

Die Menge der aromatischen Aminosäuren, die von 2 g Kohle unter den beschriebenen Bedingungen festgehalten wird, beträgt etwa 2.6 mg N. Zur Ermittlung dieser Höchstgrenze wurde die Säule mit einem Überschuß eines Gemisches der drei aromatischen Aminosäuren versetzt und der nach Elution mit 50 ccm 5-proz. Essigsäure in der Säule verbliebene Rest bestimmt.

Angewandte Menge: 1.155 mg Tryptophan-N + 0.778 mg Tyrosin-N + 0.797 mg Phenylalanin-N = 2.730 mg Gesamt-N. Hiervon adsorbiert 2.628 mg N.

b) Trennung des Glykokolls und Serins von Alanin, Valin, Leucin, Iso-leucin und Prolin.

Die 10-proz. Formaldehyd-Lösung wird aus dem käuflichen 40-proz. Formalin (Schering) hergestellt, nachdem dieses vorher durch Destillation bei gewöhnlichem Druck gereinigt ist. Die Konzentration des stickstofffreien Destillats beträgt etwa 30 Gew.-%. 100 ccm der 10-proz. Formaldehyd-Lösung dürfen nach der Veraschung keine nachweisbare Stickstoffmenge enthalten. Die 10-proz. Formaldehyd-Lösung wird mit einigen Tropfen Phenolphthaleinlösung versetzt und mit 1-n. KOH auf blaßrosa titriert. Das  $pH$  dieser Lösung beträgt mit der Glaselektrode gemessen etwa 8.5. Aluminiumoxyd reinst wasserfrei (Merek) wird nach der Vorschrift von Th. Wieland<sup>3)</sup> mit HCl vorbehandelt.

Ausführung der Trennung: Die Trennung wird zweckmäßig mit 20 g des vorbehandelten Aluminiumoxyds durchgeführt, die in ein Chromatographierohr von 17 mm Durchmesser und 300 mm Länge eingefüllt werden. Man spült die Säule vor der Adsorption mit 100 ccm der neutralisierten 10-proz. Formaldehyd-Lösung. Das Gemisch der Aminosäuren wird in höchstens 5 ccm 10-proz. Formaldehyd-Lösung, die ebenfalls mit 1-n. KOH neutralisiert ist, zur Adsorption gebracht. Nachdem die Lösung in die Säule eingedrungen ist, spült man das Röhrchen 2-mal mit je 3 ccm Formaldehyd-Lösung und eluiert dann mit weiteren 94 ccm (insgesamt 100 ccm) der neutralisierten Formaldehyd-Lösung, die in einem 100-ccm-Meßkolben aufgefangen wird. Nach dem Wechsel der Vorlage werden das Serin und Glykokoll mit 50 ccm 0.5-n. Kalilauge eluiert.

Um zu prüfen, welche Mengen an Glykokoll und Serin unter den angegebenen Bedingungen noch sicher festgehalten werden, wurde eine Säule aus 10 g Aluminiumoxyd mit einem Überschuß an Glykokoll und Serin versetzt und mit 50 ccm 10-proz. Formaldehyd-Lösung ausgewaschen. Bei einem Versuch mit Glykokoll verblieben in der Säule 0.78 mg N, was einer Menge von 4.18 mg Glykokoll entspricht. Bei einem Versuch mit Serin verblieben in der Säule 1.63 mg N (= 12.3 mg Serin).

## 59. Géza Zemplén, Rezső Bognár und Iván Székely: Synthese des Salipurposids und des Isosalipurposids.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Techn. Universität Budapest.]  
(Eingegangen am 9. Februar 1943.)

Bei den chemischen Untersuchungen über Salix-Arten fanden Charaux und Rabaté<sup>1)</sup> in der Rinde der *Salix purpurea* L. außer dem längst bekannten Salicin zwei neue Glykoside, die sie mit den Namen Salipurposid bzw. Isosalipurposid<sup>2)</sup> belegten. Das letztgenannte Glykosid begleitet nur in den älteren Rinden der Bäume das Salipurposid.

