

## 181. Über die Isolierung von Casimiroedin aus den Samen von *Casimiroa edulis La Llave et Lejarza*

von Albert Aebi.

(9. VII. 56.)

*Casimiroa edulis La Llav. et Lejarza* gehört zur Familie der Rutaceae und wird in Mexico Zapote blanco (weisser Breiapfelbaum) genannt. Dieser mittelgrosse, vielästige Baum kommt in ganz Zentralamerika vor und wird besonders in Mexico gezüchtet. Seine kugelförmige, apfelgrosse Frucht enthält 3–4 längliche, 3–5 cm lange und 2,5 cm breite Samen<sup>1</sup>). Sie ist essbar und hat einen angenehmen Geschmack. Ein hydroalkoholischer Extrakt der Samen soll in Mexico als Hypnoticum und Sedativum verwendet werden<sup>2</sup>).

Die erste ausführliche Untersuchung der Inhaltsstoffe der Samen von *Casimiroa edulis* stammt von *Power & Callan*<sup>3</sup>) aus dem Jahre 1911. Diese Autoren isolierten nach einer nicht sehr schonenden Methode aus 37,05 kg Samen neben Benzoesäure und  $\beta$ -Sitosterin vier Substanzen, für die sie folgende Namen und Summenformeln vorschlugen:

Casimiroin,  $C_{24}H_{20}O_8N_2$ , Smp. 196–197°, 3,4 g  
 Casimiroedin,  $C_{17}H_{24}O_5N_2$ , Smp. 222–223°, 16,0 g  
 Casimirolid,  $C_{24}H_{30}O_7$ , Smp. 229–230°, 22,0 g  
 Ipuranol,  $C_{23}H_{38}O_2(OH)_2$ , Smp. 280–285°, 2,9 g

Nach alkalischer Behandlung von Casimiroin erhielten sie eine Base  $C_{23}H_{22}O_7N_2$  vom Smp. 171°, die mit dem Namen Casimiroitin bezeichnet wurde. Das Casimirolid wurde als Lacton erkannt und lieferte nach Behandlung mit wässrigem Alkali die Casimiroinsäure  $C_{24}H_{30}O_7$  vom Smp. 207°. Wir vermuteten, dass einige dieser isolierten Verbindungen Abbauprodukte eines einzelnen Alkaloids sein könnten und haben dies nach einer schonenden Aufarbeitung der Pflanze insoweit bestätigen können, als wir, in viel höherer Ausbeute als die englischen Autoren, nur eine einzige Base isolieren konnten.

Wir erhielten 5,5 kg Samen von *Casimiroa edulis*, die in Mexiko bei Altotonga (Estado de Veracruz) gesammelt wurden, sowie 4 kg Samen, die aus dem Valle de Bravo (Estado de Mexico) her stammten<sup>4</sup>). Die Samen wurden zuerst mit Petroläther und anschliessend mit Alkohol extrahiert. Der Petrolätherauszug gab auch nach Chromatographie auf  $Al_2O_3$  keine kristallisierten Fraktionen und wurde verworfen. Eine wässrige Suspension des eingedampften Alkohol-

<sup>1</sup>) *M. Martinez*, Plantas Medicinales de Mexico (1944).

<sup>2</sup>) *J. de Lille*, Anales del Instituto de Biologia, Universidad Nacional de Mexico 5, 45 (1934).

<sup>3</sup>) *F. B. Power & Th. Callan*, J. chem. Soc. 99, 1993 (1911).

<sup>4</sup>) Wir verdanken diese Drogen Herrn Ing. *E. Alvarez*, Canton de Jalacingo (Mexico) sowie Herrn *Pablo Herzig*, Comercial Suiza S. A., Mexico.

extraktes wurde zuerst mit Äther, dann mit Chloroform und schliesslich, nach Erhöhung des pH auf ca. 8, mit Isoamylalkohol ausgeschüttelt. Der Ätherauszug gab auch nach sorgfältiger chromatographischer Trennung keine krissallisierten Fraktionen, der Chloroformauszug war gewichtsmässig nur sehr unbedeutend, hingegen lieferte der Isoamylalkoholauszug in 0,5-proz. Ausbeute, berechnet auf die Droge, Kristalle vom Smp. 218–223°. Eine weitere Untersuchung und Abtrennung der Mutterlauge des Isoamylalkoholauszuges lieferte keine kristallisierten Fraktionen mehr.

