

CHANDRA SHEKHER PANDE und JAMUNA DATT TEWARI

**Chemische Untersuchung der Pflanze *Croton sparsiflorous*.
Studie über die Verbindung B**

Aus den Chemical Laboratories, University of Allahabad, Allahabad (Indien)

(Eingegangen am 12. April 1962)

Aus *Croton sparsiflorous* wird ein Inhaltsstoff isoliert, vorläufig als Verbindung B bezeichnet. Mit einer Reihe von Umsetzungen und Abbauversuchen wird deren Konstitution im Sinne der Formel I teilweise aufgeklärt.

Die Pflanze *Croton sparsiflorous* (*Euphorbiaceae*), beheimatet in Südamerika, hat in Indien weite Verbreitung gefunden. Eine Anzahl von Pflanzen dieser Gattung werden im einheimischen medizinischen Bereich verwendet.

Die Samen dieser Pflanze wurden schon früher chemisch untersucht; das aus ihnen gewonnene Öl erwies sich reich an Linolsäure¹⁾. Die vorliegende Mitteilung enthält unsere Studien, ausgeführt an einem der Inhaltsstoffe, den wir vorläufig Verbindung B nennen, und dessen Isolierung im Versuchsteil beschrieben ist.

CHEMISCHE UNTERSUCHUNG DER VERBINDUNG B

Die Verbindung B ist amorph und von gelbbrauner Farbe; Schmp. 210–212°. Sie ist löslich in Äthanol und Aceton, unlöslich in unpolaren Lösungsmitteln. Die Verbindung löst sich in Alkalien und Ammoniak und kann durch Ansäuern wieder abgeschieden werden. Aus den Analysendaten folgt die Zusammensetzung $C_{29}H_{28}O_{12}$. Versuche, nach der ebullioskopischen oder kryoskopischen Methode das Molekulargewicht zu ermitteln, schlugen fehl, da die Substanz weder in geschmolzenem Campher löslich ist, noch irgendein geeignetes Lösungsmittel für die Bestimmung aufzufinden war. So ermittelten wir das Molekulargewicht indirekt aus dem des Acetylierungsproduktes, das sich in geschmolzenem Campher wie auch in Eisessig löste. Der gefundene Wert 568 paßt genau auf die obige Summenformel.

Verbindung B entfärbt rasch Bromwasser und Kaliumpermanganatlösung. Mit alkoholischer Eisen(III)-chloridlösung erhält man eine grünlich-schwarze Färbung, was die Anwesenheit phenolischer Gruppen nahelegt. Carbonylgruppen werden durch die Bildung eines 2,4-Dinitro-phenylhydrazons und eines Oxims angezeigt. Die Verbindung B löst sich mit tief gelbroter Farbe wenig in konz. Salzsäure, was auf die Entstehung von Oxoniumsalz hindeutet. Die Prüfung auf freies Carboxyl und reduzierende Gruppen verläuft negativ. Zweistündiges Kochen mit $2n$ HCl läßt die Substanz unverändert, wodurch sie sich als nichtglykosidisch ausweist.

Durch Methoxylbestimmung werden zwei CH_3O -Gruppen gefunden. Die Bildung eines Octaacetyl- und eines Octabenzoylderivats beweisen das Vorliegen von acht Hydroxygruppen im Molekül. Die Verbindung B bildet mit Acetylchlorid weder ein

¹⁾ S. V. ANANTAKRISHNAN, S. ARAVAMUTHACHARI und V. S. GOVINDARAJAN, Proc. Indian, Acad. Sci., Sect. A 14, 609, 616 [1941]; C. A. 36, 5040 [1942].

