

top of the plate (18 cm) with solvent (4). The R_f was 0.33 for 6,7-dimethoxycoumarin if developed one time. If the plate were dried and developed again, the R_f was 0.47. When solvent (1) was used for survey the R_f was 0.41. When whole juice was tested the fruit were lightly hand extracted. The juice was filtered through cheese cloth and then spotted (25 μ l) using a 3 cm origin, air dried, spotted (25 μ l) for a total of 50 μ l of juice, and treated as above.

Preparation of samples for isolation. The flavedo from 6 Pineapple oranges was removed with a potato peeler, ground in a Waring Blender and transferred to a beaker with C_6H_6 . It was extracted in a counter-rotating mixer for 5 min twice with C_6H_6 , then once with 0.4 l. of Me_2CO . The extracts were filtered, combined, concentrated and placed on 4 preparative plates and developed twice with C_6H_6 - Me_2CO (17:3). A blue fluorescent band at R_f 0.58 was collected and eluted with solvent (1), rechromatographed with solvent (2), developed 3 times and collected, rechromatographed with solvent (3), developed 2 times and collected. 6,7-Dimethoxycoumarin recrystallized from $EtOAc$ ($\times 4$) had mp 142–3°. For isolation of the coumarin from Calamondin, 1200 g of whole peel was used; from Wekiwa, 1200 g flavedo was used. For isolation of the coumarin from one experimental orange oil, 100 ml whole oil was stripped of (+)-limonene at 50° and 1 mm Hg. A portion of the residue was placed on 8 preparative plates and separated as above.

Synthesis of 6,7-dimethoxycoumarin. 6-Methoxy-7-hydroxycoumarin was methylated according to DeBoer and Backer [7]. The product, 6,7-dimethoxycoumarin, was isolated by preparative TLC with solvent (3). Mp 142–3°, MS: m/e 206 (m+), 191, 178, 163, 135. 6,7-Dimethoxycoumarin, isolated from the peels of the Pineapple orange, Calamondin and Wekiwa, was identified by comparison (mp, IR, MS, TLC) with the synthetic compound. 6,7-Dimethoxycoumarin in the other samples was identified by colour under long wave UV light and TLC in two solvents.

REFERENCES

1. Riov, J. (1971) *Phytochemistry* **10**, 1923.
2. Kefford, J. F. and Chandler, B. V. (1970) *Adv. Res. Sup.* **2**, 109.
3. Hearn, C. Jack (1973) *Proc. Fla. State Hort. Soc.* **86**, 84.
4. Tatum, J. H., Berry, R. E. and Hern, C. Jack (1974) *Proc. Fla. State Hort. Soc.* **87**, 75.
5. Horowitz, R. M. and Gentili, B. (1960) *J. Org. Chem.* **25**, 2183.
6. Moshonas, M. G. and Shaw, P. E. (1976) *J. Agric. Fd Chem.* In press.
7. DeBoer, T. J. and Backer, J. H. (1954) *Recl. Trav. Chem.* **73**, 232.

Phytochemistry, 1977, Vol. 16, pp. 1092–1095 Pergamon Press. Printed in England.

NEUARTIGE CUMARIN-DERIVATIVE AUS *ETHULIA CONYZOIDES**

FERDINAND BOHLMANN und CHRISTA ZDERO

Institut für Organische Chemie der Technischen Universität Berlin, Straße des 17. Juni 135, 1000-Berlin 12, Germany

(Eingegangen 31 Januar 1977)

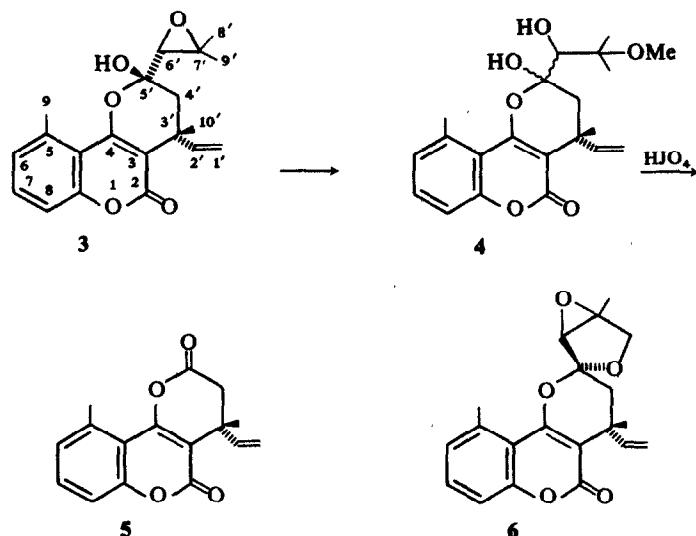
Key Word Index—*Ethulia conyzoides*; Compositae; new coumarin derivatives.

