

was similar to the glycoside obtained from the seeds of *Digitalis lanata* by Reichstein and others, and identical with the glycoside obtained from the seeds of *D. purpurea* by Okada and others.

The other glycoside of m.p. 243~246° possessed a stronger cardiac action and was found to be gitoxigenin-monodigitaloside. This substance was found to be identical with strosposide obtained from the seeds of *Strophanthus speciosus* and *Str. Boivini* by Reichstein, and this is the first instance in which this substance had been found from *Digitalis* leaves. It is not yet known whether this substance is contained, *per se*, in the fresh leaves.

(Received September 30, 1953)

97. Hiroyuki Inouye: Über die Bestandteile von *Pirola japonica* Sieb. IV.¹⁾
Die Konstitution des Pirolatins. (3).

(Aus d. Pharmazeutisches Institut d. Universität Kyoto*)

In der vorangegangenen Mitteilung bewies der Verfasser zuerst aus der Tatsache, dass das Tetrahydropirolatin bei der Oxydation mit KMnO_4 4,8-Dimethylnonansäure liefert, dass das Pirolatin eine Diisopentenyl-Seitenkette besitzt. Ferner vermutete er an Hand der bekannten Naturstoffe wie Osthrutin, Chlorophorin und dgl. für das Pirolatin die Konstitutionsformel (I) oder (II).

In dieser Arbeit wurde nun die Lage der zwei Doppelbindungen in der Seitenkette behandelt. Die weiteren Untersuchungen ermöglichten, den Schluss zu ziehen, dass höchstwahrscheinlich die Formel (I) für das Pirolatin gilt.

Zum Studium dieses Problems wurde der Ozonabbau benützt. In Anbetracht der Löslichkeit der Substanzen in Lösungsmitteln, wurden als Ausgangsmaterial das Pentaacetylpirolatin gewählt (das unter Eiskühlung mittels Einwirkung von Essigsäureanhydrid auf die Pirolatinlösung in Pyridin gewonnen wurde) und das Pirolagenin (gewonnen durch Hydrolyse des Pirolatins mittels Emulsin). Diese beiden Substanzen blieben sirupös und liessen sich trotz aller Versuche nicht in Kristallform gewinnen. Das erstere lieferte jedoch durch katalytische Hydrierung Pentaacetyltetrahydropirolatin vom Schmp. 77~79°, womit erwiesen war, dass es sich um die Pentaacetylverbindung handelt.

Nun muss man beim Ozonabbau von Pentaacetylpirolatin bzw. Pirolagenin als Zeretzungsprodukt entweder Aceton und Lävulinaldehyd, falls die Formel (I) für Pirolatin gilt, oder Formaldehyd und Heptandion-2,6, falls die Formel (II) für dasselbe gilt, erhalten.

Beim Ozonabbau dieser beiden Substanzen in üblicher Weise wurden aber nur Lävulinaldehyd und eine äusserst kleine Menge Acetaldehyd in Form ihrer 2,4-Dinitrophenylhydrazone von dem Schmelzpunkt 234~235° bzw. 160~162° gewonnen. Das erstere wurde weiter durch die Mischprobe mit dem 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Lävulinaldehyds, das durch den Ozonabbau von Geraniol erhalten wurde, und das letztere durch die Mischprobe mit dem des authentischen Acetaldehyds bestimmt. Was das Acetaldehyd betrifft, so ist dessen Entstehungsmechanismus zwar noch nicht geklärt, scheint aber für die Erkenntnis der Konstitution der Seitenkette nicht von Bedeutung zu sein, wenn man ausser seiner eben sehr kleinen Menge, auch noch die Tatsache in Betracht zieht, dass durch die Oxydation von Tetrahydropirolatin 4,8-Dimethylnonansäure erhalten wurde.

Obgleich beim Ozonabbau weder Aceton noch Formaldehyd gewonnen wurde, muss

* Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto (井上博之).

