

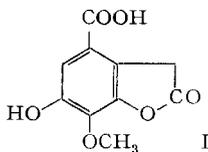
320. Die Cardenolide der Samen von *Mallotus philippinensis* (LAM.) MÜLL.-ARG. (= *Rottlera tinctoria* ROXB.)¹⁾

Glykoside und Aglykone, 252. Mitteilung²⁾

von K. D. Roberts³⁾, Ek. Weiss und T. Reichstein

(7. X. 63)

Mallotus philippinensis (LAM.) MÜLL.-ARG., eine in Abessinien, Südarabien, Indien, Malaya, Indonesien, und den Philippinen heimische Euphorbiacee wurde chemisch schon sehr viel untersucht⁴⁾. Die Fruchthaare (ein rotes Pulver) wurden schon im Altertum unter dem Namen Kamala sowohl technisch als Farbmaterial wie medizinisch als Bandwurmmittel verwendet und stellten einen für Indien wichtigen Handelsartikel dar. Der wichtigste darin enthaltene Wirkstoff ist das Rottlerin^{4b)}; von besonderem Interesse sind auch die Kamolensäuren^{4b)}. Herr BISSET⁵⁾ machte uns vor einiger Zeit darauf aufmerksam, dass die Samen eine positive KEDDE-Reaktion⁶⁾ geben. Er sprach die Vermutung aus, dass es sich um Cardenolide handeln könnte. Schon GRESHOFF⁷⁾ erwähnt, dass die Samen ein giftiges Glykosid enthalten, das in Alkohol und Wasser löslich und mit Chloroform aus Wasser extrahierbar sei. Hingegen isolierte HASEGAWA⁸⁾ aus der Rinde von *Mallotus japonicus* J. MÜLLER einen krist. Stoff $C_{14}H_{16}O_9 + H_2O$ unbekannter Struktur (möglicherweise ein Cumarinderivat⁹⁾). Alkalischnmelze liefert u. a. eine Säure der Formel I.



1) Herrn Prof. K. BERNHARD zu seinem 60. Geburtstag gewidmet.

2) 251. Mitt.: T. REICHSTEIN, *Planta Medica* 11, 293 (1963).

3) Fellow of THE JANE COFFIN CHILDS MEMORIAL FUND FOR MEDICAL RESEARCH; jetzige Adresse: Dept. of Biochemistry, Columbia University, New York 32, USA.

4) Ältere Literatur vgl. a) C. WEHMER, *Die Pflanzenstoffe* II, 687 (Jena 1931) sowie Ergänzungsband p. 124 (1935). Neuere Lit. bei b) W. KARRER, *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*, Nr. 816, 1696 und 1697 (Basel 1958).

5) Wir danken Herrn N. G. BISSET, damals in Kuala Lumpur (Malaya), auch hier bestens für seine wertvollen Angaben (Brief 27. Sept. 1960). Sie konnten in unseren Laboratorien von Frau Dr. E. ABISCH voll bestätigt werden.

6) D. L. KEDDE, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* 52, 643 (1952). Alle Butenolide geben mit diesem Reagens eine blauviolette Färbung. Empfindlichkeit im Papierchromatogramm je nach System ca. 0,005–0,01 mg.

7) M. GRESHOFF, *Tweede Verslag v. h. Onderz. naar de Plantenst. Nederl.-Indië, Mededeelingen uit's Lands Plantentuin (Batavia)* 25, 173 (1898); *Chem. Zbl.* 1899, II, 596.

8) T. HASEGAWA, *J. pharmaceut. Soc. Japan* 61, 307, 313, 318 (1941); *Chem. Abstr.* 45, 582f (1951).

9) Auf Grund der Daten könnte dieser Stoff mit Bergenin identisch sein, das schon von K. HOMMA, *Bull. agric. chem. Soc. Japan* 15, 82 (1939); *Chem. Zbl.* 1939, II, 1295, aus derselben Pflanze isoliert wurde.

Es ist daher nicht ausgeschlossen, dass der ursprüngliche Stoff mit KEDDE-Reagens positiv reagieren könnte. Da bisher in Euphorbiaceen noch nie Cardenolide beobachtet wurden, beschlossen wir, eine präparative Untersuchung durchzuführen.

