

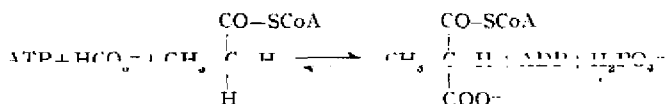
- [17] M. GORODETSKY & Y. MAZUR, J. Amer. chem. Soc. *86*, 5213 (1964); M. GORODETSKY, D. AMAR & Y. MAZUR, *ibid.* 5218.
- [18] K. H. SCHULTE-ELTE & G. OHLOFF, Tetrahedron Letters *1964*, 1143.
- [19] W. WINSTEIN, I. DE VRIES & R. ORLOSKY, J. Amer. chem. Soc. *83*, 2020 (1961); E. M. KOSOWER, W. D. CLOSSON, H. L. GOERING & J. C. GROSS, *ibid.* 2013.
- [20] H. E. ZIMMERMAN & D. I. SCHUSTER, J. Amer. chem. Soc. *84*, 4527 (1962).
- [21] H. HAGIWARA, S. NOGUCHI & M. NISHIKAWA, Chem. pharm. Bull. (Japan) *8*, 84 (1960).
- [22] M. AMOROSA, L. CAGLIOTI, G. CAINELLI, H. IMMER, J. KELLER, H. WEHRLI, M. L. J. MIHAILOVIĆ, K. SCHAFFNER, D. ARIGONI & O. JEGER, Helv. *45*, 2674 (1962).
- [23] R. T. RAPALA & E. FARKAS, J. Amer. chem. Soc. *80*, 1008 (1958).
- [24] R. E. COUNSELL, Tetrahedron *15*, 202 (1961).
- [25] A. L. WILDS & N. A. NELSON, J. Amer. chem. Soc. *75*, 5366 (1953).
- [26] S. K. MALHOTRA & H. J. RINGOLD, J. Amer. chem. Soc. *86*, 1997 (1964).
- [27] C. DJERASSI, L. MIRAMONTES, G. ROSENKRANZ & F. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. *76*, 4092 (1954).
- [28] J. D. BERMAN, J. H. STANLEY, W. V. SHERMAN & S. G. COHEN, J. Amer. chem. Soc. *85*, 4010 (1963).
- [29] O. L. CHAPMAN, D. J. PASTO, G. W. BORDEN & A. A. GRISWOLD, J. Amer. chem. Soc. *84*, 1220 (1962); K. MISLOW & A. J. GORDON, *ibid.* *85*, 3521 (1963); G. QUINKERT, K. OPITZ, W. W. WIERSDORFF & J. WEINLICH, Tetrahedron Letters *1963*, 1863.
- [30] R. H. EASTMAN, J. E. STARR, R. ST. MARTIN & M. K. SAKATA, J. org. Chemistry *28*, 2162 (1963).
- [31] H. P. WAITS & G. S. HAMMOND, J. Amer. chem. Soc. *86*, 1911 (1964).
- [32] C. S. PARMENTER & W. A. NOYES, JR., J. Amer. chem. Soc. *85*, 416 (1963).
- [33] P. A. LEERMAKERS, P. C. WARREN & G. F. VESLEY, J. Amer. chem. Soc. *86*, 1768 (1964).
- [34] H. E. ZIMMERMAN & J. W. WILSON, J. Amer. chem. Soc. *86*, 4036 (1964); R. WENGER, Diss. ETH, Zürich 1964, S. 58; K. SCHAFFNER, Advances Photochemistry *4*, im Druck (Ed.: W. A. NOYES, JR., G. S. HAMMOND & J. N. PITTS, JR., Interscience Publishers, New York).
- [35] O. JEGER, K. SCHAFFNER & H. WEHRLI, Pure & appl. Chemistry *9*, 555 (1964).

35. Stereochemie der enzymatischen Carboxylierung von (2R)-2-³H-Propionyl-Coenzym A

von D. Arigoni, F. Lynen und J. Rétey¹⁾

(8. X. 65)

Propionyl-CoA-Carboxylase²⁾ aus Schweineherz katalysiert die reversible Carboxylierung von Propionyl-CoA zu Methylmalonyl-CoA [1] (vgl. Gleichung).



