

The question of whether the BHT-diphenylethane (M_3) is a true metabolite of BHT or not may arise, because the product could be formed by the air oxidation of BHT in alkaline medium.²¹⁾ However, this question was denied by the fact that BHT was not identified in the fresh urine of BHT-dosed rabbit and its urine colored strongly yellow in comparison with normal urine.

The author expresses his deep gratitude to Prof. M. Akagi of the University of Hokkaido for his kind guidance throughout the course of this work. Thanks are also due to Prof. T. Ukita of the University of Tokyo for his kind advice and suggestion, and to Mr. Narita of the analysis room of this Faculty, and Mr. Urushibata of the Research Laboratories, Kowa Co., Ltd., for the elementary analyses, and to Chugai Pharmaceutical Co., Ltd. for their supply of glucuronolactone. This work was supported in part by a Grant-in-Aid for Fundamental Scientific Research from the Ministry of Education, to which the author is indebted.

Summary

α -Hydroxy-2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol, 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzoic acid, and 4,4'-ethylenebis(2,6-di-*tert*-butylphenol) were isolated from the urine of rabbits receiving 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol, and 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehyde was identified as its 2,4-dinitrophenylhydrazone.

The glucuronide was isolated also as its methyl acetate derivative from the urine of rabbits receiving 2,6-di-*tert*-butyl-*p*-cresol.

(Received February 15, 1961)

UDC 615.32[582.949.2]-011

20. Kiyoshi Takiura und Kyōko Koizumi : Über die Bestandteile der chinesischen Droge Tanshin. IV.*¹ Zur Kenntnis der Konstitution des Tanshinons II-A.

(Pharmazeutische Fakultät, Universität Osaka*²)

Die aus der chinesischen Droge Tanshin, nämlich aus den getrockneten Wurzeln der *Salvia miltiorrhiza*, zuerst von Nakao und Fukushima¹⁾ gewonnene, rote Kristallmasse besteht aus einem Gemenge sehr nahe verwandter *o*-Chinone der Phenanthrenreihe. Die genannten Autoren zerlegten sie durch fraktionierte Umkristallisation in drei Teile und stellten das in Aceton schwer lösliche, braunschwarze Tanshinon-I, $C_{18}H_{12}O_2$, das mäßig lösliche, tief rote Tanshinon-II, $C_{19}H_{18}O_3$, und das ziemlich leicht lösliche, orangerote Tanshinon-III, $C_{19}H_{20}O_3$, dar.

Die chemische Konstitution dieser Chinone hatten von Wessely, *et al.*²⁾ und gleichzeitig auch Takiura³⁾ erforscht, und sie hatten für das Tanshinon-I ein- und dieselbe Formel angegeben.

*¹ Der Inhalt dieser Mitteilung wurde 1955 bei der 75. Jahresversammlung der Japanischen pharmazeutischen Gesellschaft mündlich veröffentlicht.

*² Toneyama, Toyonaka, Osaka-fu (滝浦 潔, 小泉京子).

1) M. Nakao, M. Fukushima : Reports of Shanghai Sci. Inst., 4, 103 (1934).

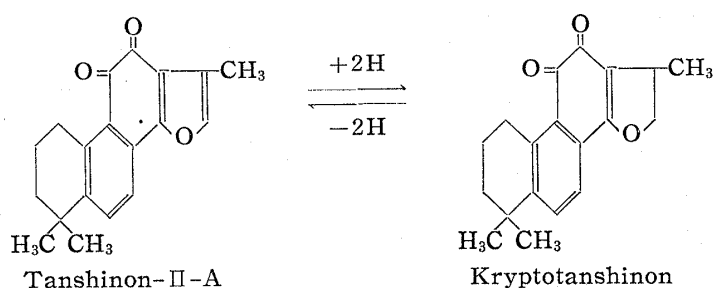
2) F. v. Wessely, S. Wang : Ber., 73, 19 (1940); F. v. Wessely, A. Bauer : *Ibid.*, 75, 617 (1942); F. v. Wessely, T. Lauterbach : *ibid.*, 75, 958 (1942).