Beide Verbindungen gaben bei der Hydrolyse mit 2-proz. Schwefelsäure als Zuckerkomponente *d*-Glucose und als Aglykon das sogenannte Salipurpol, das bei den späteren Untersuchungen der Autoren als Naringenin

<sup>1)</sup> Compt. rend. Acad. Sciences **192**, 1478 [1931].

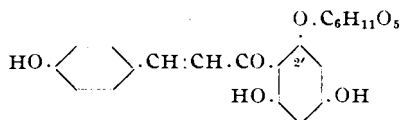
<sup>2)</sup> Compt. rend. Acad. Sciences **196**, 816 [1933].

erkannt wurde. Dieselben Komponenten entstehen bei der Einwirkung von Emulsin, so daß beide Glykoside der  $\beta$ -Reihe angehören.

Die Entdecker der beiden Glykoside stellten noch fest, daß beide Glykoside beim alkalischen Abbau dieselben Spaltstücke: Phloroglucin und *p*-Cumarsäure ergeben<sup>3)</sup> und daß die Bruttoformeln beider Glykoside dieselben und nur um zwei Wasserstoffatome ärmer sind, als diejenigen des Phlorrhizins. Da die katalytische Hydrierung des Naringenins zu Phloretin damals schon bekannt war<sup>4)</sup>, bezeichneten sie beide Glykoside als Dehydrophlorrhizine. Sie dachten an eine Chalkon-Flavanon-Isomerie und glaubten, daß Salipurposid ein Chalkon-, Isosalipurposid dagegen ein Flavanon-glykosid wäre, ohne Beweismaterial für diese Begründung vorzulegen. Vor Beginn unserer Untersuchungen war die Haftstelle der Glucose an dem Naringenin ebenfalls noch unbekannt.

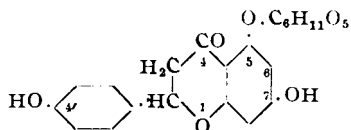
Wir begannen unsere Untersuchungen mit der Darstellung des Salipurposids. Um die Beziehungen zwischen Salipurposid und Phlorrhizin aufzuklären, versuchten wir, das Glykosid in alkoholischer Lösung in Gegenwart von Palladium-Kohle zu hydrieren. Dabei entsteht glatt und in vorzüglicher Reinheit das natürliche *o*-Phlorrhizin, so daß damit die Stellung der Zuckerkomponente ermittelt wurde.

Die nähere Untersuchung des zur Synthese des natürlichen Phlorrhizins<sup>5)</sup> benutzten Naringenin-*d*-glucosid-(2') (Chalkons) (I) führte zu der überraschenden Erkenntnis, daß es identisch mit Isosalipurposid ist.



I. Naringenin-glucosid-(2') (Chalkon-Form) = Isosalipurposid.

Das Chalkon geht beim Erwärmen mit Natriumacetat-Lösung leicht in das Flavanon-glycosid über. Dieses Naringenin-glucosid-(5) (Flavanon) (II) ist mit Salipurposid identisch.



II. Naringenin-glucosid-(5) (Flavanon-Form) = Salipurposid.

Daraus folgt, daß die beiden Glykoside tatsächlich in Chalkon-Flavanon-Isomerie zueinander stehen, jedoch ist die Sachlage gerade umgekehrt zu derjenigen, die von den Entdeckern vermutet wurde.

<sup>3)</sup> Bull. Soc. Chim. biol. **73**, 814 [1931].

<sup>4)</sup> K. W. Rosenmund u. M. Rosenmund, B. **61**, 2608 [1928].

<sup>5)</sup> G. Zemlén u. R. Bognár, B. **75**, 1040 [1942].

Zur Vervollständigung der Beziehungen zwischen den beiden Glykosiden haben wir noch das Salipurposid mit Hilfe von Kalilauge in Isosalipurposid übergeführt.

