

d.-Pantothensäureamid (V): In die aus 2.4 g Natriumpantothenat und 1 g Chlorameisensäureäthylester in 15 ccm Dimethylformamid wie oben bereitete und vom Kochsalz abfiltrierte, aber auf  $-60^{\circ}$  gekühlte Lösung des gemischten Anhydrids gibt man 1.5 ccm flüssiges Ammoniak. Man läßt nun langsam auf Zimmertemperatur erwärmen und dampft das Lösungsmittel bei  $40^{\circ}$  i. Vak. ab. Die Reinigung gelingt durch Gegenstromverteilung zwischen Butanol und Wasser, wobei das Amid die alkohol. Phase bevorzugt. Daraus wird V durch Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak., später im Exsiccator als farbloses Öl erhalten, das nicht zur Kristallisation zu bringen war. Leicht löslich in Wasser und Butanol, schwer löslich in Benzol und Äther; Ausb. 40% d. Theorie.

$C_9H_{18}O_4N_2$  (206.2) Ber. C 49.52 H 8.31 N 12.83 Gef. C 49.04 H 8.45 N 12.34

$\alpha$ -Oxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl- $\gamma$ -butyrolacto-iminoäther-hydrochlorid (VI): In die gut getrocknete Lösung von 5 g  $\alpha$ - $\gamma$ -Dioxy- $\beta$ - $\beta$ -dimethyl-butyronitril in 50 ccm Äther wird unter Eiskühlung bis zur Sättigung trockener Chlorwasserstoff eingeleitet. Nach einiger Zeit beginnt die Abscheidung von Kristallen, die durch Stehenlassen des geschlossenen Gefäßes über Nacht vervollständigt wird. Man saugt dann schnell über einer Glasfritte ab und trocknet im Exsiccator im Kühlschrank; Ausb. nahezu quantitativ. Zur Analyse wurde durch schwaches Erwärmen in Eisessig gelöst, klar filtriert und das nach einigen Tagen in kurzen Prismen ausgeschiedene Hydrochlorid über Kaliumhydroxyd i. Vak. getrocknet.

$C_6H_{11}O_2N \cdot HCl$  (165.6) Ber. N 8.46 Cl 21.54 Gef. N 8.59 Cl 21.73

## 156. Rudolf Tschesche und Karl-Hans Brathge: Über pflanzliche Herzgifte, XIX. Mitteil.: Die Glykoside der Uzara-Wurzel

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg]

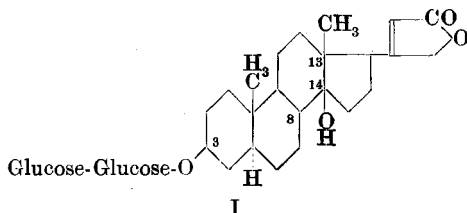
(Eingegangen am 15. April 1952)

Aus dem Extrakt der Uzara-Wurzel wurden neben dem bekannten Uzarin 3 neue Glykoside isoliert, die die Bezeichnung Xysmalorin, Urezin und Uzariosid erhielten. Letzteres ist ein Triglucoxid des Uzaringenins, während die beiden erstgenannten Glykoside sich von 2 neuen Aglykonen, Xysmalogenin und Urezigenin  $C_{23}H_{32}O_4$ , ableiten. Beide sind mit Uzaringenin isomer und die dazugehörigen Glykoside enthalten wie Uzarin 2 Moll. Glucose. Urezigenin ist das 3( $\alpha$ )-Isomere des Uzaringenins, beide Aglykone geben das gleiche Keton, während Xysmalogenin sich vom Uzaringenin an wenigstens 2 Asymmetriezentren zu unterscheiden scheint, deren Stellung noch näher zu ermitteln bleibt. Vermutlich ist eine Umkehr sowohl an  $C^8$  wie  $C^{14}$  erfolgt. Die Abspaltung der Glucose ließ sich in jedem Fall durch Fermentpräparate aus *Aspergillus oryzae* bewirken. Xysmalorin fand sich auch als die Komponente einer Glykosid-Fraktion aus *Xysmalobium undulatum* R. Br. neben Uzarin.

Aus dem unter der Bezeichnung „Uzaron“ bekannten Extrakt der „Uzara-Wurzel“ ist bisher als einheitliche kristallisierte Verbindung nur das Uzarin bekannt, das zuerst von W. Hennig<sup>1)</sup> isoliert wurde und später von A. Windaus und E. Haack<sup>2)</sup> genauer untersucht worden ist. R. Tschesche und K. Bohle<sup>3)</sup> erkannten die richtige Zusammensetzung zu  $C_{35}H_{54}O_{14} + 1 H_2O$  und zeigten, daß es sich durch Säure in Anhydro-uzaringenin  $C_{23}H_{32}O_3$  und

<sup>1)</sup> Arch. Pharmaz. **225**, 382 [1917].    <sup>2)</sup> B. **63**, 1377 [1930].    <sup>3)</sup> B. **68**, 2252 [1935].

2 Moll. Glucose zerlegen läßt, die auch schon von Hennig und von Windaus aufgefunden worden war. Bei der energischen Säurehydrolyse wird aus dem Genin eine tertiäre OH-Gruppe abgespalten und ein 14-Anhydrogenin gebildet. Vor kurzem gelang uns die Zerlegung des Glykosids mit Fermentpräparaten aus *Aspergillus oryzae*<sup>4,5)</sup>, wodurch das unveränderte Aglykon aus dem Uzarin zugänglich wurde. Uzarigenin war schon vorher von Reichstein u. Mitarbb.<sup>6)</sup> aus dem Odorosid B des wohlriechenden Oleanders (*Nerium odorum Sol.*) durch milde Säurehydrolyse bereitet worden. Die Spaltung dieses Glykosids ist durch die in ihm vorhandene Verknüpfung des Genins mit einem Desoxyzucker verhältnismäßig leicht möglich. Uzarin läßt sich, wie wir fanden, auch durch Schneckenferment spalten<sup>7)</sup>. Für das Uzarin haben Tschesche und Bohle<sup>8)</sup> die Konstitutionsformel I aufgestellt, die heute durch eine Reihe von Arbeiten verschiedener Autoren als gesichert gelten kann<sup>9)</sup>.



Schon 1925 hatte K. J. Grobel<sup>9)</sup> darauf hingewiesen, daß mindestens noch ein weiteres Glykosid im Uzaron enthalten sein muß, das er aber nicht kristallisieren konnte und mit Uzaren bezeichnete. Auch die schwierige Reindarstellung des Uzarin aus der Droge ließ auf noch einen weiteren, zwar kristallisierenden, aber nur schwer abtrennbaren Begleiter des Uzarin schließen. Als uns Herr Dr. Braun, Melsungen, eine größere Menge Uzaron zur Verfügung stellte, begannen wir daher eine eingehendere Untersuchung der Droge auf noch unbekannte Glykoside<sup>10)</sup>.

Dazu wurde die Rohdroge in der vierfachen Menge Wasser gelöst und nach einigen Wochen ein Kristallisat erhalten, das sich zweifellos als nicht einheitlich erwies. Obwohl zu einem erheblichen Teil aus Uzarin bestehend, gelang es erst nach sehr häufigem Umkristallisieren dessen Schmelzpunkt zu erreichen. Die Kristallisate aus der Mutterlauge schmolzen zum Teil bis zu 80° zu niedrig. Zuerst wurde nach der Methode von Reichstein eine chromatographische Trennung der Acetate an alkalifreiem Aluminiumoxyd nach dem Durchlaufverfahren versucht. Da keine der erhaltenen Fraktionen kristallisierte, wurden sie einzeln mit Kaliumhydrogencarbonat verseift. Aus den am leichtesten zu eluierenden Anteilen wurde Uzarin erhalten. Die weiteren Fraktionen blieben ein durch Kristallisation nicht auftrennbares Gemisch. Daraufhin wurden sie einer Gegenstromverteilung in einer in unserem Institut für präparative Zwecke entwickelten Appa-

4) R. Tschesche, K. Sellhorn u. K. H. Brathge, B. 84, 576 [1951].

5) „Festal“ der Farbwerke Hoechst und „Luizym“ der Luitpold-Werke, München. Wir danken beiden Firmen auch an dieser Stelle für die Überlassung der Präparate.

6) N. M. Shah, K. Meyer u. T. Reichstein, Pharmac. Acta Helv. 24, 113 [1949].