Beschaffung des Ausgangsmaterials. Zur Verfügung standen 1 kg Samen von *Mallotus philippinensis*, gesammelt in Khandala (Indien) am 14. März 1961 von T. S. NAGESH RAO¹⁰⁾; sie erreichten uns am 17. April 1961 in ausgezeichnetem Zustand. Gleichzeitig erhielten wir noch 0,2 kg ganze Früchte, die aber noch nicht untersucht wurden.

Extraktion und Vortrennung der Extrakte. 1 kg Samen wurden gemahlen und mit Petroläther bei Raumtemperatur entfettet. Das entfettete Pulver (832 g) wurde mit Wasser und Chloroform¹¹⁾ 5 Tage unter CO₂¹²⁾ fermentiert. Anschliessend wurde im Vakuum von Chloroform befreit und nach früherer Vorschrift¹³⁾, jedoch ohne Reinigung mit Pb(OH)₂, aufgearbeitet. Erhalten wurden die in Tab. 1 genannten Extrakte. Bei der Prüfung mit KEDDE-Reagens gaben nur die Chloroform- und Chloroform-Alkohol-Extrakte eine positive Reaktion. In Papierchromatogrammen (Fig. 1–3) liessen sich 4 KEDDE-positive Stoffe (A, B, C, D) nachweisen.

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus 1 kg Samen von *Mallotus philippinensis*

Art des Extraktes ¹⁴⁾	Menge		KEDDE-Reaktion	Flecke im Pchr nach Entwicklung mit KEDDE-Reagens
	in g	in %		
Pe-Extr.	168,0	16,8	–	
Ae-Extr.	5,0	0,5	–	
Chf-Extr.	3,6	0,36	++	A, B, C
Chf-Alk-(2:1)-Extr.	0,8	0,08	++	C (D)
Chf-Alk-(3:2)-Extr.	0,7	0,07	+	C, D

Die genannten Extrakte wurden durch Chromatographie an Al₂O₃ und SiO₂ getrennt, wobei ungefähr die folgenden Ausbeuten erhalten wurden¹⁵⁾:

7 mg Subst. A (Corotoxigenin) amorphes Konzentrat,

9 mg Subst. B (Coroglaucigenin) amorphes Konzentrat,

815 mg Subst. C (Corotoxigenin-rhamnosid) amorphes Konzentrat, daraus 204 mg reine Kristalle,

145 mg Subst. D (Coroglaucigenin-rhamnosid) amorphes Konzentrat.

Die nur in kleinen Mengen erhaltenen Stoffe A und B wurden nicht kristallisiert. Nach Papierchromatogrammen im System von Fig. 1 sowie in Benzol-Tetrahydro-

¹⁰⁾ Wir danken der CIBA OF INDIA LTD., Bombay, sowie der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier bestens für die Beschaffung dieses Materials.

¹¹⁾ Methode zur fermentativen Abspaltung von D-Glucose bei *Strophanthus*-Samen, wobei das Chloroform die Isomerisierung an C-17 verhindert, J. KRAUS & H. STEIN, Deutsches Bundespat. Nr. 880195 vom 18. 6. 1953 (C. F. BOEHRINGER & SÖHNE GmbH, Mannheim).

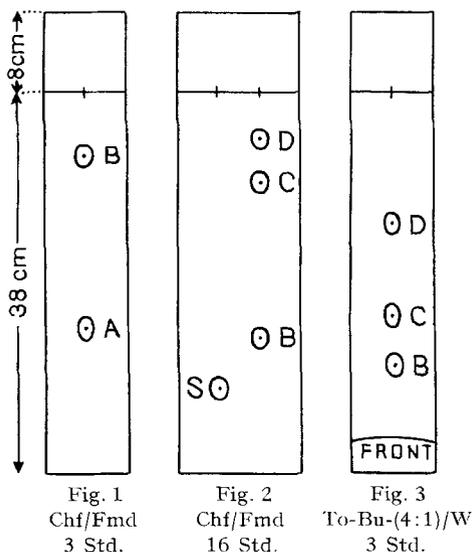
¹²⁾ Zur Verhinderung der Autoxydation von Aldehyden.

¹³⁾ J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1821 (1951).