1) III. Mitteil.: J. Pharm. Soc. Japan, 72, 731(1952)

Pirolatin dennoch theoretisch die Formel (I) oder (III) haben, weil sich dabei Lävulininaldehyd ergab, und die oben erwähnte Oxydation des Tetrahydropirolatins stattfand. Beim Vergleich dieser beiden Formeln scheint es allerdings unter Berücksichtigung der Konstitution dieser bekannten Naturstoffe viel wahrscheinlicher, dass für das Pirolatin die Formel (I) gilt, jedoch kann man aus diesen experimentellen Ergebnissen allein keinen sicheren Schluss ziehen.

Daher wurde unter Heranziehung des IR.-Absorptionsspektrums die Konstitution des Pirolatins noch weiter untersucht.

Im Jahre 1950 brachten nämlich Barnard *et al.*²⁾ sowie Carroll *et al.*³⁾ auf Grund des Auftretens von spezifischen Banden in den IR.-Spektren der Substanzen, welche die Gruppierung $>C=CH_2$ und $>C=CH-$ haben, das von altersher heftig diskutierte Problem der Konstitution der Endgruppierung bei den verschiedenen Stoffen der Terpenreihe zur Entscheidung. Diese Methode wurde übrigens auch von Ruzicka⁴⁾ und vielen anderen Forschern^{5,6)} für die Aufklärung der Konstitution zu Hilfe genommen. Die auf Grund

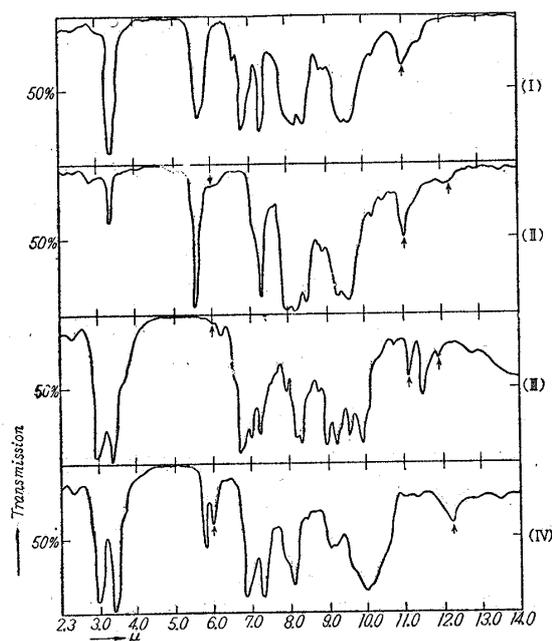
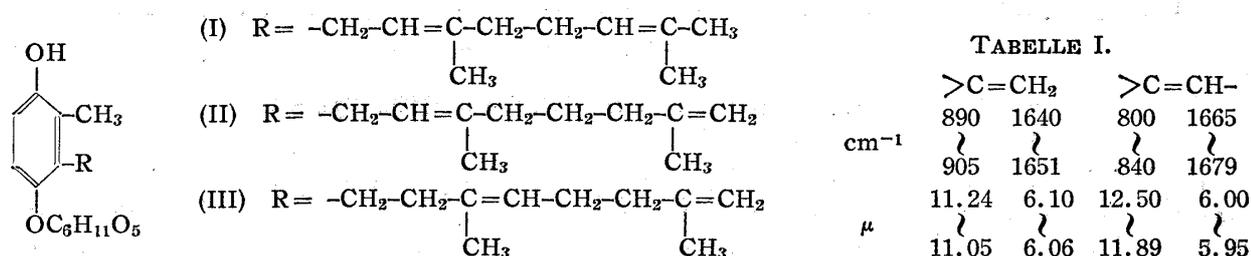


Fig. 1.

