

RUDOLF TSCHESCHE und ACHINTYA KUMAR SEN GUPTA

Über Triterpene, VI¹⁾Über die Sapogenine von *Bredemeyera floribunda* Willd

Aus der Biochemischen Abteilung des Organisch-Chemischen Instituts
der Universität Hamburg

(Eingegangen am 28. März 1960)

Aus *Bredemeyera floribunda* W. wurden Bredemolsäure $C_{30}H_{48}O_4$, eine Dihydroxy-monocarbonsäure, und Tenuifolsäure $C_{30}H_{44-46}O_8$, eine Dicarbonsäure mit 2 acetylierbaren Hydroxylgruppen, nach Säurehydrolyse isoliert, ferne ein Glucosid der letztgenannten Säure. Die neuen Triterpencarbonsäuren dürften der β -Amyrinreihe zugehören.

Aus der Rinde und den Wurzeln von *Bredemeyera floribunda* Willd, zur Gattung *Polygala* gehörend, haben R. WASICKY und C. FERREIRA²⁾ ein Rohsaponin erhalten, das bei der Hydrolyse ein saures Aglykon lieferte. Später haben G. SCHENK und A. HENNIG^{3,4)} das Saponin neu untersucht und in 2 Komponenten auftrennen können, die verschiedenen hämolytischen Index aufwiesen. Es gelang jedoch auch ihnen nicht, kristallisierte Verbindungen zu erhalten. Es schien möglich, daß die Pflanze ein Saponingemisch lieferte, und es war daher aussichtsreicher, zunächst eine Isolierung der Sapogenine anzustreben.

Die Säurehydrolyse des Rohsaponins^{*)} ergab ein in Lauge lösliches Sapogenin-gemisch, das die Liebermann-Burchard-Reaktion gab und eine dunkelviolette Färbung mit Zinntetrachlorid in Eisessig/Chloroform⁵⁾ zeigte. Das Gemisch wurde der Papierchromatographie im System Isooctanol/Pentanol/10-proz. wäbr. Pyrrolidin/Formamid (6:2:1:4) (Gemisch A)¹⁾ unterworfen, die den Nachweis von 2 Verbindungen mit den R_F -Werten 0.32 und 0.95 erbrachte. Diese Werte deuteten auf das Vorliegen einer Dihydroxy-monocarbonsäure und einer Dicarbonsäure hin¹⁾. Da aber die Hauptmenge des Materials praktisch mit der Front lief, blieb die Möglichkeit, daß sich unter dem R_F -Wert von 0.95 mehrere Substanzen verbargen. Zur Auftrennung von Triterpen-dicarbonsäuren fanden wir das Gemisch B, Isooctanol/Pentanol/10-proz. wäbr. Morpholin (5:5:7), geeignet; die Imprägnierung des Papiers erfolgte mit der schweren Phase, während die leichte als mobile verwendet wurde. Auch das Lösungs-

*) Wir möchten auch hier Prof. Dr. R. WASICKY, São Paulo, vielmals für die Überlassung des Rohsaponins danken.

1) V. Mitteil.: R. TSCHESCHE und G. POPPEL, Chem. Ber. **92**, 320 [1959].

2) Saponinas da Raiz de *Bredemeyera floribunda* W., Droga da medicina Popular Brasileira, Anals da facultade de farmacia e odontologia de São Paulo, Vol. VII, 1948—49.

3) Scientia pharmac. **22**, 17 [1945].

4) Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. **288**, 173 [1955].

5) C. R. NOLLER und Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. **64**, 3047 [1942]; J. J. SCHEIDEGGER und E. CHERBULIEZ, Helv. chim. Acta **38**, 547 [1955].

mittelgemisch C, n-Butanol/2 n Ammoniak ist für diesen Zweck gut brauchbar. Im Gemisch B wurden 6 Flecke mit den R_F -Werten 0.04 (schwach), 0.09 (stark), 0.13 (schwach), 0.31 (sehr schwach, mitunter fehlend), 0.42–0.45 (sehr stark) und 0.95 (schwach) beobachtet.

Die präparative Auftrennung der einzelnen Komponenten des Sapogeningemisches erfolgte durch Verteilungschromatographie an Cellulosepulver mit den Lösungsmittelgemischen B und C. Mit B konnten so die Verbindungen mit den R_F -Werten 0.95, 0.42–0.45 und 0.13 rein isoliert werden. Sie seien in der angegebenen Reihenfolge als *Bredemolsäure*, *Tenuifolsäure* und *Säure B* bezeichnet. Im Gemisch B konnte auch noch der Bestandteil mit dem R_F -Wert 0.09 kristallin erhalten werden, der sich als *Tenuifolsäure-monoglucosid* erwies. Nicht in reiner Form wurde die Komponente mit dem R_F -Wert 0.31–0.32 gefaßt, von der aber zu vermuten ist, daß sie mit dem Anhydroderivat der Tenuifolsäure identisch ist; jedenfalls stimmen beide im papierchromatographischen Verhalten überein, und das Anhydroderivat könnte auch gut bei der Säurehydrolyse als Nebenprodukt entstehen. Die Verbindung mit dem R_F -Wert 0.04 ist ebenfalls ein Glucosid (Glucosid A), dessen Reindarstellung noch aussteht. Versuche, die Komponenten des Gemisches durch Chromatographie an Kieselgel zu trennen^{6,7)}, führten nur zur Isolierung von Bredemolsäure und Tenuifolsäure, nicht aber zu anderen Bestandteilen des Säurehydrolysats.

