

4-Oxo-5-methyl-6-phenyl-hexan-carbonsäure-(1): Man erhält die freie Säure durch Verseifen des Methyl ester XIII mit alkohol. Kalilauge. Nach dem Umkristallisieren aus Ligroin schmilzt die Säure bei 76°.

Sie entsteht auch in geringer Menge bei der Methylierung des 1-Benzyl-cyclohexandions-(2.6) in wäßr. Milieu.

$C_{14}H_{18}O_3$ (234.3) Ber. C 71.77 H 7.74 Gef. C 71.86 H 7.87

2.4-Dinitro-phenylhydrazon: 0.3 g 2.4-Dinitro-phenylhydrazin werden in 30 ccm Äthanol suspendiert und 0.5 g der Ketosäure zugegeben. Nach 10 Stdn. Kochen unter Rückfluß hat sich eine klare, rote Lösung gebildet. Beim Einengen der Lösung scheidet sich ein rötes Öl ab, das nach einigem Stehen fest wird. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol Schmp. 127°.

$C_{20}H_{22}O_6N_4$ (414.4) Ber. N 13.52 Gef. N 13.23

5-Methyl-6-phenyl-hexan-carbonsäure-(1) (XIV): Zu einer Lösung von 7.3 g (0.18 Mol) Natriumhydroxyd in 55 ccm Diäthylenglykol werden 9 g (0.036 Mol) 4-Oxo-5-methyl-6-phenyl-hexan-carbonsäure-(1)-methyl ester (XIII), 4.5 ccm 85-proz. Hydrazinhydrat und 4 ccm absol. Methanol hinzugegeben und 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt; Temperatur der siedenden Lösung etwa 110°. Darauf destilliert man Wasser, Hydrazinhydrat und Methanol ab, bis die Temperatur in der siedenden Lösung 195° beträgt. Bei dieser Temperatur wird das Reaktionsgemisch weitere 12 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Die Aufarbeitung zur Säure XIV erfolgt in der gleichen Weise wie bei der 6-Phenyl-hexan-carbonsäure-(1) (VIII). Sdp.₉ 190–191°; Ausb. 6 g (75% d.Th.).

$C_{14}H_{20}O_2$ (220.3) Ber. C 76.32 H 9.15 Gef. C 76.15 H 9.10

159. Rudolf Tschesche und Annemarie Heesch: Über Triterpene, II. Mitteil.: Gratosid, ein Triterpenglykosid aus *Gratiola officinalis* L.

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

(Eingegangen am 22. April 1952)

Im Gottesgnadenkraut (*Gratiola officinalis* L.) ließ sich ein Vorkommen von Herzgiften vom Digitalis-Typ nicht bestätigen. Die Blätter der Pflanze enthalten ein Triterpenglykosid, für das an Stelle der früheren Bezeichnung Gratiolin der Name Gratosid vorgeschlagen wird. Gratosid zerfällt bei der Hydrolyse in Gratiogenin und 2 Moll. Glucose. Das Aglykon gehört zum β -Amyrin-Typ und auf Grund von Abbauprüfungen wird für diese Verbindung die Konstitution eines 2.19.30-Trioxo- $\Delta^{12,13}$ - β -amyrenons-(21) für wahrscheinlich gehalten.

Gottesgnadenkraut (*Gratiola officinalis* L.), eine Scrophulariacee, die in der Volksmedizin gelegentlich eine Rolle spielt, soll nach Jaretsky und Krug¹⁾ Herzgifte vom Digitalis-Typ enthalten. Im Zusammenhang mit Arbeiten über diese Stoffklasse beschlossen wir eine Untersuchung dieser Glykoside vorzunehmen, um ihren chemischen Aufbau zu klären. Es sei gleich erwähnt, daß es uns nicht gelang, eine Verbindung vom Typ des „Gratiotoxins“ in dieser Pflanze chemisch oder tierexperimentell beim Frosch nachzuweisen. Weder in der handelsüblichen Droge, noch in Frischpflanzen, die in der Gegend von

¹⁾ R. Jaretsky, Arch. Pharmaz. 278, 340 [1935]; J. Krug, Dissertat. Braunschweig, 1935.

Hamburg gesammelt worden waren, war eine Digitalis-Wirksamkeit zu beobachten²⁾. Eine Ursache für dieses negative Ergebnis vermögen wir nicht zu erkennen.

Weiter sind eine Reihe von Inhaltsstoffen dieser Pflanze von E. Marchand³⁾, G. F. Walz⁴⁾ und F. Retzlaff⁵⁾ beschrieben worden, die mit den Namen Gratiolin, Gratosolin, Gratiolacrin, Gratiolinsäure und Gratioloin belegt worden sind. Walz erkannte Gratiolin und Gratosolin als Glykoside, von dem erstgenannten zeigte Retzlaff, daß es 2 Moleküle Glucose als Zuckerkomponente enthält. Für das Aglykon Gratiogenin gab er die Summenformel $C_{31}H_{50}O_5$ an, während das Glykosid $C_{42}H_{70}O_{15}$ haben sollte. K. von Osten⁶⁾ änderte die Zusammensetzung in $C_{44}H_{72}O_{15}$ ab, nachdem er ein anscheinend etwas reineres Glykosid gewinnen konnte. Durch hydrolytische Spaltung erhielt er ein Aglykon, von dem er annahm, daß es 4 Oxygruppen enthalten müsse. Diese Angaben erschienen uns auf Grund der jetzigen Kenntnisse auf dem Gebiet der Steroid- und Triterpenoid-sapogenine als revisionsbedürftig und eine Neuuntersuchung zum mindesten des meist bearbeiteten Gratiolins schien wünschenswert.

