

276. Hans Ruhkopf und Paul Mohs: Über ein Saponin aus *Primula elatior*.

[Aus d. wissenschaftl. Laborat. d. P. Beiersdorf & Co. A.-G., Hamburg.]
(Eingegangen am 27. Mai 1936.)

Es ist bekannt, daß in der Familie der Primulaceen Saponine als Inhaltsstoffe weit verbreitet sind; die therapeutische Verwendung einiger Vertreter dieser Familie gründet sich auf die Wirksamkeit dieser Saponine. Trotz einer ganzen Reihe von Arbeiten über diesen Gegenstand sind es doch nur wenige, die sich auf die Untersuchung an krystallisiertem Material gründen und unsere Kenntnisse sind demgemäß noch gering. Neben das Cyclamin aus *Cyclamen europaeum*¹⁾, die Primulasäure aus *Primula officinalis*^{2) 3)} und die Sakurasosäure aus *Primula Sieboldii*⁴⁾, ist in neuerer Zeit nur noch das krystallisierte Primulin A aus „handelüblicher“ *Primula*-Droge von Ulzer und Haas⁵⁾ getreten, wobei es nicht unwahrscheinlich ist, daß alle diese Saponine mit Ausnahme des Cyclamins identisch sind⁶⁾.

Der medizinisch wichtigste Vertreter aus der Klasse der Primulaceen ist die *Primula elatior*. Ihr Saponin ist trotz mehrjähriger Verwendung in der Therapie⁷⁾ von der chemischen Seite her erst sehr unvollkommen untersucht worden. So geben Kofler und Brauner⁸⁾ an, daß es ihnen gelungen sei, aus *Prim. elat.* ein amorphes Saponin abzuscheiden, das mit der Primulasäure nicht identisch ist. Zu dem gleichen Ergebnis kommen auch Ulzer und Haas⁵⁾, die darüber hinaus einige Angaben über die Konstanten des amorphen Saponins machen. Ob das krystallisierte Primulin A etwa mit der Koflerschen Primulasäure identisch ist bzw. das amorphe Primulin B mit dem Lindnerschen amorphen Saponin aus *Prim. offic.*³⁾ und der im folgenden beschriebenen *Elatiorsäure*, läßt sich jedoch auf Grund der spärlichen Angaben nicht entscheiden.

Die für die vorliegende Untersuchung verwendete Droge bestand in Übereinstimmung mit dem Befund von Kofler für die handelsübliche *Radix Primulae* im wesentlichen aus *Prim. elat.*, vermischt mit etwas *Prim. offic.* Dieses Ergebnis wurde vom Hamburgischen Staatsinstitut für angewandte Botanik bestätigt. Da das Saponin dieser Droge ebenso wie das der *Prim. offic.* einen ausgeprägt sauren Charakter hat, wurde diese Eigenschaft seiner Isolierung zugrunde gelegt und die Extraktion mit wäßrigem Ammoniak vorgenommen. Beim Ansäuern fällt das Saponin aus, wird nach einer Reinigung mit Kohle in das krystallisierte Kalium- oder Ammoniumsalz übergeführt und durch neue Zerlegung mit verdünnten Mineralsäuren wieder in Freiheit gesetzt. Das so erhaltene Saponin, für das wir die Bezeichnung „*Elatiorsäure*“ vorschlagen, bildet amorphe Körner. Es ist offenbar einheitlich, da die analytischen Werte, optische Drehung und Farbreaktionen bei verschiedenen Darstellungen stets die gleichen sind und auch durch eine mehrfache Reinigung über das krystallisierte Ammoniumsalz nicht verändert werden.

1) Dafert, Arch. Pharmaz. **264**, 409.

2) Kofler, Arch. Pharmaz. **262**, 318.

3) Lindner, Figala, u. Hager, B. **67**, 1641 [1934].

4) Yanagisawa u. Jakashima, Journ. pharmac. Soc. Japan **636**, 81 [1926].

5) C. **1934** II, 1492.

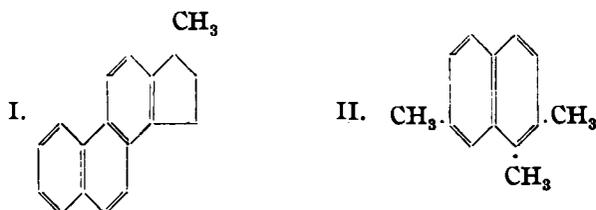
6) z. B. Yanagisawa u. Jakashima.