Auf 2 kg Samen berechnet, isolierten die englischen Autoren eine Totalmenge an Casimiroin, Casimiroedin und Casimirolid von 2,2 g. Wir erhielten aus derselben Menge Pflanzenmaterial 9 g eines scheinbar einheitlichen Alkaloids. Diese Substanz ist nach ihren Eigenschaften mit dem von den Engländern isolierten Casimiroedin sehr wahrscheinlich identisch<sup>3)5)</sup>, und wir benützen darum dieselbe Namensbezeichnung. *Power & Callan*<sup>3)</sup> erhielten, auf 2 kg Samenmaterial berechnet, nur 0,86 g Casimiroedin. Selbst bei der Berücksichtigung von jahreszeitlichen Schwankungen und Standortwechsel ist die Differenz der Ausbeute so auffallend, dass eine Erklärung wohl in der unterschiedlichen Isolierungsmethode zu suchen ist. Die englischen Forscher schlagen für Casimiroedin die Formel  $C_{17}H_{24}O_5N_2$  vor und beschreiben die Verbindung, die nur ein kristallisiertes Goldsalz gab, als chemisch sehr indifferent, Angaben, die wir zum Teil bestätigen können.

Casimiroedin ist sehr schwer löslich in organischen Lösungsmitteln, löst sich langsam in 2-n. NaOH oder gesättigter  $NaHCO_3$ -Lösung und ist leicht löslich in verdünnten Mineralsäuren. Das Hydrochlorid konnte bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden. Auf Grund unserer Analysenwerte für Casimiroedin und seine Derivate schlagen wir für dieses Alkaloid die Formel  $C_{21}H_{27}O_6N_3$  vor. Darauf berechnet würde die Substanz eine  $C-CH_3$ -Gruppe und 4 aktive H-Atome aufweisen; sie enthält weder eine Methoxyl- noch eine Acetylgruppe. Das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 1) besitzt zwei ausgeprägte Maxima bei 218  $m\mu$  ( $\epsilon = 20000$ ) und 281  $m\mu$  ( $\epsilon = 21500$ ). Im Infrarot zeigt Casimiroedin Banden bei 1583  $cm^{-1}$ , 1498  $cm^{-1}$  sowie 740  $cm^{-1}$  (vgl. Fig. 2), wobei besonders die erstere auf eine aromatische Gruppe hindeuten könnte. Für die Bande bei 1645  $cm^{-1}$  könnte eine  $-CO-N\begin{matrix} R \\ \diagdown \\ R \end{matrix}$ -Gruppe verantwortlich sein, jedoch ist eine konjugiert ungesättigte Carbonylgruppe nicht ausgeschlossen. Die schwache Schulter bei 3100  $cm^{-1}$  deutet auf eine Wasserstoffbrücken-bildende NH-Gruppe hin, während die starke Absorptionsbande bei 3360  $cm^{-1}$  einer OH-Schwingung zugeteilt werden kann.

<sup>5)</sup> Vgl. exp. Teil.

Schonende Acetylierung von Casimiroedin führte zur Bildung eines Tetraacetylderivates  $C_{29}H_{35}O_{10}N_3$ , was dem Vorhandensein von 4 aktiven H-Atomen in Casimiroedin entsprechen würde. Molekulargewichtsbestimmungen nach *Rast* von Casimiroedin und seines Tetraacetylderivates führten infolge Schwerlöslichkeit oder teilweiser Zersetzung der Substanz nur zu unsicheren Werten. Hingegen bestätigten die mit dem hydrierten Casimiroedin erhaltenen Analysenwerte das für Casimiroedin vorgeschlagene Molekulargewicht und die Summenformel. In Gegenwart von *Raney*-Nickel nimmt Casimiroedin 2 Mol. Wasserstoff auf unter Bildung von Tetrahydro-

