

methanol at room temperature, followed by careful acidification with 2M hydrochloric acid (to pH 4–5 for NaBH₄ reduction), extraction with chloroform, and thorough washing of the extract with water (which is imperative) gives (I), $\lambda_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ 452 nm (ϵ_{mM} 60.4), in 60% yield. The bilirubin obtained was free from an impurity²¹ that several commercial preparations of bilirubin were found to exhibit under 366 nm irradiation after TLC of ~50 μg of (I) on activated silica gel with 8:1:1 (v/v) benzene-N, N-dimethylformamide-glacial acetic acid. This impurity is seen as a pink-red fluorescence (366 nm irradiation) at Rf 0.81. Under visible light a yellow spot (bilirubin) at Rf 0.86 and a green zone (biliverdine?) at Rf 0.64 are seen. The major proportion of the bilirubin remains at the origin on the silica gel plate. On polyamide, TLC with 1:3 (v/v) 3.3% aqueous ammonia-methanol²³ revealed a similar pink fluorescence (366 nm irradiation) at Rf 0.75, just ahead of the leading edge of the streaked bilirubin.

The interconversion of (I) into (II) opens the prospect of achieving controlled, stepwise structural changes of related bile pigments that display similar susceptibility to over-oxidation. The behavior of periodic acid toward (I) indicates structural lability of the I-O bond in the reagent, and this is observed with other compounds². In addition, by use of periodic acid, it was found feasible to degrade porphyrins (for example, hematoporphyrin), whereas we observed a resistance of such compounds to degradation with chromic acid. Furthermore, the conversion of (I) into (II) and thence back into (I) provides a method for obtaining purified (I).

Zusammenfassung. Die Oxydation des Gallenfarbstoffs Bilirubin mit Perjodsäure in wässriger Dimethylsulfoxid-Lösung führte zu einem neuen Biliverdin-Jod-Komplex, dem die Struktur eines «charge-transfer»-Komplexes erteilt wurde.

A. J. FATIADI and R. SCHAFFER²⁴

*Division of Analytical Chemistry,
Institute for Materials Research,
National Bureau of Standards,
Washington (D.C. 20234, USA) 13 April 1971.*

²¹ It is interesting that the oxidation mixture from (I) contained a substantial proportion of an unknown component showing a strong blue fluorescence; a component having this property was found present also in controlled chromic acid oxidations, but RÜDIGER et al.⁶ did not report such an observation in their study of the degradation products of bilirubin and biliverdine derivatives. A component like this was also observed among the products of degradation of hemin with periodic acid. The unknown fluorescent component has the following Rf values on Silica Gel G: with 1:5:3 (v/v) cyclohexane-carbon tetrachloride-ethyl acetate, 0.76 ± 0.03 , and with 4:1 (v/v) benzene-ethyl acetate, 0.70 ± 0.02 . The unknown compound can be separated by use of a Florisil column (protected from light) with the latter solvent.

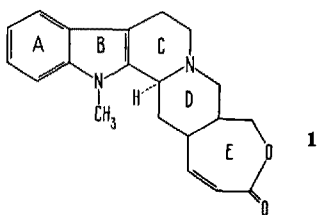
²² C. H. GRAY, A. KULCZYCKA and D. C. NICHOLSON, *J. chem. Soc.* 1961, 2268.

²³ Z. J. PETRYKA and C. J. WATSON, *J. Chromatogr.* 37, 76 (1968); Drs. D. C. NICHOLSON and M. STOLL informed us of the fluorescence (personal communication).

²⁴ The authors are most pleased to acknowledge the partial support of this work by the National Institute for General Medical Sciences (NIH).

Alcaloïde des Canneberges du Nouveau-Brunswick

L'extraction des canneberges (*Vaccinium Oxycoccus*) du Nouveau-Brunswick donne une fraction basique qui se compose de 19 bases différentes. La structure d'une de ces bases a été déterminée par l'étude des spectres: spectroscopie de masse (haute résolution), RMN, IR et UV. Nous avons trouvé que cette base possède un squelette semblable à certains alcaloïdes indoliques tel que la réserpine, la sempervinine, la yohimbine ou l'harméine¹⁻³. Cette base, que nous avons appelé Cannagunine (1), possède la structure suivante:



La diffraction de rayons X supporte notre proposition en plaçant l'hydrogène sur la jonction des noyaux C et D en position α .