3) K. Takiura : Yakugaku Zasshi, 63, 40 (1943).

Das Tanshinon-II war auch von europäischen Forschern untersucht worden, aber die Knappheit an Untersuchungsmaterial hatte den Abschluß der Untersuchungen aufgehalten, und dafür wurde nur eine teilweise geschlossene Formel nach Analogie des Tanshinon-I vorgeschlagen, weil keine Bestätigung über die Konstitution des einzigen Abbauprodukts (sog. C₁₄-Säure) gegeben werden konnte. Dieser Farbstoff steht zum Tanshinon-III in engerer Beziehung. Takiura⁴⁾ hatte schon früher aufgeklärt, daß das Tanshinon-III keine einheitliche Substanz war, sondern Mischkristalle vom Tanshinon-II mit einem versteckt liegenden, orangefarbenen Stoff, dem Kryptotanshinon, C₁₉H₂₀O₃, darstellte, ferner daß die beiden Tanshinone durch Eisenkomplexbildung oder durch chromatographisches Adsorptionsverfahren voneinander getrennt werden konnten. Die Konstitution des Kryptotanshinons wurde dabei gründlich untersucht und genau bestimmt.

Außer Tanshinon-I, -II und Kryptotanshinon haben wir noch einen bisher nicht näher betrachteten, blutroten Farbstoff in geringer Menge isoliert. Dieses vierte Tanshinon scheint mit dem Tanshinon-II eng verwandt zu sein. Also wollen wir vorläufig diesen Farbstoff Tanshinon-II-B nennen und davon das sog. Tanshinon-II als -II-A unterscheiden.

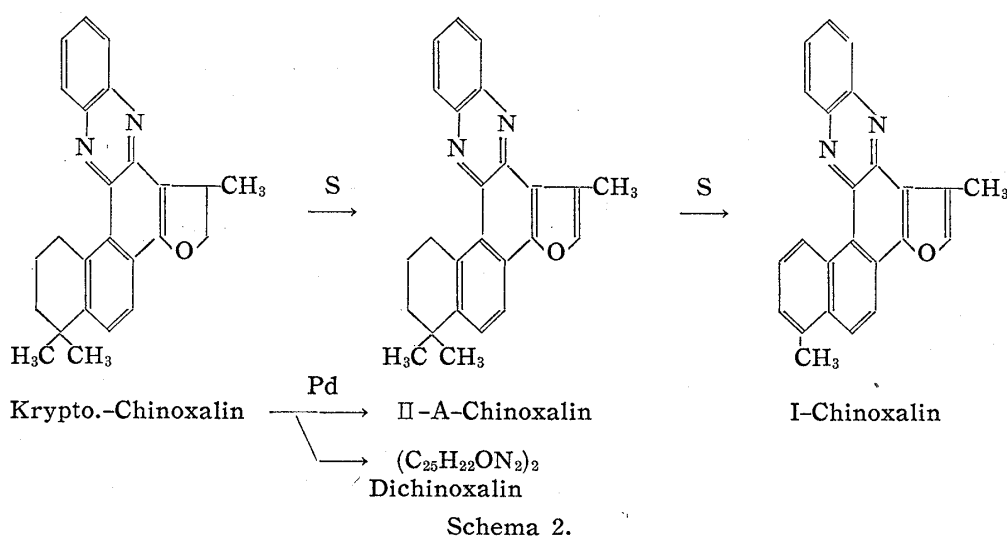
Das Tanshinon-II-A ist auch mit dem Kryptotanshinon verwandt. Das erstere enthält nur zwei Atome Wasserstoff mehr als das letztere. Die beiden *o*-Chinone geben jedes für sich charakteristische Chinoxaline und auch Leucoacetate und bilden miteinander typische Mischkristalle; die Ultraviolett-Absorptionsspektren und die polarographischen Halbstufenpotentialwerte zeigen eine Analogie von beiden Molekularstrukturen. Schon von Wessely wurde darauf hingewiesen, daß aus dem Tanshinon-II-A bei der Oxydation in Eisessig mit Chromsäure eine Dicarbonsäure, C₁₄H₁₆O₄, entsteht, und unter gleicher Versuchsbedingung haben wir aus dem Kryptotanshinon 1,1-Dimethyltetralin-5,6-dicarbonsäure gewonnen; die beiden C₁₄-Säuren sind eigentlich identisch. Diese Tatsachen bedeuten, daß das Tanshinon-II-A und das Kryptotanshinon ein gemeinsames Kohlenstoffskelett besitzen und daß die Hydrophenanthrenringstruktur von beiden völlig identisch sind. Vorausgesetzt, daß das Tanshinon-II-A einen Furanring, und das Kryptotanshinon einen Dihydrofuranring enthält, so kann man sich alle bisher erbrachten Versuchsergebnisse beider Farbstoffe gänzlich erklären. Angenommen, daß es so ist, sollte die Umwandlung des einen in den anderen wie folgt realisierbar sein:



