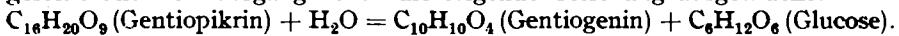


147. Yasuhiko Asahina, Juntaro Asano, Yaitiro Tanase und Yosio Ueno: Über das Gentiopikrin (I. Mitteil.)

(Aus d. Pharmazeut. Institut d. Universität Tokyo u.
d. Medical College zu Kanazawa.)
(Eingegangen am 9. März 1936.)

Erst nach langer Pause, seit der Entdeckung des krystallisierten Enzian-Bitterstoffs (Gentiopikrin) durch Kromeyer¹⁾, haben Bourquelot und Hérissé²⁾ die Darstellungs-Methode dieses Glucosids verbessert und sein Drehungsvermögen genauer bestimmt. Dann hat Tanret³⁾, nachdem er die Isolierungs-Methode noch vereinfacht und die wichtige Eigenschaft des Glucosids, daß es ein Lacton ist, gefunden hatte, durch die enzymatische Spaltung zum ersten Male das krystallisierte Aglucon, Gentiogenin, dargestellt und den Vorgang durch die folgende Gleichung ausgedrückt:



Zum Charakterisieren des Gentiogenins hat er die Farbreaktion empfohlen, daß sich seine Lösung in konz. Schwefelsäure auf Wasser-Zusatz grün färbt.

Vor mehreren Jahren hat der eine von uns (Asahina)⁴⁾ mit Yoda die japanische Enzian-Wurzel (*Gentiana scabra* Bunge var. *Buergeri* Maxim.) untersucht und darin Gentianose und ebenfalls Gentiopikrin gefunden. Ferner haben Asahina und Yoda gezeigt, daß das Gentiogenin durch Auflösen in Kalilauge und darauffolgendes Ansäuern mit konz. Salzsäure eine tief blaue Färbung hervorruft. Diese Reaktion ist viel empfindlicher als die von Tanret.

In der letzten Zeit haben wir die Untersuchung dieses Bitterstoffes von neuem in Angriff genommen; wir sind dabei unter anderem in Bezug auf das Aglucon zu einem ganz anderen Resultat gelangt. Obwohl unsere Untersuchung noch unvollständig ist, erscheint es uns doch zweckmäßig, schon jetzt die wichtigeren Ergebnisse zu publizieren, zumal da der Abschluß mit Rücksicht auf die schwierige Material-Beschaffung noch ziemlich lange Zeit in Anspruch nehmen dürfte.

Nach Tanret soll das Gentiopikrin durch Emulsin quantitativ in Gentiogenin und Glucose gespalten werden, was wir aber nicht bestätigen können. Das aus der Gentiopikrin-Lösung durch Emulsin ausgefällte Aglucon ist sehr unrein, und sein Schmelzpunkt wird erst durch wiederholtes Umlösen allmählich bis auf 184° gesteigert.

Nun haben wir gefunden, daß das primäre Spaltungsprodukt des Gentiopikrins durch Emulsin im Wasser gelöst bleibt und sich erst durch Extraktion mit Äther isolieren läßt. Dieses Aglucon, das wir Eu-gentiogenin nennen, bildet hellgelbe Prismen vom Schmp. 123°, besitzt die Zusammensetzung $C_{10}H_{10}O_4$, zeigt aber weder die Tanretsche, noch die Asahina-Yodasche Farbreaktion. Das Gentiogenin von Tanret ist, nach unserer Mol.-Gew.-Bestimmung, ein dimeres Produkt aus dem Eu-gentiogenin.

Beim Acetylieren erhielt Tanret ein Acetyl-gentiopikrin vom Schmp. 139° und $[\alpha]_D = -164^\circ$, das er für ein Pentaacetyl-Derivat (Acetyl-Bestimmung nach der Schwefelsäure-Methode) hielt. Wir haben das Produkt ebenfalls dargestellt, doch wies es bei der Acetyl-Bestimmung nach derselben

1) Arch. Pharmaz. **160**, 27 [1862].

2) Journ. Chim. Pharm. [6] **12**, 421 [1900].

3) Bull. Soc. chim. Paris [3] **33**, 1059 [1905].

4) Journ. Pharmac. Soc. Japan **390**, 911—918 [1914].