Die Konstanten der natürlichen und der synthetischen Verbindungen sind in folgender Tafel zusammengestellt:

Name der Verbindung	Schmelz-			Krystallwasser	
	punkt	in Alkohol	in Pyridin	Gef.	Ber.
Salipurposid (natürl.) . . . . .	227°	111,3°	- 86,0°	5,42%	
.. (synthet.) . . . . .	227°	111,8°	- 86,6°	..	1,5 Mol. H <sub>2</sub> O:
.. (Lit.) <sup>1)</sup> . . . . .	227° (Block)	109,72°	..	..	5,85%
Isosalipurposid (natürl.) . . . . .	172-173°	- 20,05°	- 8,1°	7,85%	Auf 2
.. (synthet.) . . . . .	173-174°	19,8°	- 7,8°	..	Mol. H <sub>2</sub> O:
.. (Lit.) <sup>2)</sup> . . . . .	173-174°	- 20,6°	- 8,2°	7,8%	7,8%
.. (Lit.) <sup>3)</sup> . . . . .	175° (Block)	19,01°	..	6,5%	
Hexaacetyl-salipurposid (natürl.) . . . . .	184°	..	- 51,4°	..	
(synthet.) . . . . .	183-184°	..	- 51,8°	..	

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

### Beschreibung der Versuche.

#### Darstellung des Salipurposids.

A) 2,2 kg der frischen Rinde von *Salix purpurea* werden zu 2--3-cm-Stücken geschnitten und in einem Aluminium-Extraktionsapparat 12 Stdn. mit absol. Alkohol extrahiert. Die alkohol. Lösung setzt nach 24-stdg. Verweilen in der Kälte eine grünliche Gallerte ab, wovon abfiltriert wird. Die Lösung wird im Vak. eingedampft, der Rückstand in 1 l Wasser von 60--70° gelöst und noch lauwarm mit je 100 ccm Benzol wiederholt ausgeschüttelt, bis das Chlorophyll vollkommen entfernt ist. Die hellbraune Lösung setzt beim Verweilen im Eisschrank langsam, beim Impfen rascher gelbe Krystalle ab. Abgesaugt, mit Wasser gewaschen, bei Zimmertemp. getrocknet und aus rund 600 ccm heißem Wasser unter Verwendung von Kohle umgelöst: 11,5 g. Nochmals aus Wasser, dann aus 10--15-proz. Alkohol, endlich wieder aus Wasser umkrystallisiert: Blaßgelbliche Nadelchen, die unter dem Mikroskop farblos erscheinen.

Schmp. 227° nach Bräunung ab 223°.

$[\alpha]_D^{25}$ :  $-0,84^\circ \times 25 / 2,2 = 0,0858$  (in 96-proz. Alkohol),  $-0,88 \times 5 = 0,0512$  =  $-86,0^\circ$  (in Pyridin).

0,4586 g verlieren in der Vakuumpistole bei 100° 0,0248 g = 5,4% H<sub>2</sub>O.

Ber. für 1,5 Mol. Krystallwasser: 5,85% H<sub>2</sub>O.

B) 2,000 g Salixrinde werden in Gegenwart von Calciumcarbonat mit absol. Alkohol extrahiert. Bei der Verarbeitung nach A) werden 10,5 g Salipurposid vom Schmp. 227° erhalten.

## Hydrolyse des Salipurposids.

0.2101 g Salipurposid werden mit 15 ccm 2-proz. Schwefelsäure 2 Stdn. am Rückflußkühler gekocht. Nach 18-stdg. Aufbewahren im Eis-schrank werden 0.1248 g Naringenin abfiltriert (Th. 0.1252 g). Die Mutter-lauge enthält polarimetrisch bzw. durch Reduktion ermittelt 0.080 g Glucose (ber. 0.084 g). Das Aglykon wird aus 50-proz. Alkohol umgelöst. Farblose Nadelchen, Schmp. 247—248°. Mit synthetischem Naringenin keine Schmelz-punktserniedrigung.