¹⁴⁾ Abkürzungen vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

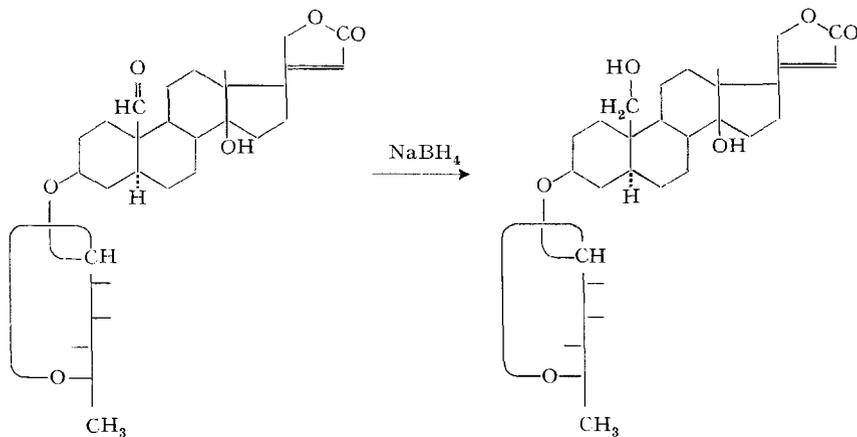
¹⁵⁾ Obwohl alle Manipulationen soweit wie möglich unter CO₂ ausgeführt wurden, liessen sich erhebliche Verluste an A und C durch Autoxydation der Aldehydgruppen nicht vermeiden.

furan-(4:1)/Formamid waren sie identisch mit Corotoxigenin (A)¹⁶ und Coroglaucigenin (B)¹⁶. Stoff C stellte das Hauptprodukt dar und wurde in Kristallen erhalten. Es konnte für ihn die Struktur II eines Corotoxigenin-rhamnosids abgeleitet werden.



Beispiele zur Kontrolle durch Papierchromatographie¹⁴)

Ausführung absteigend nach früheren Angaben¹⁷). Entwicklung mit KEDDE-Reagens⁶).
(Zum Vergleich: S = Sarmentogenin)



II Corotoxigenin-rhamnosid (Subst. C)
F. 210–217°, $[-18,8 \pm 3 \text{ Me}]$

III Coroglaucigenin-rhamnosid (Subst. D)
F. 231–235°, $[-38,1 \pm 2 \text{ Me}]$

Der Bau des Zuckeranteils in diesen Stoffen ist nicht bewiesen; es könnten auch β -D-Rhamnoside vorliegen.

¹⁶) Konstitution vgl. a) A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 1073 (1952); b) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 730 (1952).

¹⁷) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 108 (1951); H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953); E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 680 (1954).

Da dieses Glykosid wie alle Corotoxigeninderivate¹⁶⁾ sehr autoxydabel ist, wurde es zunächst mit NaBH_4 zum al-Dihydro-Derivat reduziert. Dieses wurde ebenfalls in Kristallen erhalten und erwies sich nach Laufstrecke im Papierchromatogramm und Farbreaktion mit H_2SO_4 als identisch mit Stoff D. Das aus den Samen isolierte Material wurde aber nicht kristallisiert erhalten. Das teilsynthetisch bereitete III wurde mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT¹⁸⁾ hydrolysiert. Das in Kristallen isolierte Genin wurde mit authentischem Coroglaucigenin identifiziert. Der Zucker war nach Papierchromatogrammen in 2 Systemen identisch mit Rhamnose. Die molekularen Drehungen von II (-100° in Me) und III (-204° in Me) sind stärker negativ, als für die formulierten α -L-Rhamnoside II und III zu erwarten ist¹⁹⁾; sie würden besser für β -D-Rhamnoside passen. Beide Formen würden der Regel von KLYNE²¹⁾ entsprechen. D-Rhamnose ist bisher noch nie als Bestandteil von Cardenoliden gefunden worden, daher soll die Natur des Zuckers, wenn möglich, später noch gesichert werden. Die Herren Dr. CHEN und Dr. HENDERSON hatten die Freundlichkeit, die Toxizität des Corotoxigeninderivats II (Stoff C) an der Katze zu prüfen. Als geometrisches Mittel der letalen Dosis bei intravenöser Infusion fanden sie an 10 Tieren $0,1052 \pm 0,0069$ mg/kg; es handelt sich demnach um ein sehr stark wirksames Glykosid²²⁾.

