Charakters des Catalponols (4), in dem der chinoide Ring des Desoxylapachols (2) in einer hydrierten Form vorliegt, könnte man wohl weiterhin durch Einbauversuch der mit ^3H und ^{14}C doppelt markierten OSB Hinweise darauf bekommen, an welcher Stellung und in welcher Stufe auf dem Bildungsweg des Catalponols (4) die Prenylierung wirklich erfolgt.

Die zum Versuch benötigte 1-(^{14}C -Carboxy)-OSB wurde in der folgenden Weise hergestellt: Indolpropionsäure (19),¹⁹⁾ die durch Kondensation von Indol mit Acrylsäure leicht zu erhalten ist, wurde in den Methylester (20) übergeführt und mittels NaJO_4 oxydiert, wobei sich *o*-Formylaminobenzoylpropionsäure-methylester (21) und dessen Hydrolyseprodukt, *o*-Aminobenzoylpropionsäure-methylester (22) erhalten liessen. Der letztere wurde nun



Schema 3

unter Berücksichtigung der Ausbeute bei Nitrilierung erst nach der Überführung in Bromid (23) zum Nitril (24) abgeleitet, obwohl sich das letztere auch durch direkte Sandmeyer-Reaktion von 22 mit CuCN erhalten lässt. 24 wurde durch Einwirkung von H_2SO_4 , gefolgt von derjenigen von NaNO_2 , leicht zur entsprechenden Carbonsäure (OSB) hydrolysiert. Nach

18) E. Leistner, *Phytochemistry*, 12, 337 (1973).

19) S. Ghosal, *J. Indian Chem. Soc.*, 41, 496 (1964).

dieser Methode wurde dann die Markierung von Cu¹⁴CN mittels der Sandmeyer-Reaktion in das Nitril (**24**) eingeführt und letzteres zur gewünschten 1-(¹⁴C-Carboxy)-OSB²⁰⁾ hydrolysiert (Schema 3).

TABELLE I. Einbaurate von *o*-Succinylbenzoësäure (OSB) in Catalpalacton (**1**) und Catalponol (**4**)

	Spez. Akt. dpm/mMol	Einbaurate %	Spez. Einbaurate %
Catalpalacton (1)	7.00×10^6	0.27	0.109
Catalponol (4)	7.52×10^6	0.85	0.117

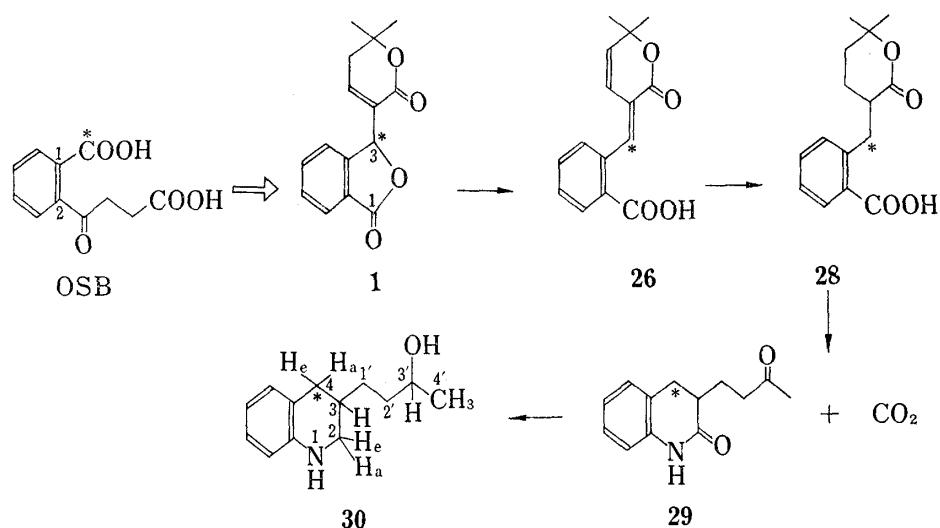
Die (2'-³H₂)-OSB wurde durch Erhitzen von OSB in einem ³H₂O-haltigen, wässrigen Alkali gewonnen, während das dazu gebrauchte OSB durch Hydrolyse des mittels Kondensation von Phthalanhydrid und Bernsteinsäure bereiteten Dilactons (**25**) hergestellt wurde.²¹⁾

Die 1-(¹⁴C-Carboxy)-OSB wurde als wässrige Lösung an einen Zweig der *Catalpa ovata*-Pflanze durch Aufsaugmethode appliziert. 7 Tage nach dem Beginn der Applikation wurde der Zweig zerschnitten und mit Benzol extrahiert. Der Extrakt wurde abgedampft und an Kieselgel chromatographiert, wobei Catalpalacton (**1**) und Catalponol (**4**) abgetrennt wurden. Das erste wurde dann durch Aufarbeitung mit Alkali in Catalpalactonsäure (**26**) und das letztere durch Jones-Oxydation in Catalponon (**27**) übergeführt und jeweils durch Kombination von Säulenchromatographie an Kieselgel und Umkristallisation zu einer konstanten Aktivität gereinigt. Die Einbaurate und spezifische Einbaurate der OSB in Catalpalacton (**1**) und Catalponol (**4**), die jeweils aus der hier gewonnenen spez. Aktivität von **26** und **27** errechnet wurden, besagen deutlich, dass es sich bei diesen beiden Substanzen um die Naphthochinon-derivate handelt, die über OSB gebildet werden (Tab. I).

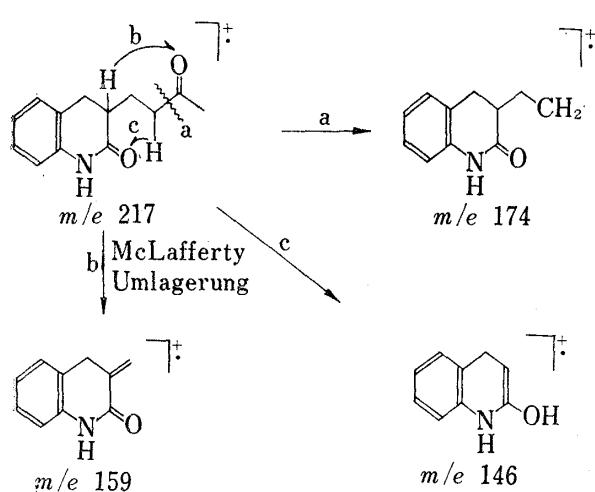
Dann haben wir zur Lokalisierung der 1-Carboxylgruppe von OSB in Catalpalacton (**1**) mit den Decarboxylierungsversuchen der Catalpalactonsäure (**26**) begonnen (Schema 4). Die Pyrolyse des Lithiumsalzes dieser Säure oder ihres Hydrierungsproduktes, der Tetrahydrocatalpalactonsäure (**28**),³⁾ die zuerst vorgenommen wurde, resultierte kaum in Decarboxylierung. Im Gegensatz dazu ergab der Schmidt-Abbau der Tetrahydrocatalpalactonsäure (**28**) unter CO₂-Abspaltung farblose Nadeln (**29**), C₁₃H₁₅O₂N, vom Schmp. 111—112.5°.²²⁾ **29** zeigt im IR (Infrarotspektrum) (Nujol) Banden bei 3200, 3050, 1710, 1675, 1594, 1495 und 750 cm⁻¹, im UV (Ultraviolettspektrum) (MeOH) Absorption bei 252 nm (log ε 4.00), im NMR (Kernresonanzspektrum) (CDCl₃) Signal bei δ 2.15 (s, COCH₃), 6.67—7.30 (4 arom. Protonen) sowie 8.65 (br. s, —NH) und im Massenspektrum Peaks bei *m/e* 217 (M⁺), 174, 159 und 146. Die UV-Absorption steht mit einer Carbostyrylstruktur²³⁾ im Einklang und das Massenfragmentierungsschema (Schema 5) lässt sich auch durch Struktur **29** erklären. LiAlH₄-

