

### 312. Kurt Maurer, Karl Meier und Georg Reiff: Über die Inhaltstoffe von *Herba gratiola officinalis* (Gottesgnadenkraut). I.

[Aus d. organ. u. ehemals pharmazeut. Abteil. d. Chem. Laborat. d. Universität Rostock.]  
(Eingegangen am 19. September 1939.)

Das Gottesgnadenkraut aus der Familie der Scrophulariaceen gehört zu den alten Hausmitteln unseres Arzneischatzes und wächst in Mittel- und Süd-Europa in Wiesen und feuchten Niederungen.

Seine Inhaltstoffe sind früher Gegenstand verschiedener Untersuchungen gewesen, von denen die Arbeiten von Walz und von G. F. Retzlaff<sup>1)</sup> die wichtigsten sind. Man findet dort eine Reihe isolierter Verbindungen angegeben, so die Glykoside Gratiolon und Gratiolosin, deren hydrolytische Spaltung beschrieben wurde, während über die Natur des Aglykons nichts ausgesagt werden konnte. Als Gratiolacrin wurde eine harzartige und als Gratioloin eine fettähnliche Substanz bezeichnet, die beide nicht näher charakterisiert sind. Schließlich hat Retzlaff das Gratiolon als ätherlöslichen Stoff beschrieben, der der Terpenreihe nahestehen soll. Auch für diesen fehlt aber eine eingehende Untersuchung.

Um die Konstitution dieser Verbindungen studieren zu können, wurden bereits 1934 Isolierungsversuche mit K. v. Osten<sup>2)</sup> unternommen. Mit diesen Erfahrungen haben wir jetzt als erste Substanz das Gratiolon rein dargestellt und untersucht. Weiterhin wurde das Glykosid Gratiolin gewonnen, dessen glykosidische Natur nachgeprüft wurde. Die Namengebung der früheren Autoren ist beibehalten worden.

Das Gratiolon läßt sich aus der getrockneten pulverisierten Droge durch Äther ausziehen. Es krystallisiert aus Methanol in langen glänzenden Nadeln, sublimiert im Vakuum und kann dadurch gut gereinigt werden. Es schmilzt bei 311—312°. Es ist optisch aktiv, und zwar dreht es schwach nach rechts.

Retzlaff gibt für das Gratiolon eine Reihe von Analysen an, die auf die Formel  $C_{10}H_{16}O$  hinweisen. Wir fanden die gleiche Zusammensetzung, die allerdings zu verdreifachen ist wie auch schon Retzlaff vermutet. Gratiolon besitzt daher die Bruttoformel  $C_{30}H_{48}O_3$ . Das Molekulargewicht läßt sich nach Rast bestimmen und wurde weiter durch die Untersuchung verschiedener Derivate bestätigt.

Die drei Sauerstoffatome des Gratiolons sind leicht zu charakterisieren. Zwei davon gehören einer Carboxylgruppe an. Durch Titration läßt sich das Äquivalentgewicht leicht feststellen. Die Alkalisalze haben große Neigung zur Gallertbildung und geben infolgedessen stark schäumende Lösungen. Mit Diazomethan erhält man glatt einen Monomethylester, der gut krystallisiert und auffallend schwer zu spalten ist (tertiär gebundenes Carboxyl).

Das dritte Sauerstoffatom liegt als alkoholisches Hydroxyl vor. Gratiolon läßt sich acetylieren, die Monoacetylverbindung (Schmp. 285°) bestätigt durch quantitative Verseifung die Formel  $C_{30}H_{47}O_3 \cdot CO \cdot CH_3$ .

Gratiolon ist demnach eine Monoxy-monocarbonsäure der Formel  $C_{29}H_{46}(OH) \cdot CO_2H$ .

Diese Angaben weisen darauf hin, daß Gratiolon in die Reihe der Triterpene gehört, denn wir finden dort eine Reihe von Naturstoffen gleicher Zusammensetzung. Der am besten untersuchte Vertreter ist die Oleanolsäure.

<sup>1)</sup> G. F. Retzlaff, Arch. Pharmaz. 240, 561 [1902], dort auch die ältere Literatur.

<sup>2)</sup> Dissertat. Jena 1934.