7) Hrn. Prof. Reichstein sei auch an dieser Stelle für die Überlassung von Schneckenferment gedankt.

8) H. Heusser, Konstitution, Konfiguration und Synthese digitaloider Aglykone und Glykoside. Fortschr. d. Chem., Org. Naturstoffe, Bd. VII, S. 87 (1950), Wien.

9) Dissertat., Marburg 1925.

10) Hrn. Dr. R. Braun sind wir zu großem Dank für die Überlassung einer größeren Menge Uzaron verpflichtet.

ratur unterworfen<sup>11)</sup>, wobei ein ternäres Gemisch aus Chloroform, Äthanol u. Wasser (1:1:1) verwendet wurde. Eine Verteilung zunächst über 18 Stufen ergab keine Auftrennung in einzelne Maxima, so daß die Verteilungsquotienten der Komponenten im Gemisch als recht ähnlich angesehen werden mußten.

Eine Isolierung des dem Uzarin beigemengten Glykosids ermöglichte schließlich die Beobachtung, daß die Kristallisate, die aus dem auf- und dem absteigenden Ast des Verteilungsmaximums gewonnen worden waren, sich unter dem Mikroskop als nicht einheitlich erwiesen. Im erstgenannten waren mehr nadelförmige, in letzterem mehr plattenförmige Kristalle zu erkennen. Da sich die nadelförmigen Kristalle leichter in Aceton lösten, konnten sie durch Extraktion im Soxhlet-Apparat zum größten Teil von den plattenförmigen getrennt werden. Diese erwiesen sich als reines Uzarin. Aus dem Acetonextrakt konnte durch fraktionierte Kristallisation unter Verwerfung der schwerst löslichen Anteile schließlich ein neues Glykosid isoliert werden, dem wir den Namen Xysmalorin geben wollen.

Zwar ist die Bezeichnung Xysmalobin schon einem Glykosid zuerkannt worden, das zuerst von M. G. Breyer-Brandwijk<sup>12)</sup> aus der Wurzel von *Xysmalobium undulatum* R. Br. isoliert worden ist, von dem aber H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser und T. Reichstein<sup>13)</sup> nachweisen konnten, daß es nicht einheitlich ist und größere Mengen Uzarin enthält. Das Begleitglykosid war jedoch nicht rein zu gewinnen, vermutlich weil die den Autoren zur Verfügung stehenden Mengen Ausgangsmaterial bei der schwierigen Auftrennbarkeit sich als zu gering erwiesen. Herr Prof. Reichstein überließ uns eine Probe dieses Glykosidgemisches, und wir konnten in ihm neben Uzarin auch unser Xysmalorin sehr wahrscheinlich machen. Den Namen Xysmalobin möchten wir für unser Glykosid nicht übernehmen, da es sich bei dem Präparat von Breyer-Brandwijk zweifellos um ein Gemisch gehandelt hat.

Xysmalorin hat die Zusammensetzung  $C_{35}H_{54}O_{14} + 1H_2O$ ; es ist isomer mit Uzarin. Die Spaltung mit Fermentpräparaten aus *Aspergillus oryzae* liefert 2 Moll. Glucose und ein neues Aglykon, Xysmalogenin  $C_{23}H_{34}O_4$ . Während Uzarin bei 266–270° schmilzt ( $[\alpha]_D^{20} : -27^{\circ}$ ), zeigt Xysmalorin den Schmp. 220 bis 224° und  $[\alpha]_D : -17.8^{\circ}$ . Es weist sich durch einen positiven Farb-Test mit Nitroprussidnatrium als Digitalisglykosid mit  $\alpha, \beta$ -ungesättigtem Lactonfünfering aus<sup>14)</sup>.

Die Mutterlaugen des Mischkristallisates aus Uzarin und Xysmalorin wurden zur Abtrennung vorwiegend nichtglykosidischen Materials zunächst mit Äther und dann mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Beide Anteile wurden bisher nicht weiter untersucht und sind verhältnismäßig gering. Eine Extraktion der wäßrigen Lösung mit Chloroform-Äthanol (2:1) lieferte einen weiteren Extrakt, der nach der Acetylierung an Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Keine der erhaltenen Fraktionen kristallisierte, jedoch ließen sich zwei deutlich getrennte Maxima bei der Elution feststellen. Sie wurden einzeln mit Kaliumhydrogencarbonat verseift.

Die Fraktionen des ersten Maximums aus der Säule kristallisierten und erwiesen sich als Uzarin. Die Fraktionen des 2. Maximums kristallisierten nicht. Auch eine Gegenstromverteilung über 24 Stufen brachte keinen Erfolg.

<sup>11)</sup> Über diese Apparatur soll in einer folgenden Arbeit berichtet werden.

<sup>12)</sup> Trans. Reg. South-Africa 14, 353 [1928] (C. 1928 II, 1578).

<sup>13)</sup> Helv. chim. Acta 34, 46 [1951].

<sup>14)</sup> Die Toxizität des Xysmalorins an der Katze ist nach orientierenden Versuchen, wenn überhaupt, nur gering; wir werden später darüber berichten.

Darauf wurde das Material nach energischer Trocknung mit Aceton extrahiert, wobei ein großer Teil in Lösung ging. Aus diesem Extrakt konnten Kristalle gewonnen werden, die ein weiteres Glykosid darstellen, das wir mit Urezin bezeichnen möchten. Es ist ebenfalls isomer mit Uzarin und zeigt den Schmp. 185–192° und  $[\alpha]_D: -4.8^\circ$ . Gegenüber Uzarin zeichnet sich das neue Glykosid durch eine besondere Löslichkeit in Wasser und wasserhaltigen Lösungsmitteln aus. Wir vermuten, daß dieses Glykosid zum mindesten teilweise dem Grobelschen Uzaren entspricht, dessen Bezeichnung wir aber wegen der leichten Verwechselbarkeit mit Uzarin nicht übernehmen möchten. Die Hydrolyse des Urezins führten wir ebenfalls mit Fermentpräparaten durch und erhielten als neues Genin Urezigenin  $C_{22}H_{34}O_4$  und 2 Moll. Glucose. Glucose wurde auch schon von Grobel als Spaltzucker im Uzaren ermittelt.

Die Toxizität des Urezins wurde von K. K. Chen, Indianapolis<sup>15)</sup>, bestimmt; als mittlere letale Dosis bei 7 Katzen fand er  $3.611 \pm 0.7948$  mg/kg.

Tafel 1. Farbreaktionen mit 84-proz. Schwefelsäure

Farbe nach	Uzarin	Xysmalorin	Urezin
0 Min. ....	orangerot	rotbraun	gelb
10 „ ....	rot	rotbraun	gelbbraun
60 „ ....	rotviolett	rotviolett	violett
3 Stdn. ....	blaugrün	blau	violett
8 „ ....	blaugrün	dunkelblau	violett
24 „ ....	schmutziggrün	grünblau	schmutzigviolett

Nach Abtrennung des Urezins wurde die Extraktion der verbliebenen wäßrigen Phase mit einem Chloroform-Äthanol-Gemisch (1 : 1) fortgesetzt. Verhältnismäßig langsam wurde so ein weiteres Glykosid der wäßrigen Lösung entzogen.

Der gewonnene Extrakt wurde in einem Chloroform-Äthanol-Gemisch (2 : 1) aufgenommen. Die Lösung trennte sich auf Zusatz von etwas Wasser in 2 Phasen, von denen die obere den größten Teil der mitgeführten Farbstoffe und das neue Glykosid aufnahm. Sie wurde eingedampft, der Rückstand getrocknet und acetyliert. Bei der Chromatographie an Aluminiumoxyd verhielt sich das Acetat mehr oder weniger einheitlich, doch kristallisierte es nicht, ebensowenig das mit Natriumhydrogencarbonat daraus gewonnene freie Glykosid. Um es weiter zu reinigen, wurde es mehrmals aus absol.-äthanolischer Lösung mit Äther gefällt und so als farbloses, amorphes oder höchstens mikrokristallines Pulver gewonnen, das hartnäckig Wasser gebunden enthielt.

Nach energischem Trocknen i. Hochvak. wurde eine Substanz erhalten, deren Analysen auf ein Uzarigenin-triglycosid stimmen mit einem zusätzlichen Mol. Wasser, wie es sich auch in den Glykosiden Uzarin, Xysmalorin und Urezin findet. Die enzymatische Hydrolyse des Uzarosids, wie wir diese Substanz bezeichnen möchten, führte zu Uzarigenin und 3 Moll. Glucose.