- (I) Pentaacetyltetrahydropirolatin
in Nujol
(II) Acetylpilrolatin in CS_2
(III) Pirolatin in Nujol
(IV) Geraniol

dieser Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse, nämlich die Regionen der Banden, welche von der Gruppierung $>C=CH-$ und $>C=CH_2$ herrühren, sind in Tabelle I dargestellt. Hiernach wurden die IR.-Spektren des Pirolatins und die des Pentaacetylpilrolatins mit dem Spektrum des Geraniols verglichen. Wie die Fig. 1 erkennen lässt, hat Pirolatin die Banden bei 11.93 und 6.00 μ , Acetylpilrolatin bei 12.3 und 5.95 μ , und Geraniol bei 12.3 und 5.95 μ ; sie scheinen alle von der Gruppierung $>C=CH-$ herzurühren. In den IR.-Spektren der Pirolatins und Pentaacetylpilrolatins treten ausserdem zwei starke Banden bei 11.1 und 11.05 μ auf, die etwa von der Gruppierung $>C=CH_2$ herrühren dürften. Da diese Banden aber in der etwas kurzwelligen Region und eine ebenso starke Bande bei 11.0 μ im IR.-Spektrum des Pentaacetyltetrahydropirolatins auftreten, können diese zwei Banden nicht von der Gruppierung $>C=CH_2$ herrühren.

Somit kann man also auch auf Grund des IR.-Spektrums die Formel (I) für die richtige halten. Nur bleibt für den Verfasser, wie oben erwähnt, eine gewisse Unsicherheit, weil das

- 2) D. Barnard *et al.*: J. Chem. Soc., 1950, 915.
3) M. F. Carroll *et al.*: *Ibid.*, 3457.
4) H. Gunthard, L. Ruzicka: Helv. Chim. Acta, 32, 2125(1949).
5) R. L. Werner, M. D. Sutherland: J. Am. Chem. Soc., 74, 2688(1951).
6) H. R. Baron, T. Brunn: J. Chem. Soc., 1952, 1683.

Aceton, das beim Ozonabbau durchaus nachgewiesen werden müsste, in Wirklichkeit nicht festgestellt wurde. Die genauere Untersuchung hierüber ist jetzt im Gange.

Zum Schluss bin ich Herrn Prof. M. Tomita für seine freundliche Leitung und Herrn Prof. S. Uyeo für seine wertvollen Ratschläge zu herzlichem Dank verpflichtet. Auch Herrn Prof. S. Shibata vom Pharmaz. Inst. der Univ. Tokyo danke ich herzlichst für seine liebenswürdige Hilfe und Belehrung bei der Aufnahme und Interpretierung des IR.-Spektrums.

Beschreibung der Versuche⁷⁾

Acetylierung des Pirolatins—2.0 g Pirolatin wurde in 8 ccm Pyridin gelöst, diesem unter Eiskühlung 8 g Essigsäureanhydrid eingetropft, 3.5 Stunden lang noch unter Eiskühlung stehen gelassen und danach die Reaktionsflüssigkeit ins Wasser gegossen. Nach gutem Umrühren wurde das überschüssige Essigsäureanhydrid zersetzt, wobei sich die sirupöse Acetylverbindung niederschlug. Diese Substanz wurde ausgeäthert und der Reihe nach mit verd. Salzsäure, mit Wasser und verd. Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach dem Trocknen mit Glaubersalz und Abdampfen des Äthers hinterblieben 3.0 g von farblosem Sirup.