- 20) Bei Vorbereitung des Manuskripts für diese Mitteilung wurden wir durch Herrn Prof. M. H. Zenk von der Universität Bochum auf privatem Weg davon benachrichtigt, dass P. Dansette schon 1972 1-(¹⁴C-Carboxy)-OSB hergestellt hatte. Unser Syntheseweg ist aber anders als der seinige.
- 21) Wie man aus dem experimentellen Teil ersieht, wurde das Produkt der Austauschreaktion in Wirklichkeit durch Aufarbeitung mit Salzsäure und Methanol in radioaktiven OSB-dimethylester übergeführt und durch Chromatographie gereinigt. Dieser Ester lieferte durch gelindes Erwärmen in einem wässrigen Alkali die reine (2'-³H₂)-OSB. Die postulierte Austauschbarkeit der H-Atome nur am C-2' während dieser Aufarbeitung wurde folgenderweise bewiesen: Das Dilacton (**25**) ergibt beim Erhitzen mit MeONa/MeOD und dem anschliessenden Ansäuern den OSB-dimethylester, der aufgrund des Austausches der Protonen an den C-Atomen 2' und 3' mit Deuterium im NMR keine Methylenprotonen zeigt. Dieser Ester liefert durch Kochen mit Alkali und darauffolgende Methylierung wieder denselben Ester, der aber im NMR das breite Singulett der Protonen am C-2' bei δ 3.14 zeigt.
- 22) Catalpalactonsäure (**28**) wurde dabei nicht direkt der Reaktion ausgesetzt, da sie in stark saurer Lösung das Ausgangsmaterial, Catalpalacton (**1**), wiederherstellte.
- 23) P.T. Lansburg und N.R. Mancus, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 1205 (1966).

Reduktion von **29** ergab einen Tetrahydrochinolinkörper (**30**), $C_{13}H_{19}ON$, vom Schmp. 100—101.5°. Er zeigt im IR Banden bei 3250, 3160, 1600, 1585 sowie 760 cm^{-1} und im UV (ÄTOH) 253 ($\log \epsilon 3.91$) sowie 304 nm ($\log \epsilon 3.36$). Die den beiden Substanzen zuerteilten Strukturen **29** sowie **30** wurden schliesslich durch INDOR-Experimente von **30** bestätigt, die die in Schema 4 angegebene Lage und Zuordnung der 100 MHz NMR-Signale des Tetrahydrochinolinkörpers als richtig erscheinen liessen.



Schema 4



Massenfragmentierungsschema des Carbostyrikörpers (29)

Schema 5

Unter Zugrundelegung dieser Befunde wurde dann die radioaktive Catalpalactonsäure (**26**) katalytisch hydriert und darauf dem Schmidt-Abbau unterworfen. Das dabei entstandene CO_2 zeigt keine Aktivität, das Umwandlungsprodukt, das Carbostyryl (**29**), weist dagegen 86% der Aktivität der ursprünglichen Säure (**26**) auf. Dadurch wurde eindeutig erwiesen, dass die Prenylierung auf dem Biosyntheseweg von Catalpalacton (**1**) an einem Vorläufer mit einer unsymmetrischen Struktur an dem der Stellung 3' von OSB entsprechenden C-Atom erfolgt.

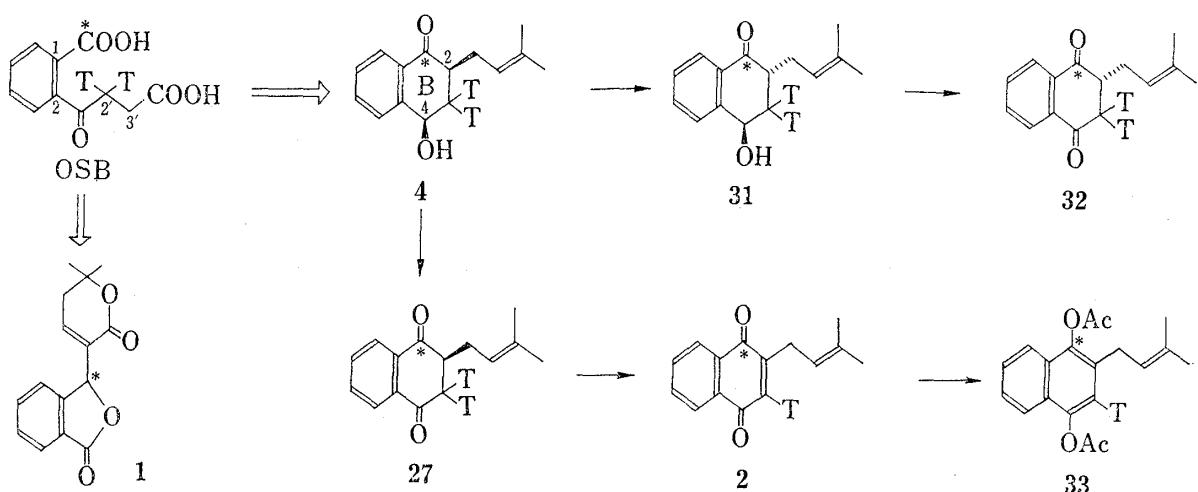
Dieses Resultat steht mit der postulierten Prenylierungsposition für Mena-chinon (**12**) im Einklang, wiederspricht indessen derjenigen für Alizarin (**14**). So

haben wir uns daraufhin vorgenommen, auf andere Weise nach Applikation von 1-(¹⁴C-Carboxy)-(2'-³H₂)-OSB an die Pflanze durch Überprüfung der ³H/¹⁴C-Rate des isolierten Catalponols (**4**) die Prenylierungsposition zu beweisen. Die Applikation der (2'-³H₂)-OSB

TABELLE II. Einbauversuch mit doppelt markierter *o*-Succinylbenzoësäure (OSB)

	Spez. Akt. von ^{14}C dpm/mMol	Spez. Akt. von ^3H dpm/mMol	$^3\text{H}/^{14}\text{C}$	Einbaurate %	Spez. Einbaurate %
Catalpalacton (1)	5.77×10^6	0	0	0.15	0.143
Catalponol (4)	(5.34×10^6)	(8.24×10^6)	1.54	0.90	0.166
2S-Catalponon (27)	6.71×10^6	8.92×10^6	1.33	—	—
Epicatalponol (31)	7.44×10^6	1.17×10^7	1.57	—	—
2R-Catalponon (32)	7.12×10^6	1.10×10^7	1.54	—	—
Leukodesoxylapachol-diacetat (33)	6.68×10^6	4.48×10^6	0.67	—	—

Die Einbaurate des Catalpalactons (**1**) wurde diesmal auf seine eigene Aktivität bezogen. Die Rate des Catalponols (**4**) wurde aber genauso wie bei Tabelle I aus der Aktivität des Catalponons (**27**) berechnet, das im Gegensatz zum ölichen Stoff (**4**) durch Umkristallisation gereinigt werden kann.