—The aerial parts of *Ethulia conyzoides* contain two new coumarins which are related to those of *Erlangea* and *Bothriocline*. They are, however, condensed with a terpene. The structures have been elucidated by spectroscopic methods.

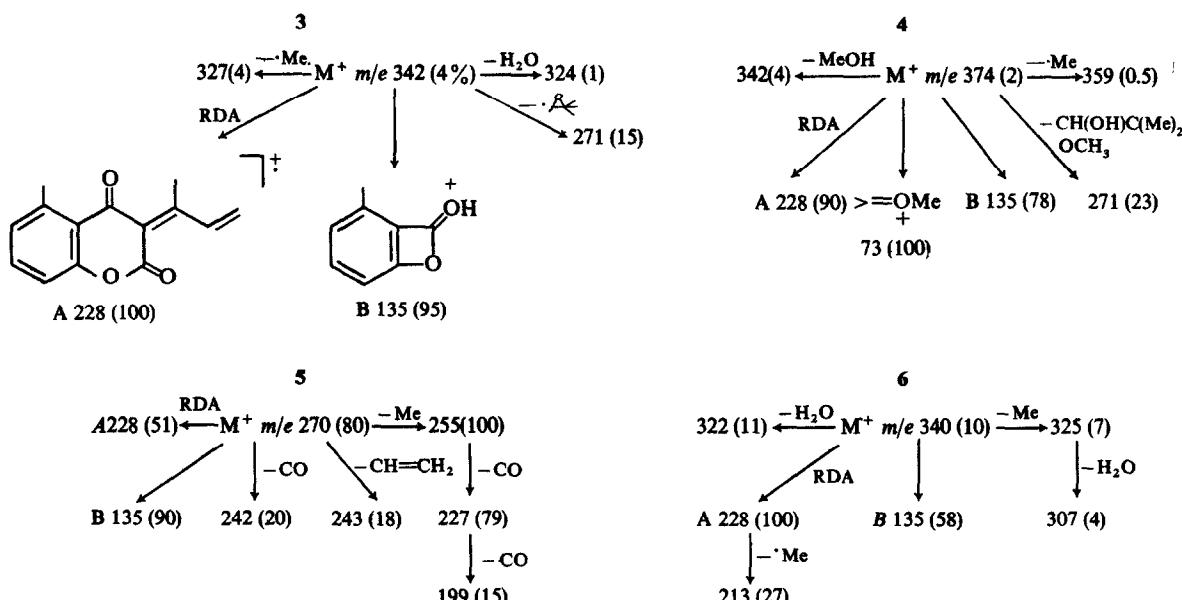
Vertreter der Gattung *Ethulia* (Tribus Vernonieae) sind bisher noch nicht eingehend untersucht worden.

*16 Mitt. in der Serie Natürlich vorkommende Cumarin-Derivate; 15 Mitt. Bohlmann, F. und Zdero, C. (1977) *Phytochemistry*, in press. † Höheren und das 1'- und 2'-Signal 2'-tieferen Feldern verschoben.

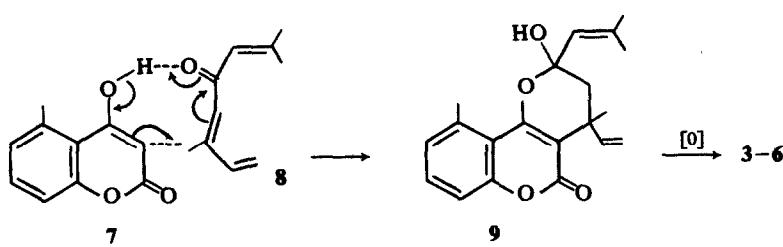
Die Wurzeln von *E. conyzoides* enthalten das weit verbreitete Pentainen 1 und das Entetraenin 2 [1]. Die oberirdischen Teile enthalten jedoch zwei neue Cumarin-Derivate mit den Summenformeln $C_{20}H_{20}O_5$ und $C_{20}H_{22}O_5$. Die 1H -NMR-Spektren zeigen, daß wie bei *Erlangea* [2] und *Bothriocline* [3] Methylcumarine vorliegen müssen, die in 3,4-Stellung substituiert sind. Wie schon die Summenformeln deuten auch die NMR-



Scheme 1.