Das Uzarosid zeigt beim Erhitzen in wäßriger oder alkoholischer Lösung eine ziemliche Zersetzlichkeit, wobei allmählich schwerlösliches Uzarin entsteht und in der Lösung die Reaktionen der Glucose feststellbar werden. Möglicherweise ist das Uzarin im Uzaron zu einem erheblichen Anteil sekundäres Produkt einer Hydrolyse, die schon bei der Extraktion der Wurzeln mit heißem Methanol einsetzt. Uzarosid stellt je nach der Herstellung des Uzarons bis zu 75% des Gesamtglykosid-Materials dar.

<sup>15)</sup> Wir möchten Hrn. Dr. K. K. Chen hier für seine Bestimmung vielmals danken.

Nachfolgend geben wir die Konstanten der Aglykone und ihrer Acetate aus der Uzara-Droge wieder:

Uzarigenin: Schmp. 240–256°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +10.5° (Äthanol); Acetat: Schmp. 266–272°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +5.6° (Chlf.).

Xysmalogenin: Schmp. 230–248°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +19° (Äthanol); Acetat: Schmp. 250–255°,  $[\alpha]_D^{20}$ : –5.9° (Chlf.).

Urezigenin: Schmp. 270–275°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +4.1° (Chlf.); Acetat: Schmp. 215–248°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +12° (Chlf.).

Für die Isolierung der genannten Aglykone in reiner Form hat sich ein abgekürztes Verfahren bewährt, das nicht über die Reindarstellung der Glykoside führt. Nach enzymatischer Spaltung der Rohdroge mit Ferment aus *Aspergillus oryzae* werden die in Freiheit gesetzten Genine in Form der Acetate chromatographisch an Aluminiumoxyd getrennt. Dabei erscheint als Vorlauf mit Petroläther-Benzol (9:1) eine kleine Acetat-Fraktion D mit positivem Legal-Test, die bisher noch nicht weiter gereinigt werden konnte. Es folgen als einheitliche Fraktionen von der Säule in der nachfolgenden Reihenfolge Uzarigenin-acetat (Benzol-Chloroform 9:1), Xysmalogenin-acetat (Benzol-Chloroform 4:1) und Urezigenin-acetat (Benzol-Chloroform 2:1, bzw. reines Chloroform).

Die Konstitution des Urezigenins ergibt sich aus der Tatsache, daß es bei der Dehydrierung mit Chromsäure das gleiche Keton wie Uzarigenin liefert. Da für Uzarigenin die Konstitution einer 3(β)-Verbindung in bezug auf das sekundäre Hydroxyl feststeht, kann Urezigenin nur die 3(α)-Verbindung sein. Die Wasserabspaltung der OH-Gruppe an C<sup>14</sup> führte zu einer Anhydroverbindung, die vermutlich das Δ<sup>14,15</sup>-Anhydro-Derivat ist, also eine β-Anhydro-Verbindung darstellt. Damit übereinstimmend fiel die Tortelli-Jaffé-Reaktion mit einer 2-proz. Brom-Lösung in Chloroform auf ditertiäre Doppelbindungen negativ aus, die sonst von den Δ<sup>8,14</sup>-Anhydro-Verbindungen gegeben wird. Ein Genin mit α-ständiger OH-Gruppe an C<sup>3</sup> wurde zuerst im Digoxigenin beobachtet<sup>16)</sup>, die anderen bekannten Aglykone dieser Gruppe sind bisher sämtlich 3(β)-Derivate.

Xysmalogenin, obwohl ebenfalls isomer mit Uzarigenin, konnte bisher nicht mit diesem durch Derivate verknüpft werden. Eine Doppelbindung außer der in α,β-Stellung im Lactonring befindlichen, ließ sich mit Tetranitromethan nicht nachweisen. Die Abspaltung der an C<sup>14</sup> anzunehmenden Oxygruppe mit Säuren, führte zu einer Anhydroverbindung, die durch eine ausgesprochene Linksdrehung der Polarisationssebene auffiel ( $[\alpha]_D$ : –59°).

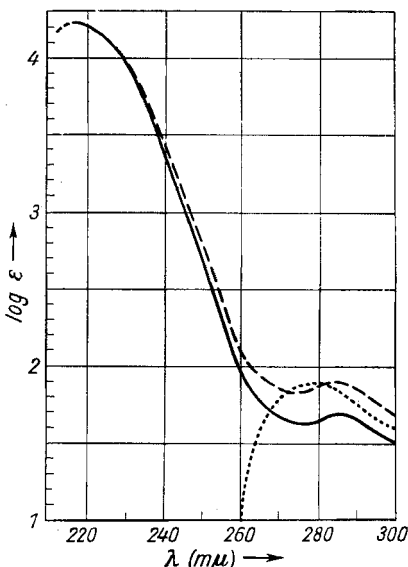
Alloperiplogenin  $[\alpha]_D$ : +41°; Anhydro-Derivat  $[\alpha]_D$ : +133°,  
 Allostrophanthidin  $[\alpha]_D$ : +37°; Anhydro-Derivat  $[\alpha]_D$ : +87°,  
 Allouzarigenin-acetat  $[\alpha]_D$ : +22°; Anhydro-Derivat  $[\alpha]_D$ : +99°<sup>8)</sup>,  
 Xysmalogenin-acetat  $[\alpha]_D$ : –6°; Anhydro-Derivat  $[\alpha]_D$ : –85°.

Diese Anhydroverbindung des Xysmalogenins, die als einzige isoliert werden konnte, zeigte eine positive Tortelli-Jaffé-Reaktion, die auf ein Δ<sup>8,14</sup>-Anhydro-Derivat hinweist; Schmp. 248–255°, Schmp. des Acetats 162–168°,  $[\alpha]_D$ : –85°. Die Eigenschaften unseres Anhydro-xysmalogenins ähneln sehr denen des Anhydro-xysmalobigenins von Reichstein u. Mitarbb.<sup>13)</sup> bis auf das Acetat, für das ein höherer Schmp. gefunden wurde (Xysmalobigenin,

<sup>16)</sup> H. L. Mason u. W. M. Hoehn, Journ. Amer. chem. Soc. 60, 1824 [1938].

Schmp. 254<sup>0</sup>,  $[\alpha]_D$ : -69<sup>0</sup>, Schmp. des Acetats 179<sup>0</sup>,  $[\alpha]_D$ : -82<sup>0</sup>). In diesem Zusammenhang ist noch bemerkenswert, daß die Wasser-Abspaltung unter den üblichen Bedingungen allein mit Säuren und nicht mit Phosphoroxychlorid in Pyridin möglich war, die sonst auch bei den 17-Alloverbindungen zum Ziel führt. Daß im Xysmalogenin eine solche Konfiguration vorliegt, ist auch noch aus einem anderen Grunde unwahrscheinlich. Versuchte man aus dem Aglykon mit Alkali eine Isoverbindung herzustellen, so entstand eine Säure, die kristallin erhalten werden konnte. Bisher ist es in keinem Fall gelungen, die aus den 17-Alloderivaten hergestellten Säuren zu kristallisieren. Das UV-Spektrum zeigte ein geringes Maximum bei 280  $\mu$ , das vielleicht der in Freiheit gesetzten Carbonylgruppe zugeschrieben werden muß. Mit Hilfe der Bildung der Xysmalogeninsäure ist leicht ein Gehalt an Xysmalogenin in Kristallisaten aus der Uzara-Droge festzustellen, da die anderen Genine und davon abgeleiteten Glykoside neutrale Isoverbindungen ergeben.

