

It should be mentioned here that when only II or V alone was heated in DMF under the same conditions, none of IV or VI was formed, starting materials being recovered.

Similarly, the reaction of I and 4-amino-6-hydroxy-2-phenylpyrimidine in DMF gave a mixture of III (92%) and 2,8-diphenyl-4,6-dioxo-3,4,6,7-tetrahydropyrido[2,3-*d*, 6,5-*d'*]dipyrimidine (VII), mp $>360^\circ$ (30%). When the reaction was applied to 4-amino-6-anilino-2-methylpyrimidine with I, the products were 4-amino-6-anilino-5-formyl-2-methylpyrimidine (VIII), mp 178° (53%) and III (90%).

Pharmaceutical Institute,
School of Medicine,
Keio University
Shinjuku-ku, Tokyo

KEITARO SENGU
FUMIO YONEDA
SADAO NISHIGAKI

Received August 31, 1970

[Chem. Pharm. Bull.]
19(1) 216-217 (1971)

UDC 547.466.63.02.05

Isolierung und Identifizierung von *erythro*- β -Hydroxy-L-Asparaginsäure von den unreifen Samen von *Astragalus sinicus* L.

Vor einiger Zeit hatten wir über das Vorkommen von Canalin (L- γ -Aminoxy- α -aminobuttersäure) in den unreifen Samen von *Astragalus sinicus* L. (jap. Name: Renge) berichtet.¹⁾ In Fortsetzung unserer Untersuchungen konnten wir ferner eine unbekannte Aminosäure kristallisiert gewinnen und als *erythro*- β -Hydroxy-L-Asparaginsäure charakterisieren, worüber wir im folgenden berichten.

Zur Isolierung der unbekanntes Aminosäure wurden 100 kg Samen mit 60% Methanol extrahiert und der eingedampfte Extrakt wurde auf eine Säule aus Amberlite IR 120 (H⁺ Form) gegeben. Die Aminosäuren wurden mit 1N NH₄OH eluiert und nach dem Eindunsten wurde der Rückstand an einer Säule aus Amberlite IR-4B (CH₃COO⁻ Form) mit 1N Essigsäure entwickelt. Das Eluat wurde nach dem Eindunsten in 60% MeOH aufgenommen und an einer Säule aus Cellulosepulver mit wassergesättigtem Butanol chromatographiert und das Eluat wurde in je 50 ml aufgefangen. In den Fraktionen 24—39 wurde eine unbekannte Aminosäure erhalten, die mit Kupfer-Carbonat in Wasser schwer löslichen Niederschlag ergab. Das Kupfer-Komplexsalz wurde aus heißem Wasser umgelöst und nach Zersetzung des Komplexsalzes aus verd. Äthanol umkristallisiert. Dabei wurden 200 mg Tafeln vom Schmp. 210° (Zers.) erhalten.

Diese Aminosäure zeigte mit Ninhydrin-Reagenz eine rot-braune Färbung und im Papier-Elektropherogramm bei pH 3.6 (Toyo-Roshi Nr. 51, bei 3000V (50V/cm), Laufzeit: 1 Stde) wanderte sich als eine saure Aminosäure. Sie besitzt auf Grund von Massenspektrum ihres Diäthylesters die Summenformel C₄H₇O₅N. Im Infrarot (IR) Spektrum zeigt sie eine OH-Bande bei 3400 cm⁻¹. Im Nuklear Magnetische Resonanz (NMR) Spektrum (D₂O, Standard: DSS) sind zwei Duplette bei 4.27 und 5.03 ppm. sichtbar. Das Massenspektrum von Diäthylester²⁾ zeigt den Molekular-Peak bei *m/e* 205. Ferner finden sich darin die intensiven Peake bei *m/e* 102, sowie bei *m/e* 132, die jeweils dem Ester-Peak-Ion und dem Amin-Peak-Ion entsprechen. Aus den oben erwähnten spektroskopischen Daten wurde angenommen,

1) H. Inatomi, F. Inukai und T. Murakami, *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **16**, 2521 (1968).
2) K. Biemann, J. Seibl und F. Gapp., *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, 3795 (1961).

daß es sich hierbei um β -Hydroxyasparaginsäure handelte.

Die natürliche Aminosäure zeigte folgende optische Drehungswerte in verschiedenen pH-Lösungen ($c=6.94$): $[\alpha]_D^{25} +28.6$ (in $3N$ HCl); $+4.58$ (in H_2O); -10.0° (in $1N$ NaOH); -0.7° (in $3N$ NaOH) und den kleinsten Wert in $1N$ NaOH-Lösung. Die Drehkurve nach Lutz³⁾ ist in ihrem Verlauf der Drehkurve der L - α -Aminosäure gleichwertig. Sie ist somit der Links-Reihe zuzuordnen.

Bei der Behandlung mit Salpetriger Säure⁴⁾ lieferte sie *meso*-Weinsäure vom Schmp. $151-153^\circ$, die sowohl chromatographisch (Phenol-Wasser/75:25, R_f : 0.19; *n*-Butanol-Essigsäure-Wasser/4:1:2, R_f : 0.22) als auch spektroskopisch identifiziert werden konnte. Nach obigen Ergebnissen wurde die Struktur dieser Aminosäure als *erythro*- β -Hydroxy- L -Asparaginsäure aufgeklärt.

β -Hydroxy-Asparaginsäure konnte bisher nur aus dem Hydrolysat von Casein isoliert werden.⁵⁾ Jetzt wurde es zum erstenmal in freier Form isoliert und charakterisiert.

Faculty of Agriculture,
Meiji University
5158, Ikuta, Kawasaki

HIDEO INATOMI
FUMITO INUKAI

Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Science University of Tokyo
Ichigaya Funagawara-machi,
Shinjuku-ku, Tokyo

TAKAO MURAKAMI

Eingegangen am 29. August 1970

- 3) C. Djerassi, "Optical rotatory dispersion applications to organic chemistry," McGraw-Hill Book Co., New York, 1960.
4) H.J. Sallach, *J. Biol. Chem.*, **229**, 437 (1957).
5) H.J. Sallach und M.L. Karguth, *Biochem. Biophys. Acta*, **34**, 582 (1959).

[Chem. Pharm. Bull.]
19(1) 217-219 (1971)

UDC 542.943 : 547.91.09

A Pharmacognostical Application of Low-Temperature Ashing: Microscopic Observations on the Mineral Structure of "Dan-zhu-ye" and Its Related Species of *Graminae*

There has been an increasing interest, during the past few years, on the new technique of low-temperature ashing of organic material using a very reactive oxygen stream produced in a highfrequency electromagnetic field under a low pressure.¹⁾ Oxygen discharged without electrodes, partly consisting of active species such as atomic and/or ionic oxygen (oxygen plasma), decomposes organic matrix by point bombardment, minimizing general heating of the material. Therefore, quantitative recovery of mineral constituents in organic specimens has become more feasible than with the conventional high-temperature ashing in a muffle furnace.

- 1) C.E. Gleit and W.D. Holland, *Anal. Chem.*, **34**, 1454 (1962); C.E. Gleit, *Am. J. Med. Electron.*, **2**, 112 (1963); C. Berkley, J. Churg, J. Selikoff, and W.E. Smith, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **132**, 48 (1965); J. Hollahan, *J. Chem. Educ.*, **43**, A401 (1966); C.E. Mulford, *Atom. Absorp. Newsletter*, **5** (6), 135 (1966).