

MILOŠ SUCHÝ, VĚRA BENEŠOVÁ, VLASTIMIL HEROUT
und FRANTIŠEK ŠORM

Über Terpene, CXIX¹⁾

Die Struktur des Cnicins, eines Sesquiterpen-Lactons aus
Cnicus benedictus L.

Aus dem Institut für Organische Chemie und Biochemie der Tschechoslowakischen Akademie
der Wissenschaften, Prag

(Eingegangen am 16. April 1960)

Herrn Professor Dr. W. Treibs zum 70. Geburtstag gewidmet

Cnicin, ein Bitterstoff aus dem Benediktinerkraut (*Cnicus benedictus* L.), wurde kristallin erhalten und seine Struktur (X) bewiesen. Cnicin ist ein ungesättigtes Sesquiterpen-Dihydroxylacton vom Germacran-Typus, dessen eine Hydroxylgruppe durch den α,β -Bis-hydroxymethyl-acrylsäure-Rest esterifiziert ist. Da es gelang, Cnicin mit Arctiopicrin, dessen absolute Konfiguration bekannt ist, in Beziehung zu setzen, konnte der Beweis für die absolute Konfiguration der meisten Zentren seiner Molekel erbracht werden.

Die ersten Isolierungsversuche des bitteren Prinzips des Benediktinerkrauts (*Cnicus benedictus* L.), einer Heilpflanze aus der Familie der Korbblütler, liegen bereits mehr als hundert Jahre zurück²⁾. Trotz vielfacher weiterer Versuche³⁾ konnte der kristalline Bitterstoff erst kürzlich, gleichzeitig in unseren Laboratorien⁴⁾ sowie auch von F. KORTE und G. BECHMANN³⁾, isoliert werden. Diese Autoren schreiben jedoch dem Cnicin eine unserer Ansicht nach unrichtige Summenformel, $C_{25}H_{32}O_9$, zu. Nach unserer Feststellung schmilzt reines, aus Aceton/Benzol umkrist. Cnicin bei 143°. Da Cnicin besonders bei höherer Temperatur leicht polymerisiert, schmelzen ältere Präparate bis zu 330° nur teilweise oder überhaupt nicht. Cnicin zeigt die Tendenz, insbesondere beim Umkristallisieren aus Benzol, Kristall-Lösungsmittel festzuhalten. Bei weiterem Erhitzen seiner Lösung fällt sein kristallines, jedoch nicht schmelzendes Polymeres aus. Reines Cnicin besitzt die optische Drehung $[\alpha]_D^{20}$: +158°; die Elementaranalyse ergibt die Summenformel $C_{20}H_{26-28}O_7$, im Einklang mit dem Molekulargewicht $398 \pm 5\%$. Die Cnicin-Molekel (vgl. Formel X) enthält drei Hydroxylgruppen, die nach TSCHUGAEFF und ZEREWITINOFF nachgewiesen wurden. Sie befinden sich nicht in Vicinalstellung, da Cnicin nicht von Natriumperjodat oxydiert wird. Sein IR-Spektrum enthält charakteristische Banden für ein γ -Lacton-carbonyl (1766/cm), einen konjugierten Ester (1713/cm), Doppelbindungen (1694 und 1632/cm) und Hydroxygruppen (3450/cm). Das UV-Spektrum zeigt nur eine Endabsorption (220 m μ , log ϵ

¹⁾ CXVIII. Mitteil.: Collect. czechoslov. chem. Commun., im Druck.

²⁾ FR. SCRIBE, C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **15**, 802 [1842].

³⁾ Übersicht über die ältere Literatur: F. KORTE und G. BECHMANN, Naturwissenschaften **45**, 390 [1958].

⁴⁾ M. SUCHÝ, V. HEROUT und F. ŠORM, Chem. and Ind. **1959**, 517.