Schema 6

zusammen mit der $1-(^{14}\text{C}-\text{Carboxy})$ -OSB an die *Catalpa*-Pflanze und die Aufarbeitung erfolgten genauso wie bei dem obigen Applikationsversuch.

Wie aus Tab. II zu ersehen ist, isolierte man dabei wiederum Catalpalacton (**1**) und Catalponol (**4**), die beide radioaktiv sind. Erwartungsgemäss wurde dabei aber im Catalpalacton (**1**), das die H-Atome an C-2' und 3' von OSB nicht mehr enthält, nur das ^{14}C nachgewiesen. Im Catalponol (**4**) wurde dagegen der Einbau der beiden radioaktiven Atome festgestellt. Dabei war sogar bestätigt, dass die $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Rate in **4** etwa 70% von denjenigen in der angebotenen OSB beträgt. Nimmt man darauf Rücksicht, dass die relativ labilen ^3H -Atome an C-2' von OSB während des Einbauversuchs leicht als $^3\text{H}_2\text{O}$ abgespalten werden können, so ist es erstaunlich, dass dieser Wert so hoch liegt. Somit weist allein dieser Befund schon darauf hin, dass bei der Biosynthese des Catalponols (**4**) die Prenylierung nicht an der Stellung 2' von OSB erfolgt, und darüber hinaus, dass dabei keine Vorstufe mit einem aromatischen Ring B durchlaufen wird, denn sonst müsste die genannte Rate weniger als die Hälfte von denjenigen des applizierten Stoffes betragen. Zur Bestätigung dieser Schlussfolgerung wurde das hier gewonnene, radioaktive Catalponol (**4**) weiter den folgenden Reaktionen¹⁾ unterworfen und die $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Rate der Reaktionsprodukte gemessen (Tabelle II und Schema 6). Einerseits wurde es nämlich durch Alkalibehandlung zu Epicatalponol (**31**) epimerisiert, das darauf durch Jones-Oxydation in 2R-Catalponon (**32**) übergeführt wurde. Andererseits wurde der Stoff **4** durch Jones-Oxydation zu 2S-Catalponon (**27**) abgeleitet und letzteres nach der Oxydation zu Desoxylapachol (**2**) in Leukodesoxylapachol-diacetat (**33**) übergeführt. Nach den $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ -Verhältnissen dieser Verbindungen bleibt die Rate des Catalponols (**4**) auch in den Verbindungen **27**, **31** und **32** praktisch unverändert, wogegen sie in der Verbindung **33**, die

das gesamte ^3H von **2** behalten soll, auf die Hälfte des Wertes der anderen Verbindungen abgesunken ist.

All diese Ergebnisse sprechen eindeutig dafür, dass die am C-Atom 2' von OSB eingeführten ^3H -Atome selbst nach den biologischen Umwandlungen in der Pflanze ausschliesslich an der ursprünglichen Position gebunden bleiben.

Somit kommen wir zu den folgenden Schlüssen: i) Catalpalacton (**1**) und Catalponol (**4**) sind beide verwandte Stoffe der Prenylnaphthochinone, die über OSB gebildet werden. ii) Die Prenylierung erfolgt auf dem Biosyntheseweg der beiden Stoffe an der dem C-Atom 3' von OSB entsprechenden Position. iii) Zumindestens geht der Biosyntheseweg des Catalponols (**4**) nicht über einen Precursor mit einem aromatischen B-Ring.

In einem vorläufigen Applikationsversuch²⁴⁾ mit dem nach Wilzbach markierten Desoxylapachol (**2**) wurde gefunden, dass der Einbau in Catalpalacton (**1**) viel niedriger als die Inkorporation in Catalponol (**4**) ist, während letztere ihrerseits keineswegs auf der normalen Biosyntheseroute erfolgt und niedriger als diejenige von OSB ist. Daher dürfte man wohl schliessen, dass der normale Biosyntheseweg von **1** in keiner Weise über einen Vorläufer mit einem aromatischen B-Ring wie Desoxylapachol (**2**) läuft. Auch bei der Biosynthese der oben erwähnten Lapachone (**5—9**), die in *Catalpa ovata* vorkommen, dürfte die Prenylierung wohl genauso wie bei den Substanzen **1** und **4** erfolgen. Ausführliches über den Prenylierungsmechanismus und die Stellung dieser Stoffe zueinander auf ihrem Biosyntheseweg wird in kürze berichtet.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Heizapparat nach Dr. Hozumi (Yanagimoto-Seisakusho, Kyoto) gemessen und nicht korrigiert. NMR-Spektren wurden an einem Varian-A-60- bzw. HA-100-Spektrometer mit Tetramethylsilan (TMS) als internem Standard aufgenommen. Massenspektren wurden an einem Hitachi-Massenspektrometer, Modell RMU 6D, gemessen. Zur Säulenchromatographie dienten Kieselgel (Mallinckrodt) und Acetylpolyamid,⁵⁾ das durch Acetylierung des Polyamids (Wako C-200) bereitet wurde. Zur Dünnschichtchromatographie (DC) diente bei den radioinaktiven Substanzen Kieselgel G nach Stahl (Merck) und bei den radioaktiven Substanzen Kieselgel F₂₅₄ (Merck). Abgesehen von den an sich gelben Naphthochinonen wurde die Sichtbarmachung durch Bedampfen der Platte mit Jod durchgeführt. Zur präparativen DC diente bei den radioinaktiven Substanzen Kieselgel G nach Stahl (Typ 60) (Merck) und bei den radioaktiven Substanzen Kieselgel GF₂₅₄ (Typ 60) (Merck). Bei Gebrauch von Lösungsmittelgemischen als Elutionsmittel zur Chromatographie wurde das Mengenverhältnis in v/v% angegeben.

Die Messung der Radioaktivität erfolgte in einem Beckman Flüssigkeitsscintillationsspektrometer, Modell LS-233, in einem Toluol-Scintillatorgemisch (85 mg Fluor alloy™ in 10 ml Lösungsmittel).