Wir haben eine Verbindung mit den Eigenschaften des Gratiolins aus dem Kraut von *Gratiola officinalis* L. erhalten können vom Schmp. 268–274⁰ u. $[\alpha]_D^{20}$: +75⁰ in Äthanol (v. Osten: Schmp. 260–265⁰, $[\alpha]_D^{20}$: +74⁰ in Äthanol; Jaretsky und Krug: Schmp. 268–269⁰, $[\alpha]_D^{20}$: +68⁰ in Äthanol), für die wir jedoch die Bezeichnung Gratosid vorschlagen möchten. Von Retzlaff ist nämlich aus der gleichen Pflanze ein Gratiolon erhalten worden, das Maurer⁷⁾ als Triterpen $C_{30}H_{48}O_3$ erkannte und von dem Barton⁸⁾ nachwies, daß es sehr wahrscheinlich mit Betulinsäure identisch ist. Es gehört also zum Lupeol-Typ dieser Verbindungsklasse. Bei der leichten Verwechselbarkeit von Gratiolin und Gratiolon schien uns eine Umbenennung des ersteren wünschenswert.

Gratosid hat die Summenformel $C_{42}H_{68}O_{14} + 1 H_2O$ und schmeckt im Gegensatz zu den Angaben von Jaretsky und Krug¹⁾ nicht bitter. Es liefert mit konz. Schwefelsäure eine gelbgrüne Fluoreszenz, die nach einigen Stunden einer kirschroten Färbung weicht, wie sie schon von Retzlaff beschrieben wurde. Bei der hydrolytischen Spaltung mit Säure zerfällt Gratosid in das Triterpen Gratiogenin $C_{30}H_{48}O_4$ und 2 Moleküle Glucose. Diese wurde als α -Methylglucosid isoliert und die Glucose auch papierchromatographisch als solche identifiziert. Obwohl Gratiogenin in seinem Glykosid nur an Glucose geknüpft ist, erwies sich eine Spaltung mit Fermentpräparaten aus *Aspergillus oryzae* als nicht möglich. Eine solche ist bei Herzgift-Glykosiden allgemein durchführbar, bei denen Glucose an eine OH-Gruppe in α - oder β -Stellung an C³ im Aglykon gebunden ist⁹⁾. Vielleicht ist im Gratosid die Annäherung des Ferments an die Glykosidbindung durch benachbarte Methylgruppen im Aglykon gehindert. Die Glucose dürfte an das Genin vermutlich β -glykosidisch geknüpft sein, da die Differenz der molekularen Drehungen

²⁾ Wir danken Hrn. Dozent Dr. F. Neuwald, Hamburg, vielmals für diese Untersuchungen. ³⁾ Journ. chim. médic. 21, 518 [1845].

⁴⁾ Jahrb. prakt. Pharmaz. [N.F.] 18, 1 [1850], 21, 4 [1852].

⁵⁾ Arch. Pharmaz. 240, 561 [1902]. ⁶⁾ Dissertat. Jena, 1935.

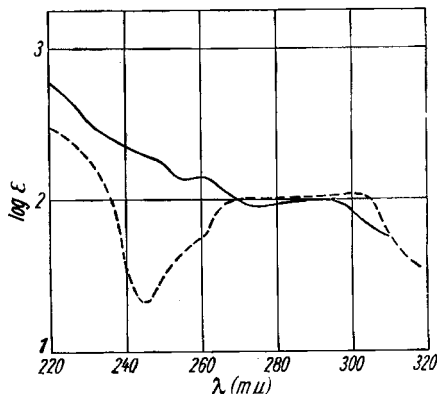
⁷⁾ K. Maurer, K. Meyer u. G. Reiff, B. 72, 1870 [1939].

⁸⁾ D. H. R. Barton u. E. R. H. Jones, Journ. chem. Soc. London 1944, 659.

⁹⁾ R. Tschesche u. K. H. Brathge, B. 85, 1042 [1952].

sich bei der Hydrolyse im positiven Sinne ändert¹⁰). $\Delta M[\alpha] = M[\alpha]_{\text{Gluc.}} - M[\alpha]_{\text{Genin}} = -610 \times 10^2$. Diese Feststellung ist jedoch mit einem ziemlichen Unsicherheitsfaktor behaftet, da, wie wir gleich zeigen werden, neben den 2 Moll. Glucose 3 Oxygruppen im Aglykon enthalten sind. Für die pflanzlichen Herzgifte ist von Klyne¹⁰) die vorwiegend β -glykosidische Verknüpfung mit dem Aglykon angenommen worden, wenn Zucker der D-Reihe vorliegen¹¹).

Gratiogenin (Schmp. 191–196⁰, $[\alpha]_D^{20} : +168^0$ in Chloroform; v. Osten: Schmp. 196⁰, $[\alpha]_D^{20} : +155.6^0$ in Äthanol) $C_{30}H_{48}O_4$ liefert bei der Acetylierung unter milden Bedingungen ein Monoacetat (auch schon von v. Osten beobachtet), bei energischeren Versuchsbedingungen ein Diacetat. Mehr Acetylgruppen waren unter keinen Umständen einzuführen. Ein Sauerstoffatom des Moleküls liegt als Keto-Gruppe vor (flaches Maximum bei 290 $m\mu$ mit $\log \epsilon = 2.0$, Abbild. 1); auch das Ultrarot-Spektrum (Abbild. 2) zeigt eine für die Ketogruppe charakteristische Bande bei 5.9 μ ¹²). Die Ketogruppe reagiert nicht mit Keton-Reagenzien und läßt sich auch nicht bei Zimmertemperatur mit Platin als Katalysator reduzieren. Ketoverbindungen, in denen die CO-Gruppen nicht ohne weiteres nachweisbar sind, wurden mehrfach in der Triterpenchemie beobachtet^{13, 14, 15}). Das vierte Sauerstoffatom dürfte eine weitere OH-Gruppe sein, die auf Grund ihrer Stellung im Molekül so sterisch behindert ist, daß sie keine Umsetzung bei der Acylierung zeigt. Auch dieser Befund ist bei Triterpenen nicht ungewöhnlich; so läßt sich in der Sumaresinolsäure¹⁶) (OH vermutlich an C⁷) und in der Siaresinolsäure¹⁷) (OH an C¹⁹) eine Acetylierung dieser Gruppen unter den üblichen Bedingungen nicht erreichen.



Abbild. 1. UV-Absorption von Gratiogenin (I) ($c = 2.212$ g/l; Lösungsmittel: Äthanol ———), Keto-dihydro-Derivat $C_{30}H_{40}O_5(CH_3CO)_2$ ($c = 0.256$ g/l; Lösungsmittel: Methanol - - - - -).