Scheme 2.



Scheme 3.

Spektren darauf hin, daß beide Cumarine mit einem Terpenrest verknüpft sind. Das IR-Spektrum der weniger polaren Verbindung zeigt neben der Cumarincarbonylbande eine OH-Bande, die offenbar tertiar ist, da im ¹H-NMR-Spektrum nur ein relativ scharfes Signal bei $\delta = 4.20$ vorhanden ist, das zudem bei Zusatz von Eu(fod)₃ nur wenig verschoben wird. Im NMR-Spektrum erkennt man weiterhin Signale für eine Vinylgruppe, vier Methylsingulets, von denen eines offenbar einer aromatischen Methylgruppe zuzuordnen ist (*s(br)* 2.74), drei vicinale Aromaten-Protonen, die zusammen mit dem Methylsignal auf ein 5-Methylcumarin hindeuten, ein Singulett bei 3.05 (1H) und zwei Doublets [*d* 2.23 und 2.03 (*J* = 14)]. Bei den beiden letzten Signalen handelt es sich offensichtlich um eine CH₂-Gruppe mit geminaler Kopplung. Eines der Doublets zeigt eine W-Kopplung mit dem Methylsignal bei 1.70. Dieses Signal wird, wie das Vinylproton, bei Zusatz von Eu(fod)₃ relativ stark zu tiefen Feldern verschoben. Somit dürfte die Gruppierung —CH₂C(Me) —CH=CH₂ in 3-Position neben dem Carbonyl-C-Atom des 5-Methylcumarins stehen, das offenbar bevorzugt von Eu(fod)₃ komplexiert wird. Die Lage der beiden restlichen Methylsingulets läßt vermuten, daß sie an einem sauerstoffsubstituierten C-Atom stehen.

Um die Natur des fehlenden O-Atoms und die Stellung der tertären OH-Gruppe zu klären, haben wir das Cumarin in Methanol mit *p*-Toluolsulfinsäure erwärmt. Dabei erhält man zwei nicht trennbare, offenbar epimere Verbindungen, die im NMR-Spektrum jeweils zwei neue Doublets erkennen lassen. Nach H-D-Austausch bleiben jedoch nur zwei Singulets bei 3.79 und 3.75 übrig, gleichzeitig verschwinden zwei Singulets bei 5.37 bzw. 5.07. Daraus muß man den Schluß ziehen, daß bei saurer Methanolysen eine neue OH-Gruppe entstanden ist, was durch das Massenspektrum bestätigt wird. Dieses Ergebnis erfordert das

Vorliegen einer Epoxid-Gruppe im Naturstoff. Um die Konstitution der Spaltprodukte weiter abzuklären, haben wir das Epimerengemisch mit Perjodsäure umgesetzt. Dabei erhält man nur ein Produkt, dem nach den spektroskopischen Daten die Konstitution 5 zukommen muß. Alle Ergebnisse sind somit nur vereinbar mit der Konstitution 3 für den Naturstoff und 4 für die epimeren Spaltprodukte. Hier ist offenbar bei der Methanolysen gleichzeitig eine Isomerisierung am Halbacetal-C-Atom erfolgt.

Beim zweiten Cumarin fehlt im NMR-Spektrum das OH- und ein Methylsignal. Dafür beobachtet man zwei zusätzliche Doublets, die nach Lage und Kopplung am besten einer CH₂O-Gruppe in einem 5-Ringether zuzuordnen sind. Wiederum zeigt eines der Doublets eine W-Kopplung mit einer Methylgruppe. Diese Befunde sind gut vereinbar mit dem Vorliegen von 6. Das bedeutet, daß bei 3 die 9'-Methylgruppe in eine Methylolegruppe übergegangen ist, die mit der 5'-OH-Gruppe einen Etherring gebildet hat, offenbar unter Konfigurationsumkehr am C-5', da das 3'-Methyl-Signal zu† werden. Die NMR-Spektren der Epimere von 4 lassen die entsprechenden Verschiebungen erkennen. Dreiding-Modelle zeigen einmal eine 1,3-diaxiale Stellung von OH und 3'-Methyl und zum anderen bei α -ständiger OH-Gruppe, eine 1,3-axiale Stellung der Vinylgruppe zur O-Funktion. Somit sind die Konfigurationen am C-3' und 5' weitgehend gesichert, die der Epoxide kann jedoch ebenso wie die absolute Konfiguration nicht angegeben werden. Wir möchten 3 Ethuliacumarin und 6 Cycloethuliacumarin nennen.