Die Reaktion benötigt als Cofaktoren ATP und Mg⁺⁺. Als wirksame CO₂-übertragende Gruppe wurde enzymgebundenes Biotin erkannt [2]. Die (S)-Konfigura-

¹⁾ Gegenwärtige Adresse: Org.-chem. Laboratorium der ETH, 8006 Zürich, Schweiz.

²⁾ Folgende Abkürzungen werden verwendet: CoA = Coenzym A; ATP = Adenosintri-phosphat; ADP = Adenosindiphosphat; ADH = Alkoholdehydrogenase; NAD = Nicotinamid-adenin-dinucleotid; NADH = Nicotinamid-adenin-dinucleotid, reduziert; PEP = Phospho-enol-pyruvat; IpM = Impulse pro Minute; Tris = Tris-hydromethyl-aminomethan.

tion³⁾ des im Laufe dieser Reaktion gebildeten chiralen Zentrums ist kürzlich durch eine lückenlose Verknüpfung des Produktes mit dem System des Glycerinaldehyds gesichert worden [4][5]. Ferner konnte gezeigt werden, dass bei der Carboxylierung von (2*S*)-2-³H-Propionyl-CoA **1** nur geringer Verlust des schweren Isotopes stattfindet, während beim ähnlichen Umsatz mit dem CoA-Derivat aus racemischer 2-³H-Propionsäure erwartungsgemäss ungefähr die Hälfte des Tritiums verloren geht [5]. Diese Resultate beweisen, dass die Carboxylase zwischen den beiden sterisch nichtidentischen Wasserstoffatomen der Methylengruppe zu unterscheiden vermag und dass der Carboxylierungsprozess mit Retention der Konfiguration an dem in Frage kommenden Kohlenstoffatom erfolgt.

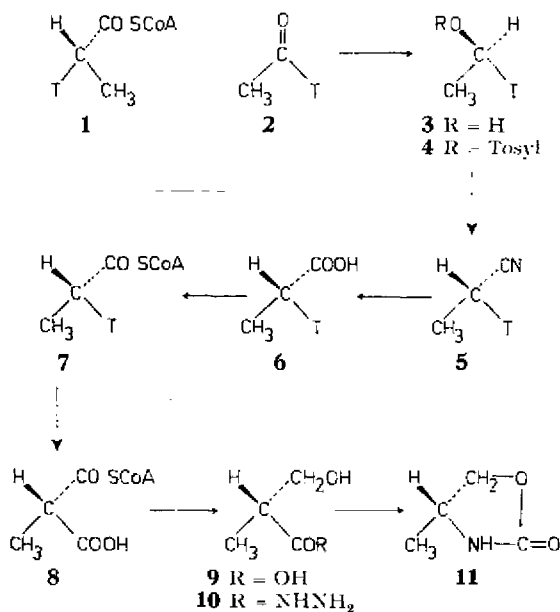
Zur Erhärtung dieses Befundes haben wir nun auch das CoA-Derivat **7** der (2*R*)-2-³H-Propionsäure hergestellt und sein Verhalten in der Carboxylierungsreaktion untersucht. Als Ausgangsmaterial für die Synthese des genannten Substrates verwendeten wir ein chirales 1-³H-Äthanol **3**, welches in Anlehnung an die Arbeiten von LOEWUS, WESTHEIMER & VENNESLAND [6] durch stereospezifische Reduktion von 1-³H-Acetaldehyd **2** mit Hefe-ADH und NADH erhalten wurde. Die absolute Konfiguration dieses Äthanolis ist von LEMIEUX & HOWARD [7] sowie von WEBER, SEIBL & ARIGONI [8] als (*S*) ermittelt worden. Der tritiierte Alkohol **3** wurde in das kristalline Tosylat **4** übergeführt und letzteres in methanolischer Lösung mit einem Überschuss von Kaliumcyanid behandelt. Unter diesen Bedingungen erfolgt die Cyanolyse mit WALDEN'scher Umkehrung und führt somit zur Bildung von (2*R*)-2-³H-Propionitril **5**. Hydrolyse dieses Propionitrils **5** zur Propionsäure unter den üblichen alkalischen bzw. sauren Bedingungen kam nicht in Frage, da Vorversuche mit tritiiertem Wasser und nichtmarkiertem Propionitril gezeigt hatten, dass dabei ein praktisch vollständiger Austausch der Wasserstoffatome in der Methylengruppe stattfindet. Ein solcher Austausch blieb hingegen bei Verwendung einer Reaktionsvariante unterbunden, nach welcher zunächst das Nitril unter milden alkalischen Bedingungen mit Wasserstoffperoxid ins Propionamid⁴⁾ und letzteres anschliessend durch Behandlung mit salpetriger Säure in die freie Propionsäure übergeführt wird. Übertragung dieser Reaktionsfolge auf das oben beschriebene (2*R*)-2-³H-Propionitril **5** lieferte erwartungsgemäss eine Probe von (2*R*)-2-³H-Propionsäure **6**, welche immer noch 95% des für das Äthyltosylat **4** gemessenen Tritiumgehaltes enthielt. Die Säure wurde nach der Methode von WIELAND & RUEFF [10] in das entsprechende CoA-Derivat **7** übergeführt und dieses der Carboxylierung in Gegenwart der kristallinen Propionyl-CoA-Carboxylase unterworfen.