NaJO₄-Oxydation von Indolpropionsäure-methylester (20)—Zu einer Lösung von **20** (5 g) in MeOH (60 ml) wurde unter Umrühren eine Lösung von NaJO₄ (10.3 g) in H₂O (70 ml) allmäthlich eingetropft. Nach weiterem 48 stdg. Umrühren bei Raumtemperatur wurde der ausgeschiedene Niederschlag abfiltriert und mit MeOH ausgewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung wurden vereinigt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde 3 mal mit CH₂Cl₂ ausgezogen, die CH₂Cl₂-Schicht über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Der 6.36 g wiegende Rückstand wurde in wenig Benzol gelöst, auf eine Kieselgelsäule (150 g) aufgetragen und mit dem Lösungsmittelgemisch Benzol-AcOÄt chromatographiert. Es wurde zunächst mit 100 ml Benzol, dann mit 300 ml Benzol-AcOÄt (98: 2), 900 ml Benzol-AcOÄt (96: 4), 400 ml Benzol-AcOÄt (95: 5), 400 ml Benzol-AcOÄt (92: 8) und schliesslich mit 400 ml Benzol-AcOÄt (90: 10) eluiert. Das erste 300 ml Eluat mit Benzol-AcOÄt (96: 4) lieferte 7 mg Ausgangsmaterial. Das anschliessende 400 ml Eluat mit demselben Lösungsmittelgemisch (96: 4) lieferte beim Abdampfen im Vak. den Rückstand, der durch Umkristallisation aus Äther-Petroläther 120 mg blassgelbe Nadelchen (**22**) vom Schmp. 48.5—49° ergab. DC: Benzol-AcOÄt (9: 1), R_f 0.40; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$: 3460, 3340, 1715, 1645, 1615, 1585, 1555, 1490 1240, 1160, 765 cm⁻¹; NMR (CDCl₃) δ: 2.56—2.85 (COCH₂CH₂COO), 3.47—3.69 (COCH₂CH₂COO), 3.70 (s, COOCH₃), 6.07 (m, -NH₂), 6.48—7.87 (4 arom. Protonen); C₁₁H₁₃O₃N Ber: C, 63.75; H, 6.32; N, 6.76. Gef: C, 63.75; H, 6.28; N, 6.57.

Alle danach ausgeflossenen Eluate (Benzol-AcOÄt (96: 4, 95: 5, 92: 8 und 90: 10)) wurden vereinigt und im Vak. eingedampft. Der dabei zurückgebliebene Rückstand ergab durch Umkristallisation aus Äther 3.3 g farblose Nadelchen (**21**) vom Schmp. 78.5—79°. DC: Benzol-AcOÄt (9: 1), R_f 0.27; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$: 3250, 1740, 1680, 1650, 1610, 1585, 1525, 1250, 1170, 765 cm⁻¹; NMR (CDCl₃) δ: 2.60—2.80 (COCH₂CH₂COO),

24) H. Inouye, S. Ueda, und T. Hayashi, unveröffentlichte Ergebnisse.

3.26—3.57 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.73 (s, COOCH_3) 7.01—8.10 (4 arom. Protonen), 8.50—8.95 ($-\text{NH}$, $-\text{CHO}$); $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}$ Ber: C, 61.27; H, 5.53; N, 5.96. Gef: C, 60.99; H, 5.44; N, 5.73.

Hydrolyse des *o*-Formylaminobenzoylpropionsäure-methylesters (21) — 21 (2.5 g) wurde in MeOH (50 ml) gelöst, mit konz. HCl (1 ml) versetzt und auf 40° für 20 Min. erwärmt. Nach Abkühlen wurde die Reaktionslösung mit IR-410 (OH^- -Form) neutralisiert, vom Harz abfiltriert und im Vak. eingedampft. Der Rückstand ergab bei Umkristallisation aus Äther-Petroläther 1.3 g blassgelbe Nadelchen (22) vom Schmp. 48.5—49°.

Im laufenden Versuch wurde der Reaktionsansatz von 20 genauso wie oben aufgearbeitet, und die gesammelten Fraktionen bei der Chromatographie, die zugleich die Verbindungen 20 bzw. 21 enthielten, wurden ohne weiteres der Hydrolyse unterworfen.

Herstellung von *o*-Brombenzoylpropionsäure-methylester (23) durch Sandmeyer-Reaktion von *o*-Aminobenzoylpropionsäure-methylester (22) — Zu einer Suspension von 22 (518 mg) in 48% iger HBr (0.9 ml) wurde unterhalb 5° eine Lösung von NaNO_2 (175 mg) in H_2O (0.4 ml) eingetropft. Die resultierte Diazoniumsalz-Lösung wurde dann möglichst schnell zu einer unter Rückfluss siedenden Lösung von CuBr (198 mg) in 48%iger HBr (0.2 ml) eingetropft. Nach Abkühlen wurde die Lösung mit H_2O verdünnt und mit Benzol 3 mal extrahiert. Die Benzolschicht wurde mit H_2O gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde in MeOH gelöst, mit ätherischem CH_2N_2 versetzt und nach einigen Minuten im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde an einer Kieselgelsäule (25 g) zuerst mit 200 ml Benzol und dann mit 100 ml Benzol-AcOät (99: 1) chromatographiert. Das Benzol-AcOät-Eluat lieferte durch Abdestillieren des Lösungsmittels 598 mg blassgelbes Öl von 23. IR ν_{max} (als Film gemessen): 1740, 1695, 1690, 1220, 1170, 760 cm^{-1} ; NMR (CDCl_3) δ : 2.61—2.91 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.10—3.31 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.70 (s, COOCH_3), 7.10—7.76 (4 arom. Protonen); $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{Br}$ Ber: C, 49.02; H, 4.12; Br, 29.48. Gef: C, 48.75, H, 4.06; Br, 29.20;.

Umsetzung des *o*-Brombenzoylpropionsäure-methylesters (23) zu *o*-Cyanbenzoylpropionsäure-methylester (24) — Eine Mischung von 23 (407 mg), CuCN (103 mg), Dimethylformamid (1.8 ml) und Pyridin (0.2 ml) wurde unter strenger Feuchteabschliessung und unter Rückfluss während 1 Std. gekocht. Die Lösung wurde dann abgekühlt, mit einer Lösung von FeCl_3 (400 mg) und konz. HCl (0.1 ml) in H_2O (0.6 ml) versetzt und bei 70° für 1/2 Std. erwärmt. Die Lösung wurde dann über Celite abfiltriert und letzteres mit heissem Benzol ausgewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung wurden vereinigt, mit H_2O versetzt und weiter 3mal mit Benzol ausgezogen. Die Benzollösung wurde über MgSO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde in MeOH gelöst, mit ätherischem CH_2N_2 versetzt, für einige Minuten stehen gelassen und wieder im Vak. eingedampft. Der zurückgebliebene Rückstand wurde an einer Kieselgelsäule (22 g) zunächst mit Benzol und dann mit Benzol-AcOät (96: 4) chromatographiert. Das Benzoleluat ergab 12 mg Ausgangsmaterial (23), das Benzol-AcOät-Eluat dagegen 204 mg Nitril (24). Das letztere kristallisierte sich aus Äther als blassgelbe Prismen vom Schmp. 71.5—72° aus. DC: Benzol-AcOät (9: 1), R_f 0.25; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$: 2225, 1735, 1695, 1598, 1570, 1498, 1220, 1165, 775 cm^{-1} ; NMR (CDCl_3) δ : 2.69—2.98 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.21—3.50 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 3.71 (s, COOCH_3), 7.59—8.15 (4 arom. Protonen); $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$ Ber: C, 66.35; H, 5.10; N, 6.45. Gef: C, 66.53; H, 5.08; N, 6.19. Dieses Nitril (24) konnte auch aus dem Amin (22) über Diazoniumchlorid durch Umsetzung mit CuCN in üblicher Weise hergestellt werden, die Ausbeute in Bezug auf CuCN war dabei jedoch niedriger als bei der Umsetzung von 23 zu 24.