Hexaacetyl-salipurposid,  $C_{33}H_{37}O_{16}$  (666.58).

0.4 g Salipurposid werden mit 10 ccm Essigsäureanhydrid und 10 ccm Pyridin bei Zimmertemperatur 24 Stdn. acetyliert, das Reaktions-gemisch im Vak. verdampft, mit Alkohol mehrmals wiederum verdampft und der Rückstand aus heißem Alkohol 3-mal umkrystallisiert. 0.35 g farb-lose Nadelchen, Schmp. 185°.

$\alpha_D^{20}$ : 0.55°  $\pm$  0.0536      51.4° (in Pyridin).

## Katalytische Hydrierung des Salipurposids zu Phlorrhizin.

In einem Schüttelapparat werden 0.2—0.3 g Palladium-Kohle in 20 ccm Alkohol mit Wasserstoff gesättigt, dann 0.8 g Salipurposid in 30 ccm Alkohol suspendiert zugegeben, mit 10 ccm Alkohol nachgespült und hydriert. In 1 Stde. werden 39 ccm Wasserstoff verbraucht. Das Filtrat wird im Vak. verdampft, der Rückstand in 40 ccm warmem Wasser aufgenommen, mit Kohle geklärt und filtriert. Beim Erkalten beginnt bald die Ausscheidung von feinen, langen, farblosen Nadelchen; 0.5 g. Schmp. 109°. Der Misch-schmelzpunkt mit natürlichem Phlorrhizin zeigte keine Erniedrigung.

$\alpha_D^{20}$ :  $1.04^\circ \times 10^{-1}$  0.1992      52.2° (in 96-proz. Alkohol). Lit.  $\alpha_D^{20}$ : 52.10° (in 96-proz. Alkohol).

0.2 g der hydrierten Verbindung werden mit 10 ccm 2-proz. Salzsäure 3 Stdn. auf dem Wasserbad erwärmt. Bald beginnt die Ausscheidung von feinen, etwas rosafarbenen Nadelchen des Phloretins. Nach einigen Stdn. werden sie abgesaugt, dann in 5 ccm Aceton gelöst und mit 35 ccm warmem Wasser versetzt. Nach dem Erkalten werden die Krystalle abgesaugt und mehrmals, wie vorher, umgelöst. Erhalten 0.05 g, Schmp. 257°. Der Misch-schmelzpunkt mit einem aus natürlichem Phlorrhizin gewonnenen Phloretin zeigt keine Erniedrigung.

## Synthetisches Salipurposid (II).

Umwandlung von [2'.4'.6'-Trioxy-phenyl]-[4-oxy-styryl]-keton-glucosid-(2') zu 5.7.4'-Trioxy-flavanon-glucosid-(5),  $C_{21}H_{22}O_{10}$  (434.39);  
 $C_{21}H_{22}O_{10} + 1.5H_2O \rightarrow (461.10)$ .

A) 0.20 g Naringenin-glucosid-(2') (Chalkon-Form) (I) werden in 5 ccm Wasser auf dem Wasserbad gelöst und 0.8 g Natriumacetat zu-gefügt, dann die gelbbraune Lösung weiter erwärmt, wobei die Farbe fort-während heller wird. Nach  $\frac{1}{2}$  Stde. wird mit 10 ccm Wasser verdünnt, die krystallisierte Ausscheidung nach 24 Stdn. abgesaugt, mit Wasser gewaschen

und aus verd. Alkohol (Kohle) umkrystallisiert. Fast farblose Nadelchen (0.10 g), Schmp. 227°. Der Mischschmelzpunkt mit natürlichem Salipurposid zeigt keine Erniedrigung. Mit konz. Salzsäure entsteht keine Rotfärbung.