Bredemolsäure (I), $C_{30}H_{48}O_4$, scheint bisher in der Literatur nicht beschrieben worden zu sein. Die Säure bildet einen kristallisierten Monomethylester, ein Diacetat und ein Methylester-diacetat, womit das Vorliegen einer Carboxylgruppe und zweier acylierbarer OH-Gruppen gesichert ist. Der Methylester ist auch durch 7stündiges Erhitzen mit 10-proz. methanolischer Kalilauge nicht verseifbar, wodurch nach C. DJERASSI und H. G. MONSIMER⁸⁾ das Vorliegen einer COOH-Gruppe an den C-Atomen 4 und 20 bei der Annahme eines Amyrin-Kohlenstoffskeletts unwahrscheinlich wird. Die Carboxylgruppe dürfte angular sein und vermutlich die Stellung 17 einnehmen. Unter der Einwirkung von Brom in Methanol entsteht aus Bredemolsäure in ausgezeichneter Ausbeute ein Bromlacton mit der charakteristischen Bande bei 1778/cm; dabei verschwindet die der Carboxylgruppe zukommende Bande bei 1702/cm. Es handelt sich hierbei um die übliche Reaktion der β -Amyrinderivate mit einer Carboxylgruppe an C-17 und einer Δ^{12} -Doppelbindung^{6,9,10,11)}. Nach E. J. COREY und J. J. URSPRUNG¹²⁾ soll sich auch Oleanolsäure-methylester in gleicher Weise in das Bromlacton überführen lassen, jedoch konnten wir am Bredemolsäure-ester diese Reaktion nicht erzielen: das Reaktionsprodukt zeigte noch die Esterbande bei 1735/cm. Daher wurde Bredemolsäureester-diacetat mit Selendioxyd in Eisessig oxydiert, wobei allerdings nur eine amorphe Dehydroverbindung entstand. Diese wies im UV

6) D. H. R. BARTON und P. DE MAYO, J. chem. Soc. [London] 1954, 887.

7) R. E. CORBETT und M. A. McDOWELL, J. chem. Soc. [London] 1958, 3715.

8) J. Amer. chem. Soc. 79, 2910 [1957].

9) F. E. KING, T. J. KING und J. M. ROSS, J. chem. Soc. [London] 1955, 1333.

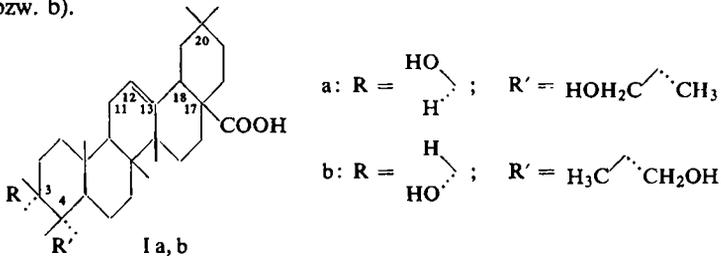
10) M. O. FAROOQ, J. P. VARSHNEY und H. HASAN, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. 1958, 246.

11) C. DJERASSI, D. B. THOMAS, A. L. LIVINGSTON und C. R. THOMPSON, J. Amer. chem. Soc. 79, 5292 [1957].

12) J. Amer. chem. Soc. 78, 183 [1956].

die für ein heteroannulares Dien charakteristischen Absorptionsmaxima auf (s. Versuchsteil). Durch die zu vermutende Bildung eines $\Delta^{11,13(18)}$ -Diensystems ist die Zugehörigkeit der Bredemolsäure zur β -Amyrinreihe weiter gestützt^{1,9,11,13,14}.

Bredemolsäure-methylester bildet mit Aceton und wasserfreiem CuSO_4 ein Acetonid, so daß unter der Annahme eines Hydroxyls in der 3-Stellung die zweite OH-Gruppe der Bredemolsäure die Position 2, 23 oder 24 einnehmen könnte¹⁵. Nun ist von C. DJERASSI und Mitarbeitern¹¹ der $2\alpha,3\alpha$ - und $2\beta,3\beta$ - Δ^{12} -Dihydroxy-oleanensäure-methylester durch OsO_4 -Oxydation des $\Delta^{2,12}$ -Oleadiensäure-methylesters hergestellt worden, von denen das $2\alpha,3\alpha$ -Diol mit dem Bredemolsäure-methylester große Ähnlichkeit in den Konstanten aufweist. Der direkte Vergleich zeigte aber^{*)}, daß sich die Verbindungen bei der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel in Aceton/Isopropyläther (1:5) deutlich verschieden verhielten. Auch der Begleiter in dem nicht völlig einheitlichen Präparat von DJERASSI, vermutlich das $2\beta,3\beta$ -Epimere, weist eine andere Laufstrecke auf. Letzteres kommt aber auch schon wegen seines Schmelzpunktes und der Drehung nicht in Frage. Damit scheidet beide Möglichkeiten für Bredemolsäure aus. Es bleibt zu klären, ob die zweite OH-Gruppe die 23- oder die 24-Stellung einnimmt, wenn man von der unwahrscheinlichen $1\alpha,3\alpha$ -Diolstruktur absieht. Von diesen 4 Isomeren ist die $3\beta,23$ -Diolverbindung Hederagenin, das auf Grund seiner Konstanten ausscheidet. Bei Annahme eines β -Amyrinderivates mit 17-ständiger COOH-Gruppe bleiben also nur die $3\beta,24$ - und die $3\alpha,23$ -Diolformel übrig (I a bzw. b).