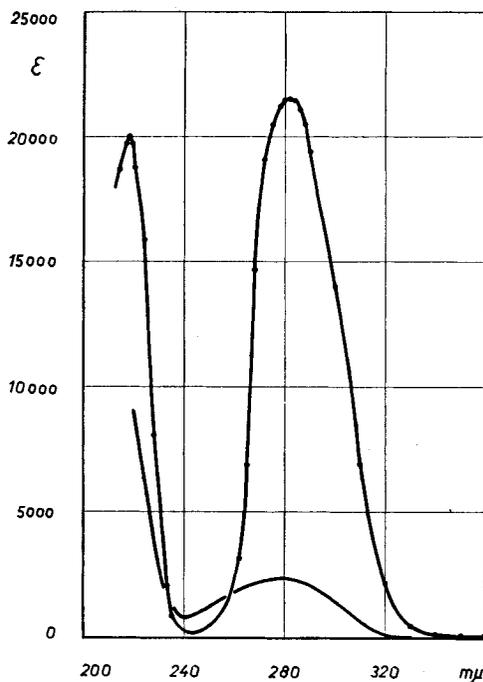


Fig. 1.

UV.-Spektren von Casimiroedin (obere Kurve) und Tetrahydro-casimiroedin (untere Kurve).

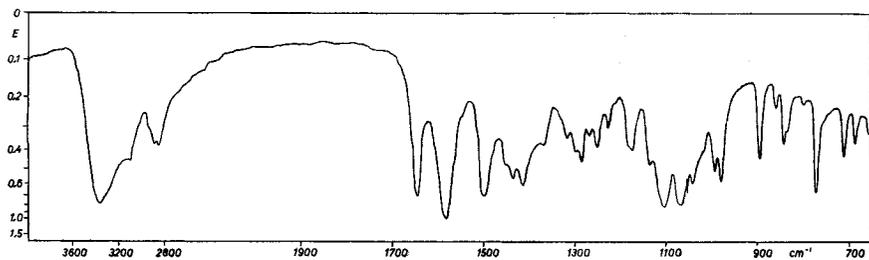


Fig. 2.

IR.-Spektrum von Casimiroedin.

casimiroedin, dessen Analysenwerte gut auf die Formel  $C_{21}H_{31}O_6N_3$  passen. Es ist bemerkenswert, wie sich das UV.-Absorptionsspektrum durch die Hydrierung verändert hat (vgl. Fig. 1). Möglicherweise ist Reduktion einer konjugierten chromophoren Gruppe am aromatischen System erfolgt und deshalb ein neues aromatisches System in der UV.-Absorption hervortreten. Auch das IR.-Spektrum zeigt gewisse Veränderungen (vgl. Fig. 3). Die Banden bei  $3360\text{ cm}^{-1}$  und  $3100\text{ cm}^{-1}$

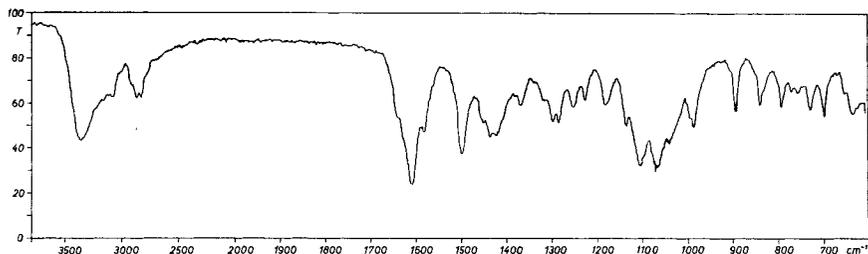


Fig. 3.