7) C. **1926** II, 1589; **1927** I, 1707.

8) Tschirsch-Festschr. 1926, 351.

Noch weniger als über die Saponine der Primulaceen ist über die dazugehörigen Gene bekannt. Als krystallin wird nur das Cyclamiretin aus dem Cyclamin⁹⁾ beschrieben. Durch vorsichtige saure Spaltung gelang es uns nun, aus der Elatiorsäure das krystallisierte Sapogenin, das „Elatigenin“, zu isolieren. Es krystallisiert aus Alkohol-Wasser in langen, derben Prismen. Zur weiteren Reinigung wurde es in das Acetat übergeführt, dieses wieder verseift und das Verseifungsprodukt noch einmal in gleicher Weise umgesetzt. So wird aus dem Roh-Elatigenin eine mengenmäßig geringe Verunreinigung abgetrennt, die jedoch die analytischen Daten nicht unerheblich beeinflußt. Das reine Sapogenin besitzt die Formel $C_{32}H_{52}O_3$. Es hat 2 aktive Wasserstoffatome und liefert ein Diacetat und ein Dinitrobenzoat, es gibt bei vorsichtiger Oxydation mit Eisessig-Chromsäure nur neutrale Oxydationsprodukte, so daß die Abwesenheit einer primären OH-Gruppe wahrscheinlich ist. Das dritte O-Atom ist vermutlich oxydisch gebunden, da das Genin mit allen üblichen Ketonreagenzien nicht zur Reaktion zu bringen war. Es gelang ferner nicht, durch katalytische Hydrierung Doppelbindungen nachzuweisen, denn weder das Elatigenin noch das Elatigeninacetat nahm bei der Hydrierung nach Adams-Shriner oder nach Willstätter Wasserstoff auf. Da jedoch eine Benzopersäure-Titration und auch die Jod-Zahl nach Rosenmund-Kuhn¹⁰⁾ etwa 1.5 Atome O bzw. 1.5 Mol. J anzeigten, ist es nicht unwahrscheinlich, daß eine, wenn auch durch Hydrierung nicht nachweisbare, Doppelbindung vorhanden ist.

Nach O. Diels faßt man die Sapogenine in 2 großen Gruppen zusammen, je nachdem sie bei der Selen-Dehydrierung Methylcyclopenteno-phenanthren (I) oder 1.2.7-Trimethyl-naphthalin (II) liefern.



Nach 34-stdg. Erhitzen mit Selen im Metallbade auf 320° lieferte unser Genin als Hauptreaktionsprodukt 1.2.5.6-Tetramethyl-naphthalin (III). Aus der Isolierung dieses Kohlenwasserstoffes folgt, daß auch das Saponin aus *Prim. elat.* nicht zur Gruppe der sterinähnlichen Saponine gehört, die durch Tschesche¹¹⁾ und Jacobs¹²⁾ weitgehend aufgeklärt wurden, sondern zur Gruppe der den Triterpenen wie Betulin (IV) ähnlichen Saponine, denn 1.2.5.6-Tetramethyl-naphthalin ist von Ruzicka und Mitarbeitern¹³⁾ bei der Dehydrierung derartiger Stoffe regelmäßig aufgefunden worden.

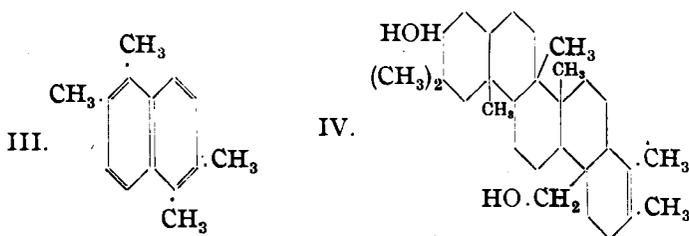
⁹⁾ Dafert u. Fetting, Arch. Pharmaz. **268**, 289.

¹⁰⁾ 25 Jahre Pharm. Inst. Berlin, 1927, 518.

¹¹⁾ z. B. Tschesche u. Hagedorn, B. **68**, 1412 [1935].

¹²⁾ z. B. Jacobs u. Simpson, Journ. biol. Chem. **105**, 501; Journ. Amer. chem. Soc. **51**, 1424.

¹³⁾ Helv. chim. Acta **15**, 431.