Schema 1.

Solche Umwandlung konnten wir in der Tat durch Dehydrierung von Kryptotanshinon-Chinoxalin bestätigen. Beim Erhitzen dieses Chinoxalins in Gegenwart von Palladiumschwarz und Zimtsäure entstand ein durch dehydrierendes Verknüpfen von zwei Molekülen Chinoxalin gebildetes Kondensationsprodukt und daneben noch das erwartete Tanshinon-II-A-Chinoxalin, dessen Ausbeute aber sehr gering war. Dagegen gab bei der Dehydrierung in Chinolin mittels Schwefel dasselbe Chinoxalin vorwiegend Tanshinon-II-A-Chinoxalin und daneben auch Tanshinon-I-Chinoxalin.

4) K. Takiura: Yakugaku Zasshi, 61, 9, 483 (1941).



Also konnten wir nun das bisher etwas unklar gebliebene Tanshinon-II-A auf Kryptotanshinon und auch auf Tanshinon-I beziehen und dadurch die Kenntnisse über die Konstitution des ersteren ergänzen. Über Tanshinon-II-B werden wir in der nächsten Mitteilung berichten.

Experimentelles

Isolierung und Reinderstellung von Tanshinonen—Beim Eindampfen eines Benzolauszugs des Drogenpulvers schied anfangs Tanshinon-I in glänzend schwarzen Kristallen aus, welches leicht durch Umkristallisation aus Benzol gereinigt werden kann. Permanganatähnliche Nadeln, Schmp. 231°; Chinoxalin, Schmp. 218°.

Aus dem Filtrat schied weiter eine orangefarbene Kristallmasse bei starkem Einengen aus. Diese Mischkristalle (Schmp. 166°) wurden wieder in Benzol gelöst und an Al_2O_3 absorbiert. Nach dem Entwickeln mit Benzol traten drei gefärbte Zonen auf, die nach der Zerlegung, jede für sich, mit EtOH eluiert wurden; nach Wiederholung der Absorption wurden Tanshinon-II-A, -II-B und Kryptotanshinon rein dargestellt.

a) Tanshinon-II-A wurde aus der untersten, hellroten Zone erhalten; rote Nadeln, Schmp. 204°; es färbt sich mit konz. H_2SO_4 schön grün. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_3$ —Ber.: C, 77.53; H, 6.16. Gef.: C, 77.58; H, 6.23. Chinoxalin: gelbe Nadeln, Schmp. 206°; es färbt sich mit konz. H_2SO_4 scharlachrotbraun. $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{ON}_2$ —Ber.: C, 81.94; H, 6.05; N, 7.65. Gef.: C, 81.79; H, 5.72; N, 7.82. Leucoacetat: farblose Kristalle, Schmp. 152°. $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_5$ —Ber.: C, 72.63; H, 6.32. Gef.: C, 72.57; H, 6.62.