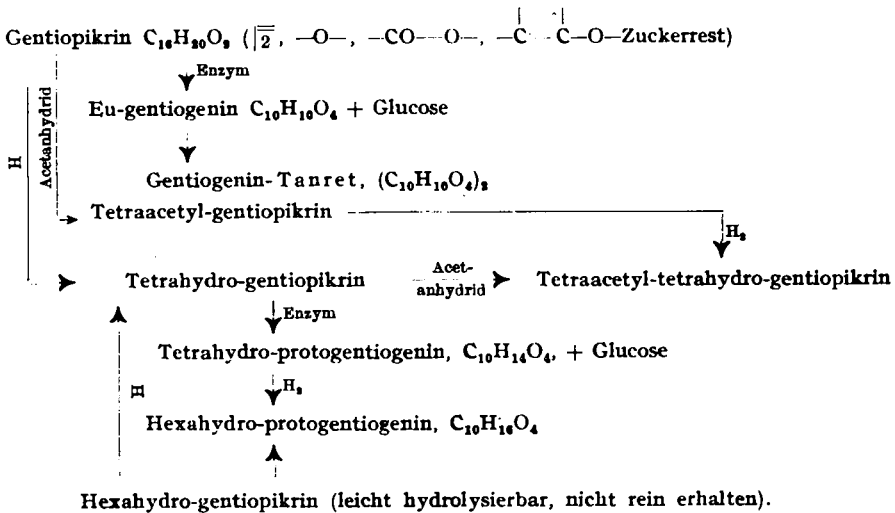
Methode genau 4 Acetyl-Gruppen auf. Wenn man aber das Acetyl-gentiopikrin mit alkohol. Kali verseift und dann nach dem Ansäuern destilliert, so erhält man einen 5 Acetyl-Gruppen entsprechenden Wert. Das Gentiopikrin neutralisiert, als Lacton, in der Wärme genau ein Äquivalent Alkali. Wird die so erhaltene, neutrale Lösung angesäuert und destilliert, so läßt sich keine flüchtige Säure nachweisen; wird es aber mit überschüssigem Alkali gekocht, so liefert es beim Ansäuern und Destillieren ein Mol. Essigsäure. Das Gentiopikrin besitzt also keine verseifbare Acetyl-Gruppe, spaltet aber durch Einwirkung eines Überschusses an Alkali Essigsäure ab. Das Gentiopikrin reduziert in der Wärme etwas Fehlingsche Lösung und reagiert erst nach längerem Berühren mit *p*-Nitrophenyl-hydrazin. Da das Tetraacetyl-gentiopikrin gegen Carbonyl-Reagenzien indifferent ist, so besitzt das Glucosid keine Carbonyl-Gruppe. Das hier gebildete Kondensationsprodukt ist wohl kein Hydrazon-, sondern ein Hydrazid-Derivat, das durch Lacton-Spaltung zustande kommt. Bei der Oxydation mit Permanganat liefert es nur Essigsäure, während beim Oxydieren mit Wasserstoff-superoxyd Bernsteinsäure erhalten wird. Bei der Ozon-Spaltung des Tetraacetyl-gentiopikrins läßt sich eine bedeutende Menge Formaldehyd nachweisen.

Bei der katalytischen Hydrierung wird das Gentiopikrin rasch in ein Tetrahydro-Derivat übergeführt, dessen Acetyl-Derivat sich als identisch mit dem Hydrierungs-Produkt des Tetraacetyl-gentiopikrins erweist. Bei der Enzymolyse liefert das Tetrahydro-gentiopikrin ein krystallines Aglucon $C_{10}H_{14}O_4$, das wir Tetrahydro-protogentiogenin nennen. Da bei der Hydrierung des Eu-gentiogenins nicht dasselbe Tetrahydro-Derivat, sondern ein sirupöses Reduktionsprodukt entsteht, so ist es denkbar, daß die Konstitution des mit dem Zucker verbundenen ursprünglichen Aglucons (Proto-gentiogenin) nicht die gleiche ist wie die des Eu-gentiogenins. Diese Vermutung erscheint durch die Beobachtung weiter gestützt, daß das Eu-gentiogenin optisch inaktiv, während das Tetrahydro-protogentiogenin aktiv ist. Ferner ist der Lacton-Ring des Eu-gentiogenins, im Gegensatz zum Gentiopikrin und auch zum Tetrahydro-protogentiogenin, so labil, daß er schon in der Kälte mit alkohol. Kali titrierbar ist. Hieraus folgt, daß das Proto-gentiogenin sich bei der enzymatischen Spaltung zum Eu-gentiogenin isomerisiert, während beim Hydrieren des Gentiopikrins der Aglucon-Kern stabilisiert wird. Das Tetrahydro-protogentiogenin ist gegen Permanganat unbeständig, weist bei der Bromometrie noch eine Doppelbindung auf und färbt sich mit Diazobenzol-sulfonsäure rot. Dieses ungesättigte Verhalten ist wohl auf die leicht enolisierbare Keto-Gruppe zurückzuführen (s. u.). Beim Oxydieren mit Permanganat liefert das Tetrahydro-gentiopikrin Propionsäure, beim trocknen Destillieren *n*-Butyraldehyd und ein höher siedendes Öl.

