

163. Über die Inhaltsstoffe von *Piscidia erythrina* L.¹⁾

von A. L. Kapoor, A. Aebi und J. Büchi.

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein zum 60. Geburtstag gewidmet.

(7. III. 57.)

Piscidia erythrina L. (*Leguminosae-Papilionatae*) ist ein Baum von 6—8 m Höhe mit unregelmässig abstehenden Ästen. Er besitzt eine helle, glatte Rinde und wächst vor allem an dünnen Stellen und auf Bergen. Er kommt vor in Westindien, besonders in Jamaica und in Martinique, aber auch in Mexiko und Florida²⁾ ³⁾. Ein Rindenextrakt wird in der Volksmedizin vor allem für hypnotisch-sedative Zwecke gebraucht⁴⁾ und stellt ein äusserst starkes Fischgift dar, das von den Eingeborenen Westindiens mit Erfolg zum Fischfang benützt wird⁵⁾.

P. erythrina wurde seit der Jahrhundertwende immer wieder auf Inhaltsstoffe untersucht⁶⁾. Russel & Kacska⁵⁾ berichten als erste über das mögliche Vorkommen von Rotenon in dieser Pflanze, sowie einer neuen Verbindung Ichthynon der Formel $C_{21}H_{14}O_5$ $(OCH_3)_2$ und vom Smp. 203°. Erst kürzlich erschien eine Arbeit von Moore & Eng⁷⁾, die eine Isolierung von fünf neuen Inhaltsstoffen von *P. erythrina* beschreibt:

Verbindung	Bruttoformel	Smp. °C	$[\alpha]_D$	Ausbeute in g
Lisetin . . .	$C_{24}H_{21}O_7(OCH_3)$	285	0	2,1
Jamaicin . .	$C_{21}H_{15}O_3(OCH_3)$	163	0	3,8
		193		
Verb. D . . .	$(C_{24}H_{22}O_7)$	253		0,04
Verb. E . . .		211		0,01
Verb. G . . .	$(C_{16}H_{14}O_3)$	219	+20°	0,02

Lisetin ist nach Moore & Eng⁷⁾ sehr alkaliempfindlich und konnte nur in unreinem Zustande von der Aluminiumoxyd-Säule eluiert werden. Die Verbindung ist phenolischer Natur und besitzt eine Methoxylgruppe. Mit Diazomethan lässt sie sich in ein Dimethoxyl-Derivat überführen. Die freie Hydroxylgruppe wird beim Lisetin durch eine IR.-Bande

¹⁾ Auszug aus der Dissertation A. L. Kapoor, ETH., Zürich 1956.

²⁾ C. Linnaeus, Species Plantarum, Vol. 2, 707 (1753); A. Tschirch, Handbuch der Pharmakognosie, Vol. 3, 804 (1925); P. Jaeger, Bull. Soc. bot. France 87, 130 (1940).

³⁾ Über die botanische Bestimmung des von uns aufgearbeiteten Pflanzenmaterials vgl. ¹⁾.

⁴⁾ F. Hanschild, Arch. Pharmaz. 274, 388 (1936); C. H. Costello, J. Amer. pharmac. Ass. 37, 89 (1948); V. A. Reko, Pharmaz. Monatsh. 16, 155 (1935).

⁵⁾ A. Russel & E. A. Kacska, J. Amer. chem. Soc. 66, 548 (1944), berichten, dass der Extrakt von *P. erythrina* Goldfische in einer Verdünnung von 1:1000000 töte.

⁶⁾ E. Hart, J. Amer. chem. Soc. 5, 39 (1883); H. Berberich, Amer. J. Pharmac. 70, 425 (1898); P. C. Freer & A. M. Clover, J. Amer. chem. Soc. 2, 390 (1901); P. S. Pittenger & G. E. Ewe, Amer. J. Pharmac. 91, 575 (1919); P. W. Dankwork & E. Schütte, Arch. Pharmaz. 272, 701 (1934); C. H. Costello & C. L. Butler, J. Amer. pharmac. Ass. 37, 89 (1948); A. Robertson & W. Burge, J. chem. Soc. 1948, 257.

⁷⁾ J. A. Moore & St. Eng, J. Amer. chem. Soc. 78, 395 (1956).

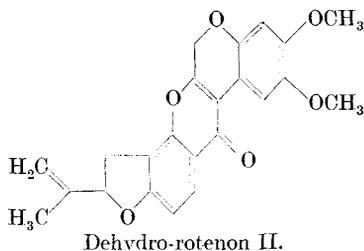
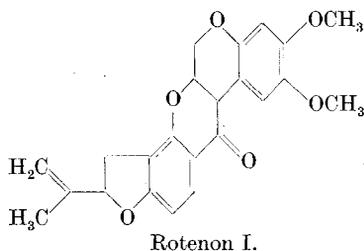
bei 2,83 μ angezeigt; ferner konnte ein Acetyl-Derivat erhalten werden; Carbonyl-Derivate konnten nicht gewonnen werden. Jamaicaicin liess sich von der Aluminiumoxyd-Säule mit Hilfe von Benzol eluieren. Eines der sechs Sauerstoffatome ist als Methoxygruppe vorhanden. Weder Hydroxyl- noch Carbonyl-Derivate sind zu erhalten. Der Nachweis einer Methylenedioxygruppe verlief negativ. Verschiedene Abbauprodukte traten auf beim Behandeln von Jamaicaicin mit alkoholischer Kalilauge und weisen hin auf die Anwesenheit einer Lacton- oder Pyron-Gruppe. Bei der Hydrierung mit Palladium als Katalysator nimmt Jamaicaicin 3 Mol H_2 auf. Das Hydrierungsprodukt konnten Moore & Eng⁷⁾ nicht in kristalliner Form gewinnen.