b) Tanshinon-II-B wurde aus der obersten, tiefroten Zone isoliert; blurote Kristalle, Schmp. 208°; sie färben sich mit H_2SO_4 grün, ebenso wie das II-A. $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_4$ —Ber.: C, 73.53; H, 5.85. Gef.: C, 73.52; H, 5.61. Beim Reagieren mit *o*-Phenylendiamin in siedendem AcOH bildete II-B kein charakteristisches Chinoxalin, sondern verharzte sich stark. Semicarbazon: tiefrotes, feines Kristallpulver aus EtOH, Schmp. 232° (u. Z.); es zeigt mit H_2SO_4 Farbenreaktion: anfangs schokoladenbraun, dann grün. $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_3$ —Ber.: C, 65.38; H, 5.76; N, 11.44. Gef.: C, 65.66; H, 5.74; N, 11.28.

c) Kryptotanshinon wurde aus der mittleren, zinnberroten Schicht herausgezogen; rote Nadeln, Schmp. 182°. Farbenreaktion mit H_2SO_4 : rotbraun. Chinoxalin: gelbe Nadeln, Schmp. 150–151°; es färbt sich mit H_2SO_4 grün. $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{ON}_2$ —Ber.: C, 81.41; H, 6.57; N, 7.60. Gef.: C, 81.17; H, 6.63; N, 7.77.

Identifizierung der C_{14} -Säure—500 mg Tanshinon-II-A wurden unter Zusatz von 15 Tropfen konz. H_2SO_4 in 75 ccm AcOH gelöst, mit einer Lösung von 1360 mg CrO_3 in 5 ccm AcOH versetzt und im Wasserbade erhitzt. Nach beendeter Oxydation wurde AcOH im Vakuum abdestilliert; aus dem Rückstand wurde die C_{14} -Dicarbonsäure mit Et_2O ausgezogen, mit Alkali umgelöst und aus Et_2O -Benzol umkristallisiert. Weiße Kristalle, Schmp. 183° (unter Bildung des Anhydrids). Diese Säure löst sich in Et_2O , aber ist schwer löslich in Benzol; sie zeigt eine deutliche Fluorescein-Bildungsreaktion, und bildet Säureanhydrid (Schmp. 132°) und Säureimid (Schmp. 206–207° u. Z.). IR $\lambda_{\text{max}}^{\text{Nujol}}$ μ : 3.15, 5.72, 5.77, 5.89, 7.72, 9.31, 13.25. $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{O}_4$ (C_{14} -Säure)—Ber.: C, 67.74; H, 6.45. Gef.: C, 67.77; H, 6.91. $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}$ (C_{14} -Säureimid)—Ber.: N, 6.11. Gef.: 6.14.

Diese C_{14} -Säure stimmte in allen Eigenschaften (Schmp. der Säure und ihrer Derivate, sowie

Infrarot-Spektren des Säureimids (s. Abb. 1) mit der aus dem Kryptotanshinon gewonnenen 1,1-Dimethyl-1,2,3,4-tetrahydro-5,6-naphthalindicarbonsäure vollständig überein.

Dehydrierung von Kryptotanshinon-Chinoxalin mit Palladiumschwarz und Zimtsäure—2 g Kryptotanshinon-Chinoxalin wurden mit 0.2 g Pd-Schwarz und 10 g Zimtsäure bei 200~230° in einer CO₂-Atmosphäre 40 Min. lang dehydriert. Nach dieser Zeit wurde die Mischung abgekühlt und mit einer 5-proz. Bicarbonatlösung gewaschen. Der Rückstand wurde mit Benzol in Lösung gebracht und an Al₂O₃ chromatographiert. Das Absorbat hatte folgendes Aussehen:

	Zone	
oben	1	schwarzbraun
↓	2	gelbbraun
	3	orange
unten	4	gelb

Nach Zerlegung der Säule in vier Teile wurde jede Zone mit EtOH eluiert und jedes Eluat aus Petroleumbenzin nochmals an Al₂O₃ absorbiert. Aus der untersten, gelben Zone wurden gelbe Nadeln (Schmp. 206°) erhalten, die mit konz. H₂SO₄ scharlachrotbraune Farbenreaktion zeigten. Durch Mischschmelzpunkt und Infrarot-Spektrum wurde dieses Dehydrierungsprodukt als Tanshinon- Π -A-Chinoxalin identifiziert. IR $\lambda_{\max}^{\text{Nujol}}$ μ : 6.13, 6.25, 6.50, 8.22, 8.75, 9.20, 9.50, 10.23. (Abb. 2).