Méthode. 20 kg de canneberges fraîches (novembre 1968) ont été séchées à la température ambiante pendant 7 mois (perte de ~45% d'eau); ensuite séchées pendant 48 h à une température de 60°C et pulvérisées. La poudre a été séchée à une température de 60°C (l'air). Nous avons obtenu 450 g du matériel sec. Ce matériel a été extrait à l'éther dans un appareil Soxhlet (séparation des graisses); ensuite extrait avec 3000 ml de méthanol. Une suspension brune a été filtrée et la solution a été concentrée. 500 ml d'eau ont ensuite été ajoutés et la solution a été acidifiée avec HCl à 10% (pH 2). La solution aqueuse a été d'abord entraînée à la vapeur d'eau (séparation du méthanol) et ex-

traite avec l'éther et le chloroforme (séparation du matériel neutre et acide); puis alcalisée avec NaOH à 10% (pH 9) et de nouveau extraite avec l'éther (1000 ml) et le chloroforme (500 ml). Les extraits combinés ont été séchés avec MgSO₄ anhydre et évaporés. On a obtenu 2.3 g de matériel basique brut.

La chromatographie sur couches minces (CCM) (MN Silica Gel G) dans les quatre systèmes de solvants (benzène-acétone 4:1, benzène-éthanol 9:1, benzène-méthanol-ether 9:1:1, benzène-acétone-méthanol 9:1:1) a révélé la présence d'un minimum de 19 produits basiques différents. Une des bases - Rf 0.46 (benzène-éthanol 9:1) étant fortement absorbée dans UV - a été isolée par la CCMP (MN Silica Gel G, épaisseur: 1 mm) puis de nouveau purifiée par CCMP. On a obtenu 1.7 mg d'une base 1 dont 1.2 mg ont été utilisés pour l'identification.

Identification de la structure de la Cannagunine (1). Le spectre de masse haute résolution de la Cannagunine (1) a donné le poids moléculaire 322.1714 ± 0.0040 (corrigé⁴ 322.1601) correspondant à la formule brute C₂₀H₂₂O₂N₂. Cette formule représente un système de 10 cités d'insaturation. Le spectre UV (Beckmann, éthanol 95%) a dé-

¹ L. D. ANTONACCIO, N. A. PEREIRA, B. GILBERT, H. VORBRUEGGEN, H. BUDZIKIEWICZ, J. M. WILSON, L. J. DURHAM and C. DJERASSI, *J. Am. chem. Soc.* 84, 2161 (1962).

² G. SPITELLER et M. SPITELLER-FRIEDMANN, *Mh. Chem.* 93, 795 (1962).

³ H. BUDZIKIEWICZ, D. H. WILLIAMS et C. DJERASSI, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry* (Holden-Day, Inc., San Francisco 1964), Vol. 1, p. 77.

⁴ J. LEDERBERG, *Computation of Molecular Formulas for Mass Spectrometry* (Holden-Day, San Francisco 1964).

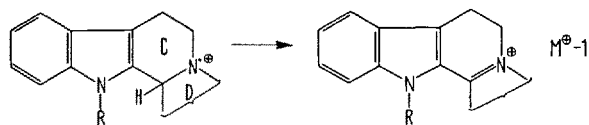
montré une structure aromatique avec le pic 338 nm caractéristique pour les dérivés indoliques⁵. Le spectre IR (Beckmann IR-8, Nujol) n'a pas démontré d'absorption dans une région $> 3000\text{ cm}^{-1}$. L'absorption à 1717 cm^{-1} peut être attribuée au carbonyle saturé d'ester ou d'un lactone. Ceci permet d'attribuer au produit **1** la structure pentacyclique en plaçant l'azote à la jonction des noyaux C et D.

Le spectre RMN (Varian T-60, CDCl_3 , TMS, δ , ppm) donne 4 protons aromatiques (7.1–7.7), 2 protons oléfiniques (5.4 et 6.1), 1 proton allylique (2.7), 2 protons en α du OCO (4.2), multiplet de 8 protons en α d'azote – avec un singlet pour N-CH_3 à 2.7 – entre 2.1–2.8, ensuite 5 protons entre 0.8–1.5. On n'observe pas le proton N-H indolique (8.4)⁶ ce qui prouve indirectement la substitution N-CH_3 de l'indole.

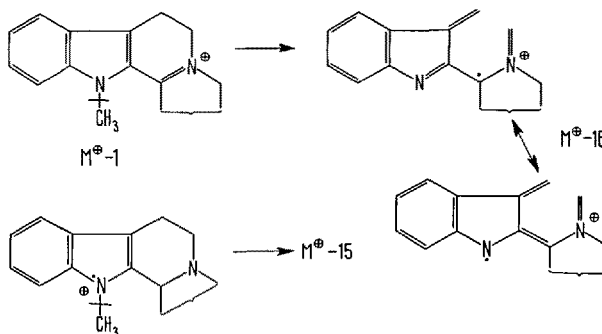
Le spectre de masse du produit **1** (Picker AEI MS-30, temp. 250° , 70eV) a été enregistré principalement dans une région m/e 100–350 et se caractérise par seulement quelques pics intenses (Tableau). Le système possède deux centres facilement ionisables c'est à dire les atomes d'azote.