Wir sehen uns auf Grund der Veröffentlichung von Moore & Eng⁷⁾ veranlasst, über eigene Isolierungsversuche und ihre vorläufigen Resultate zu berichten. Unser Hauptziel war, das aktive Fischgift aus *P. erythrina* zu identifizieren, sowie einen Überblick über die Inhaltsstoffe der Pflanze zu erarbeiten.

Die Rinde von *P. erythrina*⁸⁾ wurde mit Petroläther und anschliessend mit Alkohol erschöpfend extrahiert. Der Petrolätherextrakt zeigte eine sehr starke Fischgift-Wirkung, während der Alkoholextrakt auch in höherer Konzentration einen negativen Fischtest ergab. Kleinere Mengen des Alkoholextraktes wurden wiederholt auf Aluminiumoxyd und Silicagel chromatographiert, ohne dass nennenswerte Fraktionen an kristallisierten Substanzen gefasst werden konnten. Unterschiedliche Löslichkeit in Aceton-Petroläther 1:1 machte es möglich, aus dem Petrolätherextrakt Fraktionen vom Smp. 137–185°, 80–85° und 137–140° abzutrennen, die keine Fischgiftaktivität zeigten. Die Mutterlauge dieser Fraktionen wurde chromatographiert und ergab hauptsächlich β -Sitosterin, Rotenon und die Substanz A.K. 6.

β -Sitosterin und sein Acetylderivat wurden durch Vergleich des Smp. und der Drehung mit authentischem Material identifiziert.

Rotenon (I) zeigte UV.- und IR.-Absorptionsspektren (Fig. 1 und Fig. 2), die mit denjenigen eines Rotenon-Präparates identisch waren, das wir von den *British Drug Houses* (England) bekommen und nochmals gereinigt hatten. Das isolierte Rotenon gab nach entsprechender Behandlung Isorotenon⁹⁾ und Rotenonisohydrazon¹⁰⁾, die mit authentischen Präparaten ebenfalls identisch waren.



⁸⁾ Erhalten von der Firma *S. B. Penick*, New York (USA).

⁹⁾ *A. Butenandt*, Liebigs Ann. Chem. **477**, 256 (1930).

¹⁰⁾ *A. Butenandt*, Liebigs Ann. Chem. **464**, 265 (1928).

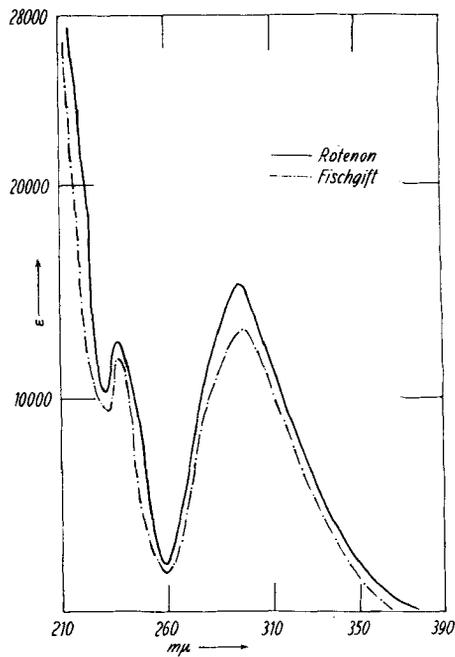


Fig. 1.

UV.-Absorptionsspektren von Rotenon und dem von uns isolierten Fischgift.

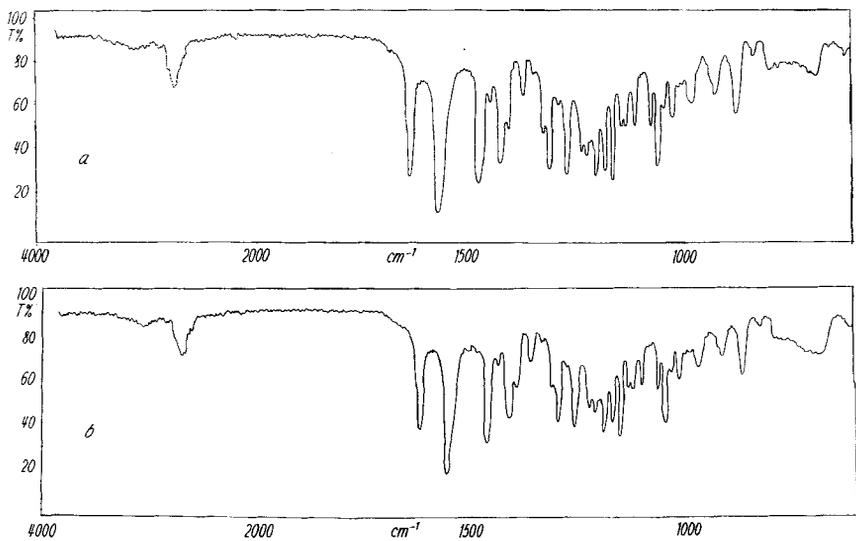


Fig. 2.