¹⁰) J. Klyne, Biochem. Journ. 47, XLi [1950].

¹¹) K. Reyle u. T. Reichstein, Helv. chim. Acta 35, 195 [1952].

¹²) Wir danken Hrn. Prof. Dr. Mecke, Freiburg, auch an dieser Stelle für seine Untersuchung.

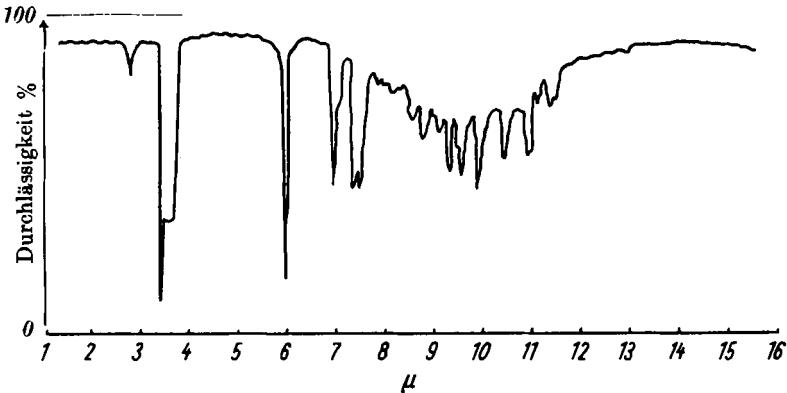
¹³) D. F. Elliott, G. A. R. Kon u. H. R. Soper, Journ. chem. Soc. London 1940, 612.

¹⁴) W. R. White u. C. R. Noller, Journ. Amer. chem. Soc. 61, 983 [1939].

¹⁵) O. Jeger, Über die Konstitution der Triterpene, Fortschr. d. Chem. Org. Naturstoffe, Bd. VII, 1, Wien 1950.

¹⁶) L. Ruzicka, O. Jeger, A. Grob u. H. Hösli, Helv. chim. Acta 26, 2283 [1943].

¹⁷) A. Zinke u. H. Lieb, Monatsh. Chem. 39, 627 [1918].



Abbild. 2. Ultrarot-Spektrum von Gratiogenin-acetat. Spektrometer: P. E. Modell 21; 26.6 mg/5 ccm in Schwefelkohlenstoff, Schichtdicke 0.94 mm

Gratiogenin läßt sich mit Platin i. Ggw. von Schwefelsäure bei gewöhnlichem Druck nicht hydrieren, gibt aber eine positive Reaktion auf Doppelbindungen mit Tetranitromethan. Damit scheidet für diese Verbindung der Lupeol-Typ der Triterpene aus¹⁸⁾, da in ihm die Doppelbindung katalytisch abzusättigen ist. Es bleibt noch die Klärung der Frage nach der Zugehörigkeit zum α - und β -Amyrin- bzw. Germanicol-Typ. Bei der Oxydation mit Wasserstoffperoxyd in Essigsäure oder mit Benzopersäure geben die β -Amyrine Keto-dihydro-Verbindungen¹⁹⁾, während die α -Amyrine mit diesen Reagenzien sehr viel träger oder nur unter besonderen Bedingungen zur Umsetzung kommen^{20,21)}. Germanicol-Abkömmlinge liefern allein Oxyde, die leicht in konjugierte Diene übergehen²²⁾. Gratiogenin-diacetat ergab ein Keto-dihydro-Derivat $C_{30}H_{46}O_5(CH_3CO)_2$ (im UV flaches Maximum bei 290 m μ , $\log \epsilon = 2.05$) (Abbild. 1), sowohl mit Wasserstoffperoxyd in Eisessig, wie mit Benzopersäure, so die Zuordnung zur β -Amyringruppe wahrscheinlich machend. Mit dieser Auffassung stimmen auch die Ergebnisse der gleich zu behandelnden Chromsäure-Oxydation befriedigend überein.

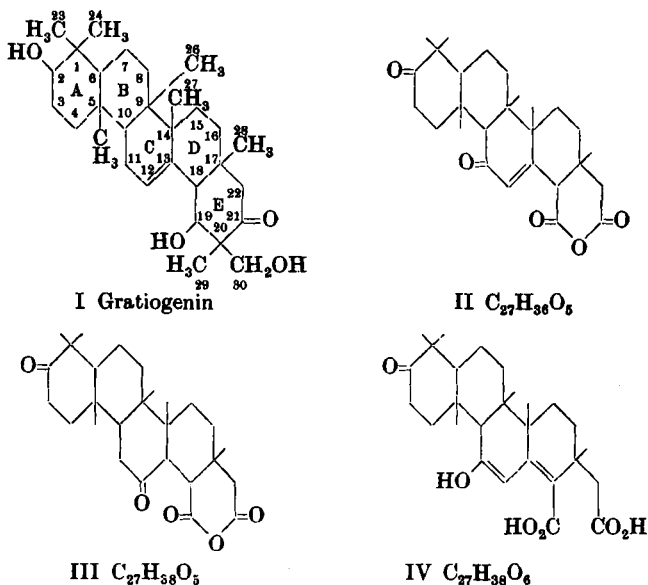
Für Gratiogenin haben wir die Konstitution eines 2.19.30-Trioxy- $\Delta^{12,13}$ - β -amyrenons-(21) (I) in Erwägung gezogen und stützen uns dabei auf folgende Feststellungen: Oxydiert man Gratiogenin mit Chromsäure, so werden 7 Moll. dieses Oxydationsmittels verbraucht und es entsteht unter Abtrennung von 3 C-Atomen eine Verbindung $C_{27}H_{36}O_5$, der wir die Konstitution II geben. Diese Verbindung gibt ein Mono-2.4-dinitro-phenylhydrazon, womit ein Sauerstoffatom als Ketogruppe nachgewiesen ist. Das UV-Spektrum (Abbild. 3) zeigt ein Maximum bei 245 m μ mit $\log \epsilon = 4.15$, das Vorliegen einer α,β -ungesättigten Ketogruppierung anzeigend. Wir vermuten, daß die mit Ketonreagenzien reagierende Ketogruppe diejenige an C³ des Ringsystems ist. Eine sekundäre OH-Gruppe ist bisher an dieser Stelle in allen Triterpenen nachgewiesen worden, eine Ketogruppe in dieser Lage reagiert auch mit Ketonreagenzien. Die im Ultraviolett bevorzugt feststellbare CO-Gruppe ist aber wahrscheinlich eine andere und wird erst durch die Chromsäure bei der Oxy-

¹⁸⁾ I. M. Heilbron, T. Kennedy u. F. S. Spring, Journ. chem. Soc. London 1938, 329. ¹⁹⁾ F. S. Spring u. T. Vickerstaff, Journ. chem. Soc. London 1937, 249.