Nach sechsfacher Verdünnung des dabei gebildeten (2*S*)-Methylmalonyl-CoA **8** mit dem nichtmarkierten, racemischen Thioester aus Methylmalonsäure und *N*-Octanoyl-cysteamin [11] reduzierte man das Gemisch der beiden Thioester in Anlehnung an die früher entwickelte Methodik [5] mit RANEY-Nickel zu einer weitgehend racemischen β -Hydroxy-isobuttersäure (\pm)-**9**, welche anschliessend in das entsprechende Hydrazid übergeführt wurde. Reinigung des Rohproduktes durch wiederholte Kristallisation ergab ein racemisches Hydrazid (\pm)-**10** vom Smp.

³⁾ Zur Bezeichnung der abs. Konfiguration vgl. [3].

⁴⁾ Zur Methodik vgl. [9]. Wir danken Herrn Prof. A. ESCHENMOSER für den Hinweis auf diese Literaturstelle.

112–113°). Da dieses Hydrazid infolge seiner Unlöslichkeit in Toluol für die Radioaktivitätsbestimmung im Szintillationszähler ungeeignet war, wurde es schliesslich mit dem 24,3-fachen Überschuss des optisch reinen (-)-(*R*)- β -Hydroxy-isobuttersäurehydrazids **10** vermischt und das Gemisch nach CURTIUS zum (+)-(*R*)-Methyl-oxazolidon **11** vom Smp. 54° abgebaut. Einsatz des optisch reinen β -Hydroxy-isobuttersäurehydrazids **10** bei der Verdünnung erlaubt, das Abbauprodukt in kristalliner Form zu erhalten, was bei Verwendung des racemischen Hydrazids nicht der Fall ist. Die Wahl des (*R*)-Enantiomeren ergibt sich aus der Tatsache, dass im oben beschriebenen racemischen Präparat des β -Hydroxy-isobuttersäurehydrazids alle diejenigen Molekeln, die aus dem enzymatisch gebildeten Methylmalonyl-CoA **8** stammen, die (*R*)-Konfiguration besitzen (vgl. [5]).



Die Bestimmung der Radioaktivität zeigte, dass das gebildete (+)-(*R*)-Methyl-oxazolidon **11** lediglich 4,27% des in der eingesetzten Propionsäure **6** gemessenen Tritiums enthält. Wir neigen dazu, die beobachtete geringe Beibehaltung des Tritiums auf die nichtvollständige optische Reinheit der eingesetzten Propionsäure zurückzuführen, welche ihrerseits die Folge einer während der Cyanolyse durch Abweichung vom S_N2-Reaktionstypus in geringem Masse auftretende Racemisierung widerspiegeln dürfte.