IR.-Spektrum von Tetrahydro-casimiroedin.

sind noch vorhanden und deuten immer noch auf OH- bzw. NH-Gruppen hin. Hingegen ist an die Stelle der beiden Banden bei  $1645\text{ cm}^{-1}$  und  $1583\text{ cm}^{-1}$  in Casimiroedin (vgl. Fig. 2) eine einzige neue Bande bei  $1610\text{ cm}^{-1}$  getreten, deren Interpretation infolge der möglichen Überlagerung mehrerer Banden unsicher ist. – Mit einem Überschuss an verd. HCl gab Tetrahydro-casimiroedin ein kristallisiertes Monohydrochlorid  $C_{21}H_{31}O_6N_3 \cdot HCl$ . Infolgedessen war es möglich, aus der pK-Bestimmung von Tetrahydro-casimiroedin sowie seines Hydrochlorides die Äquivalentgewichte und somit auch deren Molekulargewichte zu erhalten<sup>6)</sup>, die grössenordnungsmässig gut übereinstimmen (s. exp. Teil).

Methylierungsversuche von Casimiroedin führten bisher zu keinen kristallisierten Produkten, und ein erster Selendehyrierungsversuch ergab in schlechter Ausbeute ein Substanzgemisch, das bisher nicht getrennt werden konnte.

Casimiroedin zeigt weder spasmolytische, noch blutdrucksenkende, analgetische oder hypnotische Wirksamkeit.

Herrn Prof. Dr. J. Büchi (Zürich) danke ich für förderndes Interesse und für viele gute Ratschläge, Herrn Dr. A. Eschenmoser (Zürich) für wertvolle Diskussionen, sowie Herrn Bailod (Bern) für die sorgfältige Darstellung der Kurven. Herr Dr. E. Eichenberger hat uns die Resultate der pharmakologischen Prüfung von Casimiroedin übermittelt, wofür wir bestens danken.

<sup>6)</sup> Die Bestimmung des pK-Wertes und des Äquivalentgewichts von Tetrahydro-casimiroedin und dessen Hydrochlorid wurde von Herrn Dr. W. Simon, org. chem. Labor der ETH, durchgeführt, wofür ich ihm an dieser Stelle bestens danke: Mikrotitration in Methylcellosolve mit 0,1-n. Tetramethylammoniumhydroxyd resp. mit 0,1-n. HCl. Genauigkeit  $\pm 5\%$ , eher  $+5\%$  (nach Angaben von Dr. W. Simon). Vgl. W. Simon, E. Kováts, L. H. Chopard-dit-Jean & E. Heilbronner, Helv. **37**, 1872 (1954).

**Experimenteller Teil<sup>7)</sup>.**

Die Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Die Mikroanalysen wurden in der analytischen Abteilung (Leitung: Dr. H. Lehner) der Dr. A. Wander AG., Bern ausgeführt.

Extraktion. a) Petrolätherextrakt: 2 kg Samen von *Casimiroa edulis* wurden von den Hülsen befreit und grob zerkleinert. Erschöpfende Perkolation mit Petroläther gab nach Eindampfen 11 g öligen Rückstand. Chromatographie auf  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>8)</sup> gab keine kristallisierte Fraktion.

b) Neutraler Alkoholextrakt: Nach der Perkolation mit Petroläther wurde das Pflanzenmaterial fein zermahlen und 5mal mit je 5 l Alkohol über Nacht bei 20° mazeriert. Anschliessend wurde nochmals fünfmal bei 20° extrahiert, aber jeweils vor dem Abfiltrieren 1 Std. zum Sieden erhitzt. Der insgesamt 50 l umfassende alkoholische Extrakt wurde im Vakuum bei 45° eingedampft und gab 390,5 g öligen Rückstand.

c) Saurer Alkoholextrakt: Das mit Alkohol extrahierte Pflanzenmaterial wurde fünfmal mit 1-proz. alkoholischer HCl bei Raumtemperatur mazeriert. Die vereinigten Auszüge dampfte man bei 45° im Vakuum ein. Der Rückstand wurde in 60 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O gelöst und mit KHCO<sub>3</sub> neutralisiert. Wiederum eingedampft entstand ein Rückstand von 21 g, der noch nicht untersucht wurde.

Trennung des neutralen Alkoholextraktes. 100 g Extrakt wurden in 250 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O suspendiert und einmal mit 750 cm<sup>3</sup>, einmal mit 500 cm<sup>3</sup> und einmal mit 250 cm<sup>3</sup> Äther ausgeschüttelt. Die Ätherauszüge wurden nacheinander mit 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet und eingedampft: 6,7 g Rückstand. Eine sorgfältige Chromatographie auf neutralem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>8)</sup> gab keine Kristalle.