4.34). Die quantitative Ozonisierung lieferte 0.46 Mol Formaldehyd, was von der Anwesenheit einer Methylen-Doppelbindung in Konjugation mit der Carbonylgruppe eines γ -Lactonringes zeugt⁵⁾. Diese Beobachtung steht im Einklang mit der erwähnten Polymerisation des Cnicins beim Erhitzen, die für die Vinyliden-Doppelbindung im γ -Lactonring charakteristisch ist. Die Reduktion von Cnicin mit Lithiumaluminiumhydrid in Dioxan ergab ein glasiges Produkt, das bei der Dehydrierung mit Selen Chamazulen und Artemazulen⁶⁾ lieferte, dessen Identität papierchromatographisch⁷⁾ nachgewiesen wurde. Diese Feststellung führte uns in der ersten vorläufigen Mitteilung⁴⁾ zur Annahme, daß Cnicin ein Sesquiterpen-Lacton aus der Gruppe der Guajanolide sei.

Die Hydrierung von Cnicin in Methanol am Platinkatalysator führte unter gleichzeitiger Hydrogenolyse zur Bildung eines komplizierten Gemisches von Hydrierungs- und Hydrogenolyse-Produkten; die Aufnahme von 3.5 Moll. Wasserstoff spricht für die Anwesenheit von drei Doppelbindungen in der Cnicin-Molekel. Die chromatographische Trennung des Hydrierungsproduktes lieferte nur in geringer Menge das in den letzten Fraktionen eluierte kristalline Produkt II vom Schmp. 152° das, wie seine Zusammensetzung $C_{20}H_{34}O_7$ zeigt, wohl das normale Hydrierungsprodukt ist. Sein IR-Spektrum weist die für ein γ -Lactoncarbonyl (1781/cm), ein unkonjugiertes Estercarbonyl (1728/cm) und die Hydroxylgruppe (3465/cm) charakteristischen Banden auf. Der weitaus größte Teil der als chromatographische Fraktionen erhaltenen Hydrierungsprodukte kristallisierte nicht einmal nach langer Zeit. Nach ihrer Verseifung mit wäßriger Lauge und anschließendem Ansäuern erhielten wir bei der Wasserdampfdestillation eine flüchtige Fettsäure, die auf Grund der Papierchromatographie fünf Kohlenstoffatome enthält. Ihr *p*-Bromphenacyl ester (Schmp. 93°) erwies sich als identisch mit dem entsprechenden Derivat der Methyläthylelessigsäure (VII); aus unseren weiteren Ergebnissen ging hervor, daß diese Säure das hydrogenolytische Spaltprodukt der im Cnicin als Ester gebundenen Säure ist. Aus den mit Wasserdampf nicht flüchtigen Säuren schied sich nach dem Erkalten ein unlöslicher, öligler Anteil aus, der aus einem Gemisch von hydrogenolysierten Hydroxylactonen und nicht hydrogenolysierten Dihydroxylactonen bestand (siehe weiter unten), während in der Lösung eine Säure verblieb, die wir durch Ätherextraktion gewannen. Bei der Vakuumdestillation erhielten wir sie als Hydroxylacton VIII von der Summenformel $C_5H_8O_3$, das offenbar durch Lactonisierung des ursprünglichen Hydrogenolyseproduktes, der Dihydroxysäure $C_5H_{10}O_4$, entstanden war. Das Hydroxylacton VIII wurde durch sein krist. 3.5-Dinitrobenzoat als α -Hydroxymethyl- γ -butyrolacton⁸⁾ erkannt. Die gleiche Verbindung isolierten wir auch aus der Mutterlauge der Substanz II, dem normalen Cnicin-Hydrierungsprodukt, neben dem Hydroxylacton IVc von der Summenformel $C_{15}H_{26}O_4$ und dem Schmp. 139°. Auf Grund der Isolierung der beiden Fünfkohlenstoffatom-Derivate ist die Schlußfolgerung berechtigt, daß Cnicin α - β -

⁵⁾ F. ŠORM, M. SUCHÝ und V. HEROUT, Collect. czechoslov. chem. Commun. **24**, 1548 [1958].