Im Hinblick auf eine Deutung des erhaltenen Befundes soll daran erinnert werden, dass bei Verwendung von racemischer 2-³H-Propionsäure nach einer ähnlichen Reaktionsfolge die Beibehaltung von ungefähr der Hälfte des Tritiums nachgewiesen

⁵⁾ Der durch diese Reinigung bedingte Verlust des Überschusses am *R*-Enantiomeren verlangt eine Korrektur des ursprünglichen Verdünnungsverhältnisses von 6,06 auf 7,05. Die Geringfügigkeit dieser Korrektur bürgt dafür, dass auch deren Vernachlässigung das Ergebnis der Untersuchung nicht wesentlich beeinflussen würde.

werden konnte [5]. Dadurch kann man ausschliessen, dass der in dieser Arbeit vom (*R*)-Enantiomeren ausgehend beobachtete, praktisch vollständige Verlust des schweren Isotopes die Folge eines nachträglichen nichtenzymatischen Austausches darstellt. Somit ist erneut erwiesen, dass die Propionyl-CoA-Carboxylase spezifisch eines der beiden sterisch nichtäquivalenten C-2-Wasserstoffatome des ihr eigenen Substrates beansprucht und dass diesem die (*R*)-Konfiguration zukommt⁶). Im Übrigen ist es interessant zu bemerken, dass diese Schlussfolgerung unabhängig von der Frage ist, ob die festgestellte Abwesenheit von Tritium im Produkt der Carboxylierung von (*R*)-2-³H-Propionyl-CoA **7** die Folge eines echten Verlustes des schweren Isotopes darstellt, oder eher jene einer durch einen kinetischen Isotopeneffekt bewirkte Fraktionierung, im Sinne einer rascheren Umsetzung der isotopenfreien Molekeln. Auch im zweiten Falle ist nämlich die Einhaltung der abgeleiteten Stereospezifität eine unumgängliche Voraussetzung für die Deutung der erhaltenen Resultate. Dass eine auf Isotopeneffekt beruhende Diskriminierung dennoch keine bedeutende Rolle spielt, haben bereits frühere kinetische Messungen mit Hilfe von 2-³H₂-Propionyl-CoA gezeigt, bei welchem für die Carboxylase-Reaktion ein k_H/k_D -Verhältnis von 1,16 gefunden wurde [5].

Einer von uns (J. R.) dankt der SCHWEIZERISCHEN STIFTUNG FÜR STIPENDIEN AUF DEM GEBIETE DER CHEMIE für die finanzielle Unterstützung.

Experimenteller Teil

Material und Methoden. ³H-LiAlH₄ (Spez. Radioakt. 221 μC/μMol) wurde von der NEW ENGLAND NUCLEAR CORP., Boston 18, Massachusetts, USA, ³H-H₂O vom RADIOCHEMICAL CENTER, Amersham, Buckinghamshire, England, bezogen.

Hefe-ADH, Pyruvatkinase aus Kaninchenskelettmuskel, Milchsäuredehydrogenase, NAD, NADH, PEP und CoA stammen von C. F. BOEHRINGER & SÖHNE, Mannheim, Deutschland.

Kristalline Propionyl-CoA-Carboxylase (Spez. Akt. 11,4) wurde, ausgehend von 60 Schweineherzen, nach KAZIRO *et al.* [1] isoliert.

Radioaktive Proben wurden im PACKARD-Tri-Carb liquid scintillation spectrometer in Toluol-Lösung gemessen.

Herstellung von 1-³H-Acetaldehyd 2. 160 mg (1,86 mMol) Diacetyl wurden in 5 ml abs. Äther gelöst und auf -15° abgekühlt. Unter Rühren mit einem Magnetrührer gab man 5 mg (0,105 mMol) LiAlH₄ und nach 10 Min. ca. 2 mg ³H-LiAlH₄ zu. Nach 1 Std. reduzierte man das überschüssige Diacetyl durch Zugabe von 60 mg (1,58 mMol) LiAlH₄. Das Reaktionsgemisch wurde darauf mit Eis und 5N HCl unter Kühlung hydrolysiert und schliesslich während 24 Std. kontinuierlich mit Äther extrahiert. Nach Abdampfen des Äthers blieben 136 mg eines Produktes zurück, welches zur Hauptsache aus einem Gemisch der beiden diastereomeren 2,3-³H-2,3-Dihydroxybutane bestand (Radioakt.: 4,57 · 10⁸ Ipm/mMol). Dieses Produkt wurde ohne weitere Reinigung in 10 ml 1N H₂SO₄ gelöst und die Lösung mit 820 mg H₂JO₄ über Nacht stehengelassen. Destillation des Reaktionsgemisches bei Normaldruck und Auffangen des Destillates in einer mit Eis gekühlten Vorlage lieferte eine wässrige Lösung, welche 1,0 mMol des 1-³H-Acetaldehyds **2** enthielt (Bestimmung mit Hilfe von Hefe-ADH).