Der Zuckeranteil des Saponins enthält die saure Gruppe der Elatior-säure in Form einer Uronsäure. Die quantitative CO_2 -Abspaltung nach Tollens-Lefèvre zeigte, daß $\frac{1}{3}$ des gesamten Zuckeranteils der Uronsäure angehören muß, ein Befund, der in sehr guter Übereinstimmung mit dem Ergebnis der quantitativen Furfurol-Destillation nach Krüger-Tollens-Kröber steht. Auch hier wurde nur $\frac{1}{3}$ des Zuckeranteils als „destillationsfähig“ erkannt. Weiter folgt aus diesem Ergebnis, daß im restlichen Teil keine Pentosen vorhanden sein können. Da auch im Lohnsteinschen Saccharometer mit Hefe keine Vergärung festgestellt werden konnte, sprechen wir die restlichen $\frac{2}{3}$ des Zuckeranteils als ein Disaccharid an. Im übrigen sind Untersuchungen zur Klärung dieser Verhältnisse im Gange. — Zusammenfassend läßt sich über das Saponin aus Prim. elat. also folgendes aussagen: Die Elatiorsäure gehört zur Gruppe der den Triterpenen ähnlichen Saponine. Ihr Genin ist ein pentacyclischer¹⁴⁾, einfach ungesättigter, 2-wertiger Alkohol von der Formel $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_3$, dessen drittes O-Atom vermutlich oxydisch gebunden ist. Im Zuckeranteil ist die saure Gruppe des Saponins als Uronsäure enthalten, daneben kommt aller Voraussicht nach ein Disaccharid vor. Unter diesen Voraussetzungen wäre eine Spaltung der Elatiorsäure folgendermaßen zu formulieren:



Beschreibung der Versuche.

Darstellung des Saponins: 10 kg der geschnittenen Droge werden mit 60 kg Wasser und 0.5 kg Ammoniak-Lösung (d : 0.91) bei gewöhnlicher Temperatur 24 Stdn. gerührt. Dann wird abgepreßt und die Extraktion mit dem Rückstand wiederholt. Die vereinigten Preßsäfte werden auf 80—90° erwärmt und das rohe Saponin mit überschüssiger Salzsäure gefällt. Durch Zentrifugieren, Wiederaufnehmen mit Wasser und erneutes Zentrifugieren wird die Mineralsäure weitgehendst entfernt, dann zu dem Saponinschlamm soviel Alkohol gegeben, daß ein etwa 70-proz. Alkohol entsteht und unter Zusatz von Tierkohle (etwa 5% auf Trockensubstanz bezogen) am Rückflußkühler mehrere Stdn. gekocht. Das farblose Filtrat wird im Vakuum eingengt bis zur Abscheidung des nunmehr körnigen Saponins. Nach dem Absaugen und Trocknen wird in der 5-fachen Menge Methanol gelöst, notfalls noch einmal mit etwas Tierkohle entfärbt, zum Sieden erhitzt und mit überschüssigem alkohol. Ammoniak versetzt. Bei weiterem Erhitzen tritt plötzlich die Abscheidung von kristallisiertem Ammoniumsalz ein in einer Ausbeute von

¹⁴⁾ Bei Ersatz der beiden OH-Gruppen gegen H und O gegen 2 H ergibt sich für den Grundkohlenwasserstoff $\text{C}_{32}\text{H}_{44}$, d. h. 6×2 H-Atome weniger als für den entsprechenden Paraffinkohlenwasserstoff.

80% des angewandten rohen Saponins, d. s. etwa 3.5% der Drogenmenge. Durch Ansäuern und Einengen einer wäßr. alkohol. Lösung des Ammoniumsalzes im Vakuum läßt sich das reine Saponin, die Elatiorsäure, körnig zur Abscheidung bringen.

Die Elatiorsäure bildet farblose, amorphe Körner, ist in Wasser und Äther praktisch unlöslich, in absol. Alkohol schwer, in Methanol viel leichter löslich. Sie liefert mit Cholesterin keine schwer lösliche Additionsverbindung, gibt aber Salze mit anorganischen und organischen Basen. Sie enthält stets wechselnde Mengen von Krystallwasser, deren Entfernung nur unvollkommen gelingt, so daß von einer Auswertung der Analysen abgesehen wurde. Bei der Titration des Saponins mit alkohol. Kalilauge berechnet sich unter Zugrundelegung einer CO_2H -Gruppe ein Mol.-Gew. von 1170—1180. Schmp. 220° (unt. Zers.).