Hydrolyse von *o*-Cyanbenzoylpropionsäure-methylester (24) in *o*-Succinylbenzoësäure (OSB) — Zu auf 140° erhitzter, 70%iger H_2SO_4 (7.5 ml) wurde 23 (500 mg) schnell zugesetzt und für weitere 3 Std. unter Rückfluss auf dieselbe Temperatur erhitzt. Nach Abkühlen wurde eine Lösung von NaNO_2 (200 mg) in H_2O (2.5 ml) zum Ansatz eingetropft. Ab 5 Minuten nach beendetem Eintropfen wurde N_2 -Gas für 1.5 Std. in die Lösung eingeleitet. Die Lösung wurde dann mit 20fachem Volumen H_2O versetzt und mit AcOät ausgezogen. Die AcOät-Schicht wurde mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und im Vak. konzentriert. Der Rückstand wurde in wenig MeOH gelöst, mit ätherischem CH_2N_2 versetzt, 30 Min. lang bei Raumtemp. stehen gelassen und eingedampft. Der Rückstand, der 370 mg betrug, wurde an einer Kieselgelsäule (25 g) mit CHCl_3 als Elutionsmittel chromatographiert. Aus dem Eluat wurde durch Eindampfen 220 mg OSB-dimethylester als öliger Rückstand erhalten. DC: Benzol-AcOät (9: 1), R_f 0.25. Dieser wurde in MeOH (5 ml) gelöst, mit 1 n NaOH (5 ml) versetzt und 30 Min. lang unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen wurde die Lösung durch Zusatz von 1 n HCl auf pH 3.5 eingestellt und mit AcOät ausgezogen. Die AcOät-Schicht wurde im Vak. eingedampft und der Rückstand aus Äther-Petroläther umkristallisiert, wobei 191 mg farblose Nadelchen (OSB) vom Schmp. 137° erhalten wurden. DC: saure Silicagel G-Schicht, die anstatt H_2O mit 0.25% *o*-Phosphorsäure hergestellt wurde, CHCl_3 -MeOH (3: 1), R_f 0.78; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$: 2750—2200, 1710, 1680, 1600, 1575, 1490, 770 cm^{-1} ; NMR (D_2O) δ : 2.31—2.95 ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{COO}$), 7.50—8.02 (4 arom. Protonen). $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_5$ Ber: C, 59.46; H, 4.54. Gef: C, 59.27, H, 4.67.

Herstellung von 1-(¹⁴C-Carboxy)-*o*-succinylbenzoësäure (OSB) — *o*-Bromkörper (23) (564.5 mg) wurde in einem Gemisch von Dimethylformamid (2.2 ml) und Pyridin (0.23 ml) gelöst, mit Cu^{14}CN (118 mg, ca. 10 mCi, hergestellt aus 195.3 mg K^{14}CN von spez. Aktivität 10 mCi/mMol und 54.7 mg Träger) versetzt und während 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen wurde der Reaktionsansatz mit FeCl_3 (462.6 mg), konz. HCl (0.12 ml) und H_2O (0.72 ml) versetzt und für 30 Min. auf 70° erwärmt. Der Reaktionsansatz wurde mit Benzol heiß digeriert (5 × 15 ml), über MgSO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft. Der Rück-

stand wurde an einer Kieselgelsäule (8 g) mit Benzol chromatographiert, wobei Fraktionen zu je 30 ml aufgefangen wurden. Die Fraktionen 2 und 3 wurden vereinigt und eingedampft. Der Rückstand wurde wiederum an Kieselgel (30 g) mit Lösungsmittelsystem Benzol-AcOÄt chromatographiert. Es wurde zunächst mit 300 ml Benzol, dann mit 100 ml Benzol-AcOÄt (99: 1) und schliesslich mit 200 ml Benzol-AcOÄt (90: 10) eluiert. Das Eluat mit dem letzten Lösungsmittelgemisch hinterliess beim Eindampfen 126.3 mg radioaktive Substanz, die mittels DC mit der Substanz **24** als identisch erwiesen wurde. Totale Aktivität 9.72×10^9 dpm.

63 mg des hier gewonnenen radioaktiven Nitrils (**24**) wurden mit 70%iger H₂SO₄ (0.95 ml) versetzt und für 3 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen bis auf 20° wurde der Ansatz mit einer Lösung von NaNO₂ (26 mg) in H₂O (1 ml) versetzt. In die Lösung wurde dann ein N₂-Strom im Laufe von 2 Std. eingeleitet. Nach 20-facher Verdünnung durch Zusatz von H₂O wurde die Lösung mit AcOÄt ausgezogen und die AcOÄt-Schicht mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Eindampfen im Vak. wurde der Rückstand in MeOH (3 ml) gelöst, durch Zusatz von ätherischem CH₂N₂ in üblicher Weise methyliert und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde an einer Kieselgelsäule (10 g) mit CHCl₃ chromatographiert. Es wurden Fraktionen zu je 10 ml aufgefangen. Die vereinigten Fraktionen 3—5 lieferten beim Eindampfen 49 mg Rückstand, der in DC einen einzigen Fleck von **OSB**-dimethylester zeigte. Dieser wurde in MeOH (0.5 ml) gelöst, mit NaOH (105.2 mg) und H₂O (2 ml) versetzt und während 2.5 Std. unter Rückfluss gekocht. Der Ansatz wurde mit verd. MeOH auf 20 ml verdünnt, mit Amberlite IR-120 (H⁺-Form) neutralisiert und vom Harz abfiltriert. Der beim Eindampfen des Filtrats im Vak. hinterbliebene Rückstand wurde in AcOÄt aufgenommen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel im Vak. abdestilliert. Der hier gewonnene, radioaktive Rückstand zeigte in DC einen einzigen Fleck, der mit dem von **OSB** übereinstimmte. Ausbeute 42 mg. Totale Aktivität 1.74×10^9 dpm.