Bei weiterer, energischer Hydrierung nimmt das Tetrahydro-protogentiogenin noch ein Mol. Wasserstoff auf und geht in das Hexahydro-protogentiogenin, $C_{10}H_{16}O_4$, über, das optisch aktiv und gegen Permanganat, Carbonyl-Reagenzien und Diazoniumsalz-Lösung indifferent ist. Das Tetrahydro-gentiopikrin läßt sich ebenfalls zum Hexahydro-Derivat reduzieren. Das letztere ist aber so leicht hydrolysierbar, daß man das Hexahydro-protogentiogenin unmittelbar aus der neutralen Reaktions-Flüssigkeit größtenteils extrahieren kann. Falls das Tetrahydro-protogentiogenin nur durch

Absättigung einer echten Doppelbindung das Hexahydro-protogentiogenin lieferte, so müßte das letztere noch eine Carbonyl-Gruppe behalten haben. Das Hexahydro-protogentiogenin besitzt nur ein aktives Wasserstoffatom (nach Zerewitinoff) und liefert beim Oxydieren mit Chromsäure eine H₂-ärmere Verbindung, die aber mit dem Tetrahydro-protogentiogenin nicht identisch ist. Da das Tetrahydro-gentiopikrin, sowie das Hexahydro-protogentiogenin beim Kochen mit Barytwasser keine flüchtige Säure liefert, so ist endgültig bewiesen, daß das Gentiopikrin keine verseifbare Acetyl-Gruppe besitzt, sondern erst bei der Zersetzung Essigsäure abgibt.

Aus diesen Ergebnissen darf man schließen, daß das Proto-gentiogenin, das nur in Verbindung mit dem Zuckerrest beständig ist, zwei Doppelbindungen, ein Enol-Hydroxyl (mit dem das Aglucon den Zucker bindet) und einen Lacton-Ring besitzt. Im Tetrahydro-protogentiogenin bleibt die enolisierbare Keto-Gruppe erhalten, während beim Hexahydro-protogentiogenin die letztere Gruppe in den sek. Alkohol übergeführt wird. Das restliche Sauerstoffatom, dessen Funktion uns unbekannt ist, wird wohl vom Äther-Typus sein.



Beschreibung der Versuche.

Gentiopikrin.

Die Darstellung dieses Glucosids aus der Wurzel von *Gentiana scabra* Bunge var. *Buergeri* Maxim. geschah im wesentlichen nach dem Verfahren von Tanret³⁾. Die Ausbeute an ziemlich reinem Glucosid betrug durchschnittlich 1.8% der frischen Wurzel. Aus absol. Alkohol krystallisiert es wasser-frei und schmilzt bei 191°. Aus 60-proz. Alkohol umgelöst, bildet es farblose Krystalle vom Schmp. 121°, die 1/2 Mol. Krystall-Wasser enthalten, das auch bei langem Aufbewahren über Chlorcalcium nicht entweicht. Früher haben Asahina und Yoda⁴⁾ für das wasser-haltige Gentiopikrin aus japani-

scher Enzian-Wurzel $[\alpha]_D$: —198.6° übereinstimmend mit den Literatur-Angaben gefunden.

5.33 mg Sbst. (wasser-haltig): 10.24 mg CO₂, 2.70 mg H₂O. — 6.62 mg Sbst. (wasser-haltig): 12.83 mg CO₂, 3.57 mg H₂O.

C₁₆H₂₀O₉ + 1/2 H₂O. Ber. C 52.58, H 5.80. Gef. C 52.40, 52.86, H 5.67, 6.03.

5.12 mg Sbst. (wasser-frei): 10.08 mg CO₂, 2.49 mg H₂O.

C₁₆H₂₀O₉. Ber. C 53.92, H 5.66. Gef. C 53.70, H 5.44.

p-Nitrophenyl-hydrazid: 0.7 g Gentiopikrin werden, in 10 ccm Wasser gelöst, mit 0.3 g *p*-Nitrophenyl-hydrazin (gelöst in 40 ccm verd. Essigsäure) versetzt. Das nach 2-tägigem Stehen ausgeschiedene, braune Produkt wird abgesaugt, nach dem Waschen mit Wasser und dann mit wenig Flüssiger in Essigester gelöst und durch Zusatz von Petroläther gefällt. Es bildet ein braunes Pulver, das bei 199° unt. Zers. schmilzt. In Alkohol ist es leicht, in Äther, Chloroform und Benzol schwer löslich.

2.623 mg Sbst. (exsiccator-trocken): 5.00 mg CO₂, 0.990 mg H₂O. — 2.315 mg Sbst.: 0.167 ccm N (24.5°, 761 mm).