38.4 mg Sbst., 2 ccm Pyridin, $l = 1 \text{ dm}$, α : -1.29° , $[\alpha]_D^{20}$: -67.2° .

36.7 mg Sbst., 2 ccm Methanol, $l = 1 \text{ dm}$, α : -0.55° , $[\alpha]_D^{20}$: -29.9° .

4.478, 4.149 mg Sbst.: 9.545, 8.830 mg CO_2 , 3.240, 3.175 mg H_2O . Gef. C 58.14, 58.04, H 8.10, 8.56.

Ammoniumsalz: Scheidet sich beim Kochen einer Lösung von Elatiorsäure in Methanol mit alkohol. Ammoniak in kleinen Krystallnadeln ab. Unbeständig; in Wasser klar löslich. Schmp. 220° (unt. Zers.).

36.8 mg Sbst., 2 ccm Wasser, $l = 1 \text{ dm}$, α : -0.53° , $[\alpha]_D^{20}$: -28.8° .

6.536 mg Sbst.: 0.057 ccm N (20° , 758 mm). Gef. N 1.0.

Kaliumsalz: Darstellung entsprechend dem NH_4 -Salz. Sehr leicht wasserlöslich. Schmp. 251° (unt. Zers.).

35.6 mg Sbst., 2 ccm Wasser, $l = 1 \text{ dm}$, α : -0.50° , $[\alpha]_D^{20}$: -28.1° .

4.030 mg Sbst.: 8.370 mg CO_2 , 2.800 mg H_2O . — 21.040 mg Sbst.: 1.550 mg K_2SO_4 . Gef. C 56.6, H 7.8, K 3.30.

Selen-Dehydrierung: 25 g rohes Saponin wurden mit 20 g rotem Selen 34 Stdn. im Metallbade auf $320\text{--}340^\circ$ erhitzt. Nach dieser Zeit war die Selenwasserstoff-Entwicklung beendet. Das Reaktionsprodukt wurde 6 Stdn. mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung zur Trockne verdampft und der Rückstand im Vak. destilliert. Bei 20 mm wurden folgende Fraktionen erhalten:

1) von $150\text{--}175^\circ$ 2) von $200\text{--}300^\circ$ 3) Rückstand.

Fraktion 1 nahm mengenmäßig etwa 70% sämtlicher Fraktionen ein, Fraktion 2 etwa 5—10%, Fraktion 3 20—25%. Fraktion 1 wurde noch einmal destilliert. Von einem geringen Vorlauf von $130\text{--}150^\circ/14 \text{ mm}$ abgesehen, ging die gesamte Fraktion von $160\text{--}170^\circ/14 \text{ mm}$ über unter fast völliger Krystallisation des Destillats. Durch Abpressen auf Ton wurde vom anhaftenden Öl befreit und so Krystalle vom Schmp. 107° erhalten. Sie wurden 2-mal aus Methanol umkrystallisiert. Schmp. 116° . Mit konz. Schwefelsäure Gelbfärbung, beim Erwärmen Blaufärbung.

4.463 mg Sbst.: 14.915 mg CO_2 , 3.460 mg H_2O .

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}$ (184.13). Ber. C 91.24, H 8.76.

Gef. „ 91.22, „ 8.68.

Pikrat: Darstellung wie üblich. Lange, rote Nadeln aus Methanol. Schmp. 156° .

4.805 mg Sbst.: 10.180 mg CO_2 , 2.010 mg H_2O . — 2.701 mg Sbst.: 0.245 ccm N (25° , 769 mm).

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}$, $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{N}_3$ (413.17). Ber. C 58.09, H 4.63, N 10.17.

Gef. „ 57.78, „ 4.68, „ 10.44.