L'abondance isotopique (des pics 323 et 324) confirme la formule de la cannagunine⁷. Le pic parent est en même temps le pic moléculaire et la présence du pic correspondant à $\text{M}^{\oplus}$ sont caractéristique pour les alcaloïdes³. Le pic $\text{M}^{\oplus}-1$ intense est assez caractéristique pour les alcaloïdes

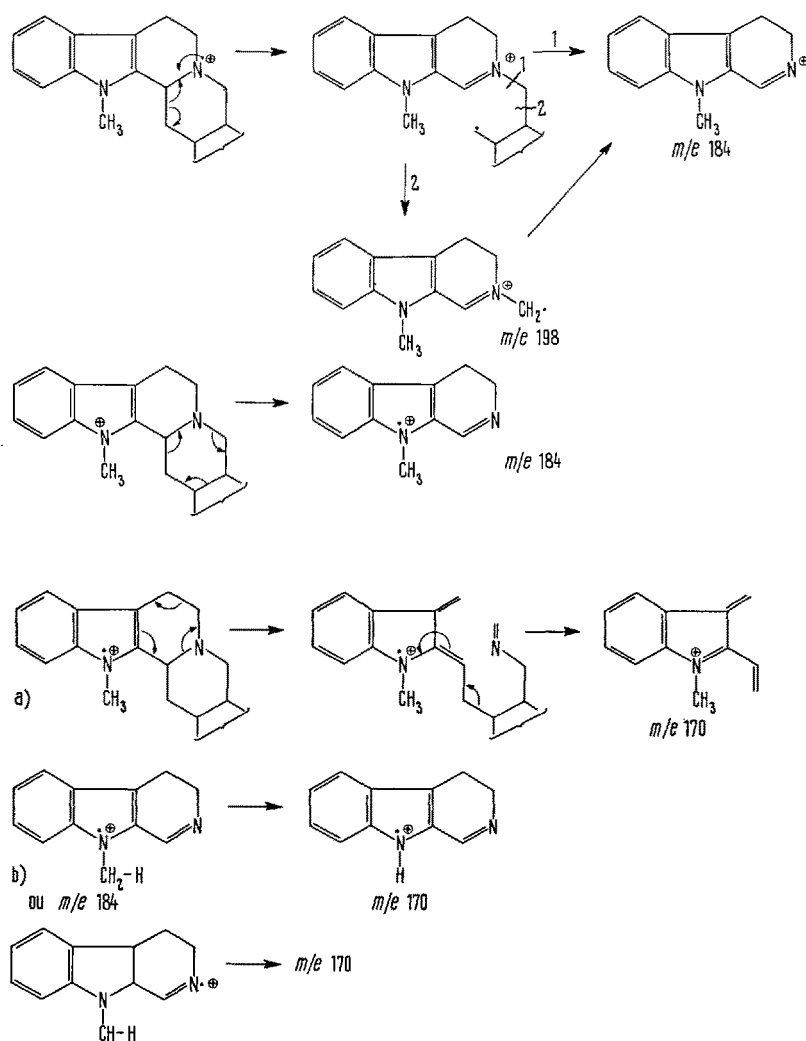
de la famille tétrahydro β -carbolinique³ et correspond à une fragmentation suivante:



Les pics suivants: à 306 et 307 ($\text{M}^{\oplus}-16$ et $\text{M}^{\oplus}-15$) correspondent à une rupture de la liaison N-CH_3 .



La série des pics suivants confirme la substitution du noyau C: d'abord les pics à 198 et 184.

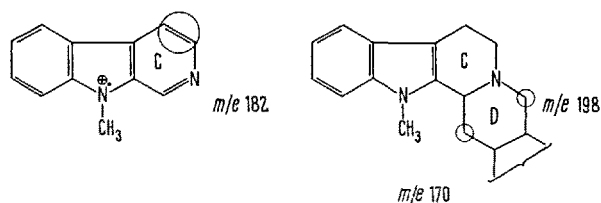


⁵ R. M. SILVERSTEIN et G. C. BASSLER, *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (J. Wiley et Sons, Inc., New York 1967), p. 168.

⁶ R. M. SILVERSTEIN et G. C. BASSLER, *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (J. Wiley et Sons, Inc., New York 1967), p. 140.

⁷ L. FRIEDMAN et F. A. LONG, *J. Am. chem. Soc.* **75**, 2832 (1953).