Diese Befunde machen es wahrscheinlich, daß beim Xysmalogenin gegenüber den bisher bekannten Herzgift-Aglykonen sterische Unterschiede bestehen. Die Verschiedenheit von Allouzarigenin-acetat und Xysmalogenin-acetat zeigt, daß Xysmalogenin nicht einfach eine 17-Alloverbindung des Uzarigenins ist. Die starke Linksverschiebung der Drehung bei der Anhydrierung macht es sehr unwahrscheinlich, daß im Xysmalogenin überhaupt ein 17-Alloglykon vorliegt. Wir möchten eher vermuten, daß in diesem Genin eine *trans*-Verknüpfung der Ringe C und D vorhanden ist; eine solche würde ebenfalls die Entstehung einer Isoverbindung ausschließen. Mit dieser Feststellung wäre auch die Wasserabspaltung nach C<sup>8</sup>-C<sup>14</sup> verständlich, da bei unserer Annahme OH an C<sup>14</sup> und H an C<sup>8</sup> sich in *trans*-Stellung befinden würden, wodurch die Wasserabspaltung nach C<sup>8</sup>-C<sup>14</sup> begünstigt werden würde. Darüber hinaus muß aber noch wenigstens an einem weiteren Asymmetriezentrum gegenüber Uzarigenin eine Umkehr erfolgt sein, da Anhydroxysmalogenin nicht  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin ist. Diese Verbindung haben wir neu hergestellt durch Einwirkung von stärkeren Säuren auf  $\beta$ -Anhydro-uzarigenin. Sie war mit dem früher von dem einen von uns beschriebenen sogenannten „ $\beta$ -Anhydro-uzarigenin“ identisch<sup>17,18)</sup>.



Abbild. UV-Spektren von Uzarigenon ——— (c = 9.3 · 10<sup>-4</sup> Mol/l), Xysmalogenon - - - - - (c = 8.00 · 10<sup>-4</sup> Mol/l), Xysmalogeninsäure ······ (c = 1.09 · 10<sup>-5</sup> Mol/l) in Methanol

<sup>17)</sup> Die Bezeichnung der Anhydrogenine erfolgt hier in der von L. F. Fieser und M. Fieser (Natural Products related to Phenanthren, 3. Edit., 1949, S. 534) vorgeschlagenen Weise.

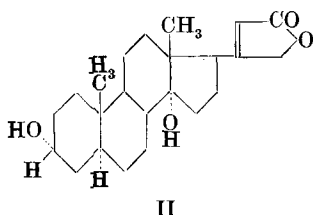
<sup>18)</sup> R. Tschesche, Ztschr. physiol. Chem. 229, 219 [1934].

$\alpha$ -Anhydro-uzarigenin:  $\Delta^{8,14}$ , Schmp. 236–238°,  $[\alpha]_D$ : +7°; Acetat: Schmp. 160–164°,  $[\alpha]_D$ : +3°;

$\beta$ -Anhydro-uzarigenin:  $\Delta^{14,15}$ , Schmp. 260–265°,  $[\alpha]_D$ : –26°; Acetat: Schmp. 175 bis 180°,  $[\alpha]_D$ : –27°.

Möglicherweise ist Xysmalogenin wie Urezigenin eine 3( $\alpha$ )-Verbindung. Während beide Acetate sich mit methanolischer Salzsäure bei Zimmertemperatur und mit Natriummethylat nach Zemplén bei 0° verseifen lassen, ist

Uzarigenin-acetat unter diesen Bedingungen beständig. Erst bei 20° wird letzteres nach Zemplén verseift. Ob darüber hinaus außer an C<sup>3</sup> und C<sup>14</sup> im Xysmalogenin noch weitere sterische Verschiedenheiten gegenüber Uzarigenin vorkommen, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Für Xysmalogenin möchten wir vorerst die Konstitutionsformel II einer 3( $\alpha$ ),14( $\alpha$ )-Verbindung vorschlagen.



Aus Uzarigenin-acetat haben wir weiter die 14-Oxy-3( $\beta$ )-acetoxy-14-iso-ätioallocholansäure durch Abbau mit Permanganat hergestellt, von der unseres Wissens bisher nur der Methylester beschrieben worden ist. Die Säure schmilzt bei 218–224°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +8.5° (Äthanol). Der genannte Ester war schon von P. A. Plattner, L. Ruzicka u. Mitarbb.<sup>19)</sup> teilsynthetisch bereitet worden und ist später von Reichstein und Mitarbb.<sup>9,13)</sup> auch aus Odorigenin-B und aus Uzarigenin (herrührend aus *Xysmalobium undul.*) gewonnen worden. Unser Ester stimmte in den Konstanten mit den Befunden der genannten Autoren überein.

Wir danken Hrn. Dr. Rudolf Braun und der Joachim Jungius-Gesellschaft der Wissenschaften in Hamburg für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

### Beschreibung der Versuche

#### Aufarbeitung des Uzara-Extraktes

250 g „Uzaron“ wurden in 1000 ccm Wasser heiß gelöst und 2 Tage bei Zimmertemperatur stengelassen. Der ausgefallene, feinkristalline Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Es wurden 10 g Roh-Uzarin erhalten. Ein weiterer Ansatz, der nach dem Auflösen 3 Wochen bei 10° gestanden hatte, ergab 35 g. Der Schmelzpunkt des scharf getrockneten Materials betrug 180°.

2.5 g Roh-Uzarin wurden in 25 ccm wasserfreiem Pyridin gelöst und mit 25 ccm Essigsäureanhydrid 2 Tage bei Zimmertemperatur stengelassen. Dann wurde 1 Stde. auf 80° erwärmt; der größte Teil des Lösungsmittels wurde i. Vak. entfernt, zu dem Rückstand Wasser zugefügt und das gebildete Acetat mit Chloroform aufgenommen. Der Chloroform-Extrakt gab nach Waschen und Trocknen beim Eindampfen einen Rückstand von 3.5 g, der nicht kristallisierte.

Er wurde in 100 ccm Benzol gelöst und an einer aus 100 g alkalifreiem Aluminiumoxyd (Brockmann) hergestellten Säule nach dem Durchlaufverfahren chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 100 ccm Lösungsmittel, die gesondert aufgefangen und eingedampft wurden.

Da die Acetate nicht kristallisierten, wurden sie in der jeweils 200fachen Menge Methanol gelöst und mit der gleichen Gewichtsmenge Kaliumhydrogencarbonat in 5 n wäbr. Lösung 18 Tage bei Zimmertemperatur zur Verseifung stengelassen. Danach wurden die Lösungen eingengt, die ausgefallenen Kristalle abgetrennt und die Restlösung mit

<sup>19)</sup> P. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki u. Kd. Meyer, Helv. chim. Acta 29, 942 [1946].

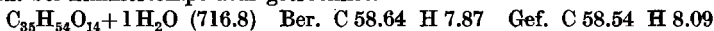
Chloroform-Äthanol (2:1) ausgezogen. Die vereinigten Auszüge wurden nach Waschen und Trocknen i. Vak. eingedampft, der Rückstand und die vorher gewonnenen Kristalle zusammen umkristallisiert. Dazu wurde jede Fraktion in Pyridin gelöst und die Lösung mit Wasser bis zur Trübung versetzt. Diese wurde durch kurzes Erhitzen wieder entfernt und die Lösung dann zur Kristallisation stehengelassen. Die so nach mehrmaliger Wiederholung in schönen Nadeln auskristallisierenden Glykoside zeigten jedoch sehr unscharfe und stark variierende Schmelzpunkte.

Tafel 2. Chromatographische Trennung der Acetate

Nr.	Lösungsmittel	Menge	Schmp. des Glykosids	Farbreaktion mit 84-proz. Schwefelsäure
1—2	Benzol	—	—	—
3—6	Benzol—Chlf. (9:1)	1.075 g	195—205°	orange 0 Min.
7—9	Benzol—Chlf. (4:1)	0.275 g	190—205°	orange 0 Min., blau 3 Stdn.
10—13	Benzol—Chlf. (3:2)	0.675 g	198—208°	orange 0 Min., blaugrün 3 Stdn.
14—17	Benzol—Chlf. (1:1)	0.127 g	202—205°	orange 0 Min., blaugrün 3 Stdn.
18—19	Chlf.	0.314 g	188—195°	braun-schwarz mit blauem Rand
20—22	Chlf.—Methanol	0.528 g	185—195°	desgl.
23—24	Chlf.—Methanol	0.160 g	—	—

Uzarin

Aus den Fraktionen Nr. 3—6 ließ sich auf die soeben beschriebene Weise eine Spitzenfraktion vom Schmp. 266—270° herauskristallisieren, die mit dem früher beschriebenen Uzarin identisch war;  $[\alpha]_D^{20}$ : -27.0° (c=1.075, Pyridin). Zur Analyse wurde 1 Stde. i. Hochvak. bei Zimmertemperatur getrocknet.