$$\alpha_{\text{D}}^{25}: \quad -0.22^\circ \times 10/0.0196 = -112.2^\circ \quad (\text{in } 96\text{-proz. Alkohol}), \quad -0.71^\circ \times 5/0.0410 \\ = -86.6^\circ \quad (\text{in Pyridin}).$$

B) 0.40 g Naringenin-glucosid-(2') (Chalkon-Form) werden unter den bei A) angegebenen Bedingungen in Salipurposid übergeführt. Erhalten 0.24 g vom Schmp. 227°.

$$\alpha_{\text{D}}^{25}: \quad -0.70^\circ \times 25/2.2 \times 0.0712 = -111.8^\circ \quad \text{in } 96\text{-proz. Alkohol.}$$

Synthetisches Salipurposid gibt bei der Acetylierung mit Essigsäureanhydrid und Pyridin farblose Nadelchen vom Schmp. 183—184°. Der Mischschmelzpunkt mit der Acetylverbindung des natürlichen Salipurposids zeigt keine Erniedrigung.

$$\alpha_{\text{D}}^{25}: \quad -0.28^\circ \times 5/0.0270 = -51.8^\circ \quad (\text{in Pyridin}).$$

Umwandlung von Salipurposid (II) in Isosalipurposid (I),  
 $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$  (434.39);  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10} + 2\text{H}_2\text{O}$  (470.42).

0.5 g natürliches Salipurposid werden mit 2 ccm Alkohol durchgerührt und unter Eiskühlung in kleinen Portionen mit 10 ccm 25-proz. Kalilauge versetzt. Das Glucosid geht mit tieferer Farbe in Lösung. Nach 1 Stde. wird unter Eiskühlung mit 10 ccm Wasser verdünnt und unter weiterer Kühlung mit 10-proz. Salzsäure auf  $p_{\text{H}}$  1 angesäuert, wobei die Lösung in Hellgelb umschlägt. Bald erscheinen goldgelbe Krystalle, die nach 24-stdg. Aufbewahren im Eisschrank abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus 25 ccm Wasser (Kohle) umkrystallisiert werden. Erhalten 0.48 g. Auf Zusatz von konz. Salzsäure kirschrote Färbung.

Die krystallwasserhaltige Verbindung erweicht bei 130—135° unter starker Wasserabgabe und schmilzt vollständig bei 159°. Die wasserfreie Substanz erweicht ab 145° und schmilzt vollständig bei 172—173°.

$$\alpha_{\text{D}}^{25}: \quad -0.06^\circ \times 5/0.0396 = -7.6^\circ \quad (\text{in Pyridin}), \quad -0.07^\circ \times 5/0.0432 = -8.1^\circ \quad (\text{in Pyridin}), \\ -0.15^\circ \times 10/0.0748 = -20.05^\circ \quad (\text{in } 96\text{-proz. Alkohol}).$$

Rückverwandlung von Isosalipurposid in Salipurposid.

0.2 g des aus Salipurposid gewonnenen Naringenin-glucosids-(2') (Chalkon-Form) werden in Gegenwart von 0.8 g Natriumacetat in 5 ccm Wasser auf dem Wasserbad  $\frac{1}{2}$  Stde. erwärmt, dann mit 10 ccm Wasser verdünnt und 12 Stdn. im Eisschrank aufbewahrt. Die dabei erhaltene Krystallisation wird aus Alkohol umgelöst. Erhalten 0.07 g Krystalle vom Schmp. 227°. Die Verbindung zeigt weder mit dem natürlichen, noch mit dem synthetischen Salipurposid eine Schmelzpunktserniedrigung. Die Krystalle geben mit konz. Salzsäure keine kirschrote Färbung.

$$\alpha_{\text{D}}^{25}: \quad -0.26^\circ \times 10/0.0234 = -111.0^\circ \quad (\text{in } 96\text{-proz. Alkohol}), \quad -0.60^\circ \times 5/0.0350 \\ = -85.8^\circ \quad (\text{in Pyridin}).$$