Die verbleibende wässrige Lösung extrahierte man je einmal mit 500 cm<sup>3</sup>, 250 cm<sup>3</sup> und 150 cm<sup>3</sup> CHCl<sub>3</sub>. Die CHCl<sub>3</sub>-Extrakte wurden nacheinander mit 20 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet und eingedampft: 300 mg Rückstand.

Schliesslich wurde die wässrige Lösung mit 2-n. NH<sub>4</sub>OH deutlich alkalisch gestellt und je einmal mit 750 cm<sup>3</sup>, 500 cm<sup>3</sup> und 250 cm<sup>3</sup> Isoamylalkohol ausgeschüttelt. Die Fraktionen wurden ohne Trocknen vereinigt und eingedampft. Den Rückstand löste man in 100 cm<sup>3</sup> Alkohol unter Erwärmen und liess über Nacht bei 0° stehen. Es bildeten sich Kristalle, die abgenutscht und mit etwas kaltem Alkohol nachgewaschen wurden. Rückstand: 9,08 g (0,5% auf Droge berechnet) vom Smp. 218–223°, als Roh-Casimiroedin bezeichnet.

Eine Chromatographie der Mutterlauge des Roh-Casimiroedins auf  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ergab keine Kristalle mehr.

Casimiroedin. 1 g Rohbase wurde in Alkohol gelöst und durch Stehenlassen bei 0° zur Kristallisation gebracht: 0,85 g Kristalle vom Smp. 226,5–228°.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -21,3^{\circ}$  (c = 1,21 in 5-proz. HCl-Lösung).

C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> O <sub>6</sub> N <sub>3</sub>	Ber. C 60,42;	H 6,52	N 10,07%	4Hakt. 0,96	C-CH <sub>3</sub> 3,60%
(417,45)	Gef. „ 59,88; 59,91	„ 6,64; 6,59	„ 10,04%	„ 1,01; 1,04	„ 3,83%
	„ 60,01; 60,55	„ 6,61; 6,64			

Methoxyl- und Acetylbestimmung negativ. Das Hydrochlorid konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden.

Casimiroedin ist sehr gut löslich in verd. HCl und löst sich langsam in 2-n. NaOH oder in gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung. FeCl<sub>3</sub>-Reaktion in MeOH negativ.

Tetra-O(?) -acetyl-casimiroedin. 100 mg Casimiroedin wurden in 1,5 cm<sup>3</sup> Pyridin gelöst und mit 1,5 cm<sup>3</sup> Essigsäureanhydrid 4 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Zugabe von Alkohol wurde das Gemisch im Vakuum bei 45° fast vollständig eingedampft, der Rückstand in Chloroform aufgenommen und die Chloroformlösung mit 2-n. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und mit H<sub>2</sub>O gewaschen. Die Chloroformlösung wurde mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und eingedampft. Es resultierten 100 mg schaumiger

<sup>7)</sup> Wir danken Herrn L. Eckert für die Extraktion und Anfarbung des Samenmaterials.

<sup>8)</sup>  $\text{Al}_2\text{O}_3$  neutral nach *Woelm*, Aktivität I.

Rückstand, der über 3 g neutralem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform 4:1 eluierten Fraktionen gaben 30 mg Kristalle vom Smp.  $80^\circ$ .

$\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{O}_{10}\text{N}_3$	Ber. C 59,48	H 6,03	N 7,18	4 $\text{CH}_3\text{CO}$ 28,70%
(585,57)	Gef. ,, 58,57; 58,54	,, 6,24; 6,10	,, 7,28; 7,31	,, 28,78%
	,, 58,63	,, 6,10		

Tetrahydro-casimiroedin. 2 g Casimiroedin wurden in 250  $\text{cm}^3$  Methanol puriss. in Gegenwart von *Raney*-Nickel in Wasserstoff geschüttelt. Es wurden 77  $\text{cm}^3$   $\text{H}_2$  aufgenommen (ber. für 2 Mol.  $80,4 \text{ cm}^3$ ). Nach Abfiltrieren vom Katalysator wurde die Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Alkohol; Smp.  $167\text{--}168^\circ$ . pK 4,65; 4,61<sup>6</sup>).