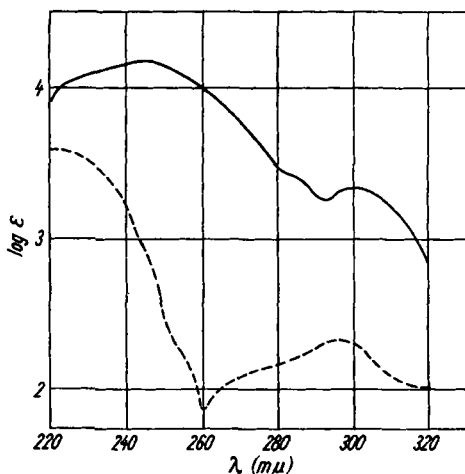
²⁰⁾ L. R. H. Silbermann u. P. Pieth, Helv. chim. Acta 15, 1285 [1932].

²¹⁾ D. E. Seynon, H. S. Sharples u. F. S. Spring, Journ. chem. Soc. London 1939, 1075. ²²⁾ S. David, Bull. Soc. chim. France [5] 16, 155 [1949].

dation eingeführt. CO an C¹¹ mit benachbarter Doppelbindung Δ^{12,13} zeigt keine Umsetzung mit Ketonreagenzien, wie von der Glycyrrhetinsäure her bekannt ist²³⁾, die eine entsprechende Gruppierung enthält. Auch die Lage



des UV-Maximums steht damit in guter Übereinstimmung. Einmal entstand bei der Chromsäureoxydation eine andere Verbindung, C₂₇H₃₈O₅, die also auch den Verlust von 3 C-Atomen aufweist, aber auf Grund des Spektrums (Abbild. 3)

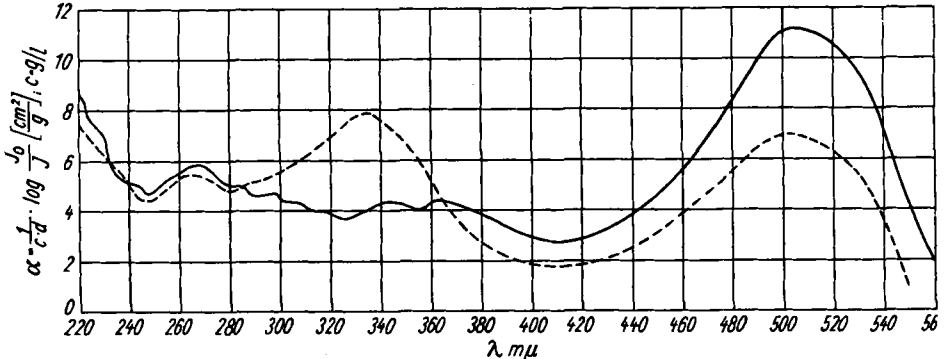


Abbild. 3. UV-Absorption der Verb. C₂₇H₃₈O₅ (II) (c = 0.02 g/l; Mol.-Gew. 440.6); Lösungsmittel: Methanol ———, der Verb. C₂₇H₃₈O₅ (III) (c = 0.207 g/l; Mol.-Gew. 442.6); Lösungsmittel: Äthanol - - - - -

²³⁾ L. R. H. Levenberger u. H. Schellenberg, *Helv. chim. Acta* 20, 1279 [1937].

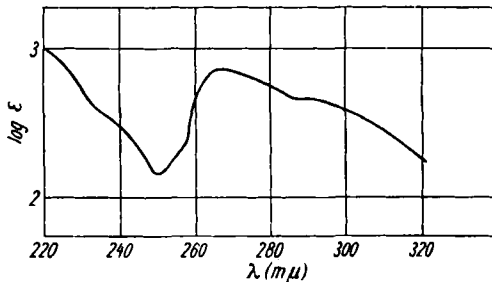
kein α,β -ungesättigtes Keton darstellt (Formel III). Es ist bekannt, daß bei der Oxydation von β -Amyrin-Derivaten α,β -ungesättigte Ketone in dieser Stellung entstehen; gelegentlich werden aber aus bisher nicht bekannten Gründen die gesättigten Verbindungen mit einer CO-Gruppe an C¹² gebildet^{24,25}). Auch diese Feststellung steht mit der Zuordnung des Gratiogenins zur β -Amyringruppe in Einklang.

Die Verbindung C₂₇H₃₈O₅ läßt sich mit Alkali zu einer farblosen Diketo-dicarbonsäure C₂₇H₄₀O₆ aufspalten, womit sie sich wahrscheinlich als ein Säureanhydrid ausweist. Stabilere Säureanhydride der Glutar- und Adipinsäurereihe sind keineswegs ungewöhnlich²⁶). Behandelt man jedoch die Verbindung



Abbild. 4. UV-Absorption der gelben Säure aus der Verb. C₂₇H₃₈O₅: ——— in NaOH (rot) ($c=0.085$ g/l), - - - - - in CH₃OH (gelb) ($c=0.822$ g/l)

C₂₇H₃₆O₅ (II) mit Alkali, so bildet sich allmählich eine tiefrote Lösung. Da in ihr eine α,β -ungesättigte Ketongruppierung vorliegt, ist die Alkaliempfindlichkeit verständlich. Nach dem Ansäuern wurde neben einer gelben Säure (siehe die Spektren, Abbild. 4), die weder als solche noch als Ester kristallin erhalten werden konnte, eine farblose Dicarbonsäure C₂₇H₃₈O₆ (IV) isoliert. Sie zeigt im UV ein Maximum bei 265 $m\mu$ und $\log \epsilon = 2.85$ (Abbild. 5). In ihr ist ver-



Abbild. 5. UV-Absorption der Dicarbonsäure C₂₇H₃₈O₆ (IV) ($c=0.120$ g/l, Mol.-Gew. 458.6); Lösungsmittel: Äthanol

²⁴) L. Ruzicka u. O. Jeger, *Helv. chim. Acta* **24**, 1178 [1941]; J. H. Beynon, H. S. Sharples u. F. S. Spring, *Journ. chem. Soc. London* **1938**, 1253.