- a) IR.-Absorptionsspektrum von Rotenon aus *P. erythrina*.
 b) IR.-Absorptionsspektrum von Rotenon der *British Drug Houses* (England).

Für die Substanz A. K. 6 schlagen wir auf Grund der bisher erhaltenen Analysenwerte die Summenformel $C_{23}H_{20}O_6$ vor. Die Substanz ist optisch inaktiv, besitzt nur eine Methoxylgruppe, lässt sich nicht acetylieren, zeigt keine $FeCl_3$ -Reaktion und hat keine aktiven Wasserstoffatome. Sie bildet kein Oxim und kein Hydrazon und unterscheidet sich damit deutlich von Rotenon. Ozonspaltung ergibt weder Formaldehyd noch Aceton. Das UV.-Absorptionsspektrum (Fig. 3) ist verschieden von dem des Rotenons (Fig. 1), zeigt aber Ähnlichkeit mit dem des Dehydro-rotenons (II) (Fig. 3).

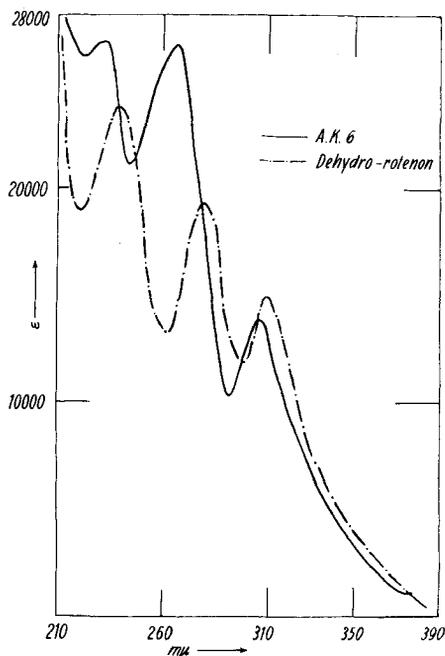


Fig. 3.

UV.-Absorptionsspektren von Substanz A. K. 6 und Dehydro-rotenon.

Ein Versuch, die Substanz A. K. 6 wie das Rotenon in eine Dehydroverbindung umzuwandeln, gab nur Ausgangsmaterial. Im Infrarot besitzt die Substanz A. K. 6 eine Bande bei 1651 cm^{-1} (Fig. 4). Carbonylgruppen, konjugiert mit aromatischen Systemen, ungesättigte Carbonyle, die starke H-Brücken bilden, oder Carbonyle von polycyclischen Chinonen absorbieren in diesem Gebiet¹¹⁾. Polycyclische aromatische Systeme besitzen manchmal Banden, die sich bei höherer Wellenlänge befinden. Die Bande bei 1631 cm^{-1} könnte auf ein solches System hindeuten. Weitere, wahrscheinlich aromatische Banden sind bei 1500 und 1575 cm^{-1} zu finden. In der Gegend

¹¹⁾ Wir danken Herrn siv.ing. J. Lothe (Institute for Industrial Research, Oslo, Norwegen) für die Aufnahme und Interpretation dieser IR.-Spektren.

von $3000-3600\text{ cm}^{-1}$ sind keine Hydroxylbanden vorhanden, was den negativen Ausfall der Acetylierungsversuche und der Bestimmung von aktivem Wasserstoff erklären könnte.

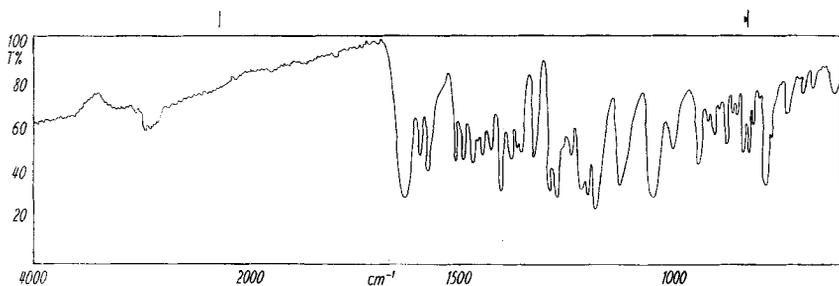
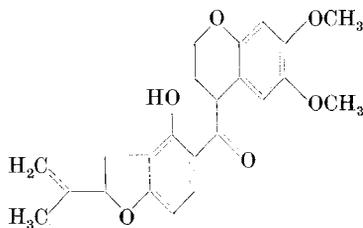


Fig. 4.

IR.-Absorptionsspektrum von Substanz A. K. 6.

Bei der Mikrohydrierung nahm die Substanz A. K. 6 insgesamt 6 Mol H_2 auf. Bei einer präparativen Hydrierung in Eisessig mit PtO_2 (nach Adams) zeigte sie vorerst eine rasche Aufnahme von ca. 4 Mol H_2 , die sich bis zum Endresultat von 6 Mol H_2 äusserst verlangsamte. Die bisher erhaltenen Analysenwerte des hydrierten Produktes lassen sich am besten durch $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_6$ ausdrücken. Dieses hydrierte A. K. 6 besitzt ein dem Spektrum des Rotenols (III)^{11) 12)} sehr ähnliches UV.-Absorptionsspektrum (Fig. 5). Die Kurvenmaxima zeigen gleiche Lage.