⁶⁾ V. HEROUT und F. ŠORM, Chem. Listy **48**, 706 [1954]; Collect. czechoslov. chem. Commun. **19**, 792 [1954].

⁷⁾ O. KNESSL und A. VLASTIBOROVÁ, Chem. Listy **49**, 1870 [1953]; Collect. czechoslov. chem. Commun. **21**, 477 [1956].

⁸⁾ Wm. J. MCGRAW, Amer. Pat. 2.624.723; C. A. **1953**, 11232 g.

Bis-hydroxymethyl-acrylsäure (vgl. Formel X) esterartig gebunden enthält, wobei sich ihre Doppelbindung in Allyl-Stellung zu den beiden Hydroxylgruppen befindet, was ihre teilweise Hydrogenolyse bis zu Methyläthylsäure erklärt.

Wie wir bereits in unserer zweiten vorläufigen Mitteilung⁹⁾ anführten, gelangten wir zum Nachweis des Cnicin-Kohlenstoffskeletts durch nachstehende Versuchsfolge. Das bei der Verseifung der nicht kristallinen Hydrierungsprodukte des Cnicins erhaltene Gemisch der gesättigten Sesquiterpen-Hydroxylactone trennten wir durch Chromatographie an neutralem Aluminiumoxyd. Nach den ersten nicht kristallinen Anteilen eluierten wir aus der Säule successiv zwei kristalline isomere Dihydroxylactone vom Schmp. 118° (IVa) bzw. 112° (IVb) und der Zusammensetzung $C_{15}H_{26}O_4$. Die IR-Spektren der Isomeren IVa und IVb unterscheiden sich bloß geringfügig und weisen die gleichen, der Carbonylgruppe eines γ -Lactons und den Hydroxylgruppen zugeordneten Banden auf (1764/cm; 3380–3470/cm und 3625–3630/cm, gemessen in Chloroform). Aus der Zusammensetzung der isomeren Dihydroxylactone IVa und IVb folgt, daß auch Cnicin kein bicyclisches, sondern ein monocyclisches Derivat ist.

Bei der Oxydation mit Chromtrioxyd in Essigsäure lieferten IVa und IVb zwei verschiedene Ketolacton-Säuren: VIa vom Schmp. 220°, $[\alpha]_D^{20}$: -19.4° , und VIb vom Schmp. 188°, $[\alpha]_D^{20}$: $\pm 0^\circ$. Die IR-Spektren der Säuren VIa und VIb zeigten Absorptionsbanden, die der Carbonylgruppe im γ -Lacton (1781/cm bzw. 1788/cm) und einer Carboxylgruppe (1731 bzw. 1736/cm) zugeordnet sind. Die Bildung der Carboxylgruppe durch Oxydation der Dihydroxylactone IVa und IVb beweist, daß die eine der beiden Hydroxylgruppen im Sesquiterpenlacton-Rest des Cnicins primär ist. Dies erklärt den nach der Methode von R. KUHN und H. ROTH¹⁰⁾ gefundenen niedrigen Wert für die C-Methylgruppe im Cnicin (0.86). Auf Grund des Auftretens einer Absorptionsbande in den IR-Spektren der Verbindungen VIa und VIb bei 1700/cm, die einer Ketogruppe zugeordnet ist, folgt weiterhin, daß die zweite Hydroxylgruppe in den Diollactonen IVa und IVb sekundär und an einen mittelgroßen Ring gebunden ist.

Die ersten, der Substanz IVa vorausgehenden, nicht kristallinen chromatographischen Fraktionen wurden mit Chromtrioxyd in Essigsäure oxydiert und das Reaktionsgut in einen sauren und einen neutralen Anteil zerlegt, die die Lactonketosäure VIa und eine neutrale Substanz vom Schmp. 135° enthielten. Letztere wurde nach dem Misch-Schmp. und dem IR-Spektrum als Ketolacton V identifiziert, das mit dem von uns bereits aus Arctiopicrin bereiteten Derivat¹¹⁾ identisch war.