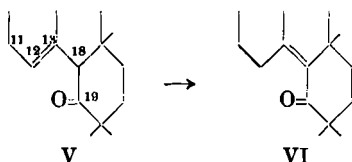
²⁵) J. H. Beynon, H. S. Sharples u. F. S. Spring, *Journ. chem. Soc. London* **1938**, 1233. ²⁶) H. G. Blanc, *Compt. rend. Acad. Sciences* **144**, 1356 [1907].

mutlich eine Verschiebung der Doppelbindung in Konjugation zur Carboxygruppe C¹⁹ eingetreten; mit dieser Annahme stimmt das gemessene Spektrum befriedigend überein.

Gelbe Säuren, die bei der Alkalibehandlung noch stärker gefärbte Lösungen liefern, sind schon mehrfach nach Chromsäure-Oxydation in der Triterpenreihe beobachtet worden. So erhielt man bei der Oxydation des 2-Acetoxy-siarsinolsäure-methylesters zur entsprechenden Ketoverbindung nebenbei eine gelbe Substanz²⁷⁾. Bei der Oxydation des Euphols mit Kaliumpermanganat bildete sich ebenfalls eine gelbe Verbindung, die mit Alkalien rot wurde²⁸⁾. Die Konstitution dieser gefärbten Verbindungen ist nicht näher bekannt geworden. Der Versuch, unsere gelbe Säure mit *o*-Phenylendiamin umzusetzen, in der Annahme, daß möglicherweise in ihr ein 1,2-Diketo-Derivat vorläge, verlief negativ.

Eine Anordnung der Substituenten, wie wir sie im Ring E des Gratiogenins vermuten, würde die Abspaltung von 3 C-Atomen bei der Oxydation leicht erklären und steht mit dem Verbrauch von 7 Moll. Chromsäure in Einklang. Sie wäre ferner mit den Acetylierungsbefunden vereinbar, nach denen eine leicht acetylierbare OH-Gruppe vorliegt, welche die primäre Oxygruppe an C³⁰ sein könnte.

Die zweite schwer acetylierbare Gruppierung wäre an C¹⁰ anzunehmen. Auffällig ist ferner die Tatsache, daß Gratiogenin und sein Acetat hinsichtlich der molekularen Drehung einen recht hohen Wert aufweisen (+79 × 10³ bzw. +95 × 10³); eine gewisse Analogie hierzu zeigt die α - und β -Boswellinsäure, bei der zwischen Carboxyl an C¹ und OH an C² eine Wasserstoffbrücke angenommen wird, um den hohen Wert des molekularen Drehungsunterschiedes zwischen freiem Alkohol und seinem Acetat zu erklären⁸⁾. Das deutet auch hier darauf hin, daß möglicherweise eine Chelatbindung zwischen Ketogruppe und einer Oxygruppe vorliegen könnte. Eine Chelatbindung im Gratiogenin würde eine räumliche Nähe von Oxogruppe und einer Oxygruppe voraussetzen; dieser Forderung kommt unsere Formel I entgegen, in der das CO an C²¹ sowohl mit dem OH an C³⁰ wie an C¹⁹ in Beziehung treten kann. Es bleibt noch zu erörtern, warum wir die Ketogruppe nach C²¹ und nicht nach C¹⁹ verlegt haben. Behandelt man unser Aglykon mit Alkali, so tritt eine Verschiebung der Doppelbindung C^{12,13} nach C^{13,18} nicht ein, wie sie L. R. A. Grob, R. Egli und O. Jeger²⁹⁾ bei der 2-Acetoxy-keto-siarsinolsäure (Teilformel V u. VI) beobachtet haben, da sich in diesem Falle ein konjugiertes System ausbilden kann. Der Befund spricht dafür, daß im Gratiogenin die CO-Gruppe eher an C²¹ als an C¹⁹ zu suchen ist.



Eine gewisse Schwierigkeit bot noch die Feststellung von von Osten, daß Gratiogenin ein Mol. Bleitetraacetat verbraucht, eine Angabe, die wir bestätigen können. Da unsere Formel I keine Glykolgruppierung enthält, mußte eine Erklärung für dieses Verhalten in anderer Weise gesucht werden. Es schien möglich, daß das Bleitetraacetat eine Acetylgruppe neben der Doppelbindung $\Delta^{12,13}$ an C¹² einführt und so eine Glykolgruppierung nur vorgetäuscht wird. Wir haben daher die bei der Oxydation entstehende Verbindung anschließend mit Chromsäure oxydiert. Dabei bildete sich die schon bei der Chromsäure-Oxydation des Gratiogenins erwähnte Verbindung C₂₇H₃₆O₅. Daraus ist zu entnehmen, daß unsere Annahme eines anomalen Verlaufes der Bleitetraacetat-Oxydation

²⁷⁾ P. Bilham, G. A. R. Kon u. W. C. J. Ross, Journ. chem. Soc. London 1942, 540.

²⁸⁾ M. Vilkas, Ann. Chim. 1951 [12], Bd. 6, 325.

²⁹⁾ Helv. chim. Acta 26, 1218 [1943].

vermutlich richtig ist. Damit stimmt überein, daß aus dem Oxydationsprodukt mit Bleitetraacetat kein Dinitro-phenylhydrazon zu gewinnen war und eine Weiteroxydation mit Silberoxyd erfolglos blieb.