Rotenol III.

Im IR. zeigt das Hydrierungsprodukt von Substanz A. K. 6 eine Hydroxylbande bei 3410 cm^{-1} . Neben den üblichen aromatischen Banden bei 1600 und 1500 cm^{-1} absorbiert die Carbonylbande bei einer deutlich höheren Wellenlänge, nämlich bei 1678 cm^{-1} . Es könnte eine mit der Carbonylgruppe in Konjugation stehende chromophore Gruppe hydriert worden sein. Die neugebildete Hydroxylgruppe ist sehr reaktionsträge. Erfolgreiche Acetylierungs- und Oxydations-Versuche scheinen eine primäre oder sekundäre Hydroxylgruppe auszuschliessen. Eine sterisch gehinderte phenolische Hydroxylgruppe, wie wir sie z. B. beim Rotenol (III) finden, kann in Betracht gezogen werden.

¹²⁾ A. Bubenandt, Inaugural Dissertation, S. 38 u. 46 Göttingen 1928.

Durch Zinkkali-Spaltung erhielten wir aus Substanz A. K. 6 zwei Substanzen: eine neutrale vom Smp. 126–127° und eine alkalilösliche vom Smp. 147–148°.

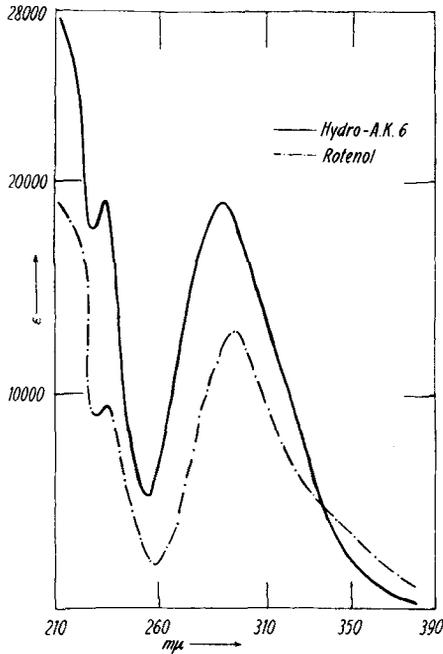


Fig. 5.

UV.-Absorptionsspektren von hydriertem A. K. 6 und Rotenol.

Die von uns näher studierte Substanz A. K. 6 ($C_{23}H_{20}O_6$) zeigt sehr viele gemeinsame Eigenschaften mit Jamaicin, dem Moore & Eng⁷) jedoch die Bruttoformel $C_{22}H_{18}O_6$ zuteilen.

Experimenteller Teil.

1. Prüfmethode für die Fischgiftwirkung an *Phoxinus phoxinus* L. Eine Reihe von 5-Liter-Flaschen wurden mit Brunnenwasser gefüllt und über Nacht stehengelassen, um sie auf eine einheitliche Temperatur zu bringen. In jede Flasche wurde die gleiche Menge Luft geblasen und die gleiche Menge der zu untersuchenden Substanz gegeben (Konzentration bei jedem Versuch 1:5000000, d. h. 1 mg Kristalle oder Extrakt in 5 l). Eine Gruppe von Fischen gleicher Grösse wurde vom Hauptbehälter in eine 5-Liter-Flasche gebracht, in der Temperatur und Luftzufuhr konstant waren. Hier wurden die Fische zur Klimatisierung 1 Std. gelassen. Nach dieser Zeit wurden je 5 Fische in jede Flasche mit den verschiedenen Substanzen gegeben. Als Mass für die Intensität der Giftwirkung diente die Zeit, die verging bis zur Umdrehung der Fische in die Seitenlage. In aktiven Giftlösungen waren die Fische von Anfang an sehr unruhig. Sie atmeten tief und näherten sich den Luftblasen oder der Oberfläche des Wassers. Weitere Anzeichen von Vergiftung waren Atemschwierigkeiten; die Fische legten sich auf eine Seite und versuchten durch plötzliches Hochschnellen die Flasche zu verlassen. Wenn man die

Fische nach ihrer ersten Umdrehung in frisches, fliessendes Brunnenwasser legte, erholten sie sich wieder vollständig¹³).

2. Extraktionen und Aufarbeitung der Extrakte. — Petroläther-Extraktion. 17,7 kg der pulverisierten Droge wurden fünfmal jeweils über Nacht bei Zimmertemperatur durch Mazeration mit je 36 l Petroläther extrahiert. Das Pflanzenpulver wurde nach jeder Operation bei der Filtration auf einer grossen Nutsche gesammelt; die Filtrate wurden bei 45°/15 Torr eingengt, vereinigt und vollständig eingedampft. Es hinterblieben 61,3 g einer gelblichen Paste (0,35% des Pflanzenmaterials). Giftwirkung: Umdrehungszeit 40 Min.

Alkoholische Extraktion. Nach Extraktion des Pflanzenmaterials mit Petroläther wurde es in gleicher Weise mit derselben Menge Alkohol (mit 1% Benzol denaturiert) mazeriert und aufgearbeitet. Ausbeute 490 g Extrakt (2,79% des Pflanzenmaterials). Giftwirkung: fehlt.