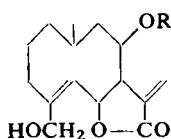
Alle angeführten Tatsachen deuten darauf hin, daß Cnicin ein neues Lacton vom sesquiterpenischen Germacran-Typus ist und in seiner Molekel einen zehngliedrigen Ring enthält. Die Bildung des Ketolactons V erfolgte offenbar durch Oxydation des bisher nicht isolierten Hydroxylactons III, das aus Cnicin nach der Hydrogenolyse der primären Hydroxylgruppe entsteht. Dies ist auch ein Beweis dafür, daß im Cnicin eine Doppelbindung allylständig zur primären Hydroxylgruppe ist.

⁹⁾ M. SUCHÝ, V. BENEŠOVÁ, V. HEROUT und F. ŠORM, *Tetrahedron Letters* **10**, 5 [1959].

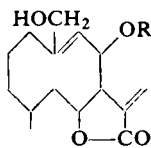
¹⁰⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 1285 [1932].

¹¹⁾ M. SUCHÝ, V. HEROUT und F. ŠORM, *Chem. Listy* **52**, 2110 [1958]; *Collect. czechoslov. chem. Commun.* **24**, 1542 [1959].

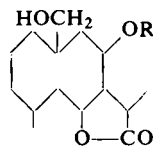
Weiterhin oxydierten wir das bei der Hydrierung von Cnicin anfallende komplexe Gemisch mit Chromtrioxyd; dabei erhielten wir nur saure Substanzen, deren IR-Spektren nicht die für die Ketogruppe charakteristischen Frequenzen aufweisen. Diese sauren Stoffe wurden verseift und das isolierte Produkt mit Chromsäure oxydiert, wobei die Lactonketosäure VIb entstand. Aus diesen Reaktionen folgt, daß im Cnicin die sekundäre Hydroxylgruppe an C-8 mit α,β -Bis-hydroxymethyl-acrylsäure verestert ist.



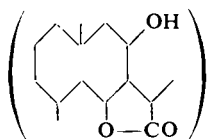
Ia



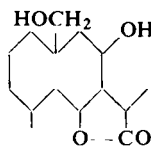
Ib



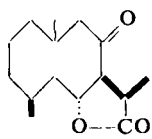
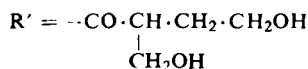
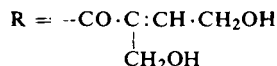
II



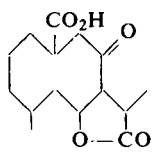
III



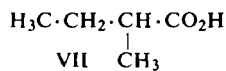
IVa, b, c



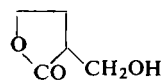
V



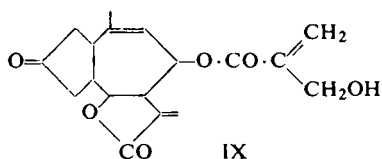
VIa, b



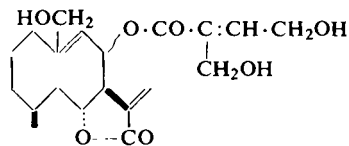
VII



VIII



IX



X

Cnicin lieferte beim oxydativen Abbau mit Salpetersäure in Gegenwart von Vanadinpentoxyd ein Gemisch von sauren Produkten, die wir mittels einer modifizierten papierchromatographischen Methode¹²⁾ in folgende vier Dicarbonsäuren trennten und in reinem Zustand isolierten und identifizierten: Bernsteinsäure, Methylbernsteinsäure, α -Methyl-glutarsäure und α -Methyl-adipinsäure. Papierchromatographisch wurde noch die Anwesenheit von weiteren höheren Dicarbonsäuren mit 8 Kohlenstoffatomen festgestellt, die wir jedoch infolge Materialmangels bisher nicht identifizieren konnten.

¹²⁾ V. ŠANDA, Z. PROCHÁZKA und H. LE MOAL, Chem. Listy **52**, 1546 [1958]; Collect. czechoslov. chem. Commun. **24**, 420 [1959].