Tenuifolsäure, $\text{C}_{30}\text{H}_{44-46}\text{O}_8$, ist eine Dicarbonsäure, wie aus der Titration mit Lauge folgt. Ferner kann ein Dimethylester mit Diazomethan und ein Diacetat gewonnen werden. Damit enthält die Säure 2 acylierbare OH-Gruppen. Unklar bleibt die Funktion der restlichen 2 O-Atome. Im IR ist außer der Carboxylbande keine weitere Ketofrequenz festzustellen, möglicherweise liegt aber ein Sauerstoff in Form eines Epoxyds vor, das für die starke Bande bei 1248/cm verantwortlich sein könnte; es müßte dann *Tenuifolsäure* die Formel $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_8$ haben. Bei der Behandlung mit methanolischer Bromlösung bildet die Säure ebenfalls ein Bromlacton mit der Frequenz 1780/cm neben einer zweiten starken Bande bei 1702/cm, die der zweiten Carboxylgruppe zugeschrieben werden muß. *Tenuifolsäure* dürfte daher ebenfalls eine Carboxylgruppe an C-17 und eine Doppelbindung Δ^{12} enthalten.

^{*)} Wir danken Herrn Prof. C. DJERASSI, Stanford, Calif., vielmals für die freundliche Überlassung des Vergleichspräparates.

¹³) L. RUZICKA, G. MÜLLER und H. SCHELLENBERG, *Helv. chim. Acta* **22**, 767 [1939].

¹⁴) D. H. R. BARTON und C. J. W. BROOKS, *J. chem. Soc. [London]* **1951**, 257.

¹⁵) J. L. BETON, T. G. HALSALL und E. R. H. JONES, *J. chem. Soc. [London]* **1956**, 2904.

Beim Erhitzen verliert Tenuifolsäure CO_2 , eine Erklärung hierfür kann in der Nachbarschaft der Doppelbindung zu einem der Carboxyle gesehen werden. Da nach den Erfahrungen der Triterpenchemie bei einer Doppelbindung in Stellung 12(13) die COOH -Gruppe an C-17 dafür nicht in Frage kommt, dürfte es sich um die andere Carboxylgruppe handeln, die abgespalten wird. Erwartungsgemäß decarboxyliert das Bromlacton nicht, in ihm ist die Doppelbindung verschwunden. Eine ähnliche Decarboxylierung ist von der Chinovasäure bekannt (Doppelbindung β,γ zum COOH an C-14)¹⁶⁾; möglicherweise steht in der Tenuifolsäure anstelle der CH_3 -Gruppe an C-14 ebenfalls ein Carboxyl. Versucht man den Dimethylester mit 10-proz. Lauge zu verseifen, so tritt auch nach 7 Stdn. keine nennenswerte Hydrolyse ein, in Übereinstimmung mit der Annahme einer angulären Natur beider Säuregruppen.

Um die Zuordnung der Tenuifolsäure zur β -Amyrinreihe weiter zu stützen, wurde ihr Dimethylester in üblicher Weise acetyliert, doch konnte das Esteracetat trotz Chromatographie an Aluminiumoxyd nicht kristallisiert erhalten werden. Die Oxydation mit Selendioxyd in Eisessig liefert wiederum nur ein amorphes Produkt mit den erwarteten Maxima: λ_{max} ($\log \epsilon$) 243 (3.70), 251 (3.51) und 257 (3.39)^{1,9,11,13,14)}. Auffällig ist die niedrige Extinktion, welche vielleicht durch die Nachbarschaft einflußreicher Substituenten bedingt ist. Beim Erhitzen in Chinolin spaltet Tenuifolsäure noch kein CO_2 , wohl aber Wasser ab und gibt eine Anhydrosäure $\text{C}_{30}\text{H}_{42-44}\text{O}_7$. Diese Säure zeigt den R_F -Wert 0.31 und im UV keine bemerkenswerte Absorption. Es ist also kein konjugiertes Dien entstanden. Mit Aceton/Säure entsteht aus Tenuifolsäure kein Acetonid.

In der Literatur fanden wir eine Verbindung der Zusammensetzung $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$, die T. Q. CHOU, J. H. CHU und P. F. MEI¹⁷⁾ aus *Polygala tenuifolia* W. nach Säurehydrolyse isoliert haben und mit Tenuigenin B bezeichneten. Daneben erhielten sie noch ein Tenuigenin A der angeblichen Zusammensetzung $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_7$; beide enthalten 2 acylierbare OH-Gruppen. Durch die freundliche Überlassung ihrer Präparate*) konnten wir die Verbindungen der chinesischen Autoren mit unserer Tenuifolsäure vergleichen. Die papierchromatographische Untersuchung der Originalpräparate zeigt, daß sowohl A wie B ein Gemisch darstellten. A enthält vorwiegend 3 Substanzen mit den R_F -Werten 0.04, 0.31 und 0.42, B besteht zum größten Teil aus der Verbindung mit dem R_F -Wert 0.42, daneben finden sich aber auch die Flecke mit den R_F -Werten 0.04 und 0.31 (Gemisch B). Da Tenuifolsäure den R_F -Wert 0.42 hat, und auch die Begleiter mit entsprechenden Komponenten unseres Säurehydrolysats der Saponine aus *Bredemeyera floribunda* übereinstimmen, kommen Bredemolsäure und vor allem Tenuifolsäure auch in *Polygala tenuifolia* W. vor. Dafür spricht die Ähnlichkeit der Schmp.: Tenuigenin B 248°, Tenuifolsäure 254–256°, ferner, daß das IR-Spektrum von Tenuigenin B weitgehend dem der Tenuifolsäure entspricht. Da die Präparate der chinesischen Autoren Gemische darstellen, haben wir für die Substanz mit dem R_F -Wert 0.42 den neuen Namen Tenuifolsäure gewählt. Die Annahme von CHOU und Mitarbb., daß Tenuigenin B ein Lacton sei, können wir nicht bestätigen, eine Lactonbande tritt im IR nicht auf.

Tenuifolsäure-monoglucosid mit dem R_F -Wert 0.31–0.32 (Gemisch B) hat die Zusammensetzung $\text{C}_{36}\text{H}_{54-56}\text{O}_{13}$, gibt eine positive Anthron-Reaktion und zeigt auch im IR-Spektrum charakteristische Banden, die auf ein Glykosid hindeuten. Es ist

*) Herrn Dr. CHOU, Shanghai, sei auch hier vielmals für diese Substanzproben gedankt.