Herstellung der (2'-³H₂)-o-Succinylbenzoësäure (OSB)—**OSB** (103 mg) wurde in 1 n NaOH (4 ml) gelöst, mit 10 Ci ³H₂O versetzt und während 4 Std. auf 85° erwärmt. Der Ansatz wurde mit 1 n HCl (4.5 ml) versetzt und im Vak. eingedampft. Zur vollständigen Vertreibung der Säure wurde der Rückstand mit MeOH versetzt und im Vak. eingedampft. Diese Behandlung wurde dreimal wiederholt. Der Rückstand, der nach Radio-DC hauptsächlich aus **OSB**-dimethylester bestand, zeigte eine totale Aktivität von 6.8 mCi. Dieser wurde an Kieselgel (15 g) mit CHCl₃ chromatographiert. Die Fraktionen 7—9 (zu je 40 ml), die in DC einen einzigen Fleck von **OSB**-dimethylester zeigten, wurden vereinigt und eingedampft. Der Rückstand betrug 28.98 mg. Die Hälfte davon wurde durch Erwärmen auf 70° für 3 Min. in 0.2 n NaOH (1 ml) gelöst, sofort mit Eiswasser abgekühlt und mit einem Tropfen 10%iger HCl neutralisiert. Die Lösung wurde dann mit Äther extrahiert und die organische Schicht 4 mal mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand betrug 7.51 mg und zeigte in DC einen einzigen radioaktiven Fleck von **OSB**. Totale Aktivität 3.14×10^9 dpm.

Behandlung von Dilacton (25) mit CH₃ONa-CH₃OD—Dilacton (25) (50 mg) wurde in einer aus Na (40 mg) und CH₃OD (3 ml) bereiteten CH₃ONa-CH₃OD-Lösung 3 Std. lang unter Rückfluss gekocht. Die Lösung wurde mit D₂O (3 ml) versetzt, mit 10%iger D₂SO₄ angesäuert und dreimal mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung wurde dann über MgSO₄ getrocknet und eingedampft, wobei 43 mg **OSB-d₄** erhalten wurden. NMR (D₂O) δ: keine Protonensignale im Methylenbereich, 7.50—8.03 (4 arom. Protonen).

Behandlung von (2',3'-²H₄)-o-Succinylbenzoësäure (OSB-d₄) mit NaOH—Die obige **OSB-d₄** (38 mg) wurde in MeOH (2 ml) gelöst, mit 2 n NaOH (2 ml) versetzt und 3 Std. lang unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen wurde die Lösung mit H₂O (5 ml) verdünnt und mit 10%iger H₂SO₄ angesäuert. Die H₂O-Schicht wurde 3 mal mit AcOÄt ausgezogen, der Auszug mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, der 31.5 mg betrug, wurde in MeOH (2 ml) gelöst und mit ätherischem CH₂N₂ in üblicher Weise methyliert. Das Produkt wurde durch Chromatographie an Silicagel (5 g) mit CHCl₃ als Elutionsmittel gereinigt. Der erhaltene Methylester wog 20 mg. NMR (CDCl₃) δ: 3.14 (br. s, COCH₂CD₂COO), 3.71 (s, -CD₂COOCH₃), 3.87 (s, 1-COOCH₃), 7.30—8.01 (4 arom. Protonen).

Applikation von 1-(¹⁴C-Carboxy)-OSB an die Catalpa ovata-Pflanze und Isolierung des mit ¹⁴C markierten Catalpalactons (1) und Catalponols (3)—Eine Lösung von 1-(¹⁴C-Carboxy)-**OSB** (18.01 mg, spez. Aktivität 6.44×10^9 dpm/mMol) in H₂O (10 ml) wurde an einen 8 jährigen Zweig der *C. ovata*-Pflanze (75 cm lang, mit belassenen 15 Blättern) durch Aufsaugmethode appliziert. 7 Tage nach dem Beginn der Applikation wurde der Zweig, der ohne Blätter 179 g betrug, zerschnitten und durch 4 maliges Kochen mit je 350 ml Benzol unter Rückfluss ausgezogen. Nach Abkühlen wurde der Auszug filtriert und im Vak. eingedampft. Der Rückstand, der 942 mg betrug, wurde an einer Kieselgelsäule (20 g) mit Benzol chromatographiert (Chromatographie 1), wobei je 30 ml Fraktionen aufgefangen wurden. Die vereinigten Eluate 14—15 hinterliessen bei Eindampfen i. Vak. 94 mg Rückstand, der weiter an einer Kieselgelsäule (25 g) mit Benzol-AcOÄt (98: 2) chromatographiert wurde. Die Fraktionen 16—25 (zu je 30 ml), die in DC einen einzigen Fleck von **1** zeigten, wurden vereinigt und im Vak. eingedampft. Der 51.68 mg wiegende Rückstand wurde mit 114.22 mg Träger von **1** gemischt und wiederum an Kieselgel (20 g) mit dem gleichen Elutionsmittel chromatographiert. Die vereinigten Fraktionen 19—39 (zu je 20 ml) hinterliessen bei Eindampfen im Vak. 159.69 mg sirupösen Rückstand. 78.23 mg davon wurden mit 3%igem alkoholischem KOH (1.8 ml) versetzt und während 3 Std. rückfliessend gekocht. Nach Eindampfen im Vak. wurde der Rückstand mit

wenig H₂O versetzt, mit verd. HCl angesäuert und mit Benzol (6 × 5 ml) ausgezogen. Die Benzol-Schicht wurde mit H₂O gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vak. eingedampft. Der Rückstand, der 71 mg betrug, wurde an Kieselgel (25 g) mit Äther chromatographiert. Die Eluate, die in DC einen einzigen Fleck von Catalpalactonsäure (26) zeigten, wurden gesammelt und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Benzol zu einer konstanten spez. Aktivität umkristallisiert. Spez. Aktivität 7.00×10^6 dpm/mMol.

Andererseits wurden die vereinigten Fraktionen 10—12 bei der Chromatographie 1 im Vak. eingedampft. Der ölige Rückstand, der 136 mg betrug, zeigte in DC einen einzigen Fleck, der mit demjenigen des Catalponols (3) übereinstimmte. Der Rückstand wurde, in Aceton (5 ml) gelöst, in üblicher Weise der Jones-Oxydation unterworfen. Nach beendetem Oxydation wurde der Ansatz mit H₂O verdünnt und mit Äther ausgezogen (4 × 12 ml). Die Äther-Schicht wurde über MgSO₄ getrocknet und im Vak. eingedampft. Der dabei zurückbleibende Rückstand, der 77.35 mg betrug, wurde an einer Kieselgelsäule (15 g) mit Benzol als Lösungsmittel chromatographiert. Die Fraktionen 5—8 (zu je 20 ml), die in DC einen einzigen Fleck von Catalponon (27) zeigten, wurden gesammelt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand, der 37.17 mg betrug, wurde aus Petroläther umkristallisiert. Spez. Aktivität 7.52×10^6 dpm/mMol.