Alle diese Befunde zeigen, daß, wie wir bereits in unserer letzten Mitteilung⁹⁾ anführten, Cnicin eine der beiden alternativen Formeln Ia oder Ib zukommt.

Die hydrogenolytische Freisetzung geringer Mengen von Methyläthyllessigsäure bei der Hydrierung von Cnicin in Methanol an PtO_2 spricht zugunsten der Formel Ib besonders auch in Anbetracht des kürzlich von uns erhobenen Befunds, daß bei der Hydrierung von Cynaropikrin¹³⁾ eine geringe Menge Isobuttersäure hydrogenolytisch abgespalten wird.

Da das Ketolacton V mit einer aus Artemisin gewonnenen Verbindung von bekannter absoluter Konfiguration¹⁴⁾ chemisch verknüpft werden konnte, schlagen wir für Cnicin die Konfiguration X vor, wobei lediglich der sterische Bau an C-8 ungeklärt bleibt.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt. Zur Chromatographie wurde neutrales Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe IV nach BROCKMANN verwendet.

Isolierung von Cnicin: Die in der Blütezeit getrocknete und pulverisierte Droge *Cnicus benedictus* L. (2.0 kg; ganze Pflanze) wurde zuerst mit Petroläther und anschließend mit Äthanol extrahiert. Der Petroläther-Extrakt enthielt keine Bitterstoffe. Der äthanolische Extrakt wurde auf 1 l eingengt, mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und dreimal mit je 1.0 l Benzol ausgeschüttelt, jedoch nicht einmal in dieses Lösungsmittel ging eine größere Menge Bitterstoff über. Die stark bitter schmeckende wäßrig-äthanol. Phase wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und der Eindampfrückstand des Chloroform-Extrakts (35.0 g) an 1.0 kg Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Benzol/Aceton (2:1) wurde Cnicin eluiert, das nach Einengen der Lösung i. Vak. kristallisierte; Schmp. 143° , $[\alpha]_D^{20}$: $+158^\circ$ ($c = 2.3$, in Äthanol),

$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_7$ (380.4) Ber. C 63.14 H 7.42 Gef. C 63.23 H 7.15 Mol.-Gew. $398 \pm 5\%$ *)

*) bestimmt durch isotherme Destillation in Aceton.

Hydrierungsprodukte des Cnicins

Hexahydrocnicin (II): 8.75 g Cnicin nahmen in 50 ccm Methanol in Gegenwart von PtO_2 (ADAMS) 2.4 l Wasserstoff, entspr. 3.5 Mol, auf. Das isolierte, nicht kristalline Hydrierungsprodukt wurde in Äther aufgenommen und die Lösung mit 1-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt. Bei der Wasserdampfdestillation der angesäuerten wäßrigen Phase ging eine Fettsäure über, die 12.0 ccm 0.1 n NaOH verbrauchte. Die papierchromatographische Methode von F. BROWN und L. P. HALL¹⁵⁾ ergab, daß eine aliphatische Säure mit fünf Kohlenstoffatomen vorlag.

Die Ätherphase, die die neutralen Hydrierungsprodukte enthielt, wurde nach Eindampfen an 400 g Aluminiumoxyd chromatographiert und Fraktionen zu je 250 ccm abgenommen (Tab. 1).

Die Fraktionen 33/34 lieferten bei der Kristallisation aus Isopropyläther/Aceton Substanz II vom Schmp. 152° .

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_7$ (386.5) Ber. C 62.15 H 8.87 Gef. C 62.42 H 8.58

Dihydroxylacton IV: Die bei der Kristallisation der Substanz II angefallene Mutterlauge (430 mg krist. Substanz) wurde mit 30 ccm 10-proz. äthanol. Kalilauge 1 Stde. auf siedendem

¹³⁾ M. SUCHÝ, V. HEROUT und F. ŠORM, Collect. czechoslov. chem. Commun., im Druck.