¹⁶⁾ H. WIELAND und M. ERLBACH, Liebigs Ann. Chem. 453, 83 [1927].

¹⁷⁾ J. Amer. pharmac. Assoc. 36, 261 [1947].

gegen Säurehydrolyse sehr stabil und bleibt auch nach 36stdg. Erhitzen mit 0.5 *n* methanol. HCl unverändert. Erst mit 3 *n* HCl (Wasser/Äthanol 1:1) tritt nach 8 Stdn. teilweise Spaltung ein, die zu Tenuifolsäure und Anhydro-tenuifolsäure führt (R_F -Wert 0.31). Die Zuckerkomponente wurde papierchromatographisch in den Gemischen Butanol/Pyridin/Wasser (6:4:3) und Lutidin/Wasser (1:1) als Glucose identifiziert.

Auch die Verbindung mit dem R_F -Wert 0.04 ist ein Glykosid, das aber nicht frei von Tenuifolsäure-monoglucosid erhalten werden konnte. Wir haben es vorläufig als *Glykosid A* bezeichnet. Bemerkenswerterweise ist es viel leichter mit Säure in Tenuifolsäure und Glucose zerlegbar. Schon durch Erhitzen mit 0.5 *n* HCl (8 Stdn. unter Rückfluß) wird es hydrolysiert, während dabei das vorher erwähnte Tenuifolsäure-monoglucosid beständig ist. Außer Glucose konnte bei der Hydrolyse kein anderer Zucker aufgefunden werden.

Die vorerst mit *B* bezeichnete Säure mit dem R_F -Wert 0.13 kommt in dem Rohsaponinhydrolysat nur in sehr kleiner Menge vor. Sie hat die Zusammensetzung $C_{30}H_{46}O_7$ und scheint ebenfalls eine Dicarbonsäure zu sein. Wegen der kleinen, zur Verfügung stehenden Menge wurde sie zunächst nicht weiter untersucht.

Die Tabelle gibt die Konstanten der neuen Verbindungen wieder:

		Schmp.	Drehung	
Bredemolsäure	$C_{30}H_{48}O_4$	288—292°	$[\alpha]_D^{25}$: +100.5°	(Py.)
Bredemolsäure-methylester	$C_{31}H_{50}O_4$	254—258°	$[\alpha]_D^{25}$: +98°	(Py.)
Bredemolsäure-diacetat	$C_{34}H_{52}O_6$	206—210°	$[\alpha]_D^{25}$: +84.3°	(Py.)
Bredemolsäure-methylester-diacetat	$C_{35}H_{54}O_6$	220—223°	$[\alpha]_D^{25}$: +74°	(Py.)
Bromlacton der Bredemolsäure	$C_{30}H_{47}BrO_4$	280—283°	$[\alpha]_D^{25}$: +68°	(Py.)
Acetonid des Bredemolsäure-methylesters	$C_{34}H_{54}O_4$	233—234°		
Tenuifolsäure	$C_{30}H_{44-46}O_8$	254—256°	$[\alpha]_D^{25}$: +37°	(Me.)
Tenuifolsäure-dimethylester	$C_{32}H_{48-50}O_8$	130—133°	$[\alpha]_D^{25}$: +32°	(Me.)
Tenuifolsäure-diacetat	$C_{34}H_{48-50}O_{10}$	260—265°	$[\alpha]_D^{25}$: +46°	(Me.)
Bromlacton der Tenuifolsäure	$C_{30}H_{43-45}BrO_8$	177—184°	$[\alpha]_D^{25}$: +30°	(Me.)
Anhydro-tenuifolsäure	$C_{30}H_{42-44}O_7$	263—267°	$[\alpha]_D^{25}$: +25°	(Py.)
Tenuifolsäure-monoglucosid	$C_{36}H_{54-56}O_{13}$	266—268°	$[\alpha]_D^{25}$: +23°	(Py.)
Säure B	$C_{30}H_{46}O_7$	232—234°		

Py. = Pyridin, Me. = Methanol

Aus dem Rohhydrolysat wurde ferner eine neutrale Verbindung von nicht Triterpennatur der Zusammensetzung $C_{14}H_{18}O_5$ isoliert, die zur Zeit weiter untersucht wird.

Wir danken dem FONDS DER CHEMIE vielmals für die gewährte finanzielle Unterstützung und Herrn Dr. G. SNATZKE für vielfache Anregungen.

A. K. Sen Gupta dankt für ein vom SENAT DER FREIEN UND HANSESTADT HAMBURG gewährtes Stipendium.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Alle Schmp. wurden mit dem Schmelzpunktsapparat nach KOFLER in der Anordnung von WEYGAND bestimmt. Die IR-Spektren wurden in KBr (ohne Vibrieren) mit einem Perkin-Elmer Modell 21 aufgenommen, die UV-Spektren wurden in Methanol gemessen. Für die Papierchromatographie diente das Papier Schleicher & Schüll 2043 b, im allgemeinen wurde absteigend gearbeitet. Es wurden folgende Gemische verwendet:

Gemisch A: Isooctanol/Pentanol/10-proz. wäbr. Pyrrolidin/Formamid (6:2:1:4) (imprägnieren mit der leichten Phase, mobile Phase ist die wäßrige),

Gemisch B: Isooctanol/Pentanol/10-proz. wäbr. Morpholin (5:5:7) (imprägnieren mit der schweren Phase, mobile Phase ist die organische),

Gemisch C: Butanol/2 n wäbr. Ammoniak (1:1) (imprägnieren mit der schweren Phase, mobile Phase ist die organische).