Trennung des Petroläther-Extraktes. Die 61,3 g Petroläther-Extrakt wurden in einer Mischung von Aceton-Petroläther 1:1 gelöst; der sehr geringe unlösliche Anteil wurde abfiltriert und nicht weiter untersucht. Das Filtrat wurde über Nacht bei 0° stehen gelassen, wobei 1 g einer Substanz vom Smp. 137—185° auskristallisierte. Bei längerem Stehenlassen der Mutterlauge wurden zwei weitere Fraktionen vom Smp. 80—85° und 137—140° erhalten. Keine der drei Fraktionen zeigte eine Fischgiftwirkung; sie wurden deshalb nicht weiter untersucht.

Die Aceton-Petroläther-Mutterlauge hinterliess 50,1 g Trockenrückstand mit starker Fischgiftwirkung. Einige orientierende Untersuchungen zeigten, dass die Chromatographie auf Aluminiumoxyd (*Woelm*, neutral, Aktivität I) eine gute Trennung ergab und die Fischgiftwirkung nicht zerstörte. Die 50,1 g Petroläther-Trockenrückstand wurden deshalb in 50 ml Petroläther-Benzol (1 + 1) gelöst und an 750 g Aluminiumoxyd chromatographiert (Tab. 1).

Fraktion 13: War löslich in Äther, Aceton, Chloroform, Benzol, Pyridin, wenig löslich in Petroläther und in Alkohol, ziemlich gut löslich in heissem Alkohol. Umkristallisieren aus Aceton-Äther-Petroläther ergab weisse Kristalle vom Smp. 152—162°, die aus denselben Lösungsmitteln umkristallisiert 687 mg Fischgift vom Smp. 163° lieferten. Die Mutterlauge dieser Kristallisation ergab nach erneuter Chromatographie weitere 77 mg Fischgift vom gleichen Smp. Diese Substanz betrachten wir als reines Fischgift. Umdrehungszeit der Fische: 4½ Min.

Fraktion 14: Aus Aceton-Petroläther 667 mg Kristalle vom Smp. 150—188°. Weitere Auftrennung siehe Tab. 2.

Fraktion 15: Aus Aceton-Petroläther 1,277 g der Substanz A.K. 6 vom Smp. 191°.

Fraktionen 17 und 18: Vereinigt und aus Aceton-Petroläther kristallisiert, gaben zuerst 327 mg einer Substanz vom Smp. 70—75°, welche nicht weiter untersucht wurde. Die Mutterlauge lieferte beim Einengen 127 mg Kristalle vom Smp. 210—212°, welche ebenfalls nicht weiter untersucht wurden. Die restliche Mutterlauge wurde mit einer kleinen Menge Aceton und einem Petrolätherüberschuss versetzt. Ausbeute: 4,56 g rohes β -Sitosterol vom Smp. 133—136°. Die Mutterlauge dieser Fraktion wurde vollständig eingedunstet, und der Rückstand von 6,28 g wurde an 180 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Benzol-Chloroform (1 + 1) liessen sich weitere 3,23 g rohes β -Sitosterol vom Smp. 133—136° eluieren.

Gesamtausbeute: 7,79 g β -Sitosterol.

Weitere Reinigung der Fraktion 14 von Chromatographie I. 667 mg der Fraktion 14 wurden an 30 g Aluminiumoxyd chromatographiert und jedesmal mit 70 ml Lösungsmittel eluiert (Tab. 2).

¹³ Herrn Dr. H. Woker, Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz, ETH. Zürich, danken wir für seine Hilfe und Ratschläge bei der Ausführung des toxikologischen Versuches an Fischen.

Tabelle 1.
Chromatographie I (Fraktionen von je 1000 ml).

Eluat Nr.	Lösungsmittel	Gewicht in g	Smp. °C	Fischgiftwirkung
1	Benzol-Petroläther 1 + 1	—	—	—
2	Benzol-Petroläther 1 + 1	5,8776	Öl	unwirksam
3	Benzol-Petroläther 1 + 1	—	—	—
4	Benzol-Petroläther 9 + 1	2,4586	Öl	unwirksam
5	Benzol-Petroläther 9 + 1	7,2278	Öl	unwirksam
6	Benzol-Petroläther 9 + 1	—	—	—
7	Benzol	—	—	—
8	Benzol	1,2300	Öl	unwirksam
9	Benzol	—	—	—
10—12	Benzol-Chloroform 9 + 1	—	—	—
13	Benzol-Chloroform 4 + 1	3,3476	150—158	Umdrehungszeit 7 min.
14	Benzol-Chloroform 4 + 1	3,5386	150—188	Umdrehungszeit 10 min.
15	Benzol-Chloroform 4 + 1	2,045	188	unwirksam
16	Benzol-Chloroform 4 + 1	—	—	—
17	Benzol-Chloroform 1 + 1	2,5705	140	unwirksam
18	Benzol-Chloroform 1 + 1	10,8430	140	unwirksam
19	Benzol-Chloroform 1 + 1	—	—	—
20—22	Benzol-Chloroform 1 + 9	—	—	—
23	Chloroform	—	—	—
24	Chloroform	1,6048	Öl	unwirksam
25	Chloroform	2,4120	Öl	unwirksam
26	Chloroform	—	—	—
27—28	Chloroform-Methanol 9 + 1	—	—	—
29—31	Chloroform-Methanol 4 + 1	—	—	—
32	Chloroform-Methanol 1 + 1	0,3130	Öl	unwirksam
33	Chloroform-Methanol 1 + 1	0,1230	Öl	unwirksam
34	Chloroform-Methanol 1 + 1	1,7230	Öl	unwirksam
35	Chloroform-Methanol 1 + 1	—	—	—
36	Methanol	0,600	Öl	unwirksam
37—38	Methanol	—	—	—

Tabelle 2.
Chromatographie der Fraktion 14.