Schmidt-Abbau der Tetrahydrocatalpalactonsäure (28)—Zu einer Lösung von 28 (514 mg) in konz. H₂SO₄ (18.4 ml), die mit Eis-Kochsalz gut abgekühlt wurde, wurde NaN₃ (736 mg) im Laufe von 2 Min. zugesetzt. Nach beendetem Zusatz wurde der Ansatz unter Einleitung des N₂-Stromes allmählich bis auf 60° erwärmt und für weitere 30 Min. bei derselben Temperatur gehalten. Das dabei abgelassene CO₂ wurde in einer wässrigen Barit-Lösung aufgefangen. Andererseits wurde der Ansatz im Reaktionsgefäß in Eiswasser getan und dreimal mit AcOÄt ausgezogen. Darauf wurde die H₂O-Schicht mit 30% iger NaOH alkalisch gemacht und wiederum mit AcOÄt extrahiert. Dieser AcOÄt-Auszug wurde mit gesättigter, wässriger NaCl-Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und im Vak. eingedampft, wobei 269 mg Rückstand zurückblieb. Dieser wurde an einer Kieselgelsäule (30 g) mit Benzol-Aceton chromatographiert. Es wurde nämlich mit je 100 ml Benzol-Aceton (98: 2), Benzol-Aceton (95: 5) und dann mit Benzol-Aceton (92: 8) eluiert. Der Rückstand des Eluats mit dem letzten Lösungsmittelgemisch kristallisierte sich aus Benzol als farblose Nadelchen (29) vom Schmp. 111—112.5° aus. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{ÄTOH}}$: 252 nm (log ε 4.00); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{NuJol}}$: 3200, 3050, 1710, 1675, 1595, 1495, 750 cm⁻¹; NMR (CDCl₃) δ: 2.15 (s, COCH₃), 6.67—7.30 (4 arom. Protonen); 8.65 (br. s, -NH); C₁₃H₁₅O₂N Ber: C, 71.87, H, 6.96, N, 6.45. Gef: C, 71.90, H, 6.93, N, 6.30.

LiAlH₄-Reduktion des Carbostyrls (29)—Zu einer mit Eis abgekühlten Suspension von LiAlH₄ (98 mg) in abs. Tetrahydrofuran (THF) (4 ml) wurde unter N₂-Atmosphäre eine Lösung von 29 (98 mg) in abs. THF (5 ml) im Laufe von 5 Min. eingetropft. Der Ansatz wurde darauf während 6 Std. unter Rückfluss gekocht. Das mit Eis abgekühlte Reaktionsgemisch wurde mit H₂O (0.5 ml) versetzt, der gebildete Al(OH)₃-Niederschlag über eine Celite-Schicht abfiltriert und mit CHCl₃ ausgewaschen. Das Filtrat und die Waschlösung wurde dann vereinigt und eingedampft, wobei 98 mg eines kristallinen Rückstands hinterblieben. Dieser wurde an einer Kieselgelsäule (5 g) mit Benzol-Äther (95: 5) chromatographiert. Der 90.5 mg wiegende Rückstand aus dem Eluat kristallisierte aus Benzol als farblose Nadelchen vom Schmp. 100—101.5° aus. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{ÄTOH}}$ (log ε): 253 (3.91), 304 (3.36); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{NuJol}}$: 3250, 3160, 1600., 760 cm⁻¹; C₁₃H₁₉ON Ber: C, 76.06, H, 9.33, N, 6.82. Gef: C, 76.05, H, 9.34, N, 6.81.

Katalytische Hydrierung der ¹⁴C-markierten Catalpalactonsäure (26)—(¹⁴C)-Catalpalactonsäure (26) (1.37 mg, spez. Aktivität 2.18×10^6 dpm/mMol) wurde zusammen mit dem Träger (26.06 mg) in MeOH gelöst und in üblicher Weise über Pd-Kohle, bereitet aus 5% PdCl₂ (0.2 ml) und Darco G-60 (75 mg), katalytisch hydriert. Nach Aufnahme von 2 Molen H₂ wurde der Katalysator abfiltriert und das Filtrat im Vak. eingedampft. Der farblose, ölige Rückstand, der 28.51 mg betrug, zeigte in DC (CHCl₃-MeOH, 6: 4), einen einzigen Fleck von 28.

Schmidt-Abbau der (¹⁴C)-Tetrahydrocatalpalactonsäure (28)—Die Hälfte der oben erhaltenen, mit ¹⁴C markierten Säure (28) wurde in der Wärme in konz. H₂SO₄ (0.5 ml) gelöst, mit Eis gut gekühlt und mit NaN₃ (20 mg) versetzt. Darauf wurde die Lösung unter Einleiten des N₂-Stroms während 2 Std. auf 60° erwärmt. Das entstandene CO₂ wurde durch Durchleiten mit einem N₂-Strom in eine 0.2 n-Baritlösung als BaCO₃ aufgefangen. Der Niederschlag von BaCO₃ wurde abzentrifugiert, mit H₂O, ÄTOH sowie Äther der Reihe nach gewaschen und getrocknet, wobei 9.70 mg BaCO₃ erhalten wurde. 2.06 mg davon wurden mit 1 ml H₂SO₄ versetzt, das entstandene CO₂ in einer Lösung von "NCS-Solubilizer" (0.1 ml) in Toluol (0.5 ml) absorbiert und in der üblichen Weise Radioaktivität gemessen, wobei keine Aktivität nachgewiesen wurde.

Andererseits wurde die Reaktionslösung mit Äther ausgezogen (4 × 5 ml) und die Äther-Schicht über MgSO₄ getrocknet und im Vak. eingedampft. Der 2.77 mg wiegende Rückstand wurde mit 12.22 mg Träger des Lactams (29) versetzt und aus Benzol zu einer konstanten Aktivität umkristallisiert. Spez. Aktivität 1.77×10^6 dpm/mMol.

Applikation der 1-(¹⁴C-Carboxy)-(2'-³H₂)-o-Succinylbenzoësäure (OSB) an die *C. ovata*-Pflanze und die Isolierung des radioaktiven Catalpalactons (1) und Catalponols (4)—Eine Lösung von 1-(¹⁴C-Carboxy)-(2'-³H₂)-OSB (10.90 mg, spez. Aktivitäten ¹⁴C: 4.03×10^9 dpm/mMol, ³H: 9.15×10^9 dpm/mMol, ³H/¹⁴C: 2.27) in H₂O (10 ml) wurde durch Aufsaugmethode an einen 9 jährigen Zweig von *C. ovata*-Pflanze (ca. 1 m lang, mit 16 belassenen Blättern) appliziert. 8 Tage nach dem Beginn der Applikation wurden die Blätter abgeschnitten und der Zweig (134 g) zerschnitten. Dieser wurde dann viermal je 30 Min. mit 250 ml Benzol

unter Rückfluss extrahiert. Nach Abkühlen wurden die vereinigten Auszüge im Vak. eingedampft. Der 1.49 g wiegende Rückstand wurde an einer Kieselgelsäule (25 g) mit Benzol chromatographiert (Chromatographie 1). Die Fraktionen, die in DC den Fleck von 4 aufweisten, wurden vereinigt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand (105.1 mg) wurde an einer Kieselgelsäule (20 g) wieder in gleicher Weise aufgearbeitet. Die Fraktionen, die einzig Catalponol (4) enthielten, wurden vereinigt und eingedampft. Es blieben 61.39 mg 4 zurück. Spez. Aktivitäten ^{14}C : 5.34×10^6 dpm/mMol, ^3H : 8.24×10^6 dpm/mMol, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$: 1.54.