¹⁴⁾ M. SUMI, Proc. Imp. Acad. [Tokyo] 32, 684 [1956].

¹⁵⁾ Nature [London] 166, 66 [1950].

Wasserbad verseift, das resultierende Gemisch mit verd. Schwefelsäure angesäuert und der nach Neutralisieren mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung in Wasser unlösliche Anteil in Äther aufgenommen. Nach Abdunsten des Äthers erstarrte die neutrale Fraktion zu Kristallen (130 mg) des *Dihydroxylactons IVc*, das, aus Isopropyläther/Aceton umkristallisiert, bei 139° schmolz.

$C_{15}H_{26}O_4$ (270.3) Ber. C 63.63 H 9.69 Gef. C 66.3 H 9.2

Aus der wieder mit verd. Schwefelsäure angesäuerten wäßr. Phase wurde durch langdauernde kontinuierliche Extraktion mit Äther ein Produkt erhalten, das als *α -Hydroxymethyl- γ -butyrolacton (VIII)* identifiziert wurde (siehe weiter unten).

Tab. 1. Chromatographie der Hydrierungsprodukte des Cnicins

Fraktion	Lösungsmittel	Gewicht des Eindampfdruckstandes g	Habitus
1–4	Benzol	0.15	viskoses Öl
5–13	Benzol/Äther 1:1	3.0	viskoses Öl
14–22	Äther	3.5	viskoses Öl
23–32	Äther/Äthanol 19:1	1.0	viskoses Öl
33–34	Äther/Äthanol 1:1	0.5	kleine Kristalle

Methyläthylelessigsäure (VII): Die Fraktionen 5–22 (Tab. 1) wurden mit 5-proz. Natronlauge 15 Min. auf siedendem Wasserbad erhitzt. Das verseifte Gemisch wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert und mit Wasserdampf destilliert, wobei ein saurer, flüchtiger Anteil überging, der nach Neutralisation des Destillats (4.7 ccm 0.1 *n* NaOH) und Verdampfen zur Trockne als Natriumsalz anfiel. Durch Papierchromatographie¹⁵⁾ wurde eine Säure mit 5 Kohlenstoffatomen identifiziert (R_F 0.55, Butanol/Ammoniak). Der aus dieser Säure bereitete *p*-Bromphenacyl ester vom Schmp. 53° (aus Äthanol/Wasser) gab in der Mischprobe mit dem gleichen *Methyläthylelessigsäure*-Derivat keine Depression.

$C_{13}H_{15}BrO_3$ (299.1) Ber. Br 26.60 Gef. Br 26.59

Tab. 2. Chromatographie der gesättigten Dihydroxylactone

Fraktion	Lösungsmittel	Gewicht des Eindampfdruckstandes g	Habitus
1–3	Benzol	0.6	viskoses Öl
4	Benzol/Äther 8:2	0.4	kleine Kristalle Schmp. 118°
5–6	Benzol/Äther 8:2	1.2	viskoses Öl
7–8	Benzol/Äther 8:2	0.5	kleine Kristalle Schmp. 112°
9–11	Benzol/Äther 8:2	0.72	viskoses Öl

α -Hydroxymethyl- γ -butyrolacton (VIII): Nach Übertreiben der Methyläthylelessigsäure mit Wasserdampf wurden aus dem wäßrig-sauren, nicht flüchtigen Anteil unlösliche Verseifungsprodukte abfiltriert, deren kontinuierliche Extraktion mit Äther (24 Std.) ein flüssiges Produkt vom Sdp.₅ 136° ergab. Sein 3.5-Dinitrobenzoat, Schmp. 122° (Methanol), zeigte Identität mit dem gleichen *α -Hydroxymethyl- γ -butyrolacton*-Derivat⁸⁾.