C₂₂H₁₇O₁₁N₃. Ber. C 51.66, H 5.30, N 8.29. Gef. C 51.99, H 4.22, N 8.29.

Mit Phenyl-hydrazin liefert das Gentiopikrin ein blutrot gefärbtes Kondensationsprodukt, das nicht analysenrein erhalten wurde. Eine wäßrige Gentiopikrin-Lösung färbte sich mit alkalischer Diazobenzol-sulfonsäure-Lösung gelb.

Monoaceton-gentiopikrin: 2 g Gentiopikrin werden in 40 ccm Aceton (mit 1% HCl) 20 Stdn. an der Maschine geschüttelt; dann wird das Ungelöste abgesaugt und aus Eisessig umgelöst. Das Produkt bildet farblose Nadeln vom Schmp. 228° und ist in Äther und Chloroform unlöslich, in Alkohol, Aceton und Essigester erst in der Wärme löslich.

4.890 mg Sbst.: 10.320 mg CO₂, 2.580 mg H₂O.

C₁₉H₂₄O₉. Ber. C 57.58, H 6.06. Gef. C 57.50, H 5.90.

Hydrolyse des Gentiopikrins: Bildung von Eu-gentiogenin.

1 g Gentiopikrin wird in 20 ccm mit einigen Tropfen Eisessig angesäuertem Wasser gelöst und unter Zusatz von 0.3 g Emulsin (Kahlbaum) 3 Tage bei Raum-Temperatur stehen gelassen. Dann wird das Ausgeschiedene (Gentiogenin-Tanret) abfiltriert und das Filtrat mit Äther extrahiert. Beim Verdampfen des Äthers hinterbleibt das Eu-gentiogenin, welches, aus Alkohol umgelöst, hellgelbe Prismen vom Schmp. 123° bildet. Ausbeute höchstens 0.1 g.

Das Eu-gentiogenin löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform und Essigester. Die alkohol. Lösung färbt sich mit Eisenchlorid grünlich-gelb; die wäßrige Lösung reduziert Permanganat und ammoniakalische Silberlösung, rötet aber fuchsin-schweflige Säure nicht und färbt sich mit alkalischer Diazoniumsalz-Lösung rötlich; mit Phenyl-hydrazin-Acetat gibt es einen gelben Niederschlag. Das Eu-gentiogenin schmeckt stechend und verursacht beim Einatmen Niesen. In konz. Schwefelsäure löst es sich mit gelbbrauner Farbe, die sich auf Wasser-Zusatz fast entfärbt. In konz. Kalilauge löst es sich mit gelber Farbe, und beim Zusatz von überschüssiger konz. Salzsäure bleibt die Lösung gelb (wird nicht blau!). Bicarbonat wird durch Eu-gentiogenin nicht zerlegt.

0.0841 g Eu-gentiogenin, in Chloroform zu 1 ccm gelöst, drehen in 1-dm-Rohr das polarisierte Licht nicht. Bei der katalytischen Hydrierung liefert das Eu-gentiogenin ein öliges Produkt.

5.090 mg Sbst.: 11.530 mg CO₂, 2.240 mg H₂O. — 4.130 mg Sbst.: 9.400 mg CO₂, 1.965 mg H₂O. — 3.510 mg Sbst.: 7.955 mg CO₂, 1.555 mg H₂O. — 5.4 mg Sbst., gelöst in 51.8 mg Campher: $\Delta = 19^\circ$ (nach Rast). — 0.0330 g Sbst., in absol. Alkohol gelöst, neutralisierten in der Kälte 3.453 ccm $\frac{1}{20}$ -n. KOH (Phenol-phthalein).

C₁₀H₁₀O₄. Ber. C 61.66, H 5.19, Mol.-Gew. 192.
Gef. „ 61.78, 61.81, 62.08, „ 4.92, 4.95, 5.32, „ 198.6 (nach Rast),
191.4 (Titration).

p-Nitrophenyl-hydrazon: 0.0480 g Eu-gentiogenin und 0.0387 g *p*-Nitrophenyl-hydrazin werden in 2 ccm Alkohol gelöst, sofort abfiltriert und stehen gelassen. Allmählich scheidet sich dann ein rotes Pulver vom Zers.-Pkt. 180° ab. Es ist in Alkohol und Aceton leicht löslich, in Äther, Benzol und Chloroform unlöslich.

4.030 mg Sbst.: 7.995 mg CO₂, 1.595 mg H₂O. — 3.905 mg Sbst.: 7.755 mg CO₂, 1.705 mg H₂O. — 2.565 mg Sbst.: 0.2787 ccm N (20°, 748 mm).

C₁₆H₁₅O₄N₃ + $\frac{1}{2}$ H₂O. Ber. C 54.24, H 4.52, N 11.86.
Gef. „ 54.10, 54.15, „ 4.43, 4.89, „ 12.46.