Reduktion des 1-³H-Acetaldehyds 2 mit Hefe-ADH und NADH und Isolierung des (S)-1-³H-Athylthiosylats 4. 1,0 mMol 1-³H-Acetaldehyd **2**, in 100 ml Wasser gelöst, wurde mit 1 ml 1N Kaliumphosphatpuffer (pH 7), 1 g NADH (1,27 mMol) und 15 mg kristalliner Hefe-ADH versetzt. Spektrophotometrische Verfolgung der Reduktion anhand der Absorptionsbande bei 366 nm zeigte, dass die Reaktion nach wenigen Min. beendet war. Darauf wurde die Lösung mit K₂CO₃ (112 g) gesättigt und anschliessend mit 2 ml (34,3 mMol) abs. Äthanol versetzt (Verdünnungsfaktor: 35,3). Nach kontinuierlicher Extraktion mit Äther während 24 Std. wurde die ätherische Lösung mit frisch

⁶) Für die konfigurative Bezeichnung der «identischen» Substituenten an einem Kohlenstoffatom vom Typ Caabc vgl. [8].

geglühtem Na_2SO_4 getrocknet und bei -10° zu einer Lösung von 5 g Tosylchlorid in 15 ml abs. Pyridin getropft. Nach Aufarbeitung des Gemisches erhielt man 2,24 g (10,38 mMol) kristallines Äthyltosylat **4**. Die Reinigung erfolgte durch Destillation bei 175° und 15 Torr und ergab 2 g reines Äthyltosylat **4** vom Smp. $32-33^\circ$. Radioakt.: $6,6 \cdot 10^6$ Ipm/mMol.

*Überführung von (S)-1- ^3H -Äthyltosylat **4** in (R)-2- ^3H -Propionsäure **6**.* 1 g (5 mMol) (S)-1- ^3H -Äthyltosylat **4** und 0,35 g (5,38 mMol) KCN in 2 ml abs. Methanol wurden 1 Std. auf ca. 50° erwärmt. Das durch Destillation des Gemisches bei 0,2 Torr in einer mit Aceton-Trockeneis gekühlten Vorlage aufgefangene Destillat bestand zur Hauptsache aus einer methanolischen Lösung von (R)-2- ^3H -Propionitril **5**, welches ohne weitere Reinigung der Hydrolyse unterworfen wurde. Zu diesem Zweck versetzte man das Destillat mit 3 ml 30-proz. H_2O_2 und 0,1 ml 6N NaOH und erwärmte das Ganze 3 Std. auf 50° . Nach Einengen der Lösung am Rotationsverdampfer gab man bei 0° 2 ml 5N H_2SO_4 und 0,4 g NaNO_2 in 1 ml H_2O zu und liess das Gemisch 1 Std. bei Zimmertemp. stehen. Anschliessend wurde es mit 4 Portionen Äther extrahiert und die vereinigten ätherischen Phasen zweimal mit 1N Na_2CO_3 ausgeschüttelt. Daraufhin säuerte man die alkalischen Auszüge mit verd. H_2SO_4 an und extrahierte sie mit 4 Portionen Äther. Titration der über Na_2SO_4 getrockneten organischen Phase mit 0,01N alkoholischer KOH-Lösung ergab die Anwesenheit von 0,5 mMol Säure. Spez. Radioakt.: $6,24 \cdot 10^6$ Ipm/mMol.