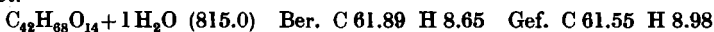
Gratiosid zeigt nach F. Neuwald³⁰⁾ keinerlei hämolytische Aktivität. Diese Feststellung erscheint wichtig, denn sie zeigt, daß durchaus nicht alle Glykoside vom Typ der Triterpenglykoside diese Wirksamkeit entfalten. Eine Prüfung der Literatur deutet daraufhin, daß alle Grade der hämolytischen Aktivität auftreten können. Dies ist auch zu erwarten, da nach den Arbeiten von A. Windaus³¹⁾ für den hämolytischen Effekt vermutlich die Ausbildung einer Molekülverbindung mit Cholesterin die Voraussetzung ist. Da dafür aber u. a. sterische Umstände von entscheidender Bedeutung sein werden, wird das eventuelle Ausbleiben einer hämolytischen Aktivität leicht verständlich. Man wird daher aus dem Fehlen einer hämolytischen Eigenschaft nicht schließen dürfen, daß in einem Pflanzenmaterial keine Verbindungen vom Triterpen- oder Steransapogenin-glykosid-Typ vorkommen. Vielleicht wird man in Zukunft gezwungen sein, den Begriff Saponine schärfer zu formulieren, denn es kann kein Zweifel sein, daß auch dem Gratiosid oberflächenaktive Eigenschaften zukommen.

Wir danken der Joachim-Jungius-Gesellschaft der Wissenschaften in Hamburg und den Farbwerken Hoechst, Frankfurt/M., für die Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche³²⁾

Isolierung des Gratiosids

10 kg getrocknete, handelsübliche Droge wurden mit Methanol erschöpfend extrahiert und der Extrakt i. Vak. eingengt bis ein dunkelbrauner Sirup erhalten wurde. 1.9 kg dieses Materials wurden in 20 l 50-proz. Äthanol gelöst und so lange gesättigte Bleiacetat-Lösung hinzugefügt als noch ein Niederschlag entstand. Das Filtrat der Fällung wurde mit etwas konz. Schwefelsäure von überschüss. Blei befreit und dann i. Vak. weitgehend eingengt. Dabei schieden sich grünliche Schmierer, zusammen mit einem grauweißen Niederschlag, ab. Die unlöslichen Anteile wurden mit wenig Aceton gewaschen, wobei der größte Teil der anhaftenden harzigen Verunreinigungen in Lösung ging und ein mikrokristallines Pulver zurückblieb, das aus Äthanol umkristallisiert wurde. Es wurden so zu Drusen vereinigte Kristalle gewonnen, die bei 268—274° schmolzen. $[\alpha]_D^{20}$: +75° (c=0.825, Äthanol); Ausb. etwa 0.13% der Droge. Zur Analyse wurde i. Hochvak. bei 50° getrocknet.



Das UV-Absorptionsspektrum zeigte ein Maximum bei 295 m μ und log ϵ = 1.84 in Methanol (c = 2.5 g/l).

Gratiogenin

2 g Gratiosid wurden in 250 ccm Methanol mit 14 ccm konz. Salzsäure 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Dann wurden 50 ccm Wasser hinzugefügt und das Methanol i. Vak. entfernt. Dabei schied sich der größte Teil des gebildeten Gratiogenins als farbloses Kristallinat ab. Nach dem Waschen der Kristalle mit Wasser wurden sie aus Me-

³⁰⁾ Wir danken Hrn. Dozent Dr. F. Neuwald, Hamburg, auch für diese Bestimmung.

³¹⁾ B. 42, 238 [1909].

³²⁾ Sämtliche Schmelzpunkte dieser Arbeit sind mit dem Apparat nach Kofler ermittelt worden.

thanol oder Äthanol umkristallisiert und in Form von zu Büscheln vereinigten Nadeln erhalten, die bei 191–196° schmolzen. $[\alpha]_D^{25}$: +168° (c=1.193, Chloroform); $[\alpha]_D^{30}$: +151° (c=0.863, Methanol). Zur Analyse wurden die Kristalle bei 70° i. Hochvak. getrocknet.

$C_{90}H_{148}O_4$ (472.7) Ber. C 76.22 H 10.23 Gef. C 76.26 H 10.17

Die Verbindung war leicht löslich in Methanol, Äthanol, Chloroform, Aceton und in Pyridin, so gut wie unlöslich in Petroläther, Äther und Wasser. Durch das Fermentpräparat Luizym³³) trat bei Gratioid in 5 Tagen bei 37° keine Spaltung ein. Gratiogenin verbraucht beim Erhitzen mit Lauge kein Alkali.

α -Methylglucosid aus Gratioid

Die wäßr. salzsaure Lösung der hydrolytischen Spaltung des Gratioids wurde i. Vak. etwas eingengt und mit der theoret. Menge frisch hergestellten Silbercarbonats in einem 60° warmen Wasserbad neutralisiert. Das gebildete Silberchlorid wurde abfiltriert und mit siedendem Wasser ausgezogen. Die neutrale Lösung wurde i. Vak. eingedampft, noch einmal mit Wasser aufgenommen, filtriert, wieder etwas eingengt und zur Kristallisation aufbewahrt. Es entstand ein Kristallbrei, der mit wasserfreiem Pyridin in der Hitze extrahiert wurde. Nachdem von geringen ungelösten Anteilen abfiltriert worden war, wurde die Pyridin-Lösung i. Vak. eingedampft, der Rückstand mehrmals mit Wasser wieder aufgenommen und das Wasser wieder abdestilliert, um das noch verbliebene Pyridin zu entfernen. Schließlich hinterblieb ein bräunlich gefärbter Kristallkuchen, der durch Waschen mit kaltem wasserfreiem Äthanol farblos erhalten werden konnte. Die Kristalle schmolzen bei 159–163°; $[\alpha]_D^{20}$: +155° (c=0.42, Wasser). Der Misch-Schmelzpunkt mit authentischem α -Methylglucosid zeigte keine Erniedrigung.

$C_7H_{14}O_6$ (194.2) Ber. C 43.29 H 7.27 Gef. C 43.15 H 7.12

Bei der Zuckertitration nach Bougault-Kolthoff wurden aus 218 mg Gratioid 93.3 mg abgespaltene Glucose bestimmt; ber. 96.3 mg. Die Papierchromatographie in Butanol-Eisessig-Wasser (5:1:4) zeigte nur den R_F -Wert der Glucose an, der Platz auf dem Papier wurde mit Anilinphtalat sichtbar gemacht; parallel dazu mitgelaufene Glucose lieferte entsprechende Ergebnisse.