Ergebnis. Es ist damit gezeigt worden, dass die Samen von *Mallotus philippinensis* in der Tat Cardenolide enthalten. Hauptbestandteil ist Corotoxigenin-rhamnosid.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit. Der eine von uns (K. D. R.) dankt dem JANE COFFIN CHILDS MEMORIAL FUND FOR MEDICAL RESEARCH, New Haven, Conn., USA, für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichte.

Experimenteller Teil

Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Bestimmung der Drehung und zur Aufnahme der UV.- und IR.-Spektren wurden 1 Std. bei 0,02 Torr und 60° getrocknet, zur Analyse 3 Std. bei 110° und 0,01 Torr über P_2O_5 unter Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in org. Phase, Waschen mit 2N HCl , 2N Na_2CO_3 und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Adsorptionschromatographie an Al_2O_3 ²³⁾ oder SiO_2 ²⁴⁾ nach der Durchlaufmethode²⁵⁾.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Dchr = Dünnschichtchromatogramm(e), Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), Me = Methanol, Mek = Methyl-äthyl-keton, ML = eingele-

¹⁸⁾ C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. 75, 737 (1942).

¹⁹⁾ Für den Drehungsbeitrag des Zuckerrestes ergibt sich für II (Φ für Corotoxigenin = $+164^\circ$ in Me²⁰⁾) ein Wert von -264° und für III (Φ für Coroglaucigenin = $+100^\circ$ in Me^{16a)}) ein solcher von -304° . In früheren Fällen wurde als Beitrag des α -L-Rhamnosid-Restes bei Convallatoxin -177° , bei β -Antiarin -169° und bei Evomonosid -232° gefunden.

²⁰⁾ A. STOLL, A. PEREIRA & J. RENZ, Helv. 32, 293 (1949).

²¹⁾ W. KLYNE, Biochem. J. 47, xli (1950).

²²⁾ Wir danken den Herren Dr. K. K. CHEN und Dr. F. G. HENDERSON, Dep. of Pharmacology, Indiana University, Medical School, Indianapolis 7, Indiana, USA, auch hier bestens für die Übermittlung ihrer Resultate.

²³⁾ Al_2O_3 «WOELM» neutral, eingestellt auf die gewünschte Aktivität.

²⁴⁾ Kieselgel «MERCK», 0,05–0,2 mm, zur Chromatographie.

²⁵⁾ T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Trans. Farad. Soc. 7, 305 (1949).

dampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramm(e) und Papierchromatographie, Pe = Petroläther, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

1. *Extraktion der Samen.* 1 kg Samen wurden in der Schlagmühle fein vermahlen und danach 5mal mit 1500 ml Pe extrahiert. (Die Pe-Extrakte lieferten beim Eindampfen 168 g orangerotes Öl.) Das entfettete Samenpulver wurde im Vakuum von Pe-Resten befreit, mit 2000 ml W und 400 ml Chf vermischt und unter CO_2 verschlossen 5 Tage bei 25° fermentieren gelassen. Danach wurde mit 2000 ml Alk versetzt, 30 Min. auf 60° erwärmt und durch eine ca. 1 cm dicke Schicht von gewaschener Kieselgur (Celite Nr. 535) abgenutscht. Das Samenpulver wurde analog noch 4mal mit je 2000 ml 50- bis 95-proz. Alk wie üblich¹³⁾ extrahiert. Alle Extrakte wurden vereinigt und im Vakuum auf ca. 500 ml eingeengt. Dieser wässrige Extrakt wurde 3mal mit je ca. 500 ml Ae extrahiert. Die Ae-Extrakte wurden der Reihe nach mit W, 2N Na_2CO_3 und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Analog wurde 5mal mit je 500 ml Chf und 5mal mit je 500 ml Chf-Alk-(2:1) extrahiert. Dann wurde die verbliebene wässrige Phase mit Na_2SO_4 halb gesättigt und 5mal mit je 500 ml Chf-Alk-(3:2) extrahiert. Ausbeuten an Extrakten vgl. Tab. 1.