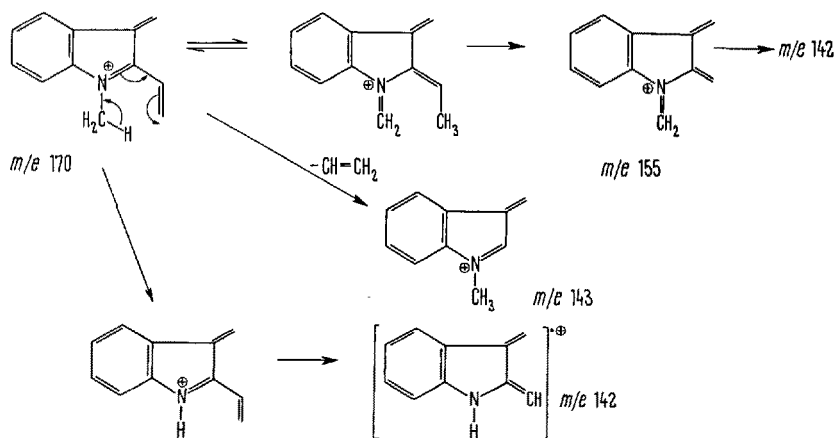
Ensuite le pic m/e 170 correspond à une des deux fragmentations.



Le fragment m/e 170 donne les fragments 156, 155 et autres par des clivages ou/et des transferts. L'absence m/e 156 du fragment m/e 182 signifie que l'autre substitution du noyau C que tel que proposée n'est pas possible.

Spectre de masse de la Cannagunine (1)

m/e	I%		m/e	I%
324	2.4	M ⁺	184	22.7
323	22.4		183	40.2
322	100.0		170	82.5
321	64.4		169	22.1
307	8.1		161	17.4
306	12.4	M ²⁺	156	31.7
292	5.7		155	30.5
288	7.4		144	11.8
278	7.3		143	7.8
252	11.2		142	10.8
198	62.4		54	22.0



La fragmentation du noyau D – surtout les pics m/e 170 et 198 – soutient également notre proposition de la substitution de ce noyau.

Quatre fragments provenant de l'ionisation du noyau E sont des pics à m/e 278, 252, 292; le fragment m/e 278 correspond à une rupture du cycle E avec une perte du CO₂ (M⁺-44), une perte de 70 (CO₂ et CH = CH) – m/e 252 – confirme la structure CH=CH-CO₂ du noyau E. Le fragment 292 (M⁺-30) correspond à une perte de CH₂O caractéristique pour les lactones⁷. Le fragment intense m/e 54 (CH=CH-C≡O⁺) confirme également la structure du noyau E.

L'hydrolyse basique du produit 1 donne un alcool-acide (SM M⁺340). Le spectre de RMN de ce dernier démontre 2 protons en α d'hydroxyle (4.5 ppm). L'acétylation d'hydroxyle (pyridine, anhydride acétique, 40°) déplace de ces protons environ 0.55 ppm (5.05 ppm) ce qui finalement confirme la présence du groupement OH primaire.

La déshydrogenation catalytique du produit 1 (C, Pd, 280°) donne principalement deux produits. Le premier a été identifié comme étant éthyl-3 (méthyl-4'éthyl-3'pen-

tyl)-2 indole par le spectre de RMN⁸ et par la comparaison avec le produit synthétisé⁸. L'autre produit possède également le noyau d'éthyl-3 indole substitué par la β-méthyl γ-éthyl pyridine.

Les deux dernières réactions prouvent finalement la structure de la Cannagunine⁹.

Summary. A new alkaloid C₂₀H₂₂O₂N₂ (cannagunine) obtained from canadian *Vaccinium Oxycoccus* is shown to have structure 1. The structure of this compound was supported by NMR-, SM-, IR- and UV-spectra.

K. JANKOWSKI, JANICE BOUDREAU
et IWONA JANKOWSKA

Département de Chimie, Université de Moncton,
Moncton (Canada), 4 mars 1971.

⁸ K. JANKOWSKI, Can. J. Chem., in press (1971).

⁹ Ce travail a été supporté par le Conseil National de Recherche du Canada.

New Furanoid Metabolites from *Rhizoctonia solani*

We report the isolation and identification of two furanoid metabolites from a Union Carbide isolate of *Rhizoctonia solani* Kühn, a plant pathogen with a variety of plants as hosts. The major product isolated was 2-furyl-hydroxymethyl ketone (I) and the other has been identified as 1,2-bis-(2-furoyl)-1,2-dihydroxyethane (II). The latter, isolated in very small amounts, is a novel com-

pound, for which we propose the trivial name Rhizosolaniol. The fungus was grown on a cornmeal-sand culture medium for a period of 18 to 30 days. The darkened cornmeal together with the mycelia was sterilized, homogenized with distilled water in a Waring blender and filtered. The metabolites were isolated from the concentrated aqueous extract (pH 5.7) according to the method of SHERWOOD