Durch Umkristallisieren der entsprechenden Fraktionen aus Isopropanol ließ sich leichter ein reines Produkt gewinnen. Dazu wurde die Substanz in wenig etwa 90-proz. Isopropanol in der Hitze gelöst, die Lösung nach dem Erkalten mit trockenem Isopropanol versetzt und zur Kristallisation stehengelassen. Der Schmp. lag danach bei 260—266° konstant.

Gegenstromverteilung der Fraktionen 7—22

Die Fraktionen 7—22 aus der chromatographischen Trennung der Acetate wurden nach Herstellung der freien Glykoside in einer Verteilungsapparatur in einem ternären Gemisch Chloroform-Äthanol-Wasser (1:1:1) über 18 Stufen verteilt. Angewandt wurden 4.5 g Glykosid mit je 400 ccm schwerer und leichter Phase (Verteilungsquotient in diesem Gemisch 0.815).

Nr. der Gefäße	.....	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Menge mg	.....	41.1	10	20	30	40	60	115	240	351
Nr. der Gefäße	.....	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Menge mg	.....	490	570	800	680	405	288	188	100	34

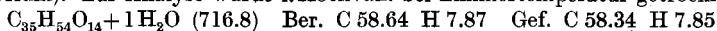
Die Inhalte der Rohre 8—12 und 13—16 wurden zusammengenommen und wie beschrieben umkristallisiert. Die Schmelzpunkte erwiesen sich nur unwesentlich verändert. Unter dem Mikroskop waren Nadeln und Platten zu erkennen.

Fraktionierte Extraktion mit Aceton

Die Fraktionen 8—12 und 13—16 aus der Verteilung wurden getrennt im Soxhlet-Apparat mit Aceton extrahiert. Es wurde so eine in diesem Lösungsmittel verhältnismäßig gut lösliche Substanzmenge erhalten, die aus Pyridin-Wasser umkristallisiert



wurde unter Verwerfung der jeweils schwerst löslichen Anteile. So wurde schließlich ein einheitlich aussehendes Kristallisat vom Schmp. 220–224° erhalten.  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-17.8^\circ$  ( $c=1.011$ , Pyridin). Zur Analyse wurde i. Hochvak. bei Zimmertemperatur getrocknet.



Der Legal-Test erwies sich als positiv (rot). Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 217  $\mu$  in Äthanol und  $\log \epsilon = 4.21$  (ber. auf das Monohydrat vom Mol.-Gew. 716.8).

Die bei der Acetonextraktion unlöslich gebliebenen Kristalle, vorwiegend Platten, erwiesen sich zum großen Teil als Uzarin.

#### Aufarbeitung der Mutterlaugen des Roh-Uzarinkristallisats

Die nach der Abtrennung des Roh-Uzarins verbliebenen, noch stark bitter schmeckenden Mutterlaugen wurden zunächst dreimal mit der gleichen Menge Äther ausgeschüttelt. Der dunkelgrüne Extrakt (etwa 5 g) wurde noch nicht weiter untersucht. Durch erschöpfende Extraktion mit Chloroform ließen sich weitere 4 g gewinnen, die stark braun gefärbt und von öligem Beschaffenheit waren; auch dieser Anteil wurde zurückgestellt.

Viermalige Extraktion mit der zweifachen Menge Chloroform-Äthanol (2:1) ergab 20 g eines schwach gefärbten schaumigen Produktes (Glykosidgemisch I). Dann wurde erschöpfend mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch extrahiert. Aber erst nachdem sich ein Volumenverhältnis von Chloroform-Äthanol 1:1 eingestellt hatte, gelang es, nach insgesamt 25 maligem Ausschütteln, die Mutterlaugen von den bitter schmeckenden Bestandteilen zu befreien. So wurden nochmals 95 g Glykosidgemisch gewonnen. Sie wurden mit einer auf dem gleichen Wege hergestellten Fraktion von 20 g vereinigt (Glykosidgemisch II = 115 g).

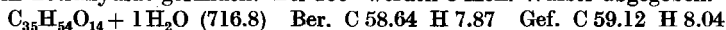
#### Urezin

20 g Glykosidgemisch I wurden in 200 ccm wasserfreiem Pyridin und 200 ccm Essigsäureanhydrid 4 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung ergaben sich 28 g Acetat, die aus keinem der üblichen Lösungsmittel kristallisierten. Sie wurden daher an 1000 g alkalifreiem Aluminiumoxyd (Brockmann) in der oben erwähnten Weise chromatographisch fraktioniert. Mit Benzol-Chloroform ließen sich 17 g, mit Chloroform 5 g und mit Chloroform-Methanol 2 g eluieren. Da keine der Acetatfraktionen kristallisierte, wurden sie in Methanol mit Natriumhydrogencarbonat in der oben beschriebenen Weise verseift. Die erhaltenen 17 g gaben 12 g Glykosid, die sich aus Pyridin-Wasser umkristallisieren ließen und als ein Gemisch von Uzarin mit etwas Xysmalorin erwiesen. Die folgenden Fraktionen 5 g und 2 g der chromatographischen Fraktionierung gaben 5 g Glykosid, die einer Gegenstromverteilung über 24 Stufen unterworfen wurden (Chloroform-Äthanol-Wasser 1:1:1). Angewandt wurden je Rohr 400 ccm schwere und 400 ccm leichte Phase.

Nr. der Gefäße	1	2	3	4	5	6	7	8
Menge in Gramm	0.100	0.065	0.065	0.075	0.085	0.145	0.225	0.420
Nr. der Gefäße	9	10	11	12	13	14	15	16
Menge in Gramm	0.680	0.745	0.625	0.520	0.310	0.150	0.120	0.085
Nr. der Gefäße	17	18	19	20	21	22	23	24
Menge in Gramm	0.065	0.065	0.070	0.065	0.065	0.070	0.075	0.100

Die Inhalte der Rohre Nr. 15–24 waren in steigendem Maße gelblich gefärbt. Die Inhalte der Rohre Nr. 7–12 wurden vereinigt und eingedampft. Der Rückstand ging beim Behandeln mit Aceton teilweise in Lösung, aus dem Aceton erschienen nach dem Einengen und Erkalten sehr feine, farblose Kristalle, die nur aus völlig wasserfreien Lösungsmitteln umzukristallisieren waren. Erst nach mehrmaliger Kristallisation zerflossen sie nicht mehr an der Luft. Aus Äthanol-Essigester, Butanol-Äther bzw. Aceton Kristalle vom Schmp. 165°, die nach erneuter Verfestigung endgültig bei 185–192° schmolzen;  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-4.8^\circ$  ( $c=1.04$ , Äthanol).

Zur Analyse wurde 24 Stdn. i. Hochvak. bei Zimmertemperatur getrocknet; dabei wurde ein Tetrahydrat gefunden. Bei 100° werden 3 Moll. Wasser abgegeben.

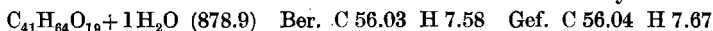


Die Substanz gab einen positiven Legal-Test (rot). Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 218 m $\mu$  in Äthanol und  $\log \epsilon = 4.20$  (ber. auf das Tetrahydrat vom Mol.-Gew. 770.8).

#### Uzarosid

Die 115 g Glykosidgemisch II wurden in Chloroform-Äthanol (2:1) aufgenommen. Da das Gemisch stark gefärbt war, sollte es mit wenig Wasser gewaschen werden. Beim Zusatz bildete sich jedoch sofort eine erhebliche wäbr. Phase, die auch den größten Teil des Farbstoffes aufnahm. Daher wurden die beiden Schichten getrennt jede für sich weiter verarbeitet. Chloroformphase IIa = 25 g, wäbr. Phase IIb = 90 g. Phase IIa lieferte bei einer Aufarbeitung wie beim Urezin noch 9 g dieses Glykosids.