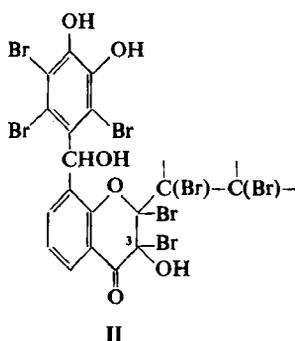
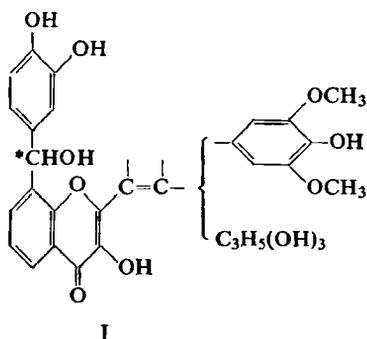
tertiäres Alkylhalogenid (statt dessen tritt Acetylierung ein) noch verläuft die Probe mit Lucas-Reagenz positiv, was auf Abwesenheit von tertiären Hydroxylgruppen schließen läßt. Nach dem Stickstoffgehalt des Phenylhydrazons und des Oxims enthält die Verbindung eine Carbonylgruppe. Bromierung liefert ein Heptabromderivat. Bromwasserstoffentwicklung während der Bromierung legt die Annahme der Substitution nahe. Oxydiert man das Bromierungsprodukt mit alkalischem Kaliumpermanganat, so läßt sich aus dem Reaktionsgemisch Syringasäure, Salicylsäure, Oxalsäure und Tribrom-protocatechusäure abtrennen und identifizieren. Die letztere gibt zu erkennen, daß bei der Bromierung dreifache Bromsubstitution stattgefunden hat. Ebenso ist mit diesen Oxydationsprodukten das Vorliegen von drei getrennten aromatischen Kernen im Molekül nachgewiesen.

Bei Oxydation der Verbindung B selbst mit alkalischem Kaliumpermanganat lassen sich 2-Hydroxy-isophthalsäure, Syringasäure und Oxalsäure abtrennen und nachweisen. Oxydation mit Salpetersäure liefert Syringasäure, 5-Nitro-2-hydroxy-isophthalsäure und Oxalsäure. Oxydiert man schließlich mit neutralem Kaliumpermanganat, so entstehen Salicylsäure, Syringasäure, Protocatechusäure und Oxalsäure. Verschmelzen mit Kaliumhydroxyd führt zu Salicylsäure und Syringasäure. Durch Zinkstaubdestillation erhält man aus Verbindung B Diphenylmethan.

Hydrolysiert man das Bromierungsprodukt mit Kaliumcarbonat, so resultiert eine noch bromhaltige Substanz. Sie kondensiert mit *o*-Phenylendiamin, was ihre 1.2-Dioxo-Struktur anzeigt.

Mit Maleinsäureanhydrid in Äthanol gibt die Verbindung B ein Reaktionsprodukt, das vermutlich ein Dienaddukt darstellt, da es auf Anhydridproben positiv reagiert.

Auf der Grundlage der geschilderten experimentellen Beobachtungen kann man der Verbindung B die vorläufige Partialstruktur I zuschreiben:



Die Partialformel gibt Rechenschaft über acht Hydroxygruppen, zwei Methoxygruppen, eine Carbonylgruppe, die Fähigkeit, ein Oxoniumsalz zu bilden, und über die oben aufgeführten Abbauprodukte. Bei allen Abbaureaktionen wird die aliphatische C_5 -Seitenkette, eine Doppelbindung und drei labilisierende Hydroxygruppen enthaltend, zu Oxalsäure abgebaut.

Von den sieben Bromatomen, die bei der Bromierung in die Molekel eintreten, substituieren drei den Dihydroxyphenylkern, der bei der Oxydation in Tribrom-

protocatechusäure übergeht. Für die verbleibenden vier Bromatome kann man Addition an die zwei Doppelbindungen annehmen, so daß dem Bromierungsprodukt die Teilstruktur II zukommen dürfte. Hydrolyse des Bromierungsproduktes in 3-Stellung führt zu der 1.2-Dioxo-Verbindung.

Die beiden Doppelbindungen in Konjugation mögen für die Entstehung eines Maleinsäureanhydrid-Addukts verantwortlich sein, dessen Untersuchung im Gang ist.

Offen bleibt noch die Rolle von drei C-Atomen und drei Hydroxygruppen. Augenscheinlich müssen das in obiger Formel mit * markierte C-Atom zwischen den beiden aromatischen Kernen sowie die verbleibenden drei C-Atome je eine Hydroxygruppe tragen. Da schließlich die Verbindung B keine tertiäre Hydroxygruppe enthält, erklären nur die vorgeschlagenen Teilformeln alle experimentellen Befunde.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Extraktion und Isolierung der Verbindung B

85 kg des fein pulverisierten Pflanzenmaterials wurden mit rektifiziertem Spiritus erschöpfend extrahiert. Beim Abkühlen der heißen alkoholischen Extrakte schied sich eine weiße flockige Masse ab, die abfiltriert wurde (Ausb. 0.002 %).

Das Filtrat, eine große Menge Chlorophyll enthaltend, engte man unter vermindertem Druck ein und setzte wenig Salzsäure, sodann genügend Wasser zu. Dieses fällte den größten Teil des Chlorophylls aus, das abgetrennt wurde. Um den verbliebenen Alkohol zu entfernen, engte man die Lösung ein. Beim Abkühlen schied sich eine braune Masse mit etwas anhaftendem Chlorophyll ab. Nach deren Abtrennung gab das Filtrat bei weiterem Einengen eine zweite Fraktion der braunen Masse.