Gentiogenin von Tanret: Das in Wasser unlösliche Spaltungsprodukt bildet zunächst ein amorphes Pulver, das zwischen 160—170° unscharf schmilzt. Bei wiederholtem Umlösen aus Methanol und schließlich aus absol. Alkohol geht es in farblose, lange Blättchen vom Schmp. 184° (unt. Zers.) über. Es zeigt ausgeprägt die Tanretsche, wie auch die Asahina-Yodasche Farbenreaktion.

3.290 mg Sbst. (bei 110° getrocknet): 7.400 mg CO₂, 1.532 mg H₂O. — 6.9 mg Sbst., gelöst in 52.9 mg Campher: $\Delta = 13^\circ$ (nach Rast).
[C₁₀H₁₀O₄]₂. Ber. C 61.86, H 5.19, Mol.-Gew. 384. Gef. C 61.34, H 5.21, Mol.-Gew. 400.

Einwirkung von Alkali auf Gentiopikrin: Bildung von Essigsäure.

Qualitativer Versuch: 1 g reines Gentiopikrin wurde in 50 ccm gesättigtes Barytwasser eingetragen und 2 Stdn. gekocht. Dann wurde die gelbbraune Lösung mit Phosphorsäure angesäuert und mit Wasserdampf destilliert. Die mit dem Destillat erhaltene Duclauxsche Kurve stimmte mit der der Essigsäure überein.

Quantitativer Versuch: 0.1160 g wasser-haltiges Gentiopikrin (Schmp. 121°) wurden in 20 ccm 10-proz. alkohol. Kali gelöst und 1 Stde. gekocht. Dann wurde die Lösung mit Phosphorsäure angesäuert und mit Dampf destilliert. Zum Neutralisieren des Destillats wurden 3.288 ccm 0.1-n. KOH verbraucht.

C₁₆H₃₀O₉ + $\frac{1}{2}$ H₂O. Ber. CH₃.CO 11.78. Gef. CH₃.CO 12.19.

Kontroll-Versuch: 0.0247 g Gentiopikrin werden in wenig Wasser gelöst, mit 0.66 ccm 0.1-n. KOH (1 Äquiv.) versetzt, 30 Min. auf dem Wasserbade erhitzt, die so erhaltene, neutrale Lösung mit Phosphorsäure angesäuert und dann mit Dampf destilliert. Im Destillat ließ sich keine Säure nachweisen.

Oxydation des Gentiopikrins mittels Kaliumpermanganats.

3.6 g Gentiopikrin wurden mit etwa 100 ccm warmer 0.1-n. Kalilauge bis zur eben alkalischen Reaktion verseift und die erkaltete Lösung mit

1300 ccm 2-proz. Permanganat (= 25 Atomen O) versetzt. Die vom Mangan-Schlamm abfiltrierte Lösung wurde mit Phosphorsäure angesäuert, mit Dampf destilliert, das Destillat (etwa 2 l) mit Natronlauge neutralisiert, zur Trockne verdampft, der Rückstand in 110 ccm Wasser gelöst und unter Zusatz von Weinsäure nach Duclaux destilliert. Die hierbei erhaltene Kurve stimmte mit der der Essigsäure überein.

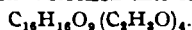
Oxydation von Gentiopikrin mittels Wasserstoffsuperoxyds.

1 g Gentiopikrin wurde in 10 ccm Wasser gelöst und unter Zusatz von 5 ccm 30-proz. Wasserstoffsuperoxyd 4 Stdn. auf dem Wasserbade erhitzt. Dann wurde durch Zusatz von wenig Palladium-Kohle der Überschuß des Oxydationsmittels zersetzt und die Lösung mit Essigester erschöpfend extrahiert. Beim Verdampfen des Essigesters hinterließ ein sirupöser Rückstand, der beim Sublimieren im Vakuum eine kleine Menge farbloser Krystalle lieferte. Aus Wasser umgelöst, bildeten sie farblose Nadeln, die für sich, wie auch gemischt mit Bernsteinsäure, bei 183° schmolzen.

Tetraacetyl-gentiopikrin.

1 g Gentiopikrin wird in 5 ccm Pyridin gelöst, mit 10 ccm Essigsäure-anhydrid versetzt, 1 Stde. auf dem Wasserbade erhitzt und dann in Wasser eingetragen. Das Ausgeschiedene bildet nach dem Umlösen aus Alkohol farblose Krystalle vom Schmp. 139°.