$C_{12}H_{10}N_2O_8$ (310.2) Ber. C 46.46 H 3.25 N 9.30 Gef. C 46.82 H 3.24 N 9.11

Isomere Dihydroxylactone IVa und IVb: Nach Verseifung der Fraktionen 5–22 (Tab. 1; 6.5 g) wurden die wasserunlöslichen Neutralteile (4.0 g) an 200 g Aluminiumoxyd chromatographiert und Fraktionen zu je 200 ccm aufgefangen (Tab. 2).

Aus Frakt. 4 wurde das *Dihydroxylacton IVa* isoliert; Schmp. 118° (aus Isopropyläther/Aceton), $[\alpha]_D^{20}$: 4.4° ($c = 1.94$, in Chloroform). Aus den Fraktt. 7 und 8 wurde durch Kristallisation das isomere *Dihydroxylacton IVb* isoliert; Schmp. 112° (aus Isopropyläther/Aceton), $[\alpha]_D^{20}$: –28.7° ($c = 2.08$, in Chloroform).

$C_{15}H_{26}O_4$ (270.3) Ber. C 66.63 H 9.69 Gef. IVa C 66.66 H 9.66

Gef. IVb C 66.51 H 9.61

Ketolactonsäure VIa: 300 mg *Dihydroxylacton IVa* wurden 12 Stdn. mit 300 mg Chromtrioxyd in 20 ccm Eisessig oxydiert. Nach Abdestillieren der Essigsäure i. Vak. wurde ein saurer Anteil vom Schmp. 216° (aus Isopropyläther/Aceton), $[\alpha]_D^{20}$: –19.4° ($c = 1.74$, in Chloroform) isoliert.

$C_{15}H_{22}O_5$ (282.3) Ber. C 63.81 H 7.85 Gef. C 63.94 H 8.00

Ketolactonsäure VIb: Das *Dihydroxylacton IVb* (200 mg) wurde ebenso wie IVa oxydiert und aufgearbeitet, Schmp. 191° (aus Isopropyläther/Aceton).

$C_{15}H_{22}O_5$ (282.3) Ber. C 63.81 H 7.85 Gef. C 63.49 H 7.90

Ketolacton V: Die Fraktt. 1–3 der Tab. 2 (0.6 g) wurden mit Chromtrioxyd 1.0 g in 30 ccm Eisessig über Nacht oxydiert. Als Neutralteil wurde eine Substanz vom Schmp. 135° (aus Isopropyläther) isoliert, die mit dem aus Arctiopicrin bereiteten Ketolacton vom Schmp. 135° keine Depression gab; $[\alpha]_D^{20}$: –6.6° ($c = 1.80$, in Chloroform).

$C_{15}H_{24}O_3$ (252.3) Ber. C 71.39 H 9.59 Gef. C 71.27 H 9.62

Nachweis der Lage der esterifizierten Hydroxylgruppe: 2.5 g des mit PtO_2 in Methanol gewonnenen Hydrierungsproduktes wurden mit 3.0 g Chromtrioxyd in 20 ccm Eisessig über Nacht oxydiert, dann die Essigsäure i. Vak. abdestilliert, der Rückstand in Wasser gelöst und mit Äther 4 Stdn. extrahiert. Nach Trocknen des Ätherextraktes mit Natriumsulfat und Abdunsten des Lösungsmittels hinterblieben 1.1 g einer glasigen Masse. Diese wurde 1 Stde. mit 15-proz. Natronlauge unter Rückfluß gekocht und das gewonnene Gemisch in einen sauren und einen Neutralteil zerlegt. Der saure Anteil (300 mg) wurde mit 120 mg Chromtrioxyd in 10 ccm Eisessig über Nacht oxydiert, und nach Abdestillieren des Eisessigs i. Vak. wurde das Gemisch wieder in einen neutralen und einen sauren Anteil getrennt. Der saure Anteil (230 mg), aus Isopropyläther/Aceton umkristallisiert, schmolz bei 190–192°; der Misch-Schmp. mit *Lactonketosäure VIb* war ohne Depression.