Katalytische Hydrierung des Acetylpirolatins—0.35 g Acetylpirolatin (oberer Sirup) wurde in 15 ccm Eisessig gelöst, mit Palladiumkohle (aus 1.5 ccm 1%iger Palladiumchlorid-Lösung, 0.3 g Tierkohle und 10 ccm Eisessig hergestellt) katalytisch hydriert, wobei etwa 20 ccm (theoretischer Wert, 21.6 ccm) Wasserstoff aufgenommen wurde. Die von den Katalysatoren mittels Filtrieren getrennte Lösung wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand ausgeäthert, diese ätherische Lösung mit Wasser gründlich gewaschen und nach dem Trocknen mit Glaubersalz verdampft. Der hierbei zurückgebliebene Sirup wurde mit Petroläther extrahiert und durch Abdestillieren vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in Methanol gelöst, mit wenig Wasser versetzt und stehen gelassen, wobei sich langsam die Kristalle bildeten. 4 Mal aus Methanol-Wasser umgelöst, ergaben sich einige weisse Nadelchen vom Schmp. 77~79°. Diese wurden mit dem vorher durch die Acetylierung von Tetrahydropirolatin gewonnenen Pentaacetyltetrahydropirolatin vom Schmp. 80~82° gemischt. Eine Depression zeigte sich nicht.

Hydrolyse des Pirolatins mittels Emulsin—1 g Pirolatin wurde in etwa 100 ccm Wasser suspendiert, mit einer Lösung von 0.2 g des aus Pfirsichsamen bereiteten Emulsins in 50 ccm Wasser versetzt und 4 Tage lang umgerührt. Durch darauf folgendes Ausäthern wurde das Aglykon von ungespaltenem Glykosid und Zucker getrennt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen mit Glaubersalz eingedampft, wobei das rotbraune, sirupöse Aglykon zurückblieb. Diese Substanz wurde ohne weitere Reinigung der nächsten Reaktion unterworfen.

Ozonabbau des Geraniols—0.6 g Geraniol (durch Destillation vom Zersetzungsprodukt seines Calciumchlorid-Adduktes gereinigt) vom Sdp₄₀ 125~127° wurde in 40 ccm Chloroform gelöst und unter Eiskühlung 8.5 Stunden lang mit einem 0.5%igen Ozon-Sauerstoffgemisch behandelt. Die Reaktionsflüssigkeit wurde durch Abdestillieren im Vakuum von Chloroform befreit und das zurückgebliebene Ozonid nach Zugabe von 30 ccm Wasser unter Rückfluss langsam bis auf 110° erwärmt. Anschliessend wurde der Kolbeninhalt fast bis zur Trockenheit destilliert. Dabei sublimierten sich zuerst wenige wohlriechende weisse Kristalle vom Schmp. 130~131°, die Acetonperoxyd zu sein schienen.

Das Destillat wurde mit der 3N H₂SO₄ Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin versetzt und über Nacht stehen gelassen. Der dabei ausgeschiedene Niederschlag wurde mit Methanol heiss digeriert und schied sich in einen löslichen und einen unlöslichen Teil.

Der in Methanol leicht lösliche Teil wurde nämlich in Äther gelöst und an der Alumina-Säule chromatographiert, wobei man das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Acetons vom Schmp. 118~120° erhielt. Der in Methanol unlösliche Teil lieferte indes durch wiederholte Umlösung aus Essigsäureäthyl das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Lävulinaldehyds vom Schmp. 234~235°. C₁₇H₁₆O₈N₈—Ber.: C, 44.37; H, 3.48. Gef.: C, 44.53; H, 3.21.

Ozonabbau des Acetylpirolatins—Durch eine Lösung von 1.42 g Acetylpirolatin in 40 ccm Chloroform wurde ein 0.5%iges Ozon-Sauerstoffgemisch unter Eiskühlung 9 Stunden lang durchgeleitet. Der nach vollendeter Reaktion bei dem Abdestillieren im Vakuum gewonnene Rückstand wurde nach Zugabe von 50 ccm Wasser unter Rückfluss und Wasserstoffdurchleitung langsam bis zur Badtemperatur von 110° erwärmt und eine Stunde lang bei dieser Temperatur gehalten. Hierbei verband man zur Fassung der leichtflüchtigen Bestandteile das obere Ende des Kühlers mit den Waschflaschen, deren eine (A) Wasser und deren andere (B) Barytlösung enthielt. Vom Inhalt von (A) schied sich sofort nach dem Versetzen mit der Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin

7) Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert. Für die Durchführung der Mikroanalyse bin ich den Herren K. Hozumi, K. Imayeda sowie Frl. H. Iwata in unserem Institut zu Dank verpflichtet.