0.4273 g Sbst., in Chloroform zu 25 ccm gelöst (2 dm, 17°): $\alpha = -5.63^\circ$; $[\alpha]_D^{17} = -164.7^\circ$. — 4.620 mg Sbst.: 9.295 mg CO₂, 2.073 mg H₂O. — Acetyl-Bestimmung: 0.0981 g Sbst.: 7.402 ccm 0.1-n. KOH (nach der Schwefelsäure-Methode). — 0.1039 g Sbst.: 7.895 ccm 0.1-n. KOH (nach der Schwefelsäure-Methode). — 0.1080 g Sbst.: 9.750 ccm 0.1-n. KOH (durch Verseifen mit Alkali). — 0.0926 g Sbst.: 8.843 ccm 0.1-n. KOH (durch Verseifen mit Alkali).



Ber. C 54.94, H 5.39, (CH₃.CO)₄ 32.80.

Gef. „ 54.87, „ 5.02, „ 31.85, 32.73 (Schwefelsäure-Methode), 38.83, 40.97 (Alkali-Verseifung).

Ozon-Spaltung von Tetraacetyl-gentiopikrin:

Bildung von Formaldehyd.

2 g Tetraacetyl-gentiopikrin wurden in 40 ccm reinem Chloroform gelöst; in die Lösung wurde während 6 Stdn. ein mäßiger Strom von ozonisiertem Sauerstoff eingeleitet. Dann wurde das Chloroform im Vakuum bei Raumtemperatur verdampft, der Rückstand unter Zusatz von 30 ccm Wasser 1 Stde. auf dem Wasserbade erwärmt und 20 ccm davon abdestilliert. Zu dem Destillat wurde eine alkohol. Lösung von 0.6 g Dimedon zugefügt und 10 Min. erwärmt. Der so erhaltene Niederschlag ergab beim Umlösen aus Alkohol farblose Prismen vom Schmp. 190°. Ausbeute 0.2530 g. Diese Zahl entspricht 24.81% der theoretischen Menge einer Vinyl-Gruppe im Gentiopikrin⁵⁾.

Zu einer anderen Portion des ozonolysierten Destillats wurde eine wäßrige *p*-Nitrophenyl-hydrazin-Hydrochlorid-Lösung hinzugefügt, wobei sofort

⁵⁾ vergl. Clemo u. Macdonald, Journ. chem. Soc. London 1935, 1294.

ein gelber Niederschlag erhalten wurde. Aus Alkohol umgelöst, bildete er orangegelbe, feine Nadeln vom Schmp. 181°. Eine Mischprobe mit dem Formaldehyd-*p*-Nitrophenyl-hydrason zeigte keine Schmp.-Depression.

Tetrahydro-gentiopikrin.

1 g Gentiopikrin (Schmp. 121°) wurde in 40 ccm Essigester gelöst und unter Zusatz von 0.5 g Pd-Kohle (6% Pd) in einer Wasserstoff-Atmosphäre geschüttelt, wobei bald 125 ccm H₂ (für 2 Mol. ber. 122 ccm) absorbiert wurden. Dann wurde abfiltriert, die Kohle mit warmem Essigester gut ausgewaschen und die vereinigte Essigester-Lösung zum dünnen Sirup eingengt. Nach einigem Stehen schieden sich daraus kugelig gruppierte Prismen ab, die, aus Essigester umgelöst, farblose Prismen vom Schmp. 190° bildeten. Das Produkt schmeckte stark bitter; in Wasser und Alkohol war es leicht, in Äther und Chloroform nicht löslich. Die Aceton-Lösung reduzierte Permanganat langsam, die Fehlingsche Lösung aber nicht.

0.0985 g Subst., in absol. Alkohol zu 1 ccm gelöst (1 dm, 20°): $\alpha = -0.74^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -75.13^\circ$.

Beim Kochen mit überschüssigem Barytwasser lieferte das Tetrahydro-gentiopikrin keine flüchtige Säure.

4.805 mg Subst.: 9.435 mg CO₂, 2.790 mg H₂O.

C₁₄H₂₄O₆. Ber. C 53.33, H 6.66. Gef. C 53.55, H 6.60.

Tetraacetyl-tetrahydro-gentiopikrin: Dargestellt durch Lösen von rohem (sirupösem) Tetrahydro-gentiopikrin in Pyridin und Versetzen mit Essigsäure-anhydrid. Aus Alkohol umgelöst, bildet es farblose Nadeln vom Schmp. 208°. Dasselbe Produkt läßt sich auch durch Hydrieren von Tetraacetyl-gentiopikrin erhalten.

4.240 mg Subst.: 8.475 mg CO₂, 2.258 mg H₂O. — 0.0973 g Subst.: 7.426 ccm 0.1-n. KOH (Verseifen mit Alkali).

C₂₄H₃₈O₁₃. Ber. C 54.54, H 6.06, (CH₂.CO)₄ 32.58. Gef. C 54.35, H 5.73, CH₂.CO 32.82.