2. *Untersuchung des Äther-Extrakts.* Dieser Extrakt zeigte eine negative KEDDE-Reaktion⁶⁾. 4,9 g davon wurden an 150 g Al_2O_3 ²³⁾ Aktivität II mit Chf und Chf-Me-Gemischen von steigendem Me-Gehalt als Elutionsmittel chromatographiert. Alle Fraktionen waren amorph, gelb gefärbt und zeigten negative Reaktion gegenüber KEDDE-Reagens⁶⁾ und Tetranitrodiphenylreagens²⁶⁾. Sie wurden nicht weiter untersucht.

3. *Trennung des Chloroform-Extrakts.* Die 3,6 g Material wurden an 120 g Al_2O_3 ²³⁾ Aktivität III chromatographiert. Über das Resultat orientiert Tab. 2.

Tabelle 2. *Chromatographie von 3,6 g Chf-Extrakt an 120 g Al_2O_3*

Fr.-Nr.	Eluiermittel (je 300 ml pro Fr.)	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	KEDDE- Reaktion	Flecke im Pchr
1-3	Chf-Be-(3:1)	107	-	
4-6	Chf	10	-	
7-9	Chf-Me-(99:1)	28	+	A
10-12	Chf-Me-(98:2)	9	+	B
13-15	Chf-Me-(95:5)	5	-	
16-18	Chf-Me-(9:1)	5	-	
19-21	Chf-Me-(8:2)	16	+	C
22-28	Chf-Me-(1:1)	145	+	C
29-31	Chf-Me-(1:3)	49	+	C
32-35	Chf-Me-(1:3) + 10% W	198	+	C
36-38	Chf-Me-(1:3) + 5% AcOH	913	-	

Die Fr. 7-9 (28 mg) wurden noch einmal an 1 g SiO_2 ²⁴⁾ chromatographiert. Dabei wurden mit Chf-Me-(98:2) 7 mg weitgehend reine Subst. A als blassgelber Schaum erhalten, die aber nicht kristallisierte.

Fr. 10-12 (9 mg braunes Öl) enthielt nach Pchr als einziges Cardenolid Subst. B zu ca. 25%.

Fr. 19-28 (161 mg) wurde aus Me-Ae kristallisiert und 3mal umkristallisiert. Erhalten wurden 40 mg Kristalle vom Smp. $227-231^\circ$, die im Pchr nicht mehr wie Subst. C liefen, sondern am Start stehen blieben. Offenbar war Autoxydation eingetreten. Die ML der Fr. 19-28 und Fr. 29-35 (total 340 mg) wurden nun noch einmal an 10 g SiO_2 ²⁴⁾ chromatographiert. Die Fr. 13-15, eluiert mit Chf-Me-(9:1) lieferten 225 mg papierchromatographisch reine Subst. C²⁷⁾. Daraus wurde durch Kristallisation und Umkristallisation aus Me-Ac²⁷⁾ 25 mg reine Subst. C vom Smp. $204-$

²⁶⁾ R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 284 (1957).

²⁷⁾ Zum Schutz vor Autoxydation wurden die Fr. möglichst unter CO_2 im Dunkeln aufbewahrt; zur Kristallisation wurde nur frisch dest. Ae verwendet.

209° erhalten. Die restlichen ML wurden zur Verhinderung von weiterer Autoxydation mit NaBH_4 reduziert (siehe weiter unten).

4. *Trennung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts.* Der Extrakt enthielt nach Pchr neben wenig Subst. D hauptsächlich Subst. C. Die 0,8 g Gemisch wurden an 20 g SiO_2^{24}) chromatographiert; pro Fr. wurden 30 ml Elutionsmittel verwendet. Mit Chf-Me-(9:1) wurden 258 mg Subst. C (dunkelgelbes Öl) erhalten. Kristallisation und mehrmalige Umkristallisation aus Me-Ae²⁷⁾ lieferte insgesamt 126 mg reine Subst. C, teilweise vom Smp. 185–194° und teilweise vom Smp. 210–217°. In späteren Fr. wurden 48 mg rohe Subst. D (dunkelgelbes Öl) erhalten, die nicht kristallisierte.