90 g Substanz IIb wurden in 700 cem wasserfreiem Pyridin und der gleichen Menge Essigsäureanhydrid in üblicher Weise acetyliert. Sie gaben 98 g Acetat, die nicht kristallisierten. Diese wurden daher wie schon beschrieben an 1000 g Aluminiumoxyd nach dem Durchlaufverfahren chromatographisch getrennt. Der größte Teil des Materials erschien als einheitliche Fraktion aus der Säule und wurde, da er ebenfalls noch nicht kristallisierte, in üblicher Weise mit Natriumhydrogencarbonat verseift. Da auch jetzt noch keine Kristallisation erzielbar war, wurde das Glykosid noch einmal an stark abgeschwächtem Aluminiumoxyd chromatographisch adsorbiert, jedoch auch diesmal ohne Erfolg. Es wurden so etwa 30 g eines schwach gelblich gefärbten Materials gewonnen. Mehrmaliges Umfällen aus wasserfreiem Äthanol mit Äther führte schließlich zu einem völlig farblosen Produkt, das keinen definierten Schmelzpunkt zeigte. An der Luft ist das neue Glykosid ziemlich hygroskopisch;  $[\alpha]_D^{20} = -10^\circ$  ( $c = 1.0065$ , Äthanol). Nach 24stdg. Trocknen bei Zimmertemperatur i. Hochvak. stimmten die Analysen auf ein Hexahydrat. Nach dem Trocknen bei 100° wurden Werte für ein Monohydrat erhalten.



Die Substanz ist äußerst leicht löslich in Wasser und in Äthanol, unlöslich in Aceton und in Äther. Der Legal-Test war positiv. Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 218 m $\mu$  in Äthanol und  $\log \epsilon = 4.2^\circ$  (ber. auf das Hexahydrat vom Mol.-Gew. 969.0).

Uzarin aus Uzarosid: 1 g Uzarosid wurde in 50 cem Wasser gelöst und einige Stunden im siedenden Wasserbad gehalten. Die Lösung trübte sich etwas. Nach dem Erkalten wurde 6mal mit Chloroform-Äthanol (2:1) ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge gaben nach der üblichen Aufarbeitung einen Rückstand, der aus Pyridin-Wasser umkristallisiert wurde; Ausb. 300 mg Uzarin. Die wäbr. Lösung wurde vom Chloroform befreit und reduzierte nunmehr stark Fehlingsche Lösung. Der gleiche Effekt konnte auch beim Erhitzen in Alkohol beobachtet werden.

#### Uzarin aus *Xysmalobium undulatum* R. Br.

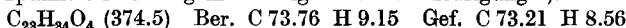
4.5 g Glykosid wurden in der beim Uzarin beschriebenen Weise acetyliert und das Acetatgemisch an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-Gemischen eluierbaren Anteile wurden gemeinsam verseift und das erhaltene Glykosid aus Pyridin-Wasser umkristallisiert. Durch wiederholtes Umkristallisieren wurde eine Spitzenfraktion mit dem Schmp. 266–270° erhalten;  $[\alpha]_D^{20} = -27^\circ$  (Pyridin). Uzarin aus der Uzara-Droge und Uzarin aus *Xysmalobium undulatum* wurden von Hrn. Dr. Schröder<sup>20)</sup> untersucht. Danach bilden beide Präparate vorwiegend rechteckig begrenzte, schwach keilförmige Blättchen, deren Dicke nach der Längsrichtung kontinuierlich abnimmt. Sie sind stark doppelbrechend und zeigen gerade Auslöschung zur rechteckigen Begrenzung. Im konvergenten polarisierten Licht beobachtet man schief zur Plättchenebene eine optische Achse eines optisch einachsigen, positiv doppelbrechenden Kristalles.

Lichtbrechung:  $n_e' \geq 1.531$ ,  $n_o \geq 1.515$

<sup>20)</sup> Mineralog.-Petrographisch. Institut der Universität Hamburg. Wir danken Hrn. Dr. Schröder vielmals für seine Untersuchung.

Enzymatische Spaltung des Uzarins mit Ferment aus *Aspergillus oryzae*

500 mg Uzarin wurden in 400 ccm Wasser heiß gelöst und nach dem Erkalten mit 500 mg Enzypulver („Festal“ oder „Luizym“<sup>5)</sup>) versetzt. Mit Essigsäure wurde auf pH 6 eingestellt und das Gemisch nach Versetzen mit 4 ccm Toluol 5 Tage stehengelassen. Die auf 50 ccm i. Vak. eingeeengte Lösung wurde dann mit der 5fachen Menge Äthanol versetzt und 5 Min. zum Sieden gebracht. Das abgeschiedene Fermentmaterial wurde abgesaugt, das Filtrat durch Eindampfen i. Vak. von Äthanol befreit und die verbleibende Restlösung mit Chloroform extrahiert. Es wurden 240 mg Uzarigenin erhalten, die aus Methanol gereinigt wurden; Schmp. 240–256°,  $[\alpha]_D^{20}$ : +10.5° (c=1.056, Äthanol). Der Misch-Schmelzpunkt mit Odorigenin B zeigte keine Erniedrigung<sup>21)</sup>.



Das Acetat, in üblicher Weise bereitet, schmolz bei 266–272°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +5.6° (c=1.071, Chloroform). Es kristallisierte in Platten, gelegentlich bei schnellem Umkristallisieren auch in Nadeln.

## Saure Hydrolyse von Uzarigenin-acetat

750 mg Uzarigenin-acetat wurden in 75 ccm Äthanol + 7 ccm konz. Schwefelsäure 8 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die übliche Aufarbeitung ergab nach der Umkristallisation aus Äthanol 175 mg einer verhältnismäßig schwer löslichen Fraktion.

$\beta$ -Anhydro-uzarigenin: Die erhaltenen 175 mg zeigten nach Kristallisation aus Pyridin, dann aus Äthanol den Schmp. 261–265° und  $[\alpha]_D^{20}$ : –25.8° (c=0.967, Chloroform). Die Substanz lieferte eine negative Tortelli-Jaffé-Reaktion und reagierte positiv mit Tetranitromethan.

$\alpha$ -Anhydro-uzarigenin: Die in der Mutterlauge verbliebenen 475 mg wurden an 15 g alkalifreiem Aluminiumoxyd chromatographisch adsorbiert. Zum Nachwaschen dienten je 50 ccm Lösungsmittel.

Tafel 3. Chromatographische Trennung von Anhydro-uzarigenin

Nr. d. Frakt.	Lösungsmittel	Menge mg	Schmp.
1–4	Benzol	50	205–230°
5–8	Benzol–Chlf. (9 : 1)	70	215–235°
9–12	Benzol–Chlf. (9 : 1)	100	220–240°
13–20	Benzol–Chlf. (4 : 1)	60	230–250°
21–28	Benzol–Chlf. (4 : 1)	40	250–260°
28–32	Chlf.	80	248–260°

Die Fraktionen 13–32 gaben aus Methanol, dann aus Äthanol noch 150 mg  $\beta$ -Anhydro-uzarigenin. Die Fraktionen 5–12 lieferten aus Methanol farblose Nadeln vom Schmp. 236–238°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +70° (c=1.008, Chloroform). Das so gewonnene  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin gab eine positive Reaktion nach Tortelli-Jaffé (grün) auf ditertiäre Doppelbindungen. Mit Tetranitromethan entstand eine Gelbfärbung.

Aus dem  $\beta$ -Anhydro-uzarigenin konnte durch Schütteln mit konz. Salzsäure unter Verschiebung der Doppelbindung eine weitgehende Umlagerung in  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin erzielt werden.

$\beta$ -Anhydro-uzarigenin-acetat: In üblicher Weise bereitet, schmolz es bei 175 bis 180° und kristallisierte aus Aceton-Äther in langen Nadeln;  $[\alpha]_D^{20}$ : –27.0° (c=0.8466, Chloroform).

$\alpha$ -Anhydro-uzarigenin-acetat: Wie üblich hergestellt, kristallisierte es aus Aceton-Äther in Nadeln vom Schmp. 160–164°;  $[\alpha]_D^{20}$ : + 3.0° (c=1.2228, Chloroform).

<sup>21)</sup> Wir danken Hrn. Prof. Reichstein vielmals für die Überlassung dieses Vergleichspräparates.

## Iso-uzarigenin

Es wurde hergestellt aus 300 mg Uzarigenin-acetat in 100 ccm Methanol mit 300 mg Kaliumhydroxyd in 10 ccm Wasser durch Erhitzen unter Rückfluß über 2 Stunden. Aus Methanol Kristalle vom Schmp. 254–258°;  $[\alpha]_D^{20}$ : -4.2° (c=0.9527, Chloroform). Der Misch-Schmelzpunkt mit Isogenin aus Odorigenin B zeigte keine Erniedrigung.