Man löste die braune Masse in verd. Natronlauge und entfernte eine geringe Menge unlösliche, meist anorganische Substanzen. Die beim Ansäuern wieder ausgeschiedene braune Masse wurde abfiltriert, getrocknet und im Soxhlet mit Äthanol extrahiert. Die äthanol. Lösung dampfte man soweit als möglich ein und setzte einen großen Überschuß an Äther zu. Der so erhaltene Niederschlag wurde abgetrennt, das Filtrat, nur Chlorophyll enthaltend, verworfen. Den Niederschlag löste man in möglichst wenig Aceton und fällte ihn sodann mit viel überschüss. Äther aus. Durch Wiederholung dieser Prozedur wurde die rötlichbraune Masse von Chlorophyll und wachsartigen Massen vollständig befreit.

Die rötlichbraune Masse wurde im Soxhlet mit Chloroform extrahiert. Den chloroformunlöslichen Anteil löste man in möglichst wenig absol. Äthanol und fällte ihn durch Verdünnen der Lösung mit überschüss. Chloroform als rötlichbraune Masse wieder aus. Sie wurde abfiltriert und gab, aus Methanol umgefällt, eine Substanz vom Schmp. 210–212°, vorläufig als *Verbindung B* bezeichnet.

Untersuchung der Verbindung B

Die *Verbindung B* ist rötlichbraun, löslich in Äthanol, Methanol und Aceton, unlöslich in Äther, Petroläther, Chloroform, Essigester, Benzol und Tetrachlorkohlenstoff. Sie löst sich ferner in Natronlauge, Kalilauge und Ammoniak, aus denen sie durch Ansäuern wieder abgeschieden werden kann. In konz. Salzsäure ist die Substanz wenig löslich mit tiefgelbroter Farbe. Sie reduziert weder Fehlingsche Lösung noch Tollens-Reagenz und besitzt keinen sauren Charakter. Mit äthanol. Eisen(III)-chloridlösung gibt *Verbindung B* eine grünlich-schwarze Farbreaktion, Kaliumpermanganatlösung und Bromwasser entfärbt sie rasch, mit 2.4-Dinitro-phenylhydrazin reagiert sie ebenfalls.

C₂₉H₂₈O₁₂ (568.5) Ber. C 61.28 H 4.93 2OCH₃ 10.91 Gef. C 61.2 H 5.23 OCH₃ 11.3

Acetylierung von Verbindung B: 0.2 g wurden mit *Acetylchlorid* in Pyridin wie üblich acetyliert. Gelbbraunes Produkt vom Schmp. 184–185°.

$C_{45}H_{44}O_{20}$ (904.9) Ber. C 59.73 H 4.87 8 OAc 52.2
Gef. C 59.6 H 5.02 OAc 50.4

Mol.-Gew. 912 (RAST und kryoskop. in Eisessig)

Benzoylierung der Verbindung B: 0.2 g wurden mit *Benzoylchlorid* in Natronlauge wie üblich benzoyliert. Aus Aceton/Äther Schmp. 193–194°.

$C_{85}H_{60}O_{20}$ (1400) Ber. C 72.86 H 4.29 Gef. C 72.65 H 4.32

Phenylhydrazon der Verbindung B: Zur Lösung von 0.2 g der Substanz in Äthanol gab man genügend *Phenylhydrazin-hydrochlorid* und erhitzte die Mischung 3–4 Stdn. auf dem Wasserbad. Beim Abkühlen schied sich das *Phenylhydrazon* ab; nach Filtrieren, Trocknen und Waschen kristallisierte man es aus Äthanol um.

$C_{35}H_{34}N_2O_{11}$ (658.7) Ber. N 4.26 Gef. N 4.34

Oxim der Verbindung B: Der Lösung von 0.2 g Substanz in 10 ccm Äthanol setzte man eine Lösung von 0.2 g *Hydroxylamin-hydrochlorid* in 2 ccm Wasser und 2 ccm verd. Natronlauge zu. Die Mischung wurde 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt und sodann in eiskaltes Wasser gegossen. Der gebildete hellbraune Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert.