*Veresterung der (R)-2- ^3H -Propionsäure **6** mit Coenzym **A**.* Eine Lösung von 129 μMol (R)-2- ^3H -Propionsäure **6** in 6 ml Äther wurde mit abs. Triäthylamin versetzt und anschliessend während 3 Std. mit Na_2SO_4 getrocknet. Nach Einengen auf 0,6 ml gab man 4 ml frisch über LiAlH_4 destilliertes Tetrahydrofuran und daraufhin bei -15° 0,132 ml eines 1:10 Gemisches von Chlorameisensäure-äthylester und abs. Tetrahydrofuran hinzu. Nach 15 Min. Reaktionszeit mischte man diese Lösung mit einem Gemisch von 80 mg CoA und 2 ml 2M KHCO_3 . Unter gelegentlichem Umschütteln liess man das Ganze 10 Min. bei 0° reagieren. Am Schluss wurde die Lösung mit Dowex 50 H⁺-Form angesäuert und daraufhin 4 Std. mit Äther perkoliert. Entfernung des Äthers und des Ionenaustauschers lieferte eine klare Lösung, deren Gehalt an Propionyl-CoA mit Hilfe des Carboxylase-Testes [12] zu 50,5 μMol bestimmt wurde.

*Enzymatische Carboxylierung des (2R)-2- ^3H -Propionyl-CoA **7**.* Der Reaktionsansatz enthielt: 50,5 μMol (2R)-2- ^3H -Propionyl-CoA **7**, 65 Einh. Propionyl-CoA-Carboxylase; 22 Einh. Pyruvatkinase aus Kaninchenskelettmuskel; 80 mg (ca. 125 μMol) ATP; 63 mg (ca. 100 μMol) PEP; 1 ml 0,1M MgCl_2 ; 1 ml 1M KCl; 2 ml 1M KHCO_3 ; 2 ml 1M Tris-Puffer (pH 8); Totalvolumen des Reaktionsgemisches 15,44 ml; Reaktionstemperatur 25° . Durch Bestimmung des im Laufe der Reaktion freiwerdenden Pyruvats mit Hilfe von Milchsäuredehydrogenase konnte festgestellt werden, dass nach 10 Min. 50,9 μMol Methylmalonyl-CoA **8** entstanden waren.

*Überführung von (S)-Methylmalonyl-CoA **8** in (R)-Methyloxazolidon **11**.* 76 mg (251 μMol) S-Methylmalonyl-N-octanoyl-cysteamin [11] wurden in 2 ml 1M KHCO_3 gelöst und mit 49,5 μMol der oben beschriebenen Lösung von Methylmalonyl-CoA **8** vermischt. Die Reduktion mit RANEY-Nickel und die anschliessende Aufarbeitung und Überführung in das (+)-(R)-2-Methyloxazolidon **11** erfolgten wie früher beschrieben [5]. Auf der Stufe des β -Hydroxy-isobuttersäurehydrazids (+)-**10** (Smp. $112-113^\circ$) verdünnte man das erhaltene Material mit der 24,3-fachen Menge (\pm)-(R)- β -Hydroxy-isobuttersäurehydrazid **10** (Smp. $132-133^\circ$). 10 mg (96,2 μMol) des einmal umkristallisierten (+)-(R)-2-Methyloxazolidons **11** (Smp. $53-54^\circ$) enthielten 150 Ipm, was einer spez. Radioakt. von 1,56 Ipm/ μMol entspricht.

SUMMARY

(R)-2- ^3H -propionyl-CoA **7** has been prepared from (S)-1- ^3H -ethanol **3**. Carboxylation of this substrate with propionyl-CoA carboxylase (pig heart) to (2S)-methylmalonyl-CoA involves complete loss of the label, thus confirming that the carboxylation step occurs with retention of configuration at the site involved.