In der orangefarbenen, dritten Schicht befand sich das unveränderte Kryptotanshinon-Chinoxalin (ca. 0.4 g.). Aus der gelbbraunen, zweiten Zone wurde ein gelbes, kristallinisches Produkt als Hauptprodukt isoliert; diese Substanz war löslich in Benzol, aber schwer löslich in EtOH, Petroleumäther, Petroleumbenzin, u. a.

(C₂₆H₂₂ON₂)₂—Ber.: C, 81,94; H, 6,05; N, 7,65. Gef.: C, 82,13; H, 5,97; N, 7,50. Mol.-Gew.-Bestimmung nach Rast mit Kampferchinon: Ber. 733. Gef. 736. Das Infrarot-Spektrum dieses Dichinoxalins war ziemlich kompliziert. IR $\lambda_{\max}^{\text{Nujol}}$ μ : 3.25, 6.10, 6.20, 6.35, 6.46, 6.55, 6.68, 8.08, 8.31, 9.10, 9.50, 10.61, 10.78. (Abb. 3); dadurch vermuten wir, daß dieses Dehydrierungsprodukt ein Kondensationsprodukt von den zwei Kryptotanshinon Molekülen ist.

Aus der obersten, dunklen Zone wurde nur zum Schluß eine harzige Substanz und daneben eine geringe Menge von Zimtsäure erhalten.

Dehydrierung von Kryptotanshinon-Chinoxalin mit Schwefel—600 mg Kryptotanshinon-Chinoxalin wurden mit 180 mg S in 8 ccm Chinolin 5 Std. lang unter Rückfluß gekocht. Nach dem Aufhören der Gasentwicklung wurde das Reaktionsgemisch in eine 1-proz. H₂SO₄ Lösung gegossen, mit Benzol ausgeschüttelt und die Benzolschicht wurde wiederholt mit 1-proz. H₂SO₄ gewaschen, mit CaCl₂ entwässert. Nach dem mäßigen Einengen wurde die Lösung durch Al₂O₃ filtriert, wobei eine harzige Beimengung adsorbiert blieb und ein klares, gelbbraunes Filtrat erhalten wurde. Aus dem Filtrat wurde Benzol entfernt und der Rückstand wurde in Petroleumbenzin gelöst und dann an Al₂O₃ chromatographiert. Beim Eluieren mit Petroleumbenzin bildeten sich zwei Farbzonen; davon wurde die untere, gelbe Zone mit Petroleumbenzin erschöpfend extrahiert, wobei Tanshinon-I-Chinoxalin und Π -A-Chinoxalin zusammen eluiert wurden. Die beiden konnten wir durch nochmalige Adsorption aus Petroleumbenzin voneinander trennen und jedes für sich identifizieren; IR $\lambda_{\max}^{\text{Nujol}}$ μ : 3.23, 6.13, 6.21, 6.50, 6.60, 8.18, 8.66, 9.22, 9.61, 10.40. (Abb. 2 u. 4). Das I-Chinoxalin zeigte eine stärkere Adsorptionsfähigkeit als das Π -A-Chinoxalin. Bei weiterem Eluieren mit benzolhaltigem Petroleumbenzin wurde noch ein gelbes Eluat gewonnen, und daraus konnten wir durch Rechromatographieren aus Petroleumbenzin das schon oben erwähnte, in Benzol schwer lösliche, Dichinoxalin, Schmp. 239°, und eine geringe Menge I-Chinoxalin, Schmp. 218°, isolieren.

Bei nachfolgendem Waschen des Adsorbats mit Benzol erhielten wir aus der roten Zone eine dunkelfarbige, harzige Substanz, die wahrscheinlich ein Zersetzungsprodukt von Chinoxalin war, aber nicht genauer untersucht wurde.