Diese Gruppe von Pflanzensäuren ist in den letzten Jahren durch die Arbeiten von Ruzicka, Winterstein, Kitasato und anderen näher erforscht worden. Wir haben daher zur Kennzeichnung des Gratiolons als Triterpen eine Reihe von Reaktionen herangezogen. Gratiolon gibt in Chloroform mit Tetranitromethan eine intensive Gelbfärbung. Dies spricht für eine Doppelbindung. Die quantitative Bestimmung erfolgte mit Benzopersäure, wobei genau ein Atom Sauerstoff verbraucht wurde.

Gratiolon nimmt bei der Bromierung ein Molekül Brom auf unter Entwicklung von Bromwasserstoff. Das kristallisierte Bromderivat enthält nur ein Atom Brom und zeigt keine sauren Eigenschaften mehr. Die Untersuchung ergab, daß es sich um ein Bromlacton handelt, wie es auch die Oleanolensäure, das Hederagenin und ähnliche Stoffe bilden. Das Bromlacton des Gratiolons läßt sich mit Zinkstaub in Aceton wieder in Gratiolon zurückverwandeln. Dieses gibt mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr, enthält jedoch noch die freie Hydroxylgruppe, wie die Darstellung eines Monoacetylderivates bewies.

Oxydiert man das Bromlacton mit Chromsäure, so wird aus der Hydroxyl- eine Keto-gruppe gebildet. Diese ist durch die Bildung eines Oxims sichergestellt.

Vergleicht man die physikalischen Konstanten des Gratiolons und seiner Derivate mit denen anderer Triterpensäuren der Formel  $C_{30}H_{48}O_3$ , so findet man nirgends Übereinstimmung. Das Gratiolon ist demnach ein neuer Vertreter dieser Naturstoffgruppe und soll später weiter untersucht werden.

Folgende Tafel gibt eine Zusammenstellung der Konstanten des Gratiolons, seiner Derivate und Umwandlungsprodukte.

	Schmp.	$[\alpha]_D$ :
Gratiolon .....	311—312 <sup>0</sup>	+ 5.7 <sup>0</sup>
Monoacetyl-gratiolon .....	268 <sup>0</sup>	+ 20.4 <sup>0</sup>
Gratiolon-methylester .....	220 <sup>0</sup>	+ 5.0 <sup>0</sup>
Acetyl-gratiolon-methylester .....	197 <sup>0</sup>	—
Gratiolon-bromlacton .....	257 <sup>0</sup>	schwach rechtsdrehend
Acetyl-bromlacton .....	186 <sup>0</sup>	+ 12.5 <sup>0</sup>
Keton aus dem Bromlacton .....	239 <sup>0</sup>	—
Oxim des Ketons .....	188 <sup>0</sup>	— 5.5 <sup>0</sup>

### Beschreibung der Versuche.

Gewinnung des Gratiolons: 2 kg *Herba gratiola officinalis* pulv. wurden mit 5 l Äther im Perkolator übergossen und nach 48 Stdn. langsam abtropfen gelassen. Diese Behandlung wurde 3—4-mal wiederholt, bis nach dem Abdampfen des Äthers kein nennenswerter Rückstand mehr blieb. Man erhielt aus dem Äther etwa 14 g Trockenrückstand. Das Rohprodukt war dunkelgrün gefärbt, von wachsartiger Konsistenz und zum Teil schon kristallisiert. Es wurde im Soxhlet mit Petroläther erschöpft ausgezogen und der ungelöste und nur noch schwach grüne Rückstand mehrmals aus Methanol mit Tierkohle umkristallisiert. Man erhielt lange farblose Nadeln, die bei 311—312<sup>0</sup> schmolzen. Ausb. im Mittel 5 g.

Gratiolon läßt sich bei 15 mm und einer Badtemperatur von 240—260<sup>0</sup> sublimieren. Der Schmelzpunkt wurde dadurch nicht mehr erhöht. Alle angegebenen Schmelzpunkte sind im Kupferblock bestimmt und nicht korrigiert. Die Verbindung ist in Wasser und Petroläther unlöslich, in Äther,

Methanol und Äthanol schwer löslich und mäßig löslich in Chloroform und Eisessig.

0.0320, 0.0225 g Sbst.: 0.0925, 0.0651 g CO<sub>2</sub>, 0.0301, 0.0212 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 78.94, H 10.54. Gef. C 78.84, 78.91, H 10.52, 10.54.

Mol.-Gew. Best. nach Rast: Ber. 456. Gef. 454, 456.

Durch Titration in methylalkoholischer Lösung mit  $n/_{10}$ -alkoholischer Kalilauge wurde ein Mol.-Gew. von 457 und 452 gefunden.