Die Anfärbung der Flecke auf dem Papier erfolgte mit dem Zinntetrachlorid-Reagenz^{5,18)} auf Triterpene; acetonische Silbernitratlösung und anschließendes Besprühen mit 0.5-proz. Kalilauge diente zur Sichtbarmachung der Glucose¹⁹⁾.

Gewinnung des Rohsaponin-Gemisches: 20 g Rohsaponin wurden mit 1000 ccm verd. methanolischer Salzsäure (40 ccm konz. Salzsäure auf 1000 ccm) 4 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Dann wurde das Methanol i. Vak. unter Zusatz von Wasser abdestilliert, wobei sich das Saponingemisch zum größten Teil ausschied. Die wäbr. Suspension wurde 3 mal mit Essigester extrahiert. Dem Essigesterextrakt wurden durch 3maliges Ausschütteln mit 10-proz. Kalilauge die sauren Anteile entzogen (Extrakt „A“). Die alkalische Lösung ergab, mit 2 n H₂SO₄ angesäuert, die Triterpencarbonsäuren. Sie wurden wieder in Essigester gelöst, und dieser Extrakt hinterließ nach dem Trocknen einen Rückstand von 2.39 g. Extrakt A lieferte nach dem Trocknen 4.0 g eines braunen Öls („Fraktion N“).

Trennung der Triterpencarbonsäuren: 170 g Cellulosepulver wurden mit der wäbr. Phase des Gemisches B aufgeschlämmt, 30 Min. gut verrührt und in die Säule eingegossen. Nach Verdrängen der wäbr. durch die mehr lipide Phase und Bestimmung des V₀¹⁾ wurden 2.8 g Rohsaponin-Gemisch, adsorbiert an 20 g Cellulosepulver, oben auf die Säule aufgetragen.

Chromatographie I

Charge	Gesamt- volumen ccm	Aussehen und Farbe	Menge mg	Farbreaktion mit SnCl ₄	R _F -Werte
a	100	braunes Öl	160	rotviolett	im Gemisch A 0.32 im Gemisch B 0.95
b	300	gelber Schaum	350	dunkelviolett	im Gemisch B 0.43
c	200	gelber Schaum	350	dunkelviolett	im Gemisch B 0.43, 0.32 (sehr schwach)
d	575	gelber Schaum	30	dunkelviolett	im Gemisch B 0.43, 0.32
e	200	gelber Schaum	15	dunkelviolett	im Gemisch B 0.43, 0.13, 0.32
f	1500	gelbes Öl	10	dunkelviolett	im Gemisch B 0.43, 0.13, 0.32
g	500	gelber Schaum	30	dunkelviolett	im Gemisch B 0.13
h	2500	gelbes Öl	10		im Gemisch B —
i	2500	braunes Öl	1010	violett	im Gemisch B 0.03, 0.09 0.13, 0.22 0.43

(Methanol als
Elutionsmittel)

¹⁸⁾ R. TSCHESCHE und D. FORSTMANN, Chem. Ber. 90, 2383 [1957].

¹⁹⁾ W. E. TREVELYAN, D. P. PROCTER und J. S. HARRISON, Nature [London] 166, 444 [1950].

Die Fraktionsgröße bei der Entwicklung mit der organischen Phase betrug anfangs 25 ccm und wurde im Verlauf der Chromatographie auf 200 ccm erhöht. Die einzelnen Fraktionen wurden je 3 mal mit dem gleichen Volumen 10-proz. Kalilauge und 1 mal mit Wasser ausgeschüttelt. Nach dem Waschen der vereinigten Extrakte mit Essigester wurden die alkalischen Lösungen mit 2 *n* H₂SO₄ angesäuert und die ausfallenden Niederschläge in Essigester aufgenommen. Nach dem Trocknen des Extraktes über Na₂SO₄ und Abdampfen des Lösungsmittels wurde jede Fraktion papierchromatographisch untersucht und die zusammengehörenden Fraktionen vereinigt.

Bredemolsäure

Charge a von Chromatographie I wurde einer 2. Chromatographie an 70 g Kieselgel unterworfen.

Chromatographie II

Frakt.	Lösungen	Menge mg	Aussehen	Farbreaktion und R _F -Wert
1	Benzol 150 ccm	12	gelbes Öl	gelb mit SnCl ₄
2	Benzol/Essigester (1:1), 50 ccm	13	braunes Öl	gelb mit SnCl ₄
3	Benzol/Essigester (1:1), 50 ccm	5	gelber Schaum	hellgelb mit SnCl ₄
4	Benzol/Essigester (1:1), 50 ccm	105	weißer Schaum	rotorange mit SnCl ₄ Gemisch A 0.32
5	Essigester 150 ccm	13	gelbes Öl	gelb mit SnCl ₄ Gemisch A 0.45

Aus der Fraktion 4 konnten aus Methanol/Benzol 88 mg Kristalle erhalten werden, die nach 3maligem Umkristallisieren bei 288–292° schmolzen. $[\alpha]_D^{20}$: +100.5° (*c* = 1.0; Py.).

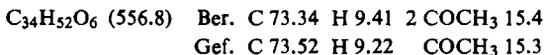


Bredemolsäure zeigte mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Im UV war keine bemerkenswerte Absorption festzustellen, im IR eine Bande bei 1701/cm (Carboxyl). Die Säure ist in Methanol gut löslich, sie hat im Gemisch B den R_F-Wert 0.95.

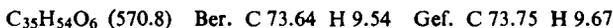
Bredemolsäure-methylester: Aus 105 mg *Bredemolsäure* wurde in üblicher Weise mit *Diazomethan* der Methylester bereitet. Aus Cyclohexan ließen sich 60 mg reiner Ester erhalten, der bei 254–258° schmolz. $[\alpha]_D^{25}$: +98° (*c* = 1.0; Py.).