Spaltung der Elatiersäure: 20 g Ammoniumsalz werden mit 300 ccm Alkohol und 150 ccm 4-*n*. H₂SO₄ 7 Stdn. am Rückflußkühler gekocht, wobei schon nach 3 Stdn. alles in Lösung gegangen ist. Nach dem Erkalten wird in Wasser gegossen und die Fällung nach einigen Stdn. abgesaugt. Zur Entfernung geringer saurer Anteile (Pro-saponine), die jedoch eine Krystallisation hartnäckig verhindern, wird in Methanol gelöst und mit wenig überschüssigem alkohol. Alkali $\frac{1}{2}$ Stde. erhitzt. Dann wird mit Salzsäure neutralisiert und soviel Wasser zugegeben, daß in der Wärme eine ganz schwach opaleszierende Lösung entsteht. Nach 24 Stdn. wird das auskrystallisierte Sapogenin abgesaugt. Lange Nadeln, die nach 2-maligem Umlösen aus Alkohol-Wasser bei 220° schmelzen und ihre Zusammensetzung durch weitere Umkrystallisation nicht mehr verändern. Die weitere Reinigung geschieht über das Acetat. Ausbeute 10 g.

Elatigenin-diacetat: 5 g Genin vom Schmp. 220° werden in 30 ccm Pyridin gelöst und mit 50 ccm Essigsäure-anhydrid versetzt. Nach 24 Stdn. wird in Wasser gegossen. Das rohe Acetat wird in 40 ccm Eisessig heiß gelöst und mit 10 ccm heißer 50-proz. Essigsäure versetzt. Die nach mehreren Tagen abgeschiedenen Krystalle werden nun aus verdünntem und später aus reinem Methanol umkrystallisiert. Schmp. 212°.

Das Diacetat vom Schmp. 212° wird wie üblich verseift, das Sapogenin isoliert und nochmals wie oben acetyliert. Nach 2-maligem Umkrystallisieren aus Methanol Prismen vom Schmp. 213.5°.

26.5 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, $\alpha: +0.38^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20}: +23.7^{\circ}$.

3.278 mg Sbst.: 9.135 mg CO₂, 2.920 mg H₂O.

Mikro-acetyl (nach Roth). 11.125, 8.133 mg Sbst.: 3.83, 2.79 ccm n_{100} -NaOH. C₃₆H₅₆O₈ (568.4). Ber. C 76.00, H 9.92, CH₃CO 15.13.

Gef. „ 76.00, „ 9.97, „ 14.81, 14.75.

Katalytische Hydrierung: 5.116 mg Sbst., 2.00 ccm Eisessig, 20 mg Platinoxid nach Adams-Shriner. Nach 60 Min. keine H-Aufnahme.

Elatigenin: 5 g Diacetat vom Schmp. 213.5° werden wie üblich verseift. Nach 3-maligem Umkrystallisieren aus Alkohol-Wasser sind lange, farblose Nadeln vom Schmp. 241° entstanden.

24.3 mg Sbst., 2 ccm Pyridin, $l = 1$ dm, $\alpha: +0.31^{\circ}$, $[\alpha]_D^{20}: +25.5^{\circ}$.

Katalytische Hydrierung: 4.800 mg Sbst., 2.00 ccm Eisessig, 21.1 mg Platin-Mohr nach Willstätter. Nach $2\frac{1}{2}$ Stdn. keine H-Aufnahme.

Benzopersäure-Titration: 1.5 Atome O nach 48 Stdn. }
Jod-Verbrauch nach Rosenmund-Kuhnhen: 1.5 Mol. J } Ber. auf Mol.-Gew. 484.

4.746 mg Sbst.: 13.890 mg CO₂, 4.510 mg H₂O.

C₃₂H₅₂O₈ (484.4). Ber. C 79.28, H 10.82. Gef. C 79.82, H 10.63.

9.110 mg Sbst.: 0.77, 1.15 ccm CH₄. — 8.050 mg Sbst.: 0.68, 1.01 ccm CH₄ (18°, Pyridin), nach Zerewitinoff¹⁵⁾.

C₃₂H₅₀O(OH)₂. Ber. 0.84, 0.75 ccm CH₄.

Elatigenin-dinitrobenzoat: 4 g Genin vom Schmp. 220° werden in 30 ccm Pyridin mit der berechneten Menge *p*-Nitrobenzoylchlorid ver-

¹⁵⁾ Von den beiden mitgeteilten Vol. CH₄ wurde das erste gleich (1—2 Min.) nach der Grignardschen Reaktion abgelesen. Da jedoch weitere Gasentwicklung zu beobachten war, wurde das nebenstehende Vol. erst nach dem Stillstand der Gasentwicklung abgelesen (6 Min.). Der 2. Wert ist vermutlich auf eine tiefer in das Molekül eingreifende Reaktion zurückzuführen (Roth).

setzt. Nach 24 Stdn. wird mit Wasser gefällt und so lange mit heißem Wasser verrieben, bis die Fällung bei Wasserbadtemperatur völlig fest geworden ist. Dann wird aus Alkohol mehrfach umkrystallisiert, hierauf aus wäßr. Aceton, mit Äther ausgekocht und der Rückstand endlich aus Dioxan-Methanol im Verhältnis 1:25 umkrystallisiert. Farblose, seidenweiche Nadeln vom Schmp. 245°.