0.1052 g wurden zu 5 ccm Pyridin gelöst. 2-dm-Rohr.  $\alpha$ : 0.24°.  $[\alpha]_D^{20}$ : +5.7°.

Acetyl-gratiolon. Gratiolon läßt sich unter den verschiedensten Bedingungen acetylieren. Kocht man 1 g 1 Stde. mit Acetanhydrid und Natriumacetat und trägt in Wasser ein, so scheidet sich die Acetylverbindung ab. Aus Methanol unter Zusatz von etwas Wasser in der Hitze erhält man schöne Nadeln. Ausb. 0.9 g. Gut löslich in Chloroform.

0.0184 g, 0.0212 g Sbst.: 0.0520, 0.0602 g CO<sub>2</sub>, 0.0156, 0.0190 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>32</sub>H<sub>50</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 77.05, H 10.03. Gef. C 77.08, 77.26, H 9.49, 10.03.

0.1023 g Acetyl-gratiolon wurden zu 5 ccm Chloroform gelöst. 2-dm-Rohr.  $\alpha$ : +0.82.  $[\alpha]_D^{20}$ : +20.4.

Die Acetylbestimmung wurde nach der Methode von Freudenberg vorgenommen. Ber. 8.8% Acetyl, gef. 8.2% Acetyl.

Gratiolon-methylester: 1 g Gratiolon wurde in 100 ccm Äther gelöst, mit einer ätherischen Lösung von frisch bereitetem Diazomethan im Überschuß versetzt und 2 Tage stehen gelassen. Nach beendeter Stickstoffentwicklung wurde die Lösung mit verd. Sodalösung gewaschen, getrocknet und in der Kälte abgedampft. Der Rückstand wurde aus Methanol umkrystallisiert. Schmp. 220°. Ausb. 1 g.

Der Äther ist gut löslich in Chloroform und Äther.

0.0729, 0.0615 g Sbst.: 0.2103, 0.1795 g CO<sub>2</sub>, 0.0590, 0.0590 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>31</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 79.08, H 10.71. Gef. C 78.7, 79.05, H 10.59, 10.83.

0.1295 g Methylester werden zu 5 ccm Chloroform gelöst. 2-dm-Rohr.  $\alpha$ : 0.26°.  $[\alpha]_D^{20}$ : 5.0°.

Acetyl-gratiolon-methylester: 0.5 g Acetyl-gratiolon wurden in 50 ccm Methanol gelöst, mit ätherischer Diazomethanlösung im Überschuß behandelt, eingedampft und der Rückstand zunächst mit Äther aufgenommen. Nach gründlichem Waschen mit Sodalösung und Trocknen wurde der Äther verjagt und das Produkt aus Methanol umkrystallisiert. Ausb. 0.45 g. Schmp. 197°. In Chloroform, Äther und Eisessig gut löslich.

0.0254, 0.0344 g Sbst.: 0.0717, 0.0972 g CO<sub>2</sub>, 0.0235, 0.0324 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>33</sub>H<sub>53</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 77.14, H 10.40. Gef. C 77.0, 77.06, H 10.35, 10.54.

Bestimmung der C=C-Bindung. 0.100 g Gratiolon wurde in einem Gemisch von 15 ccm Chloroform und 25 ccm Methanol gelöst, und Benzopersäure im Überschuß, in Chloroform gelöst, zugesetzt. Nach 150 Stdn. kam die Reaktion bei 3° zum Stillstand. Verbraucht waren 0.035 g Sauerstoff, ber. für 1 Atom Sauerstoff 0.035 g.

Eine Probe Gratiolon, in Chloroform gelöst, gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.

Bromierung des Gratiolons. 1.0 g Gratiolon wurde in 50 ccm eines Gemisches von Methanol und Tetrachlorkohlenstoff (2:1) gelöst und mit einer Lösung von Brom in Tetrachlorkohlenstoff versetzt. Verbraucht wurden 0.37 g Brom. Diese Menge entspricht 1 Mol. Zum Schluß wurde die Lösung leicht erwärmt. Die schwach gelbe Lösung wurde bei niedriger Temp.

eingedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen und mehrfach mit Wasser durchgewaschen. Nach dem Trocknen mit Calciumchlorid wurde eingedampft und aus Methanol umkrystallisiert. Das Bromlacton krystallisiert auch sehr gut aus viel heißem Chloroform in glänzenden weißen Blättchen. Ausb. 1 g. Schmp. 257°.