Acetylierung des Gratiogenins

485 mg Gratiogenin wurden mit 5 ccm Essigsäureanhydrid und 5 ccm wasserfreiem Pyridin 20 Stdn. bei 37° stehengelassen. Diese Acetylierung wurde nach der Aufarbeitung noch einmal in gleicher Weise wiederholt. Da das erhaltene Kristallisat keinen einheitlichen Eindruck machte, wurde es in Benzol gelöst und chromatographisch mit alkalifreiem Aluminiumoxyd behandelt. Die das Acetat enthaltende Benzol-Fraktion wurde auf ein kleines Volumen eingengt und mit einem Überschuß von Petroläther versetzt. Es wurden so Blättchen erhalten, die nach dem Trocknen i. Hochvak. von 60° bei 195–205° schmolzen.

$C_{32}H_{50}O_6$ (514.7) Ber. 1 COCH₃ 8.16

Gef. COCH₃ 8.26 (alkal. Verseifung)

„ Mol.-Gew. 523, 514 (kryoskop. i. Benzol)

Beim Trocknen i. Hochvak. bei 100° zersetzte sich die Substanz teilweise unter Veränderung des Schmelzpunktes (186–240°) und zeigte dann bei der katalyt. Hydrierung eine Aufnahme von Wasserstoff.

Die Acetylierung bei 100° in der oben angegebenen Weise lieferte nach chromatographischem Behandeln mit alkalifreiem Aluminiumoxyd ein Acetat vom Schmp. 163 bis 171°; $[\alpha]_D^{20}$: +171° (c=0.760, Chloroform).

$C_{34}H_{52}O_6$ (556.8) Ber. 2 COCH₃ 16.2 Gef. COCH₃ 16.0

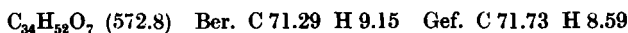
Eine Acetylierung nach A. Spassow³⁴) mit Mg und Acetylchlorid zeigte keine erhöhte Aufnahme von Acetyl.

Benzopersäure-Oxydation von Gratiogenin-diacetat: 0.1 g Gratiogenin-diacetat wurden mit 40 ccm 1.5-proz. Benzopersäure-Lösung 20 Stdn. bei 0° stehen-

³³) Hersteller: Luitpold-Werke, München.

³⁴) B. 70, 1926 [1937].

gelassen. Es wurde knapp 1 Mol. Benzopersäure verbraucht. Die Aufarbeitung lieferte ein farbloses Kristallisat (Diacetat des Keto-dihydro-Derivats) vom Schmp. 241–245°.

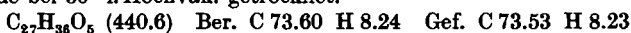


Die gleiche Verbindung, nur wesentlich schwerer zu reinigen, ergab auch die Oxydation in Eisessig mit Wasserstoffperoxyd (250 mg Diacetat, 10 ccm Eisessig und 10 ccm 30-proz. Perhydrol 2 Stdn. auf dem siedenden Wasserbad erwärmt).

Chromsäure-Oxydation von Gratiogenin

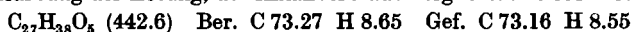
Es wurden 4 Ansätze mit je 250 mg Genin nebeneinander mit Chromsäure-Lösung bei Zimmertemperatur oxydiert. Jeder Ansatz wurde in 5 ccm Eisessig gelöst und 1 ccm einer 16-proz. Eisessig-Chromsäure-Lösung hinzugefügt. Nach jeweils 1 Stde. wurde wieder 1 ccm Chromsäure-Mischung nachgegeben, bis schließlich 4.5 ccm davon zugesetzt worden waren; diese Menge entsprach 720 mg Chromtrioxyd. Die Ansätze wurden dann bei Zimmertemperatur über Nacht stehengelassen. Das unverbrauchte Chromtrioxyd wurde in einer abgemessenen Probe mit $n_{100} Na_2S_2O_3$ zurücktitriert. Es zeigte sich ein Verbrauch von 7 Moll. CrO_3 auf 1 Mol. Gratiogenin.

Die vereinigten Ansätze wurden nun mit Methanol versetzt und schließlich Methanol und Eisessig i. Vak. abdestilliert; der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen. Die erhaltene trübe Lösung wurde mit Chloroform extrahiert und in üblicher Weise auf saure und neutrale Anteile aufgearbeitet. Es wurden 70 mg saure und 670 mg neutrale Substanz gewonnen. Diese wurden aus Aceton umkristallisiert und Nadeln erhalten, die bei 268–274° schmolzen. Um sie schneller rein zu erhalten, empfiehlt sich Chromatographieren in benzolischer Lösung über alkalifreies Aluminiumoxyd. Danach kristallisiert die Verbindung (II) aus Methanol in großen Nadeln; $[\alpha]_D^{20} = +210^\circ$ ($c = 0.702$, Chloroform). Zur Analyse wurde bei 50° i. Hochvak. getrocknet.

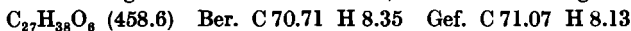


Die Verbindung ist leicht löslich in Eisessig, Chloroform, Aceton, Benzol und Alkoholen, schwer löslich in Petroläther und Ligroin.

Verbindung $C_{27}H_{36}O_5$ (III): Bei einem in gleicher Weise angestellten Chromsäure-Oxydationsversuch wurde eine Verbindung vom Schmp. 210–213° gewonnen, die außerdem durch ihre geringere Löslichkeit in Methanol und Äthanol gegenüber der Verbindung der Zusammensetzung $C_{27}H_{36}O_5$ auffiel. Beim Kochen mit alkohol. Lauge zeigte sie keine Rotfärbung der Lösung, der Alkaliverbrauch ergab Werte für 2 Carboxygruppen.