Eluat Nr.	Lösungsmittel	Gewicht in mg	Smp. °C	Fischgiftwirkung
1	Benzol-Äther 4 + 1	41	158—162	Umdrehungszeit 5 Min.
2	Benzol-Äther 4 + 1	50	162—163	Umdrehungszeit 5 Min.
3	Benzol-Äther 4 + 1	71	(158)—188	Umdrehungszeit 2 Std.
4	Benzol-Äther 4 + 1	103	187—188	unwirksam
5	Benzol-Äther 4 + 1	111	187—190	unwirksam
6	Benzol-Äther 4 + 1	120	190—192	unwirksam
7	Benzol-Äther 4 + 1	150	190—192	unwirksam
8	Benzol-Äther 4 + 1	9	—	—

Die *Fractionen 14/1* und *14/2* wurden vereinigt. Nach Umkristallisieren ergaben sie 70 mg Fischgift vom Smp. 163°.

Fraktion 14/3 wurde mit Holzkohle behandelt und mit Benzol als Lösungsmittel durch Aluminiumoxyd filtriert. Ausbeute: 43 mg ungiftige Substanz A.K. 6 vom Smp. 190—191°.

Die vereinigten *Fractionen 14/4—7* ergaben nach Umkristallisieren 393 mg Substanz A.K. 6 vom Smp. 190—191°.

Gesamtausbeute an Substanz A.K. 6: 1,713 g.

3. Identifizierung von β -Sitosterol. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther, Smp. 142°; $[\alpha]_D^{20} = -37^\circ$ ($c = 1,17$, Chloroform). Die Methoxyl-Bestimmung war negativ.

$C_{29}H_{50}O$ (414,69) Ber. C 83,99 H 12,15% Gef. C 84,61 H 11,78%

Acetyl-Derivat: 50 mg β -Sitosterol wurden in einer Mischung von 1 ml Pyridin und 1 ml Essigsäureanhydrid gelöst und über Nacht bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen. Nach Verdampfen unter vermindertem Druck wurde der Rückstand in 50 ml Äther aufgenommen und mit 5 ml Wasser, 5 ml Natronlauge und Wasser gewaschen. Der Äther wurde mit Natriumsulfat getrocknet und verdampft. Der Rückstand lieferte aus Äther-Petroläther 33 mg weisse Kristalle vom Smp. 127°. $[\alpha]_D^{20} = -41^\circ$ ($c = 1,04$, Chloroform).

$C_{31}H_{52}O_2$ (456,73) Ber. C 81,52 H 11,48% Gef. C 81,35 H 11,44%

4. Identifizierung des Fischgiftes mit Rotenon. Die Gesamtmenge des reinen Fischgiftes betrug 834 mg, Smp. 163—164°; Misch-Smp. mit authentischem, durch mehrmaliges Umkristallisieren gereinigten Rotenon der *British Drug Houses*: keine Depression. Ferner haben wir Derris-Rotenon nach der bei der Isolierung von Fischgift aus *P. erythrina* entwickelten Methode gewonnen, um eine weitere Identifizierungsmöglichkeit zu haben.

Tabelle 3.
 $[\alpha]_D^{20}$ der Rotenone.

Substanz	in $CHCl_3$	in C_6H_6	in C_2H_5OH
Fischgift	-122° ($c = 1,36$)	-227° ($c = 1,02$)	-226° ($c = 1,05$)
Rotenon <i>British Drug Houses</i>	-122° ($c = 1,70$)	-227° ($c = 1,62$)	-226° ($c = 0,97$)
Derris-Rotenon	-121° ($c = 1,10$)	-227° ($c = 1,25$)	-227° ($c = 1,40$)

$C_{23}H_{22}O_6$ (394,41) Ber. C 70,04 H 5,62 2 OCH_3 15,72%

Fischgift: Gef. „ 70,03 „ 5,83 „ 15,74%

Derris-Rotenon: Gef. „ 70,02 „ 5,80 „ 15,76%

Beim Zufügen von Kaliumpermanganat in Aceton oder von Brom in Wasser zu einer Fischgiftlösung bzw. zu Rotenon (*British Drug Houses*) entsteht kein Niederschlag, was den Eigenschaften von reinem Rotenon entspricht.