0.0254, 0.0260 g Sbst.: 0.0626, 0.0642 g CO<sub>2</sub>, 0.0197, 0.0205 g H<sub>2</sub>O. — 0.0449 g Sbst.: 0.0160 g AgBr.

C<sub>30</sub>H<sub>47</sub>O<sub>3</sub>Br. Ber. C 67.38, H 8.87, Br 15.17. Gef. C 67.22, 67.25, H 8.68, 8.82, Br 14.95.

In Dioxan zeigt das Bromlacton ganz schwache Rechtsdrehung. Mit Tetranitromethan tritt keine Gelbfärbung mehr ein.

Das Gratiolon-bromlacton ist leicht löslich in heißem Alkohol, Methanol und Eisessig, gut löslich in Pyridin und schwer löslich in kaltem Methanol und Chloroform.

Rückverwandlung in Gratiolon. 0.5 g Bromlacton wurden mit 5 g Zinkstaub in 50 ccm Aceton 15 Stdn. unter Rückfluß gekocht, heiß filtriert und in Wasser gegossen. Der Niederschlag wurde aus Aceton, dann aus Methanol umkrystallisiert. Ausb. 0.45 g. Das erhaltene Produkt war halogenfrei. Schmp. 311°. Mischschmp. 311°.

Acetylierung des Bromlactons. 0.2 g wurden mit 10 ccm Acetanhydrid über freier Flamme kurz aufgeköcht, über Nacht stehen gelassen und dann mit Wasser versetzt. Das getrocknete Rohprodukt wurde in wenig Chloroform gelöst und mit überschüssigem Methanol versetzt. Die in feinen Nadelchen krystallisierende Substanz schmolz bei 186°. 0.1998 g wurden zu 20 ccm Chloroform gelöst.  $\alpha$ : +0.24°.  $[\alpha]_D^{25}$ : +12.5°.

Zur Brombestimmung wurden 0.2213 g Sbst. 4 Stdn. mit 40 ccm *n.* alkoholischer Kalilauge gekocht, dann in der üblichen Weise das Bromsilber gefällt und gewogen. Ber. Br 13.84, gef. Br. 13.33.

Hydrolyse des Bromlactons. 1 g Bromlacton wurde mit 10 ccm *n.* alkoholischer Kalilauge 4 Stdn. erwärmt, dann in Wasser gegossen und mit Salpetersäure eben angesäuert. Der ausgeschiedene Niederschlag wurde nach gutem Auswaschen aus Methanol mehrfach umkrystallisiert. Schmp. der bei 110° getrockneten Substanz 239° (Zers.). Ausb. 0.7 g. Die Verbindung wurde noch nicht näher untersucht. Sie ist halogenfrei.

Oxydation des Bromlactons zum Keton. 2 g Gratiolon-bromlacton wurden in 200 ccm Eisessig gelöst und tropfenweise mit einer Lösung von 0.6 g CrO<sub>3</sub> (2 Atome Sauerstoff) in 30 ccm Eisessig versetzt. Das Gemisch blieb 24 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen und wurde nach Zerstörung von wenig unverbrauchter Chromsäure mit Methanol im Vak. zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und mit Wasser gründlich ausgewaschen. Nach dem Eindampfen wurde die Substanz mehrmals aus Methanol umkrystallisiert. Schmp. des Ketons 232°. Ausb. 1.5 g.

Darstellung des Oxims. Zur Charakterisierung des Ketons wurde 1 g mit 1 g Hydroxylaminchlorhydrat und 1.4 g geschmolzenem Kaliumacetat in 25 ccm absol. Alkohol 5 Stdn. rückfließend gekocht. Nach dem Abfiltrieren des Rückstandes wurde dieser noch einmal mit heißem Alkohol ausgezogen und die Alkohollösung in Wasser gegossen. Das ausgeschiedene Produkt wurde aus 50-proz. Methanol mehrmals umkrystallisiert. Das Oxim schmolz bei 188°. Ausb. 0.85 g.

6.262 mg Sbst.: 0.145 ccm N, 21°, 766 mm.

C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>N Br. Ber. N 2.63. Gef. 2.71.

0.0452 g Oxim zu 5 ccm Chloroform gelöst, 2-dm-Rohr.  $\alpha$ : -0.10°.  $[\alpha]_D^{25}$ : -5.5°.