Auch die Massenspektren sind gut vereinbar mit den angegebenen Strukturen. Im Schema 2 sind die wahrscheinlichen Fragmentierungsschemata für 3 bis 6 wiedergegeben.

Besonders charakteristisch ist offenbar das Fragment A, daß zweifellos durch eine Retro-Diels-Alder-Spaltung

Tabelle 1. ¹H-NMR-Signale von 3-6 (δ -Werte, 270 MHz, TMS als innerer Standard, CDCl₃)

	3*		4†		5		6*
6-H	<i>d(br)</i> 7.02	0.02	<i>d(br)</i> 7.02	7.00	<i>d(br)</i> 7.11	<i>d(br)</i> 7.03	0.04
7-H	<i>dd</i> 7.35	0	<i>dd</i> 7.34	7.32	<i>dd</i> 7.44	<i>dd</i> 7.36	0.01
8-H	<i>d(br)</i> 7.15	0	<i>d(br)</i> 7.15	7.14	<i>d(br)</i> 7.21	<i>d(br)</i> 7.16	0.01
9-H	<i>s(br)</i> 2.74	0.02	<i>s(br)</i> 2.78	2.74	<i>s(br)</i> 2.78	<i>s(br)</i> 2.67	0.07
1' ₁ -H	<i>d</i> 5.10	0.32	<i>d</i> 5.20	5.11	<i>d</i> 5.12	<i>d</i> 5.16	0.22
1' ₂ -H	<i>d</i> 5.15	0.08	<i>d</i> 5.12	5.09	<i>d</i> 5.17	<i>d</i> 5.09	0.10
2'-H	<i>dd</i> 6.10	0.32	<i>dd</i> 6.27	6.15	<i>dd</i> 6.09	<i>dd</i> 6.21	0.29
4' ₁ -H	<i>d(br)</i> 2.23	0.16	<i>s</i> 2.31	<i>d</i> 2.15	<i>d(br)</i> 2.95	<i>d(br)</i> 2.36	0.16
4' ₂ -H	<i>d</i> 2.03	0.14	<i>s</i> 1.39	<i>d</i> 2.08	<i>d</i> 2.73	<i>d</i> 2.17	0.15
6'-H	<i>s</i> 3.05	0.34	<i>d</i> 3.79‡	3.75§	—	<i>s</i> 3.59	0.12
8'-H	<i>s</i> 1.50	0.06	<i>s</i> 1.39	1.37	—	<i>s(br)</i> 1.64	0.04
9'-H	<i>s</i> 1.39	0.02	<i>s</i> 1.39	1.31	—	<i>d</i> 4.03	0.07
10'-H	<i>s(br)</i> 1.70	0.26	<i>s</i> 1.62	1.77	<i>s(br)</i> 1.67	<i>s(br)</i> 1.65	0.27
OH	<i>s</i> 4.20	0.14	<i>d</i> 3.24	2.82	—	—	—
OMe	—	—	<i>s</i> 3.32	3.29	—	—	—

* Δ -Werte nach Zusatz von ca 0.05 Äquivalenten Eu(fod)₃; †Eine eindeutige Zuordnung der Signale zu den Epimeren war nicht eindeutig möglich; ‡ $J_{H,OH} = 3.5$ Hz; § $J_{H,OH} = 6$; $J(\text{Hz})$: 6, 7 = 7, 8 = 8; 4'₁, 4'₂ = 14; 1'₁, 2' = 17; 1'₂, 2' = 10; bei 5: 9'₁, 9'₂ = 10.

gebildet wird. Die Struktur und die Bildung von B sind jedoch nicht eindeutig anzugeben.