5. Substanz A. K. 6. Smp. 191°. Löslich in Aceton, Chloroform, Benzol und Pyridin, wenig löslich in Alkohol und Äther, unlöslich in Petroläther. Kristallisiert am besten aus Aceton-Äther-Petroläther. Unlöslich in Wasser, Natronlauge und Salzsäure. Beim Zufügen von Kaliumpermanganat in Aceton oder Brom in Wasser zu einer A.K.-6-Lösung entsteht wie beim Rotenon kein Niederschlag. Die Substanz A.K. 6 besitzt keine Fischgiftwirkung, wird aber von Aluminiumoxyd zusammen mit Fischgift bzw. mit Rotenon eluiert. Sie ist optisch inaktiv.

Unsere ersten Analysenwerte der Substanz A.K. 6 stimmten mit den von *Moore & Eng⁷⁾* für Jamaicin ($C_{22}H_{18}O_6$) angegebenen gut überein. Bei weiterer Reinigung erhielten wir jedoch Resultate, welche besser auf $C_{23}H_{20}O_6$ passen:

$C_{23}H_{20}O_6$ Ber. C 70,40 H 5,14 N 0,00 OCH_3 7,90%

(392,41) Gef. „ 70,40 „ 5,33 „ 0,34 „ 7,79% kein aktiver Wasserstoff

Versuche zur Acetylierung, Hydrazon- und Oxim-Bildung waren erfolglos.

Abbau mit konz. Schwefelsäure: 50 mg A.K. 6 wurden in 2 ml konz. Schwefelsäure gelöst und sofort zu 50 ml eiskaltem Wasser gegeben. Der Niederschlag wurde nach 4stündigem Stehen im Eisschrank abfiltriert. Diese Fraktion war unlöslich in organischen Lösungsmitteln und schmolz erst bei 320°. Die Analyse ergab nach Umkristallisation aus Wasser:

$C_{11}H_{10}O_4$ (206,19) Ber. C 64,07 H 4,89% Gef. C 64,01 H 4,92%

Hydrierung: Mit Palladium/Kohlenstoff als Katalysator trat in Essigsäure keine Hydrierung ein.

130 mg Substanz A.K. 6 in 20 ml Essigsäure nahmen in Anwesenheit von Platin-oxyd (nach Adams) sofort 4—4,5 Mol auf (7 Min.), dann liess die Aufnahme nach und hörte schlussendlich auf. Nach Filtrieren und Eindampfen erhielten wir 121 mg Rückstand, der an Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Benzol eluierte 87 mg einer Substanz vom Smp. 178—180°; nach Umkristallisieren aus Chloroform, Smp. 178—180°. Optisch inaktiv.

$C_{23}H_{26}O_6$ (398,43) Ber. C 69,33 H 6,58%

$C_{22}H_{22}O_6$ (382,40) Ber. „ 69,10 „ 5,80%

Gef. „ 68,92; 68,82 „ 5,95; 6,02 H* ¹⁴) 0,096% DZ¹⁵) 5,99

Die *hydrierte Substanz* ist löslich in Benzol, Aceton, Chloroform, heissem Alkohol, wenig löslich in Äther, unlöslich in Petroläther, n. Natronlaug₃ und n. Salzsäure. Keine Färbung mit Eisenchlorid, kein Niederschlag mit Bromwasser. Acetylierung war erfolglos. Nach 24 Std. Behandlung einer ätherischen Lösung mit Diazomethan in Äther bei Zimmertemp. wurde nur Ausgangsmaterial isoliert. UV.-Spektrum siehe Fig. 5.

Alkalischer Abbau der Substanz A. K. 6. a) *Mit Kaliumhydroxyd*: Die Lösung von 100 mg Substanz A. K. 6 in 10 ml Alkohol wurde mit 5 ml 10-proz. alkoholischem Kaliumhydroxyd versetzt und 4 Std. am Rückflusskühler gekocht. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand in eine neutrale (57 mg) und in eine alkalilösliche Fraktion (25 mg) getrennt. Keine der beiden Fraktionen kristallisierte. Die neutrale Fraktion wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert, konnte aber selbst mit Methanol-Essigsäure (99,5+0,5) nicht mehr eluiert werden.

b) *Mit Kaliumhydroxyd und Zinkstaub*: Zur kochenden Lösung von 100 mg A. K. 6 in 10 ml Alkohol gaben wir 200 mg Zinkstaub und erwärmten die Mischung 10 Min. zum Sieden. Der kochenden Lösung fügten wir 10-proz. Kaliumhydroxyd in 10-proz. Methanol bei. Das Reaktionsgemisch wurde dann 4½ Std. am Rückflusskühler gekocht, wobei eine grünlichgelbe Farbe auftrat. Dieses Reaktionsgemisch wurde filtriert und der grössere Teil des Alkohols verdampft. Dann wurde mit verd. Salzsäure angesäuert, mit 200 ml Äther extrahiert, die Ätherlösung mit n. Natriumhydroxyd und Wasser gewaschen, getrocknet und verdampft. Der Rückstand von 62 mg wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther (9+1) eluierten und aus heissem Methanol umkristallisierten Fraktionen ergaben 35 mg *neutrale Verbindung* in rhombischen Kristallen vom Smp. 126—127°.

$C_{20}H_{20}O_6$ (356,36) Ber. C 67,40 H 5,66% Gef. C 67,71; 67,52 H 5,49; 5,49%

Die *neutrale Verbindung* ist löslich in Aceton, Benzol und Chloroform. Sie ist unlöslich in Petroläther, schwach löslich in heissem Methanol und ziemlich gut löslich in Äther. Unlöslich in wässrigem Natriumhydroxyd und n. Salzsäure; keine Eisenchlorid-Reaktion, kein Niederschlag mit Bromwasser.