$C_{29}H_{29}NO_{12}$ (583.6) Ber. N 2.40 Gef. N 2.18

Bromierung der Verbindung B: Der Lösung von 4 g der Verbindung in 150 ccm absol. Äthanol ließ man äthanol. *Bromlösung* zutropfen. Das gelbrote Bromderivat begann sich abzuschneiden, während an der Öffnung des Reaktionsgefäßes Bromwasserstoff nachgewiesen werden konnte. Das Bromierungsprodukt wurde abgesaugt, mit Äthanol gewaschen und aus Aceton/Äther umkristallisiert; es schmolz nicht scharf.

$C_{29}H_{25}Br_7O_{12}$ (1124.9) Ber. C 27.08 H 19.45 Br 56.03 Gef. C 26.84 H 20.01 Br 56.18

Oxydation des Bromierungsproduktes der Verbindung B: 4 g des Bromderivats oxydierte man in üblicher Weise mit alkalischer Kaliumpermanganatlösung. Aus dem Reaktionsgemisch isolierte man vier Säuren A_1 – A_4 :

Die Säure A_1 enthält Brom, gibt mit äthanol. Eisen(III)-chloridlösung eine grüne Farb-reaktion und schmilzt bei 204–206°; sie wurde als *Tribrom-protocatechusäure* identifiziert.

$C_7H_3Br_3O_4$ (390.8) Ber. C 21.48 H 0.77 Br 61.38
Gef. C 20.89 H 0.81 Br 62.0 Mol.-Gew. 384 (RAST)

Die Säure A_2 mit Schmp. 204° wurde als *Syringasäure* erkannt. Schmp. des Acetylderivats 190–191°.

$C_9H_{10}O_5$ (198.2) Ber. C 54.43 H 5.04
Gef. C 54.38 H 5.19 Mol.-Gew. 204 (RAST)

Säure A_3 (Schmp. 156°) identifizierte man durch Mischprobe mit authent. *Salicylsäure*.

Säure A_4 mit Schmp. 100° (Schmp. des Amids 398°) erwies sich als *Oxalsäure*.

Oxydation der Verbindung B mit alkalischem Kaliumpermanganat: 4 g wurden wie üblich mit alkalischer Permanganatlösung oxydiert, wonach drei Säuren, B_1 – B_3 , aus dem Reaktionsgemisch isoliert und identifiziert wurden:

Die Säure B_1 mit Schmp. 238–239° (Schmp. des Acetylderivats 162–163°) zeigte keine Fluoreszenz und wurde als *2-Hydroxy-isophthalsäure* erkannt.

$C_8H_6O_5$ (182.1) Ber. C 52.74 H 3.3 Gef. C 52.63 H 3.40 Mol.-Gew. 188, Äquiv.-Gew. 99

Die Säure B₂ (Schmp. 204°) erwies sich als *Syringasäure*, identisch mit Säure A₂ aus der Oxydation des Bromierungsproduktes.

Säure B₃ (Schmp. 100°) identifizierte man als *Oxalsäure*.

Oxydation der Verbindung B mit Salpetersäure: 4 g wurden in üblicher Weise oxydiert, wonach sich aus dem Ansatz drei Säuren, C₁–C₃, abtrennen ließen:

Die Säure C₁, von gelber Farbe, schmolz bei 212–213° und enthielt Stickstoff als Nitrogruppe. Durch Mischprobe mit einem authent. Präparat wurde sie als die bekannte *5-Nitro-2-hydroxy-isophthalsäure* identifiziert.

Die Säure C₂ mit Schmp. 204°, identisch mit Säure A₂, war wiederum *Syringasäure*.

Säure C₃ mit Schmp. 100° erwies sich als *Oxalsäure*.

Oxydation der Verbindung B mit neutralem Kaliumpermanganat: 4 g wurden nach der Methode von Y. ASAHINA²⁾ oxydiert, wonach man aus dem Reaktionsansatz vier Säuren, D₁–D₄, isolierte.

Die Säure D₁ mit Schmp. 199° gab mit äthanol. Eisen(III)-chloridlösung eine grüne Farb-reaktion und wurde als *Protocatechusäure* identifiziert.

C₇H₆O₄ (154.1) Ber. C 54.55 H 3.9 Gef. C 54.33 H 4.11 Mol.-Gew. 160

Säure D₂ (Schmp. 204°) war *Syringasäure*.

Säure D₃ (Schmp. 156°) war *Salicylsäure*.

Säure D₄ (Schmp. 100°) war *Oxalsäure*.