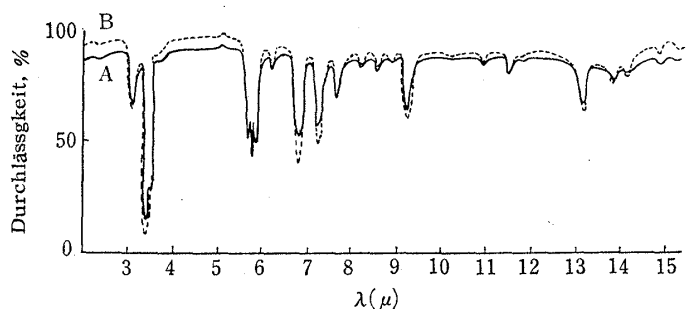


Abb. 1. Infrarot-Spektren von C₁₄-Säureimid

A: aus Kryptotanshinon
B: aus Π -A

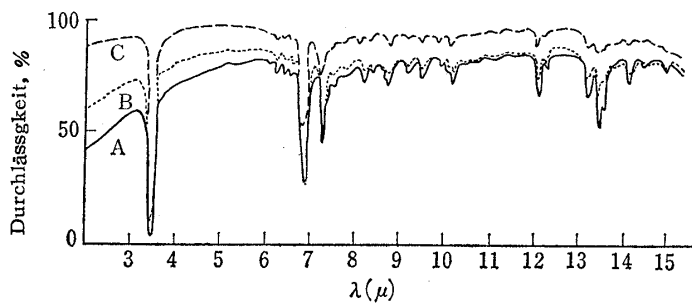


Abb. 2. Infrarot-Spektren
von II-A-Chinoxalin

A: authentisches Präp.
B: aus Krypto-Chinoxalin
mit Pd-Schwarz
C: mit Schwefel

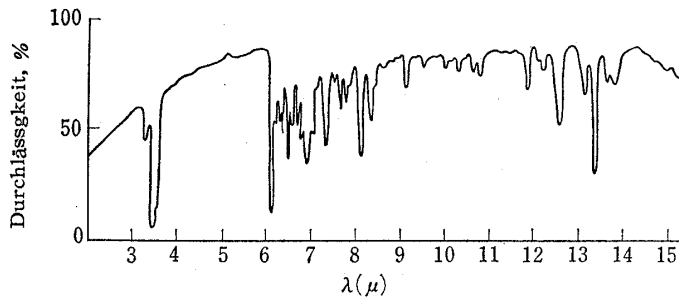


Abb. 3. Infrarot-Spektren
von Dichinoxalin

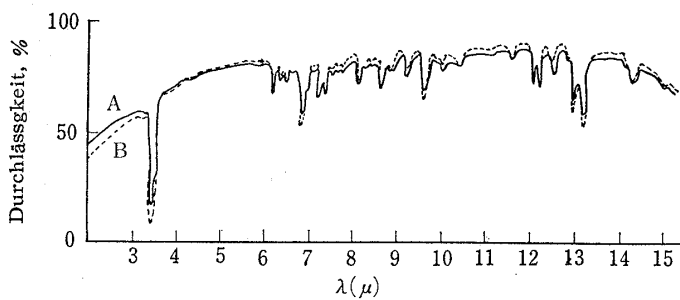


Abb. 4. Infrarot-Spektren
von I-Chinoxalin

A: authentisches Präp.
B: aus Krypto-Chinoxalin
mit Schwefel

Zusammenfassung

Durch Dehydrierung des Kryptotanshinon-Chinoxalins mit Schwefel in Chinolin entstehen Tanshinon-II-A-Chinoxalin und Tanshinon-I-Chinoxalin. Diese Tatsache läßt das bisher etwas unklar bleibende Tanshinon-II-A auf Kryptotanshinon und Tanshinon-I beziehen und dadurch ist die Konstitution des ersteren festgestellt.

(Eingegangen am 12. Juli, 1960)