Bredemolsäure-diacetat: 90 mg *Bredemolsäure* wurden in einem Gemisch von 1.5 ccm Pyridin und 1.5 ccm *Acetanhydrid* gelöst und 3 Tage bei Raumtemperatur stengelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 71 mg Rohacetat gewonnen, die nach 2maligem Umkristallisieren aus Petroläther (30–50°) in Nadeln kristallisierten und bei 206–210° schmolzen. $[\alpha]_D^{25}$: +84.3° (*c* = 0.8; Py.).



Bredemolsäure-methylester-diacetat: 19 mg *Methylester der Bredemolsäure* wurden bei Raumtemperatur mit 1.0 ccm Pyridin und 1.0 ccm *Acetanhydrid* 60 Stdn. stengelassen. Die Aufarbeitung ergab 16 mg Ester-diacetat, die, aus Petroläther umkristallisiert, den Schmp. 220–223° zeigten. $[\alpha]_D^{25}$: +74° (*c* = 0.5; Py.).



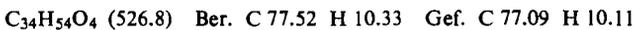
*) Wir danken Herrn Dr. GRIMMER an unserem Institut für die Ausführung der *O*-Acetylbestimmungen.

Selendioxydoxydation des Methylester-diacetats: 10 mg Bredemolsäure-methylester-diacetat wurden mit 10 mg SeO_2 in 2 ccm Eisessig 2 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde mit Wasser versetzt und mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wog nach dem Trocknen 8 mg und konnte nicht kristallisiert erhalten werden. Er zeigte im UV λ_{max} (log ϵ) 243 (4.26), 251 (4.58), 260 $\text{m}\mu$ (4.03).

Bromlacton der Bredemolsäure: 50 mg *Bredemolsäure*, gelöst in Methanol, behandelte man bei Raumtemperatur mit einer 2-proz. methanolischen *Brom*-Lösung bis zur bleibenden Gelbfärbung und ließ 15 Min. stehen. Das überschüss. Brom wurde mit 10-proz. Natriumthio-sulfatlösung entfernt. Die Aufarbeitung lieferte 52 mg eines Rohlactons, das nach 2 maligem Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther (30–50°) bei 280–283° schmolz. $[\alpha]_D^{25}$: +68° ($c = 0.5$; Py). $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{BrO}_4$ (551.6) Ber. Br 14.49 Gef. Br 14.11, 14.01

Das IR-Spektrum zeigte eine Bande bei 1778/cm (Lacton). Im Dünnschichtchromatogramm fand sich im Gemisch Aceton/Isopropyläther (2:5) nur ein Fleck mit dem R_F -Wert 0.51^{20,21}. Die Tetranitromethanreaktion war negativ.

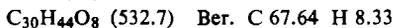
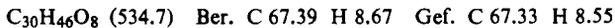
Acetonid des Bredemolsäure-methylesters: 15 mg *Bredemolsäure-methylester* löste man in 30 ccm *Aceton* und rührte die Lösung mit 100 mg wasserfreiem CuSO_4 bei 19° gut. Von Zeit zu Zeit wurden dünnschichtchromatographische Untersuchungen der Reaktionslösung vorgenommen. Nach 96 Stdn. war der Ester vollständig zum Acetonid umgesetzt, dann wurde das CuSO_4 abfiltriert und die Lösung i. Vak. eingedampft. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol zeigte das *Acetonid* den Schmp. 233–234°.



R_F -Wert (Dünnschichtchromatographie): im Gemisch Diisopropyläther/Aceton (19:1) 0.88, R_F -Wert des Methylesters im gleichen Gemisch 0.28.

Tenuifolsäure

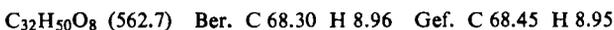
Aus der Charge b der Chromatographie I wurden nach 3 maligem Umkristallisieren aus Essigester 200 mg reine *Tenuifolsäure* gewonnen. Sie kristallisierten in Nadeln vom Schmp. 254–256°. Ferner ließen sich aus der Charge c nach 6 maligem Umkristallisieren aus Essigester noch 100 mg *Tenuifolsäure* gewinnen, so daß die Gesamtausbeute daran 1.3% des Rohsaponins betrug.



32.0 mg *Tenuifolsäure* verbrauchten, in Methanol gelöst, 11.65 ccm 0.01 *n* NaOH (Indikator Phenolphthalein). $[\alpha]_D^{20}$: +37° ($c = 0.8$; Me.). Äquiv.-Gew. Ber. (2 COOH) 267 bzw. 266, gef. 274.

Die Säure war in Methanol gut, in Aceton und Essigester nur mäßig löslich und zeigte im UV keine selektive Absorption. Im IR fanden sich Banden bei 1702/cm (Carboxyl), 1248/cm (Epoxydring?). Mit Tetranitromethan lieferte die Säure eine schwache Gelbfärbung. R_F -Wert im Gemisch B 0.42.

Tenuifolsäure-dimethylester: 200 mg *Tenuifolsäure* wurden, in Äther suspendiert, mit äther. *Diazomethan*-Lösung methyliert. Durch Umkristallisieren aus Petroläther ließen sich 185 mg Ester gewinnen, der bei 130–133° schmolz. $[\alpha]_D^{25}$: +32° ($c = 1.0$; Me.).



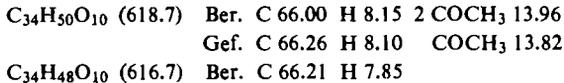
Der Ester zeigte keine selektive UV-Absorption, im IR fanden sich Banden bei 1730 und 1250/cm. Die Tetranitromethanprobe war schwach gelb.