Organisch-chemisches Laboratorium der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich,
und

MAX-PLANCK-Institut für Zellchemie, München

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Y. KAZIRO, S. OCHOA, R. C. WARNER & I. Y. CHEN, *J. biol. Chemistry* **236**, 1917 (1961).
 [2] Y. KAZIRO, E. LEONE & S. OCHOA, *Proc. Nat. Acad. Sci.* **46**, 1319 (1960).
 [3] R. S. CAHN, C. K. INGOLD & V. PRELOG, *Experientia* **12**, 81 (1956).
 [4] M. SPRECHER, M. J. CLARK & D. B. SPRINSON, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **15**, 581 (1964); J. RÉTEY & F. LYNEN, *ibid.* **16**, 358 (1964).
 [5] J. RÉTEY & F. LYNEN, *Biochem. Z.* **342**, 256 (1963).
 [6] F. A. LOEWUS, F. H. WESTHEIMER & B. VENNESLAND, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5018 (1953).
 [7] R. U. LEMIEUX & J. HOWARD, *Canad. J. Chemistry* **41**, 308 (1963).
 [8] H. WEBER, J. SEIBL & D. ARIGONI, *Helv.* **49** (im Druck); H. WEBER, *Diss. ETH, Zürich* 1964.
 [9] L. MCMASTER & F. B. LANGRECK, *J. Amer. chem. Soc.* **39**, 103 (1917).
 [10] TH. WIELAND & L. RUEFF, *Angew. Chem.* **65**, 186 (1953).
 [11] P. OVERATH, E. R. STADTMAN, G. M. KELLERMAN & F. LYNEN, *Biochem. Z.* **336**, 77 (1962).
 [12] A. TIEZ & S. OCHOA, *J. biol. Chemistry* **234**, 1394 (1959).

36. Die Cardenolide der Samen von *Mallotus paniculatus*

MÜLL.-ARG. (*Euphorbiaceae*)

Glykoside und Aglykone, 272. Mitteilung¹⁾

von K. D. Roberts²⁾, Ek. Weiss und T. Reichstein

(8. X. 65)

Vor einiger Zeit wurde berichtet [2], dass die Samen von *Mallotus philippinensis* Cardenolidglykoside enthalten. Wie uns Herr BISSET mitteilte, fand er solche Stoffe auch in *Mallotus paniculatus* und konnte zwei davon auch in Kristallen isolieren (Subst. A und B, Identifizierung siehe unten). Mit seinem Einverständnis haben wir die Pflanze analysiert³⁾.

Beschaffung des Ausgangsmaterials. 3,7 kg frische Samen (Probe b) sandte uns Herr BISSET³⁾. Sie wurden im November und Dezember 1961 gesammelt «on waste ground near our Department» und erreichten uns am 29. Dezember 1961 in ausgezeichnetem Zustand. Herr BISSET sandte uns noch weitere 2,1 kg älterer Samen (Probe a, gesammelt im Jahre 1959 am gleichen Ort), die aber noch nicht untersucht wurden.

Extraktion und Vortrennung der Extrakte. 2,0 kg der frischen Samen (Probe b) wurden genau wie bei *Mallotus philippinensis* beschrieben [2] gemahlen, entfettet,

¹⁾ 271. Mitteilung: R. BERTHOLD *et al.* [1].

²⁾ Fellow of THE JANE COBBIN CURRIE MEMORIAL FUND FOR MEDICAL RESEARCH, NEW HAVEN, Conn., USA.

³⁾ Wir danken Herrn N. G. BISSET, damals Dep. of Chemistry, Jalan Sultan, Petaling Jaya, Kuala Lumpur, Malaya, auch hier bestens für seine wertvollen Angaben und die Überlassung von Material. Ausser über *Mallotus philippinensis* scheint es wenig Literatur über chemische Untersuchungen an Vertretern der Gattung *Mallotus* zu geben. Herr BISSET (Brief vom 20. Dezember 1961) nannte uns die folgenden: Nach GRESHOFF [3] enthalten die Blätter von *Mallotus blumeana* MÜLLER-ARG. (sub *Plagianthera oppositifolia* REICHB. et ZOLL., «Tjalik angin») ein scharfes giftiges Harz, auch Gerbstoff und Spuren Alkaloide. Einige Angaben finden sich bei BURKILL [4] und bei HEYNE [5]. Nach BURKILL [4] wird *M. paniculatus* von den Eingeborenen medizinisch verwendet.