Oxydation von Tetrahydro-gentiopikrin mittels Permanganats: Bildung von Propionsäure.

Das Tetrahydro-gentiopikrin wurde in 0.1-n. Kalilauge in der Wärme gelöst und dann wie beim Gentiopikrin mit verd. Permanganat-Lösung (24—25 Atome O) oxydiert. Die filtrierte Lösung wurde mit Phosphorsäure angesäuert und destilliert. Das Destillat ergab, nach Duclaux fraktioniert destilliert, eine Kurve, die mit der der Propionsäure übereinstimmte. Diese Säure lieferte auch ein Anilid vom Schmp. 92°, das in der Misch-Schmp.-Bestimmung mit Propionsäure-anilid ebenfalls bei 92° schmolz.

Trockne Destillation von Tetrahydro-gentiopikrin:

Bildung von *n*-Butyraldehyd.

7 g Tetrahydro-gentiopikrin wurden auf dem Drahtnetz trocken destilliert, wobei etwa 4 g eines gelben Öls erhalten wurden. Beim Rektifizieren wurde annähernd 1 g einer bei 70—75° siedenden Fraktion gewonnen, daneben auch eine höher siedende, die wir noch nicht charakterisieren konnten. Dieser Vorlauf roch stark nach aliphatischem Aldehyd, reduzierte ammoniakalische Silberlösung und rötete fuchsin-schweflige Säure. Die wäßrige Lösung gab beim Versetzen mit 2.4-Dinitrophenyl-hydrazin-Hydrochlorid-Lösung

einen gelben Niederschlag, der, aus Alkohol umgelöst, gelbe Nadeln vom Schmp. 123° bildete. Eine Mischprobe mit *n*-Butyraldehyd-2,4-Dinitrophenyl-hydrazon schmolz bei derselben Temperatur.

5.780 mg Sbst.: 10.110 mg CO₂, 2.370 mg H₂O. --- 4.140 mg Sbst.: 0.48 ccm N (12°, 763 mm).

C₁₀H₁₂O₄N₄. Ber. C 47.60, H 4.80, N 22.21. Gef. C 47.70, H 4.59, N 22.66.

Tetrahydro-protogentiogenin.

1 g Tetrahydro-gentiopikrin wird in 30 ccm Wasser gelöst, unter Zusatz von 0.1 g Emulsin 1 Tag bei 37° stehen gelassen und dann mit Äther erschöpfend extrahiert. Der Äther-Rückstand bildet nach dem Umlösen aus Wasser und dann aus Benzol farblose Prismen vom Schmp. 98°. Ausbeute 0.1 g. Die wäßrige Lösung entfärbt momentan Permanganat; sie färbt sich nicht mit Eisenchlorid, ruft aber mit einer alkalischen Diazobenzolsulfonsäure-Lösung tief rote Färbung hervor.

0.0121 g Sbst., in absol. Alkohol zu 1 ccm gelöst (1 dm, 20°): $\alpha_D^{20} = +2.60^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +214.9^\circ$.

Die alkoholische Lösung neutralisiert in der Kälte keine Alkalilauge.

3.540 mg Sbst.: 7.870 mg CO₂, 2.190 mg H₂O. — 3.5 mg Sbst., gelöst in 51.8 mg Campher: $\Delta = 20^\circ$ (nach Rast). — 24.0 mg Sbst. neutralisierten in der Wärme 2.493 ccm $\frac{1}{20}$ -*n*.KOH.

C₁₀H₁₄O₄. Ber. C 60.61, H 7.13, Mol.-Gew. 196.1.

Gef. „ 60.93, „ 6.92, „ 204 (nach Rast), 193 (Titrat).

0.1173 g Sbst. (in Pyridin gelöst) entwickelten auf Zusatz von Methyl-magnesiumjodid 10.22 ccm Methan (15°, 761 mm).

C₁₀H₁₄O₄. Ber. OH 8.58. Gef. OH 10.22.

p-Nitrophenyl-hydrazon: 0.5 g Tetrahydro-protogentiogenin wurden in wenig Alkohol gelöst und mit einer essigsauren Lösung von *p*-Nitrophenylhydrazin (0.4 g) versetzt; der so erhaltene orangegelbe Niederschlag (0.7 g) wurde in Essigester gelöst und durch Zusatz von Ligroin gefällt. Er bildete dann ein hellgelbes Pulver vom Schmp. 184° (unt. Zers.).

4.625 mg Sbst.: 9.717 mg CO₂, 2.328 mg H₂O. --- 2.280 mg Sbst.: 0.2479 ccm N (16.5°, 767.5 mm).

C₁₀H₁₄O₂:C₆H₇O₂N₃. Ber. C 57.81, H 5.45, N 12.65. Gef. C 57.14, H 5.63, N 12.96.