20) E. STAHL, *Chemiker-Ztg.* **82**, 323 [1958].

21) R. TSCHESCHE, W. FREYTAG und G. SNATZKE, *Chem. Ber.* **92**, 3053 [1959].

Mit 10-proz. Kalilauge 7 Stdn. unter Rückfluß gekocht, konnten von 21 mg Ester 19 mg unverändert zurückgewonnen werden, saure Anteile ließen sich nicht feststellen.

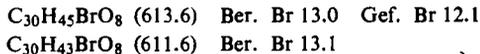
Tenuifolsäure-diacetat: 220 mg *Tenuifolsäure* wurden mit einem Gemisch von 2.5 ccm *Acetanhydrid* und 2.5 ccm Pyridin 3 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Das nach der üblichen Aufarbeitung gewonnene Rohacetat kristallisierte aus Benzol/Cyclohexan in farblosen Nadeln vom Schmp. 260–265°. Es zeigte große Neigung, sich in Form öligler Tröpfchen abzuscheiden, die später durchkristallisierten. $[\alpha]_D^{25}$: +46° ($c = 0.9$; Me.).



Selendioxydoxydation des Methylester-diacetats: 80 mg *Tenuifolsäure-dimethylester* wurden in üblicher Weise mit 1.5 ccm *Acetanhydrid* und 1.5 ccm Pyridin 72 Stdn. bei Raumtemperatur acetyliert. Das Rohprodukt (78 mg) konnte trotz Chromatographie an Aluminiumoxyd nicht kristallisiert werden. Im Dünnschichtchromatogramm zeigte das Dimethylester-diacetat nur einen Fleck mit dem R_F -Wert 0.75 im Gemisch Diisopropyläther/Aceton (19:1).

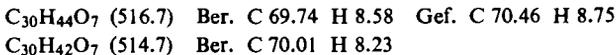
65 mg dieses amorphen Materials wurden mit 65 mg SeO_2 in 20 ccm Eisessig 2 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde an 7 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Benzol ließen sich 42 mg eluieren, die sich bei der Untersuchung mittels Dünnschichtchromatographie als einheitlich erwiesen und in Diisopropyläther den R_F -Wert 0.58 aufwiesen. Im UV wurden λ_{max} ($\log \epsilon$) 243 (3.70), 251 (3.51) und 257 m μ (3.39) beobachtet.

Bromlacton der Tenuifolsäure: Zu einer Lösung von 80 mg *Tenuifolsäure* in 15 ccm Methanol wurde bei Raumtemperatur ein geringer Überschuß an methanol. *Brom*-Lösung hinzugefügt. Die übliche Aufarbeitung lieferte 82 mg, die nach 2maligem Umfällen aus Methanol/Wasser farblos wurden. Sie kristallisierten aus Aceton/Petroläther mit Schmp. 177–184°. $[\alpha]_D^{25}$: +30° ($c = 0.5$; Me.).



Das Bromlacton hatte im Gemisch B den R_F -Wert 0.98 und zeigte im IR Banden bei 1702 (–COOH) und 1780/cm (γ -Lacton).

Anhydro-tenuifolsäure: 212 mg *Tenuifolsäure* wurden in 30 ccm Chinolin 150 Min. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung mit überschüss. 2 *n* H_2SO_4 versetzt und die Mischung 3 mal mit Essigester extrahiert. Nach Waschen des Extraktes und Trocknen wurden 153 mg erhalten, die aus Methanol bzw. Methanol/Wasser umkristallisiert wurden; es entstanden dabei aber keine deutlich ausgeprägten Kristalle. Schmp. 263–267°. $[\alpha]_D^{25}$: +25° ($c = 0.5$; Py.).



Im Gemisch B wurde ein R_F -Wert 0.32 beobachtet. Die Tetranitromethanprobe war deutlich gelb. Eine selektive UV-Absorption konnte nicht festgestellt werden.

Säure B

Aus Charge g der Chromatographie I konnten mit Essigester/Cyclohexan 8 mg einer Substanz gewonnen werden, die nach dem Umkristallisieren aus diesem Lösungsmittelgemisch bei 232–234° schmolz.



Die Säure zeigte im Gemisch B den R_F -Wert 0.13.

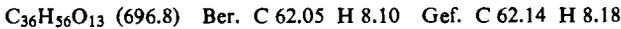
Tenuifolsäure-monoglucosid: Bei Behandlung der Fraktion i aus Chromatographie I mit 2 g Adsorptionskohle in Methanol konnten 500 mg einer farblosen Substanz gewonnen werden, die aus Aceton in Nadeln kristallisierte. Die Kristalle zeigten im Gemisch B die 2 R_F -Werte 0.03 und 0.09, im Gemisch C 0.40 und 0.52.

Zur Trennung der Mischkristalle (380 mg) wurde eine Verteilungschromatographie an 30 g Cellulosepulver im System n-Butanol/2 n Ammoniak (Gemisch C) analog der Chromatographie I vorgenommen. Die wäßr. Phase wurde dabei als stationäre verwendet. $V_0 = 65$ ccm.

Chromatographie III

Frakt.	Volumen der Fraktion	Menge in mg	Aussehen	R_F -Wert im Gemisch C
1—5	50 ccm	126	farblose Kristalle	0.52
6	10 ccm	63	farblose Kristalle	0.52, 0.40 (sehr schwach)
7—12	60 ccm	139	farblose Kristalle	0.52, 0.40
13	60 ccm	19	gelbe, amorphe Substanz	0.52, 0.40
14	200 ccm	25	gelbes Öl	0.52, 0.40
	Methanol			

Aus Fraktion 1—5 konnten 60 mg einer einheitlichen Substanz isoliert werden, die aus Methanol/Essigester in farblosen Nadeln kristallisierte und bei 266—268° schmolz. $[\alpha]_D^{20}$: +23° (c = 1.0; Py.).