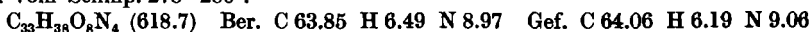


Verbindung $C_{27}H_{38}O_5$ (IV): 150 mg der Verb. $C_{27}H_{36}O_5$ wurden mit 20 ccm $n_{10} NaOH$ in 150 ccm Methanol 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Es entstand eine violette Lösung, die beim Ansäuern ihre Farbe nach Orange gelb änderte. Nach Isolierung der gebildeten sauren Anteile wurden 150 mg eines gelben, harzigen Rückstandes erhalten. Aus ihm konnte durch Behandeln mit reichlich Äther und Reiben mit dem Glasstab eine kristallisierte Substanz gewonnen werden, die aus Methanol-Äther umkristallisierbar war und dann bei 256–266° schmolz. Sie bestand aus farblosen Blättchen, die sich bei erneutem Kochen mit alkohol. Lauge nicht mehr verfärbten; Ausb. etwa 30 mg.



Aus den gelben Mutterlauge der Verbindung $C_{27}H_{38}O_6$ waren keine kristallinen Anteile zu erhalten, auch nicht nach Veresterung mit Diazomethan. Die Verbindung $C_{27}H_{38}O_6$ zeigte bei der Titration einen Verbrauch für 2 Carboxygruppen an.

2.4-Dinitro-phenylhydrazon der Verbindung $C_{27}H_{38}O_6$: 250 mg 2.4-Dinitrophenylhydrazin in 5 ccm Äthanol und 1 ccm konz. Salzsäure wurden mit 70 mg der Verbindung $C_{27}H_{38}O_6$ auf dem siedenden Wasserbade umgesetzt. Beim Abkühlen bildete sich ein flockiger, gelber Niederschlag, der aus Äthanol umkristallisiert wurde; feine Nadeln vom Schmp. 278–280°.



Bleitetraacetat-Oxydation des Gratiogenins

630 mg Gratiogenin wurden in 5 ccm Eisessig gelöst, die Lösung mit 100 ccm einer Bleitetraacetat-Lösung (5 g in 260 ccm Eisessig) versetzt und im Wasserbad auf 50° erwärmt. Es wurden 1.33 Moll. Bleitetraacetat je Mol. Gratiogenin verbraucht. Bei der üblichen Aufarbeitung wurden nur neutrale Anteile erhalten, die nicht kristallisierten und auch kein Dinitrophenylhydrazon ergaben. Beim Schütteln mit Silberoxyd in Äthanol wurden nur sehr geringe Mengen saurer Anteile erhalten.

Darauf wurde das amorphe Reaktionsprodukt in der beim Gratiogenin beschriebenen Weise mit Chromsäure in Eisessig oxydiert. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden die neutralen Anteile durch Chromatographieren an einer Aluminiumoxyd-Säule in benzolischer Lösung gereinigt und so schließlich ein Kristallisat gewonnen, das aus Aceton umkristallisiert werden konnte. Es zeigte danach den Schmp. 264–268° und erwies sich in allen Eigenschaften identisch mit der Verbindung $C_{22}H_{36}O_5$, die bei der direkten Oxydation von Gratiogenin mit Chromsäure erhalten wurde.

160. Hans Beyer und Gerhard Wolter: Über Thiazole, XI. Mitteil.*): Die Darstellung von 2-Amino-5-phenylazo-thiazolen und die reduktive Spaltung von Azothiazolen-(2.2') und 2-Phenylazo-thiazolen durch Phenylhydrazin

[Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Greifswald]
(Eingegangen am 26. April 1952)

Durch Kupplung von Diazoniumsalzen aromatischer Amine mit in 5-Stellung unsubstituierten 2-Amino-thiazolen wurden 2-Amino-5-phenylazo-thiazole dargestellt.

Azothiazole-(2.2') und 2-Phenylazo-thiazole lassen sich durch Erhitzen mit Phenylhydrazin reduktiv in die entsprechenden Aminoverbindungen spalten. Dagegen gelang es nicht, 2-Amino-5-phenylazo-thiazole nach der gleichen Methode in 2.5-Diamino-thiazole und das betreffende Anilin-Derivat überzuführen; es erfolgt eine Aufspaltung des Thiazolrings und weitgehende Zersetzung der Spaltprodukte.

Die Stoffklassen der Azothiazole-(2.2') und der 2-Phenylazo-thiazole wurden bereits in früheren Mitteilungen^{1,2)} behandelt. Bei der Einwirkung von Phenylhydrazin auf den 4.4'-Dimethyl-azothiazol-(2.2')-dicarbonsäure-(5.5')-diäthylester³⁾ beobachteten wir dessen glatte reduktive Aufspaltung in 2-Amino-4-methyl-5-carbäthoxy-thiazol. In ähnlicher Weise verlief die reduktive Spaltung bei einigen Abkömmlingen der 2-Phenylazo-thiazole. Diese gute Reduktionswirkung veranlaßte uns, die gleiche Spaltung bei 2-Amino-5-phenylazo-thiazolen zu versuchen, um damit zu den bisher als freie Basen unbekanntem 2.5-Diamino-thiazolen zu kommen. Die letztgenannten sind in der Literatur nur als Derivate beschrieben, in denen mindestens eine Aminogruppe substituiert ist.

Von den 2-Amino-5-phenylazo-thiazolen sind bisher nur drei Vertreter⁴⁾ bekannt. Um die reduktiven Spaltungsversuche aufnehmen zu können, stellten wir zunächst eine Reihe von ihnen her, und zwar durch Kupplung von diazo-

* X. Mitteil.: B. 85, 333 [1952]; vergl. G. Wolter, Diplomarbeit, Greifswald 1951.

¹⁾ H. Beyer, B. 82, 143 [1949]; H. Beyer u. G. Henseke, B. 82, 148 [1949]; H. Beyer u. A. Kreutzberger, B. 84, 482 [1951].

²⁾ H. Beyer u. G. Henseke, B. 83, 247 [1950]. ³⁾ B. 82, 151 [1949].

⁴⁾ M. T. Bogert u. M. Chertcoff, Journ. Amer. chem. Soc. 46, 2864 [1924] (C. 1925 I, 1078). In Analogie zu den früher dargestellten 2-Phenylazo-thiazolen haben wir hier die Bogertschen Bezeichnungen in 2-Amino-5-phenylazo-thiazole abgeändert.