5. *Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakts.* Auch dieser Extrakt enthielt nach Pchr und nach Dchr (System Chf-Me-(8:2)) die beiden Subst. C und D. Das Material wurde an 20 g Silicagel²⁴⁾ chromatographiert; über das Resultat orientiert Tab. 3.

Tabelle 3. *Chromatographie von 0,7 g Chf-Alk-(3:2)-Extrakt an 20 g SiO_2*

Fr.-Nr.	Eluierungsmittel (je 25 ml pro Fr.)	Eindampfrückstand			Habitus
		Gewicht in mg	KEDDE- Reaktion	Flecke im Pchr	
1–3	Chf-Me-(9:1)	144	–		Öl
4–6	Chf-Me-(9:1)	149	+	C	gelber Schaum
7	Chf-Me-(9:1)	11	±		gelber Schaum
8–12	Chf-Me-(9:1)	97	+	D	gelber Schaum
13–14	Chf-Me-(9:1)	16	±		gelber Schaum
15–20	Chf-Me-(85:15)	83	–		Öl
21–28	Me	100	–		Öl

Weder Fr. 4–6 noch Fr. 8–12 ergaben Kristalle.

6. *Beschreibung der isolierten Substanzen.* – *Subst. A = Corotoxigenin.* Nicht kristallin erhalten. Zeigte im Pchr in den Systemen Chf/Fmd und Be-Thf-(4:1)/Fmd dieselbe Laufstrecke wie Corotoxigenin¹⁶⁾.

Subst. B = Coroglaucigenin. Nicht krist. erhalten. Zeigte im Pchr in den Systemen Chf/Fmd und Be-Thf-(4:1)/Fmd dieselbe Laufstrecke wie Coroglaucigenin¹⁸⁾.

Subst. C = Corotoxigenin-rhamnosid. Aus Me-Ae feine Nadeln in kleinen, runden Drusen, niederschmelzende Form vom Smp. 185–194°, hochschmelzende Form vom Smp. 210–217°, $[\alpha]_D^{27} = -18,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,78$ in Me). – Trocknung zur Analyse gab 2,48% Gewichtsverlust.



UV.-Spektrum: Maxima bei 216 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,25$) und bei 304 $m\mu$ ($\log \epsilon = 1,66$). Im IR.-Spektrum in KBr besass die Substanz u. a. Maxima bei 2,91 μ (O–H), 3,67 μ (C–H der Aldehydgruppe), 5,62, 5,76 und 6,16 μ (Butenolidring) sowie eine Schulter bei ca. 5,83 μ (C=O der Aldehydgruppe).

Schwefelsäurefärbung vgl. Tab. 4. Zuckernachweis nach FEIGL²⁸⁾ positiv. Bei der Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT¹⁸⁾ im Mikromaßstab²⁹⁾ mit 2 mg Subst. C zeigte das Genin im Pchr im System Chf/Fmd eine gleiche Laufstrecke wie Corotoxigenin¹⁸⁾. Bei der Hydrolyse nach KILIANI³⁰⁾ im Mikromaßstab³¹⁾ zeigte der Zucker im Pchr in den Systemen Mek/W und Bu-Mek-(1:1)/Boraxpuffer³²⁾ eine gleiche Laufstrecke wie Rhamnose.

²⁸⁾ F. FEIGL, Spotttests in Organic Analysis, Elsevier Publishing Co., Amsterdam 1960, p. 426. Diese Reaktion ist sehr empfindlich zum Nachweis gebundener Hexosen und Pentosen. Auch gebundene 6-Desoxyhexosen geben positive Reaktion, aber die Empfindlichkeit ist ca. 10mal geringer.

²⁹⁾ Ausführung nach E. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 41, 736 (1958), p. 756.

³⁰⁾ H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 2866 (1930).

³¹⁾ Ausführung nach M. P. KHARE, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 45, 1534 (1962).

³²⁾ M. T. KRAUSS, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, J. Chromatogr. 3, 63 (1960).