21.8 mg Sbst., 2 ccm Chloroform, $l = 1$ dm, $\alpha: +0.44^\circ$, $[\alpha]_D^{20}: +40.4^\circ$.

4.934, 4.230 mg Sbst.: 12.730, 10.895 mg CO₂, 3.370, 2.835 mg H₂O. — 3.204, 4.065 mg Sbst.: 0.105, 0.138 ccm N (25°, 23°, 755, 735 mm).

C₁₆H₂₈O₈N₂ (782.5). Ber. C 70.54, H 7.47, N 3.58.

Gef. „ 70.37, 70.25, „ 7.65, 7.50, „ 3.73, 3.79.

Untersuchung des Zuckeranteils: Die bei der Saponin-Spaltung anfallende schwefelsaure wäßr. Lösung wird mit Bariumhydroxyd genau neutralisiert und dann im Vak. zur Trockne gebracht. Der Rückstand zeigt starke Fehling-Reaktion, positiv verlaufen auch die Biallsche Probe und die Phloroglucin-Reaktion nach Wheeler-Tollens, bei der die rotviolette Färbung in der für Uronsäuren charakteristischen Weise mit Äther ausschüttelbar ist. Die Seliwanoffsche Probe auf Ketosen fällt negativ aus. Im Lohnsteinschen Saccharometer wurde keine Vergärung festgestellt.

16.4 mg Sbst., 2 ccm Wasser, $l = 1$ dm, $\alpha: +0.14^\circ$, $[\alpha]_D^{20}: +17.1^\circ$.

Quantitat. Furfurol-Dest. und Phloroglucid-Best.: 0.9340, 1.8990 g Sbst. (Zuckeranteil Ba-frei), 0.1007, 0.2362 g Phloroglucid, d. s. 32.5, 37.3% bezogen auf Gesamtzucker.

Quantitat. CO₂-Abspaltung: 0.401, 0.370 g Sbst. (Zuckeranteil Ba-frei), 0.0358, 0.0350 g CO₂, d. s. 35.7, 33.4% bezogen auf Gesamtzucker.

277. A. Binz und O. v. Schickh: Pyridin-3-arsinsäure und verwandte Verbindungen¹⁾.

[Aus d. Chem. Institut d. Landwirtschaftl. Abteil. d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 18. Mai 1936.)

Die Pyridin-3-arsinsäure (I) ist als Stammsubstanz der arsenierten Pyridin-Verbindungen von theoretischem Interesse. Die Darstellung wurde zuerst von Binz und Räth versucht²⁾ und zwar von 2-Chlor-5-amino-pyridin aus, nachdem die Arsenierung des damals schwer zugänglichen 3-Aminopyridins auf dem Diazoweg nach Bart nur sehr geringe Ausbeute ergeben hatte. Das 2-Chlor-5-amino-pyridin wurde mit Hydrazin umgesetzt; die so entstandene 2-Hydrazino-pyridin-5-arsinsäure liefert bei der Oxydation Pyridon-5- bzw. 3-arsinsäure. Das so gewonnene Präparat war, wie im Versuchsteil der vorliegenden Arbeit dargelegt wird, wahrscheinlich mit 2-Pyridon-5-arsinsäure verunreinigt, welche sich als unerwünschtes Nebenprodukt sowohl bei der Darstellung wie auch bei der Oxydation der 2-Hydrazino-pyridin-5-arsinsäure einschleichen kann.

In unzweifelhaft reiner Form haben McClelland und Wilson die Pyridin-3-arsinsäure nach dem Bartschen Verfahren aus 3-Amino-pyridin dargestellt³⁾, aber in einer Ausbeute von nur 6%.

¹⁾ 20. Mitteil. zur Kenntnis des Pyridins von A. Binz u. C. Räth (19. Mitteil.: Angew. Chem. 48, 425 [1935]).

²⁾ A. Binz u. C. Räth, A. 467, 11 [1928].

³⁾ Journ. chem. Soc. London 1932, 1497.