Die erneute Isolierung von 5-Methylcumarinen aus Vertretern der Tribus Vernonieae ist sicher chemotaxisch interessant. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, wie weit verbreitet diese Verbindungen wirklich sind und ob eine Abgrenzung innerhalb der Tribus sinnvoll ist. Biogenetisch entstehen 3 und 6 wahrscheinlich durch Addition von Dehydrotageton (8) an das 5-Methylcumarin 7 (s. Schema 3).

EXPERIMENTELLES

UV: Et₂O; IR: CCl₄; ¹H-MNR: Bruker WH 270, δ -Werte, TMS als innerer Standard; MS: Varian MAT 711, Direkteinlaß, 70 eV; optische Rotation, Perkin-Eilmel, CHCl₃. Die lufttrockenen Pflanzenteile (Dr. Jones, Univ. of Georgia, Athens, Herbar. Nr. 76-126) wurden zerkleinert und bei RT mit Ether-Petrol (= E-P) extrahiert. Die Extrakte trennte man zunächst grob durch SC (Si gel, Akt. St. II) und weiter durch DC (Si gel GF 254). Als Laufmittel dienten E-P-Gemische. 20 g Wurzeln ergaben je ca 0.1 mg 1 und 2, 50 g oberirdische Teile 8 mg 3 (E-P 1:1) und 6 mg 6 (E-P 1:1).

Ethuliacumarin (3). Farblose Kristalle aus E-P, Schmp. 61°, UV: λ_{max} 323, 308, 289, 278 nm ($\epsilon = 4800, 6800, 11900, 12200$); IR: OH 3480; Cumarin 1725, 1610, 1560; CH=CH₂ 3075, 1640, 908 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 342.147 (4%) (ber. für C₂₀H₂₂O₅ 342.147).

$$[\alpha]_{D}^{24} = \frac{589 \quad 578 \quad 546 \quad 436 \quad 365 \text{ nm}}{+28 \quad +31 \quad +35 \quad +68 \quad +123^\circ} \quad (c = 0.1)$$

5 mg 3 in 2 ml MeOH erwärmte man mit 10 mg p-Toluolsulfinsäure 15 min zum Sieden. Anschließend goß man in

5 ml H₂O. Man nahm in Ether auf, wusch neutral und erhielt nach DC (E-P 1:1) ein 1:1 Gemisch der 5'-isomeren Methyl-ether 4, farbloses, nicht trennbares Öl. IR: OH 3600; Cumarin 1725, 1610 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 374.173 (2%) (ber. für C₂₁H₂₆O₆ 374.173).

3 mg der epimeren Diole 4 in 2 ml MeOH und 0.2 ml H₂O versetzte man mit 10 mg Perjodsäure. Nach 10 min fügte man Wasser hinzu, nahm in Ether auf, wusch neutral und reinigte den Eindampfrückstand durch DC (E-P 1:1). Man erhielt 1.5 mg 5, farblose Kristalle aus E-P, Schmp. 148°. IR: C=O 1735; Aromat 1617, 1604 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 270.089 (80%) (ber. für C₁₆H₁₄O₄ 270.089). Die Substanz ist rechtsdrehend, für eine genaue Bestimmung der Drehung reichte die Menge nicht aus.

Cycloethuliacumarin (6). Farblose Kristalle aus E-P, Schmp. 129°. UV: λ_{max} 323, 309, 289, 277 nm ($\epsilon = 4500, 6700, 1200, 12600$). IR: Cumarin 1730, 1615, 1605, 1560; CH=CH₂ 3080, 1640, 920 cm⁻¹. MS: M⁺ m/e 340.131 (10%) (ber. für C₂₀H₂₀O₅ 340.131).

$$[\alpha]_{D}^{24} = \frac{589 \quad 578 \quad 546 \quad 436 \quad 365 \text{ nm}}{+21 \quad +23 \quad +26 \quad +57 \quad +118^\circ} \quad (c = 0.17)$$

Anerkennung—Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Förderung dieser Arbeit, Herrn Dr. S. B. Jones, Univ. of Georgia, für das Pflanzenmaterial.

LITERATUR

1. Bohlmann, F., Burkhardt, T. und Zdero, C. *Naturally Occurring Acetylenes*. Academic Press, London.
2. Bohlmann, F. und Zdero, C. (1977) *Chem. Ber.*, in Druck.
3. Bohlmann, F. und Zdero, C. (1977) *Phytochemistry*, im Druck.