Das Glucosid zeigte mit Anthron/Schwefelsäure eine starke Grünfärbung.

Glucosid-Spaltung: 10 mg Tenuifolsäure-monoglucosid wurden mit 5 ccm 3 n Äthanol. HCl (Äthanol/Wasser 1:1) 8 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung zeigte der Geninanteil im Papierchromatogramm unter Verwendung von Gemisch B die R_F -Werte 0.09 (Tenuifolsäure-monoglucosid), 0.32 (Anhydro-tenuifolsäure) und 0.42 (Tenuifolsäure).

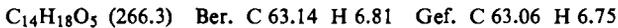
Zur Untersuchung des Zuckeranteils wurde mit 10 mg eine Hydrolyse durch 1 stdg. Erhitzen auf 100° mit 5 ccm Kiliani-Mischung (Eisessig/Wasser/konz. Salzsäure 55:80:15) vorgenommen. Bei der Papierchromatographie des in üblicher Weise gewonnenen Zuckeranteils im Gemisch n-Butanol/Pyridin/Wasser (6:4:3) wurde der R_F -Wert 0.32, in Lutidin/Wasser²²⁾ 0.73 beobachtet, die in gleicher Weise von mitgelaufener D-Glucose gegeben wurden.

Chromatographie der Rohsapogenine an Silicagel: 6.39 g Rohsapogenine wurden an 20 g Silicagel adsorbiert und oben auf eine Säule aufgebracht, die aus 270 g Silicagel durch Einschlämmen mit Benzol hergestellt wurde. Es wurde mit Benzol und Benzol/Methanol-Gemischen eluiert. Aus Frakt. 6 (gewonnen mit Benzol/Methanol 95:5) konnten 320 mg reine *Bredemolsäure* und aus Frakt. 15 (mit Benzol/Methanol 90:10) 400 mg reine *Tenuifolsäure* isoliert werden.

Verbindung C₁₄H₁₈O₅: 4 g der Fraktion N wurden an 100 g Aluminiumoxyd (desaktiviert durch 3% des Gewichtes an 10-proz. Essigsäure) chromatographiert. Aus den ersten Fraktionen, die mit Benzol von der Säule erhalten wurden, kristallisierten 210 mg einer neutralen

²²⁾ Privatmitteilung von Herrn K. WINGUTH an unserem Institut.

Verbindung, die sich im Dünnschichtchromatogramm einheitlich verhielt, R_F -Wert in Diisopropyläther 0.35. Aus Benzol/Petroläther umkristallisiert, schmolz sie bei 92–95°.



Die Verbindung gibt kein Dinitrophenylhydrazon, nach ZEREWITINOFF konnte kein aktiver Wasserstoff ermittelt werden. Ebenso ließ sich keine Drehung der Polarisationsebene feststellen. Im UV fanden sich Banden bei 231 (3.65) und 304 $m\mu$ (3.81), im IR starke Banden bei 1588, 1640, 1700, 1710 und 1720/cm.

NEWAND BHAWANDAS MULCHANDANI und NARSINH MULJIBHAI SHAH

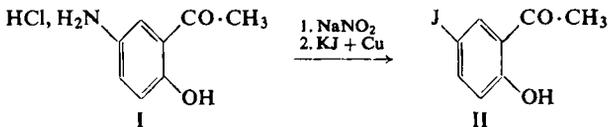
Synthese von 5'-Jod-2'-hydroxy-chalkonen und 6-Jod-flavanonen, -flavonen und -flavonolen

Aus dem Department of Chemistry, St. Xavier's College, Ahmedabad-9 (Indien)
(Eingegangen am 8. April 1960)

5-Jod-2-hydroxy-acetophenon ergibt, mit verschiedenen aromatischen Aldehyden
in Gegenwart von Alkali kondensiert, 5'-Jod-2'-hydroxy-chalkone, welche in
6-Jod-flavanone, -flavone und -flavonole übergeführt werden.

In der Literatur sind hauptsächlich chlor- und bromsubstituierte Chalkone beschrieben¹⁻⁴). Jodchalkone und entsprechende Flavanone, Flavone sowie Flavonole fanden bisher wenig Beachtung, vermutlich wegen der bei der Synthese jodsubstituierter *o*-Hydroxy-acetophenone auftretenden Schwierigkeiten. Wir unternahmen die vorliegende Untersuchung zur Synthese von Jodchalkonen und entsprechenden Flavonabkömmlingen mit dem Ziel, durch Reduktion von Dihydroflavonolen mit nachfolgender Entfernung des Jods zu Dimeren zu gelangen, deren Synthese von uns geplant ist.

Versuche, das für diesen Zweck benötigte 5-Jod-2-hydroxy-acetophenon (II) durch Friessche Verschiebung von *p*-Jod-phenylacetat bzw. durch Friedel-Crafts-Acylierung von *p*-Jod-phenol zu bereiten, blieben erfolglos.



Die Synthese von II gelang jedoch durch Behandlung von diazotiertem 5-Amino-2-hydroxy-acetophenon (entspr. I) mit Kaliumjodid in Gegenwart von Kupfer.

- ¹⁾ E. SCHRAUFSTÄTTER und S. DEUTSCH, Chem. Ber. **81**, 489 [1948].
- ²⁾ F. C. CHEN und C. H. YANG, J. Taiwan Pharm. Assoc. **3**, 39 [1951]; zit. nach C. A. **49**, 2432 [1955].
- ³⁾ B. C. JHA und G. C. AMIN, Tetrahedron **2**, 241 [1958].
- ⁴⁾ N. M. SHAH und S. R. PARIKH, J. Indian chem. Soc. **36**, 726 [1959].