14-Oxy-3(β)-acetoxy-14-iso-aetioallocholansäure: 500 mg Uzarigenin-acetat wurden in 70 ccm Aceton (2mal über Kaliumpermanganat destilliert) gelöst und mit 500 mg fein gepulvertem Kaliumpermanganat bis zur Entfärbung geschüttelt (5 Stdn.). Bei der üblichen Aufarbeitung wurden 140 mg saure Anteile erhalten, die aus Aceton umkristallisiert wurden. Nadeln vom Schmp. 218–224°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +8.5° (c=1.063, Äthanol).

$C_{22}H_{34}O_5$  (378.5) Ber. C 69.81 H 9.05 Gef. C 69.42 H 8.77

Der mit Diazomethan bereitete Methylester schmolz bei 199–204°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +18.7° (c=0.586, Chloroform).

## Uzarigenin aus dem Acetat durch Verseifung nach Zemplén

700 mg Uzarigenin-acetat wurden in 150 ccm wasserfreiem Methanol gelöst und mit 25 ccm einer Natriummethylat-Lösung, die 10 mg Natrium enthielt, versetzt. Bei 0° trat in 15 Stdn. keine Verseifung ein, wohl aber bei Zimmertemperatur.

## Uzarigenon

750 mg Uzarigenin wurden in gegen Chromtrioxyd beständigem Eisessig gelöst (75 ccm) und dazu in 3 Anteilen innerhalb von 2 Stdn. eine 10-proz.  $CrO_3$ -Eisessig-Lösung (250 mg  $CrO_3$ ) gegeben. Nach 5 Stdn. wurde in üblicher Weise unter Zerstörung des gebildeten Chromsäureesters mit Methanol aufgearbeitet. Es wurden 650 mg neutrale Anteile erhalten; diese bildeten aus Aceton Kristalle vom Schmp. 266–276° u.  $[\alpha]_D^{20}$ : +33.6° (c=0.8557, Chloroform). Zur Analyse wurde i. Hochvak. bei 100° getrocknet.

$C_{23}H_{32}O_4$  (372.5) Ber. C 74.16 H 8.67 Gef. C 73.88 H 8.45

Das UV-Spektrum zeigte ein Maximum bei 217  $\mu$  und  $\log \epsilon = 4.22$ , sowie ein kleineres Maximum bei 285  $\mu$  und  $\log \epsilon = 1.68$ .

## Trennung der Genin-acetate durch Chromatographie

Hierfür wurde ein Glykosid-Gemisch verwendet, das durch 10stdg. Extraktion von gut getrocknetem Chloroform-Äthanol-Auszug (2:1) mit Aceton unter Wasserausschluß erhalten worden war. 10 g davon wurden in oben beschriebener Weise mit einem Fermentpräparat gespalten und das erhaltene Genin-Gemisch acetyliert. Das Acetat wurde mit alkalifreiem Aluminiumoxyd (Brockmann) in 500 ccm Benzol chromatographisch behandelt. Zum Nachwaschen dienten je 250 ccm der in der Tafel 4 angegebenen Lösungsmittel.

Tafel 4. Chromatographische Trennung der Genin-acetate

Nr.	Lösungsmittel	Substanz	Farbreaktion mit 84-proz. Schwefelsäure
1–10	Benzol	800 mg	starke Eigenfarbe
11–12	Benzol–Chlf. (9:1)	120 mg	citronengelb 0 Min. rot 30 Min., violett 60 Min., blau 180 Min.
13–20	Benzol–Chlf. (9:1)	1.50 g	
21–32	Benzol–Chlf. (4:1)	670 mg	orange 0 Min., orangerot 30 Min., braun 60 Min., blaug violett 180 Min.
33–40	Benzol–Chlf. (3:2) bzw. Chlf.	620 mg	braun-dunkelbraun

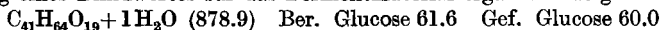
Die weiteren Fraktionen mit Chloroform gaben keinen Farb-Test mehr. Aus den Fraktionen 11–27 wurden ohne Schwierigkeiten Kristalle gewonnen, aus Nr. 11–20 Uzarigenin-acetat, aus Nr. 21–27 Xysmalogenin-acetat. Umlösen der Fraktionen 28–37 mit Aceton lieferte auch hier ein Kristallisat, das sich als Urezigenin-acetat herausstellte.

Spaltung von Uzarosid mit Ferment aus *Aspergillus oryzae*

3.25 g Uzarosid lieferten bei der üblichen Spaltung mit Fermentpräparaten aus *Aspergillus oryzae* 1.5 g rohes Genin, das in allen Eigenschaften mit Uzarigenin übereinstimmte. Zur Charakterisierung wurde noch das Acetat und das  $\beta$ -Anhydro-Derivat hergestellt.

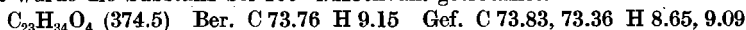
Die durch Extraktion mit Chloroform-Äthanol (1 : 1) vollständig von Genin und u. U. Spuren ungespaltenen Glykosids befreite Zucker-Lösung lieferte mit *p*-Nitro-phenylhydrazin das entsprechende Derivat der Glucose; Schmp. 182—185°. Zur Sicherheit wurde auch noch ein Papierchromatogramm hergestellt, wobei mit der leichten Phase eines Gemisches von Butanol-Eisessig-Wasser (5 : 1 : 4) entwickelt wurde. Der Ort auf dem Papier wurde mit Anilinphtalal sichtbar gemacht. Es entstand ein brauner Fleck mit gelber Fluorescenz, der in der Lage mit dem von Glucose übereinstimmte, die parallel dazu chromatographiert worden war.

Weiter wurde die Glucose nach Bougault-Kolthoff mit Jod und Thiosulfat titriert. Nach Abzug eines Blindwertes für das Fermentmaterial ergab sich folgender Wert:

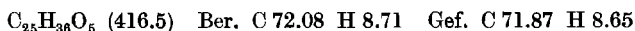


## Enzymatische Hydrolyse des Urezins

Die Spaltung wurde entsprechend wie beim Uzarin vorgenommen. 1.0 g Urezin lieferten 450 mg rohes Urezigenin, das nach Umkristallisieren aus Aceton in farblosen Nadeln vom Schmp. 270—273° kristallisierte;  $[\alpha]_D^{20}$ : +4.1° ( $c=0.720$ , Chloroform). Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° i. Hochvak. getrocknet.



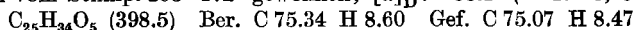
Das Acetat wurde in der üblichen Weise bereitet und kristallisierte nur schwierig. Aus Tetrahydrofuran-Petroläther schmolz es bei 215—248°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +11.5° ( $c=0.782$ , Chloroform).



## Anhydrisierung des Urezigenins

200 mg Urezin wurden in 10 ccm Äthanol mit 0.5 ccm konz. Schwefelsäure 8 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die übliche Aufarbeitung gab aus wäßr. Äthanol ein Kristallisat vom Schmp. 238—250°. Ausb. 185 mg;  $[\alpha]_D^{20}$ : -25° ( $c=0.6833$ , Chloroform).

Das Acetat wurde in der üblichen Weise hergestellt und sofort an 5 g Aluminiumoxyd chromatographisch adsorbiert. Fast die gesamte Menge (150 mg) ließ sich einheitlich mit Petroläther-Benzol (2 : 1) eluieren. Aus Aceton-Petroläther wurden seidenglänzende Nadeln vom Schmp. 168—172° gewonnen;  $[\alpha]_D^{20}$ : -33.1° ( $c=1.118$ , Chloroform).



## Urezigenin aus seinem Acetat durch Verseifung nach Zemplén

Die Spaltung wurde in der beim Uzarigenin-acetat beschriebenen Weise bei Zimmertemperatur innerhalb 24 Stdn. vorgenommen und lieferte ein Urezigenin vom Schmp. 225—240° zurück.

## Oxydation von Urezigenin mit Chromsäure

190 mg Urezigenin wurden in der beim Uzarigenon beschriebenen Weise oxydiert. Die Aufarbeitung lieferte ein Kristallisat vom Schmp. 265—274°, das auch im Misch-Schmelzpunkt und in der Drehung mit Uzarigenon übereinstimmte. Das UV-Spektrum zeigte die beim Uzarigenon gefundenen Werte.

## Iso-urezigenin

Die Isoverbindung wurde in der beim Iso-uzarigenin beschriebenen Weise hergestellt und zeigte den Schmp. 242—246° nach Kristallisation aus Aceton;  $[\alpha]_D^{20}$ : +2.6° ( $c=0.756$ , Äthanol).