Oxydation von Cnicin mit Salpetersäure: 12.0 g *Cnicin* wurden in Gegenwart von Vanadinpentoxyd 40 Min. mit 400 ccm 50-proz. Salpetersäure auf siedendem Wasserbad erhitzt, dann das Reaktionsgemisch auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft und diese Prozedur nach Zufügen von jeweils 50 ccm Wasser noch zweimal wiederholt. Der Eindampfdruckstand wurde bei 160° (Badtemperatur)/12 Torr sublimiert, die gewonnenen Säureanhydride durch 30 Min. langes Kochen mit Wasser hydrolysiert und nach dem Erkalten die Säuren mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Durch Ausschütteln mit Äther wurde eine geringfügige Menge Neutralteil abgetrennt. Nach Ansäuern der wäßrigen Phase mit verd. Schwefelsäure wurde das Säuregemisch kontinuierlich mit Äther extrahiert (1.0 g), dann eine Probe dieses Gemisches als zusammenhängender Streifen auf Papier Whatman Nr. 3 aufgetragen (2 mg je cm) und mit wassergesätt. Butylacetat und 1-proz. Ameisensäure chromatographiert. Die einzelnen Säuren wurden durch Vergleich mit mitgelaufenen authentischen Proben identifiziert. Die ausgeschnittenen Zonen wurden mit 1-proz. Schwefelsäure besprüht und die ein-

zelenen Säuren durch Ätherextraktion im Soxhlet-Extraktionsapparat gewonnen¹²⁾. Auf diese Weise wurden folgende Säuren isoliert und durch die Misch-Schmelzpunkte mit authent. Präparaten identifiziert:

Bernsteinsäure, Schmp. 182–183°, R_F 0.19, *Methylbernsteinsäure*, Schmp. 112°, R_F 0.39, *α -Methyl-glutarsäure*, R_F 0.47, *α -Methyl-adipinsäure*, R_F 0.61, wurde außerdem als *S*-Benzyl-isothiuroniumsalz vom Schmp. 169° identifiziert (Mischprobe).

$C_{23}H_{32}O_4N_4S_2$ (460.5) Ber. C 56.09 H 6.55 N 11.38 Gef. C 56.23 H 6.79 N 11.14

Auch der Dimethylester dieser Säure zeigte im Infrarot völlige Übereinstimmung mit einem authent. Präparat.

Wahrscheinlich enthielt das Oxydationsgemisch noch eine weitere Dicarbonsäure mit 8 C-Atomen (R_F 0.67).

Ozonisierung von Cnicin: Die Suspension von 1 g Cnicin wurde in 30 ccm Wasser bei 0° bis zur Lösung ozonisiert. Dann wurden 20 ccm Essigsäure und portionsweise 2.0 g Zinkstaub zugefügt, das Gemisch 1 Stde. bei Raumtemperatur stehengelassen, filtriert und das Filtrat mit Dinitrophenylhydrazin-hydrochlorid-Lösung versetzt. Die Chromatographie des ausgeschiedenen Produkts an Aluminiumoxyd ergab als einzigen kristallinen Stoff *Formaldehyd dinitrophenylhydrazon* vom Schmp. 164°. Der Misch-Schmp. mit einem authent. Präparat war ohne Depression.

Bei der Formaldehyd-Bestimmung nach R. Y. NAVES¹⁶⁾ entstanden aus 2.36 mg Cnicin 0.9 mg Formaldehyd, entspr. 0.46 Methylen-Doppelbindung.

Die Mikroanalysen wurden im analytischen Labor unseres Instituts (Leiter Dr. J. HORÁČEK) von V. RUSOVÁ ausgeführt. Die IR-Spektren wurden in der physikalisch-chemischen Abteilung unseres Instituts (Leiter Dr. M. HORÁK) von S. VAŠÍČKOVÁ, mit einem Zeiss-Infrarot-Spektrophotometer UR 10 aufgenommen. Die technische Arbeit bei der Cnicin-Isolierung wurde von A. CERMÁKOVÁ ausgeführt.

¹⁶⁾ Helv. chim. Acta 32, 1154 [1949].