$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{O}_6\text{N}_3$	Ber. C 59,84	H 7,41	Äqu.-Gew. 421,48
	Gef. ,, 59,77	,, 7,09	,, ,, 440; 442

Tetrahydro-casimiroedin-hydrochlorid: Tetrahydro-Base wurde in wenig Methanol gelöst und tropfenweise mit methanolischer HCl versetzt, bis Indikatorpapier deutlich saure Reaktion anzeigte. Die Lösung wurde vorsichtig eingedampft, mehrere Male mit Methanol versetzt und wieder eingedampft und der Rückstand aus Methanol-Äther umkristallisiert. Smp.  $183\text{--}185^\circ$ . pK = 4,57<sup>6</sup>).

$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{O}_6\text{N}_3, \text{HCl}$	Ber. C 55,06	H 7,04	N 9,17	HCl 7,96%
	Gef. ,, 54,77; 55,21	,, 6,74; 6,76	,, 8,86	,, 7,88; 7,89%
	,, 55,13	,, 6,82		
		Äqu.-Gew. 457,9		
		,, ,, 474		

Methylierungsversuche von Casimiroedin. a) 100 mg Casimiroedin wurden in 10  $\text{cm}^3$  Methanol gelöst und mit 1 g Methyljodid in 10  $\text{cm}^3$  Methanol versetzt. Nach Stehenlassen über Nacht wurde die Lösung eingedampft: der Rückstand war nur Ausgangsmaterial.

b) 300 mg Casimiroedin wurden mit 3  $\text{cm}^3$  Methyljodid im Bombenrohr über Nacht auf  $90^\circ$  erhitzt. Der braunrote ölige Rückstand wurde in Alkohol gelöst, die Lösung mit viel Tierkohle entfärbt und eingedampft. Der Rückstand war wasserlöslich, konnte aber nicht zur Kristallisation gebracht werden.

Selendehydrierung von Casimiroedin. 2,7 g Base wurden mit 11 g Selen innig vermischt im geschlossenen Rohr 3 Std. auf  $300^\circ$  erhitzt. Nach Extraktion des Rückstandes im Soxhlet mit Äther wurde die ätherische Lösung eingedampft, der Rückstand in Alkohol aufgenommen und die Lösung durch  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , das eine Schicht *Raney*-Nickel enthielt, filtriert. Nach Eindampfen des Filtrates wurde der Rückstand chromatographiert. Es konnte aber keine kristallisierte Fraktion isoliert werden.

Nachtrag vom 28. VIII. 56: Nach Einreichung des Manuskripts kam es zu unserer Kenntnis, dass Herr Prof. Dr. C. *Djerassi* (Wayne State University, Detroit, USA) ebenfalls Casimiroedin aus *Casimiroa edulis* isolierte und sich näher mit diesem Alkaloid befasste (vgl. C. *Djerassi*, J. *Herrán*, H. N. *Khastgir*, B. *Riniker* & J. *Romo*, J. org. Chemistry, im Druck). Seine Resultate stimmen mit den unsrigen überein. Nach seinen Angaben ist Casimiroedin ein Amid der Zimtsäure, so dass die C-Methylbestimmung nach *Kuhn-Roth* Benzoesäure und nicht Essigsäure lieferte und deshalb Casimiroedin keine C-Methylgruppe besitzt. Wir danken Herrn Prof. *Djerassi* bestens für den freundlichen Austausch der Manuskripte.

J. Büchi.

#### SUMMARY.

From seeds of *Casimiroa edulis* La Llav. et Lejarza we isolated the alcaloid Casimiroedin. Some derivatives of Casimiroedin are described and the formula  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_6\text{N}_3$  for Casimiroedin is suggested.

Pharmazeutisches Institut der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich  
und Forschungsinstitut der Dr. A. Wander AG. in Bern.