Die Identifizierung der Zuckerkomponente im Urezin wurde in der gleichen Weise wie beim Uzarosid vorgenommen durch Bildung des *p*-Nitro-phenylhydrazons der Glucose vom Schmp. 183–185° und durch Papierchromatographie. Der R<sub>F</sub>-Wert und die Farbe des Fleckes wie seine Fluorescenz erwiesen das Vorliegen von Glucose.

#### Enzymatische Spaltung des Xysmalorins

Die Spaltung erfolgte in der gleichen Weise wie beim Uzarin beschrieben. Aus 500 mg Xysmalorin wurden 230 mg rohes Genin gewonnen, die beim Umkristallisieren farblose Nadeln vom Schmp. 230–248° lieferten;  $[\alpha]_D^{20}$ : +19° (c=0.7966, Äthanol). Der Misch-Schmelzpunkt mit Uzarigenin lag bei 225–255°. Der Zucker wurde papierchromatographisch als Glucose ermittelt.

Das Acetat wurde in der bekannten Weise gewonnen und schmolz bei 250–255°;  $[\alpha]_D^{20}$ : -5.9° (c=1.016, Chloroform).

$C_{25}H_{36}O_5$  (416.5) Ber. C 72.08 H 8.71 Gef. C 72.07 H 8.44

Das gleiche Acetat wurde auch bei der chromatographischen Trennung der Acetate ohne vorherige Gewinnung der Glykoside erhalten.

#### Anhydro-xysmalogenin

Die Anhydrierung wurde in der gleichen Weise wie beim Uzarigenin und Urezigenin vorgenommen. Das Anhydrogenin kristallisierte aus Äthanol in Nadeln vom Schmp. 248 bis 255°;  $[\alpha]_D^{20}$ : -59° (c=0.492, Äthanol). Die Farbreaktion nach Tortelli-Jaffé war positiv (grün), ebenso trat mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung auf. Das Acetat, in üblicher Weise gewonnen, lieferte aus Aceton farblose Nadeln vom Schmp. 162–168°;  $[\alpha]_D^{20}$ : -85° (c=0.470, Chloroform).

$C_{25}H_{34}O_4$  (398.5) Ber. C 75.34 H 8.60 Gef. C 75.25 H 8.52

Eine Abspaltung der Oxygruppe wurde durch Stehenlassen mit Phosphoroxychlorid in Pyridin über 20 Stdn. nicht erreicht; es wurde das Ausgangsmaterial zurückerhalten.

#### Xysmalogeninsäure

300 mg Xysmalogenin-acetat wurden in 75 ccm Methanol gelöst und mit der Lösung von 300 mg Kaliumhydroxyd in 10 ccm Wasser 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Bei der üblichen Aufarbeitung blieben im Chloroform 40 mg Neutralteil, die Hauptmenge, 270 mg, wanderte in die Natriumcarbonat-Lösung, die zum Ausschütteln benutzt wurde. Aus ihr ließ sich durch Ansäuern die rohe Säure gewinnen, die aus Methanol in Nadeln vom Schmp. 237–242° kristallisierte. Schon bei 190° begannen die Kristalle zu sintern;  $[\alpha]_D^{20}$ : -94° (c=0.9433, Äthanol).

$C_{23}H_{36}O_8$  (392.5) Ber. C 70.37 H 9.24 Gef. C 70.68 H 9.23

Die Legal-Reaktion verlief negativ. Das UV-Spektrum siehe im theoretischen Teil.

#### Xysmalogenin aus seinem Acetat

260 mg Xysmalogenin-acetat wurden in 36 ccm Methanol gelöst und mit 36 ccm 6.5-proz. methanol. Salzsäure 20 Stdn. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Aufarbeitung ergab 200 mg Xysmalogenin vom Schmp. 230–248°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +21° (c=0.795, Äthanol).

$C_{23}H_{34}O_4$  (374.5) Ber. C 73.76 H 9.15 Gef. C 73.78 H 8.83

#### Xysmalogenon

In analoger Weise wie Uzarigenon bereitet, schmolz das Keton, nachdem es recht schwer aus Aceton-Äther kristallisiert werden konnte, bei 255–260°;  $[\alpha]_D^{20}$ : +48° (c=0.453, Chloroform).

$C_{23}H_{32}O_4$  (372.5) Ber. C 74.16 H 8.66 Gef. C 74.25 H 8.76

Der Misch-Schmelzpunkt mit Uzarigenon lag bei 240–270°.

Darstellung der Isoverbindungen aus dem Gemisch der Genin-acetate von rohem Xysmalobin aus *Xysmalobium undulatum*

400 mg des durch enzymatische Hydrolyse und nachfolgende Acetylierung von dem rohen Glykosid aus *Xysmalobium* gewonnenen Acetatgemisches wurden in üblicher Weise in die Isoverbindungen übergeführt. Die Aufarbeitung ergab 200 mg neutrale und 160 mg saure Anteile. Die neutralen Anteile wurden aus Methanol umkristallisiert und lieferten lange Nadeln vom Schmp. 250–255°;  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-4.2^\circ$  ( $c=0.953$ , Chloroform). Der Misch-Schmelzpunkt mit Isouzarigenin lag bei 248–255°. Aus den sauren Anteilen wurde die Xysmalogeninsäure in farblosen Nadeln gewonnen und zeigte alle Eigenschaften dieser Verbindung. Der Misch-Schmelzpunkt ergab keine Erniedrigung.

Sämtliche Schmelzpunkte wurden mit dem Apparat nach Kofler ermittelt.

## 157. Siegfried Hünig: Über die Methylierung von aromatischen Aminen mit Dimethylsulfat

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Marburg]

(Eingegangen am 21. April 1952)

Aromatische Amine lassen sich mittels Dimethylsulfats in Gegenwart neutral reagierender Carbonate in wäßriger Suspension glatt methylieren, wobei Phenole nicht angegriffen werden.

Die Methylierung von Aminen mittels Dimethylsulfats hat sich seit der Einführung durch F. Ullmann<sup>1)</sup> zu einer unentbehrlichen Laboratoriumsmethode entwickelt. Um so erstaunlicher ist es, daß für die Methylierung verschiedener aromatischer Amine nur unbequeme Vorschriften existieren, die zudem noch wechselnde Ausbeuten liefern. Entweder werden Dimethylsulfat und Natronlauge zur gekühlten Lösung des Amins gegeben<sup>2)</sup>, wobei zur Erzielung guter Ausbeuten die Bedingungen sorgfältig eingehalten werden müssen, oder das Amin wird mit Dimethylsulfat zusammen längere Zeit erhitzt<sup>1)</sup>. Auch hierbei sind, wie wir fanden, die Ausbeuten stark von den Bedingungen und der Reinheit des Dimethylsulfats abhängig. Die katalytisch-reduktive Methylierung von Anilin gelingt nur befriedigend, wenn man während der Reduktion aus Trioxan langsam Formaldehyd entwickelt<sup>3)</sup>. Die elegante Methylierungsmethode unter Verwendung von Formalin und Ameisensäure versagt bei aromatischen Aminen ebenfalls, es sei denn, daß infolge blockierter *o,o'*- und *p*-Stellung die sonst eintretende Kondensation verhindert wird<sup>4)</sup>.

Da wir für verschiedene Untersuchungen aromatische Dimethylamine benötigten, haben wir eine einfache Methode zu ihrer Darstellung entwickelt, die wir wegen ihres breiten Anwendungsgebietes im folgenden mitteilen. Sie ließ sich aus einer näheren Betrachtung des Chemismus der Methylierung mit Dimethylsulfaten leicht ableiten:



Um Phenole mit diesem Methylierungsmittel in der Kälte zu methylieren, ist ein stark alkalisches Reaktionsmilieu erforderlich, da die Methylgruppe vom einsamen Elektronenpaar des Phenolat-Ions übernommen wird.

<sup>1)</sup> A. 327, 107 [1903].

<sup>2)</sup> F. G. Germuth, Journ. Amer. chem. Soc. 51, 1556 [1929].

<sup>3)</sup> D. E. Pearson u. J. D. Bruton, Journ. Amer. chem. Soc. 73, 864 [1951].

<sup>4)</sup> W. S. Emerson in Adams, Org. Reactions, Bd. IV, S. 194.