Tabelle 4. Farbreaktion der Subst. C und D mit 84-proz. H_2SO_4 ³³⁾

Zeit	Subst. C	Subst. D
15''	hellgrün	hellgelb
1'	gelbgrün	hellgelb
2'	gelbgrün	hellbraun
5'	gelbgrün	hellbraun
10'	dunkelgelb	hellbraun
20'	braun-gelb	braun
30'	braun	braun
1 Std.	hellbraun	rötlichbraun
2 Std.	hellbraun	violett

Subst. D = *Coroglaucigenin-rhamnosid*. - a) Durch Reduktion von Subst. C: 200 mg rohe Subst. C gelöst in 20 ml 80-proz. Alk wurden mit 75 mg $NaBH_4$ in 3 ml 80-proz. Alk versetzt und über Nacht bei 0° stehengelassen. Dann wurde mit verd. H_2SO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt, 20 ml W zugegeben und im Vakuum auf ca. 20 ml eingengt. Die wässrige Lösung wurde 3mal mit Chf-Alk-(3:1) extrahiert und die Extrakte mit wenig W gewaschen. Nach Trocknung über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum wurden 174 mg Rohprodukt erhalten. Dieses wurde nach DUNCAN³⁴⁾ an 75 g Kieselgel²⁴⁾ mit Chf-Me-(85:15) als Elutionsmittel chromatographiert. Die Spitzenfraktionen enthielten 88 mg reine Subst. D. Nach dreimaliger Kristallisation aus An-Ae wurden 53 mg kleine Prismen in Drusen vom Smp. 231–235° erhalten, $[\alpha]_D^{27} = -38,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,04$ in Me.). - Trocknung zur Analyse gab 1,48% Gewichtsverlust.

$C_{20}H_{44}O_9$ (536,64) Ber. C 64,90 H 8,26% Gef. C 64,84 H 8,42%

Im UV.-Spektrum zeigte die Substanz nur noch eine Bande bei 217 μ ($\log \epsilon = 4,17^{35}$). Im IR.-Spektrum waren ebenfalls keine Banden einer Aldehydgruppe mehr sichtbar. H_2SO_4 -Färbung vgl. Tab. 4.

b) Isoliert aus *Mallotus philippinensis*. Die aus den beiden Chf-Alk-Extrakten isolierte rohe Subst. D war noch mit KEDDE-negativem Material verunreinigt und kristallisierte nicht. Sie zeigte jedoch im Pchr in den Systemen To-Bu-(4:1)/W und Chf/Fmd dieselbe Laufstrecke wie das partialsynthetische Material.

*Hydrolyse von Subst. D nach MANNICH & SIEWERT*¹⁸⁾. 52 mg Subst. D (reine ML) wurden in 5 ml An-konz. HCl-(99:1) gelöst und 5 Tage bei 20° stehengelassen. Danach wurden 10 ml W zugegeben und das An im Vakuum entfernt. Darauf wurde mit 5 ml Me versetzt und über Nacht bei 20° stehengelassen. Das Me wurde dann im Vakuum entfernt und die verbliebene wässrige Phase 5mal mit Chf-Alk-(4:1) extrahiert. Die Extrakte wurden einmal mit W, dann mit 2N Na_2CO_3 und wieder mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Rückstand: 38 mg Geninteil.

Die ausgeschüttelte wässrige Lösung und das erste Waschwasser wurden vereinigt, im Vakuum konzentriert, durch eine Säule mit 5 g Amberlite IR-4B (OH-Form) filtriert und mit bidestilliertem Wasser gut nachgewaschen. Die eingedampften neutralen wässrigen Filtrate ergaben einen Rückstand von 14 mg Zuckersirup. Dieser zeigte im Pchr in den beiden Systemen Mek/W und Mek-Bu-(1:1)/Boraxpuffer³⁶⁾ die gleiche Laufstrecke wie Rhamnose.

Coroglaucigenin aus Subst. D. Obige 38 mg Geninteil wurden an 2 g SiO_2 mit Chf-Me-(9:1) als Elutionsmittel chromatographiert. Die 4 Hauptfraktionen waren nach Pchr einheitlich (16 mg). Aus Chf 9,6 mg Kristalle vom Smp. 228–233°, $[\alpha]_D^{25} = +24,2^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,55$ in Me.). Im Pchr in den Systemen Chf/Fmd und n-Butylacetat/Fmd/W³⁶⁾ gleiche Laufstrecke wie Coroglaucigenin.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn E. THOMMEN im mikroanalytischen Labor des Instituts ausgeführt. Die Spektren wurden in unserem Spektrollabor durch die Herren R. BÜHRER und K. LIEBL aufgenommen.