Alkalilöslicher Anteil: Die wässrig-alkalische Lösung wurde mit n. Salzsäure angesäuert und mit Äther extrahiert. Die Ätherlösung ergab nach Verdampfen 25 mg alkalilösliche Verbindung, die in Chloroform gelöst durch 1 g Aluminiumoxyd filtriert wurde. Der Eindampfrückstand des Filtrates (17 mg), aus Aceton-Petroläther umkristallisiert, gab 10 mg alkalilösliche Verbindung vom Smp. 147—148°. Unlöslich in Wasser und n. Salzsäure, löslich in Alkali. Eisenchlorid-Reaktion bläulich.

$C_{14}H_{14}O_4$ (246,25) Ber. C 68,28 H 5,73% Gef. C 68,07 H 5,70%

$C_{21}H_{22}O_6$ (370,39) Ber. „ 68,09 „ 5,99%

¹⁴) Bei gewöhnlicher Temperatur nach Zerevitinoff bestimmt; zusätzliches Erhitzen auf 100° während 2½ Std. ergab keine weitere CH₄-Entwicklung.

¹⁵) Mikrohydrierung in Gegenwart von Platin-oxyd/Salzsäure während 1 Std.

Alkalischer Abbau der hydrierten Substanz A. K. 6. aa) *Mit Kaliumhydroxyd*: Die Lösung von 80 mg hydriertem A. K. 6 in 5 cm³ 10-proz. alkoholischem Kaliumhydroxyd wurde 4 Std. am Rückflusskühler gekocht. Die Trennung nach a) ergab 37 mg neutrales Öl und 28 mg alkalilösliches Öl, das nicht kristallisiert werden konnte. Aus dem Chromatogramm an Aluminiumoxyd konnte nichts eluiert werden.

bb) *Mit Kaliumhydroxyd und Zink*: 80 mg hydriertes A. K. 6, 200 mg Zinkstaub und 1 ml Kaliumhydroxyd in 10-proz. Methanol wurden 4 Std. am Rückflusskühler erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde wie bei b) aufgearbeitet: 42 mg Alkaliunlösliches und 8 mg Alkalilösliches. Keiner der beiden Rückstände kristallisierte trotz sorgfältiger Chromatographie.

Oxydation der Substanz A. K. 6. a) *Mit Jod und Kaliumacetat*: Zur kochenden Lösung (Rückfluss) von 150 mg Kaliumacetat und 50 mg Substanz A. K. 6 in 10 ml Alkohol liessen wir langsam 85 mg Jod in 5 ml Alkohol fließen. Das Reaktionsgemisch wurde noch 1 Std. am Rückflusskühler gekocht, zeigte aber keine Farbänderung. Bei der Aufarbeitung wurden 45 mg Ausgangsmaterial vom Smp. 191° erhalten.

b) *Mit Natriumdichromat in Essigsäure*: Die Lösung von 100 mg Substanz A. K. 6 und 500 mg Natriumdichromat in 15 ml Essigsäure und wenig Wasser wurde 1 Std. im Dampfbad erwärmt. Dann wurde der grössere Teil der Essigsäure verdampft und der Rückstand in Äther aufgenommen. 71 mg Rückstand ergaben nach Destillation im Vakuum ölige Fraktionen.

Ozonolyse der Substanz A. K. 6. 100 mg Substanz A. K. 6 wurden in 15 ml Eisessig bei gewöhnlicher Temperatur 5 Min. mit einem Ozonstrom behandelt. Es wurden 31 mg Ozon aufgenommen. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasserdampf destilliert und das Destillat in eine 1-proz. Dimedonlösung eingeführt. Nach Stehenlassen der Lösung über Nacht erfolgte kein Niederschlag. Die Dimedonlösung wurde ihrerseits mit Wasserdampf in eine 1-proz. 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung destilliert. Nach Stehenlassen der letzteren Lösung über Nacht entstand wiederum kein Niederschlag. Diese Beobachtungen beweisen, dass weder Formaldehyd noch Aceton gebildet worden waren. Der Rückstand der ersten Wasserdampfdestillation wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Es konnte selbst mit 0,5-proz. Essigsäure in Methanol keine sichtbare Menge Substanz eluiert werden.

SUMMARY.

Pure fish poison was isolated from the petrol ether extract of *Piscidia erythrina* L. and was identified as rotenone.

β-Sitosterol was also isolated from the extract and identified in the form of its acetate.

In the course of the chromatographic separation of rotenone we were able to separate from the succeeding eluant a further substance designated A. K. 6. Certain similarities between the UV. and IR. absorption spectra of A. K. 6 and those of dehydro-rotenone suggested a possibly close structural relationship between A. K. 6 and rotenone. With the aim of establishing this relationship, a series of rotenone derivatives were prepared and a comparison of their UV. and IR. absorption spectra made with those of A. K. 6, hydrogenated A. K. 6 and two compounds derived from A. K. 6 by treatment with zinc and alkali. Although similarities were observed in the case of rotenol and hydrogenated A. K. 6, we are not yet able to propose a structure for A. K. 6.

Pharmazeutisches Institut der
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.