Verschmelzen der Verbindung B mit Kaliumhydroxyd: Zu 15 g geschmolzenem Kaliumhydroxyd in einem Nickeltiegel gab man 3 g der Substanz und erhitzte die Masse 15 Min. auf 300°. Nach dem Abkühlen löste man den Schmelzkuchen in dest. Wasser und säuerte an. Dabei schied sich eine kleine Menge einer weißen sauren Substanz ab (Schmp. nach Reinigung 204–205°), die als *Syringasäure* erkannt wurde.

Aus dem eingeeengten Filtrat kam beim Abkühlen eine Säure, die nach dem Umkristallisieren bei 156° schmolz: *Salicylsäure*.

Zinkstaubdestillation der Verbindung B: 2 g der Verbindung B vermischte man mit 8 g Zinkstaub in einer Retorte aus schwerschmelzbarem Glas, deren Öffnung mit einer Kette von drei Erlenmeyer-Kolben verbunden war, geschaltet als Waschflaschen und Benzol, Äthanol bzw. Natronlauge in dieser Folge enthaltend. Die letzte Waschflasche war durch eine Falle mit einer Wasserstrahlpumpe verbunden.

Während die Retorte auf etwa 350° erhitzt wurde, ließ man die Saugpumpe arbeiten. Das Erhitzen wurde fortgesetzt, bis die Entwicklung von Dämpfen aufhörte, sodann wurde die Retorte abgenommen und gekühlt.

Ihren Inhalt extrahierte man zunächst mit Benzol, dann mit Äthanol und vereinigte diese Auszüge mit den entsprechenden Waschflaschenlösungen. Die Äthanollösung hinterließ beim Eindampfen einen zähen Rückstand; Versuche, daraus eine reine Verbindung zu isolieren, blieben erfolglos. Auch aus der Natriumhydroxydlösung erhielt man nach Ansäuern und Eindampfen zur Trockne keine reine Verbindung in brauchbarer Ausbeute.

Die Benzollösung jedoch hinterließ einen Rückstand, aus dem eine reine Substanz vom Schmp. 26–27° erhältlich war, löslich in Benzol und Äther, mäßig löslich in Äthanol, unlöslich in Wasser. Sie erwies sich als *Diphenylmethan*.

C₁₃H₁₂ (168.2) Ber. C 92.85 H 7.14

Gef. C 92.56 H 7.18 Mol.-Gew. 173 (RAST)

²⁾ Y. ASAHINA und M. INUBUSE, Ber. dtsch. chem. Ges. 63, 2056 [1930].

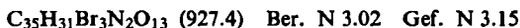
Hydrolyse des Bromierungsproduktes von Verbindung B: Zu 1 g Bromderivat gab man in einem Erlenmeyer-Kolben verd. Kaliumcarbonatlösung und erhitze die Mischung 2 Stdn. unter Rückfluß. Nach dem Abkühlen wurde angesäuert, wobei eine gelblich-braune Masse abgeschieden wurde. Sie wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und aus Äthanol umkristallisiert. Die vorläufig als Produkt C bezeichnete Substanz gab mit äthanol. Eisen(III)-chloridlösung eine grünlich-schwarze Farbreaktion und setzte sich mit 2.4-Dinitro-phenylhydrazin um; Fehlingsche Lösung reduzierte sie nicht, mit Natriumhydrogencarbonat war kein Aufbrausen zu beobachten.



Oxim des Produktes C: 0.2 g wurden wie üblich oximiert.



Umsetzung des Produktes C mit o-Phenylendiamin: Man erhitze 0.1 g Substanz mit 0.1 g o-Phenylendiamin in Äthanol unter Rückfluß und kristallisierte das Reaktionsprodukt aus Äthanol um.



Umsetzung der Verbindung B mit Maleinsäureanhydrid: 0.2 g Verbindung B erhitze man mit 0.5 g Maleinsäureanhydrid in 20 ccm Äthanol 5 Stdn. unter Rückfluß. Beim Eingießen des Reaktionsgemisches in 200 ccm kaltes Wasser schied sich eine gelblich-braune Substanz ab, die man abfiltrierte, gut mit Wasser auswusch und aus absol. Äthanol umkristallisierte. Das Produkt brauste mit Natriumhydrogencarbonat nicht auf, löste sich in Natronlauge und reagierte auf Anhydridproben positiv.

Hydrolyseversuch mit Verbindung B: 0.2 g wurden mit 50 ccm 2*n* HCl 2 Stdn. unter Rückfluß erhitze. Das feste Produkt wurde abfiltriert und schmolz, mit dest. Wasser gut gewaschen und getrocknet, bei 210–212°. Keine Schmp.-Depression im Gemisch mit der Ausgangsverbindung B.