³³⁾ J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 31, 883 (1948). Ca. 0,5 mg Substanz in weisser Porzellantüpfelplatte mit 2 Tropfen Säure rasch verrieben und bedeckt stehengelassen.

³⁴⁾ G. R. DUNCAN, *J. Chromatogr.* 8, 37 (1962).

³⁵⁾ Dieser Wert ist zu tief, vermutlich infolge eines Einwägefehlers. Der korrekte Wert wäre ca. 4,22.

³⁶⁾ V. R. MATTOX & M. L. LEWBART, *Arch. Biochem. Biophys.* 76, 362 (1958).

SUMMARY

The seeds of *Mallotus philippinensis* (LAM.) MUELL.-ARG. were found to contain 4 cardenolides (A, B, C and D) after fermentation. Two new glycosides, C and D, were obtained in crystalline form and were shown to be corotoxigenin-rhamnoside and coroglaucigenin-rhamnoside respectively. The minor constituents A and B were identified as corotoxigenin and coroglaucigenin after paper chromatography.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

321. Cycloheptatrien-1,6-dicarbonsäure und Bicyclo-[4, 1, 0]-2,4-heptadien-1,6-dicarbonsäureanhydrid

von R. Darms¹⁾, T. Threlfall²⁾, M. Pesaro und A. Eschenmoser

(7. X. 63)

Vor drei Jahren hatten wir im Rahmen von synthetischen Arbeiten die substituierte Cycloheptatriendicarbonsäure I dargestellt und einige ihrer Eigenschaften untersucht³⁾. Die Verbindung hatte sich einerseits bemerkenswert leicht in das Norcaradien-Derivat II überführen lassen, wodurch erstmals die spektroskopischen Eigenschaften einer Cycloheptatrien-Verbindung mit jenen eines entsprechenden Norcaradien-Derivats verglichen werden konnten. Andererseits hatten wir bei der Titration der Dicarbonsäure I einen interessanten Befund gemacht: die pK_{MCS}^* -Differenz der beiden Carboxylgruppen erwies sich als überraschend gross und in einem Grössenbereich liegend, der üblicherweise bei solchen Dicarbonsäuren angetroffen wird, für welche eine Stabilisierung der monodissoziierten Form durch eine interne Wasserstoffbrücke ($-COO-H \cdots OOC-$) in Betracht fällt. Im Hinblick auf die Möglichkeit, anhand dieses Verbindungstypus experimentelle Anhaltspunkte über die Geometrie des Cycloheptatrien-Systems, bzw. dessen Flexibilität in Richtung auf die Norcaradien-Struktur zu gewinnen, hatten wir damals die Darstellung des unsubstituierten Analogons der Dicarbonsäure I, nämlich der Cycloheptatrien-1,6-dicarbonsäure III in Aussicht gestellt. Die Ergebnisse der dahingehenden Versuche sind Gegenstand der vorliegenden Mitteilung. Was die Frage nach der Geometrie von Cycloheptatrien-Derivaten betrifft, so ist dieselbe in der Zwischenzeit für den Fall des *p*-Bromphenacylesters der Thujasäure (7,7-Dimethylcycloheptatrien-3-carbonsäure) röntgenanalytisch im Sinne einer nicht-planaren Wannen-Konformation des Cycloheptatrien-Kerns beantwortet worden⁴⁾; entsprechende spektro-

¹⁾ Vgl. R. DARMS, Diss. ETH Zürich, im Druck.

²⁾ NATO Scholar ETH, 1960–1961.

³⁾ J. SCHREIBER, W. LEIMGRUBER, M. PESARO, P. SCHUDEL, T. THRELFALL & A. ESCHENMOSER, *Helv.* **44**, 540 (1961).

⁴⁾ R. E. DAVIS & A. TULINSKY, *Tetrahedron Letters* **1962**, 839; vgl. hiezu auch die röntgenanalytisch ermittelte Geometrie des Cycloheptatrien-Kerns im Cycloheptatrienmolybdän-tricarbonsäure, J. D. DUNITZ & P. PAULING, *Helv.* **43**, 2188 (1960).