Bromometrie: 0.0710 g Tetrahydro-protogentiogenin wurden in 20 ccm Wasser gelöst, mit 10.59 ccm 0.1-*n*. Brom-Lösung versetzt und nach 15 Min. unter Zusatz von Jodkalium-Lösung mit 0.1-*n*. Thiosulfat zurücktitriert, wozu 3.26 ccm erforderlich waren; es wurden also 7.33 ccm 0.1-*n*. Brom-Lösung zum Absättigen verbraucht (ber. für eine Doppelbindung 7.17 ccm).

Hexahydro-protogentiogenin.

Wird 1 g Gentiopikrin in wäßriger Lösung unter Zusatz von Pd-Kohle mit Wasserstoff geschüttelt, so werden schon innerhalb 10 Min. 110 ccm (2 Mol.) H₂ absorbiert. Dann wird die Wasserstoff-Absorption ganz langsam und steht erst im Laufe von 12 Stdn. nach Aufnahme von 63 ccm (etwas mehr als 1 Mol.) still. Extrahiert man nun die Lösung mit Chloroform und verdampft das Lösungsmittel, so erhält man einen krystallinen Rückstand, der nach dem Umlösen aus Äther und dann aus Wasser farblose Prismen vom Schmp. 140° bildet. Ausbeute 0.3 g. Diese Substanz ist in Chloroform

leicht, in Alkohol und Äther ziemlich löslich. Sie reduziert weder ammoniakalische Silberlösung, noch Permanganat in Aceton-Lösung. Mit *p*-Nitrophenylhydrazin liefert sie kein Kondensationsprodukt.

0.1068 g Sbst., in absol. Alkohol zu 5 ccm gelöst (1 dm, 15°): $\alpha = +3.44^\circ$; $[\alpha]_D^{15} = +161.0^\circ$.

5.910 mg Sbst.: 12.950 mg CO₂, 4.270 mg H₂O. — 5.9 mg Sbst. in 59.5 mg Campher: $\Delta = 18^\circ$. — 0.0397 g Sbst.: 4.063 ccm $\frac{1}{20}$ -n. KOH (in der Wärme).

C₁₀H₁₆O₄. Ber. C 59.97, H 8.06, Mol.-Gew. 200.

Gef. „ 59.76, „ 8.09, „ 220.4 (nach Rast), 195.5 (als Lacton).

Die von Hexahydro-protogentiogenin befreite, wäßrige Lösung reduziert Fehlingsche Lösung stark und liefert das bei 205° schmelzende Phenylglucosazon. Diese Lösung enthält auch Hexahydro-gentiopikrin, denn sie liefert beim Erwärmen mit Salzsäure noch etwas Hexahydro-protogentiogenin.

Bei der katalytischen Hydrierung des Tetrahydro-protogentiogenins läßt sich dasselbe Hexahydro-Derivat gewinnen.

Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach Zerewitinoff: 0.1340 g Hexahydro-protogentiogenin (in Anisol gelöst) entwickelten auf Zusatz von Methyl-magnesiumjodid 17.0 ccm Methan (19°, 749 mm).

C₁₀H₁₆O₄. Ber. OH 8.50. Gef. OH 8.87.

Oxydation von Hexahydro-protogentiogenin.

1 g Hexahydro-protogentiogenin wird in 15 ccm Eisessig gelöst und unter Zusatz von 0.35 g Chromsäure bis zur Grünfärbung auf dem Wasserbade erwärmt. Dann wird der Eisessig durch Soda fast neutralisiert und das Oxydationsprodukt mit Äther extrahiert. Es bildet, aus Äther umgelöst, farblose Prismen vom Schmp. 93°. Ausbeute 0.4 g. Eine Mischprobe mit dem Tetrahydro-protogentiogenin schmolz schon gegen 80° unsharp. Es ist in Wasser, Alkohol, Äther und Aceton leicht löslich; entfärbt Permanganat-Lösung nicht. Beim Zusammenbringen mit Bicarbonat wurde keine Kohlensäure entwickelt.

0.0131 g Sbst., in absol. Alkohol zu 1 ccm gelöst (1 dm, 20°): $\alpha = -0.40^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -30.53^\circ$.

Es enthält keinen aktiven Wasserstoff (nach Zerewitinoff).

3.870 mg Sbst.: 8.550 mg CO₂, 2.390 mg H₂O. — 0.0205 g Sbst. neutralisiert in kalter alkohol. Lösung 1.046 ccm 0.1-n. KOH (Phenol-phthalein).

C₁₀H₁₄O₄. Ber. C 60.58, H 7.07, Mol.-Gew. 198. Gef. C 60.25, H 6.91, Mol.-Gew. 196.