Die bei der Chromatographie 1 nach der Substanz 4 ausgeflossenen Eluate, die Catalpalacton (1) enthielten, wurden gesammelt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde in wenig MeOH aufgenommen, auf eine Acetylpolyamidsäule (7 g) aufgetragen und mit H_2O eluiert, wobei Fraktionen zu je 20 ml aufgetragen wurden. Dabei wurden zuerst die Fraktionen eluiert, die 1 enthielten. Sie wurden gesammelt und im Vak. eingedampft. Der 13.66 mg wiegende Rückstand wurde mit 54.20 mg Träger von 1 versetzt und aus MeOH zu einer konstanten Aktivität umkristallisiert. Spez. Aktivitäten ^{14}C : 5.77×10^6 dpm/mMol, ^3H : 0 dpm/mMol.

Jones-Oxydation von (^{14}C , ^3H)-Catalponol (4)—Zu einer Lösung des obigen (^{14}C , ^3H)-Catalponols (4) (32.32 mg) in Aceton (1.5 ml) wurde unter Umrühren die Jones-Reagenz eingetropft. Nach der beendeten Oxydation wurde der Ansatz mit H_2O verdünnt und mit Äther extrahiert (4×5 ml). Dieser wurde an Silicagel (20 g) mit Benzol chromatographiert. Die Fraktionen, die nach DC nur 27 enthielten, wurden gesammelt und im Vak. eingedampft. Der 24.26 mg wiegende Rückstand wurde mit 45.73 mg Träger des 2S-Catalponons versetzt und aus Petroläther zu einer konstanten Aktivität umkristallisiert. Spez. Aktivitäten ^{14}C : 6.71×10^6 dpm/mMol, ^3H : 8.92×10^6 dpm/mMol, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$: 1.33.

Epimerisierung von (^{14}C , ^3H)-Catalponol (4)—Eine Lösung des oben erwähnten radioaktiven Catalponols (4) (12.92 mg) in MeOH (0.3 ml) wurde mit 0.5 n NaOH (0.1 ml) versetzt und 10 Min. lang auf dem siedenden Wasserbad erwärmt. Die Lösung wurde mit Äther extrahiert und die organische Schicht über MgSO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft. Der farblose, ölige Rückstand (9.43 mg) wurde an Silicagel (15 g) mit CHCl_3 chromatographiert. Die vereinigten Fraktionen 10—14 (zu je 10 ml), die einen einzigen Fleck von 4 zeigten, lieferten beim Eindampfen im Vak. 4.91 mg farbloses, öliges Produkt. Andererseits lieferten die gesammelten Fraktionen 16—18, die einen einzigen Fleck von Epicatalponol (31) zeigten, beim Eindampfen im Vak. 3.33 mg farbloses Öl. Spez. Aktivitäten ^{14}C : 7.44×10^6 dpm/mMol, ^3H : 1.17×10^7 dpm/mMol, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$: 1.57.

Jones-Oxydation von (^{14}C , ^3H)-Epicatalponol (31)—Der oben erhaltene (^{14}C , ^3H)-Epicatalponol (31) (3.33 mg) wurde mit dem Träger (12.66 mg) vermischt und 3/5 davon wurden in der üblichen Weise der Jones-Oxydation unterworfen. Der Reaktionsansatz wurde mit Äther extrahiert (4×5 ml), die organische Schicht über MgSO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft. Der dabei zurückgebliebene Rückstand (10.66 mg) wurde an Kieselgel (20 g) mit Benzol chromatographiert. Die Eluate, die einen einzigen Fleck von 32 zeigten, wurden vereinigt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand (7.11 mg) wurde mit Träger (32) (28.44 mg) gemischt und aus Petroläther zu einer konstanten Aktivität umkristallisiert. Spez. Aktivitäten ^{14}C : 1.05×10^7 dpm/mMol, ^3H : 1.62×10^7 dpm/mMol, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$: 1.54.

Bleitetraacetat-Oxydation von (^{14}C , ^3H)-Catalponon (27) und reduzierende Acetylierung des Oxydationsprodukts—(^{14}C , ^3H)-2S-Catalponon (27) (1.26 mg), Träger (27) (15.13 mg) und $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (30 mg) wurden in abs. HOAc (0.3 ml) gelöst und unter N_2 -Atmosphäre 1 Std. lang auf 80—90° erwärmt. Nach Versetzen mit Eiswasser wurde der Ansatz mit Äther extrahiert (4×5 ml). Die Ätherschicht wurde über MgSO_4 getrocknet und im Vak. eingedampft. Der Rückstand wurde an Kieselgel (7 g) mit Benzol chromatographiert. Fraktionen 1—3 (zu je 5 ml) wurden vereinigt und im Vak. eingedampft. Der Rückstand (8.1 mg) wurde mit Träger (10.1 mg) versetzt und aus MeOH umkristallisiert. Das so erhaltene (^{14}C , ^3H)-Desoxylapachol (2) (15.0 mg) wurde mit Zn-Pulver (20 mg), Ac_2O (0.5 ml) und Triäthylamin (ein Tropfen) versetzt, 5 Min. bei Raumtemperatur umgerührt und schliesslich 1 Min. auf 80° erwärmt. Die Reaktionslösung wurde in Eiswasser eingegossen und mit Äther ausgezogen (3×5 ml). Die Äther-Schicht wurde über MgSO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde an Kieselgel (5 g) mit Benzol chromatographiert. Die Fraktionen 1—3 (zu je 5 ml) wurden vereinigt und im Vak. eingedampft, wobei 10.8 mg eines bräunlich-gelben Öles hinterblieben. 4.9 mg davon wurden mit 6.3 mg Träger (33) gemischt und wieder durch Chromatographie an Silicagel (4 g) gereinigt. Man eluierte zunächst mit 30 ml Benzol und dann mit Benzol-AcOÄt (98: 2). Das Eluat mit dem letzten Elutionsmittel hinterliess beim Eindampfen im Vak. farbloses Öl, welches aus wenig ÄtOH als farblose Nadelchen (6.06 mg) auskristallisierte. Nach Versetzen mit 4.32 mg Träger (33) wurden sie aus ÄtOH zu einer konstanten Aktivität umkristallisiert. Spez. Aktivitäten ^{14}C : 6.68×10^6 dpm/mMol, ^3H : 4.48×10^6 dpm/mMol, $^3\text{H}/^{14}\text{C}$: 0.67.

Danksagung Wir danken Herrn Dr. A. Kato, Herrn Dr. Y. Kuroda und Frau M. Uobe von unserer Fakultät für die Aufnahme der Massen- sowie der NMR-Spektren und den Mitgliedern des Mikroanalytischen Zentrums der Universität Kyoto für die Durchführung der Mikroanalysen.