8) J. M. Church *et al.*: J. Am. Chem. Soc., 56, 176(1934).

in 3N H₂SO₄ ein sehr geringer Niederschlag aus, der dreimal aus Methanol umgelöst das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Acetaldehyds vom Schmp. 160~162° ergab und durch die Mischprobe mit dem authentischen Präparat als solches identifiziert wurde. Im (B) fiel indessen viel Bariumcarbonat aus.

Der Kolbeninhalt wurde nun solange destilliert, bis fast nur der halbsirupöse Rückstand hinterblieb. Das Destillat wurde mit der Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 3N H₂SO₄ versetzt und über Nacht stehen gelassen. Der dabei am Boden des Kolbens anhaftende Niederschlag wurde mit Methanol heiss digeriert. Der in Methanol unlösliche Teil betrug in der rohen Form über 0.15 g und lieferte durch die zweimalige Umlösung aus Essigsäureäthyl gelbe Kristalle vom Schmp. 234°. Die Mischprobe dieser Kristalle mit dem aus Geraniol durch Ozonabbau gewonnenen 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Lävulinaldehyds vom Schmp. 234~235° zeigte keine Depression. C₁₇H₁₆O₈N₈—Ber.: C, 44.37; H, 3.48; N, 24.34. Gef.: C, 44.45; H, 3.56; N, 24.14.

Der in Methanol lösliche Teil wurde in Äther gelöst und an der Alumina-Säule chromatographiert. Der beim Abdestillieren des Äthereluates hinterbliebene Rückstand wurde dreimal aus Methanol umgelöst und lieferte gelbe Nadelchen vom Schmp. 160~162°, die sich wie die Substanz von (A) als das 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Acetaldehyds erwiesen. Dieses betrug jedoch zusammen mit der Substanz von (A) nur einige mg. C₈H₈O₄N₄—Ber.: C, 42.85; H, 3.57. Gef.: C, 43.26; H, 3.72.

(Die reduzierende Spaltung des Ozonides nach Church *et al.*⁸⁾ führte zu demselben Ergebnis wie hier.)

Ozonabbau des Pirolagenins—Durch eine Lösung von 0.48 g Pirolagenin in 30 ccm Chloroform wurde ein 1.95%iges Ozon-Sauerstoffgemisch unter Eiskühlung 3 Stunden lang durchgeleitet. Die Behandlung nach der Reaktion ist genau so wie die oben beschriebene.

Unter den Abbauprodukten erfasste man Lävulinaldehyd und Acetaldehyd in Form ihrer 2,4-Dinitrophenylhydrazone und konnte sie durch die Mischprobe identifizieren.

Nur sublimierten sich hierbei bei der Spaltung des Ozonides äusserst wenig Kristalle an der Kühlerwand. Da sie eine so geringe Menge darstellten und sich selbst bei Schmelzpunktmessung sublimierten, liess sich keine weitere Untersuchung durchführen. In Anbetracht dessen, dass sie bis zu 182~184°, wobei sie infolge der Sublimierung verschwanden, nicht schmolzen, kann man aber mit grosser Wahrscheinlichkeit sagen, dass es sich hier um das Lävulinaldehydperoxyd handelt.

Zusammenfassung

Beim Ozonabbau von Acetylpirolatin, bzw. Pirolagenin wurden Acetaldehyd und Lävulinaldehyd erfasst. Auf Grund dieser Tatsache und auch in Hinblick auf die IR.-Spektren von Pirolatin und Acetylpirolatin dürften wir wohl behaupten, die Konstitution der Seitenkette des Pirolatins erkannt zu haben.

(Eingegangen am 10. Juli 1953)