

Über das Ononin I

Zur Kenntnis des „Ononetins“

Von

FRITZ WESSELY und FRANZ LECHNER

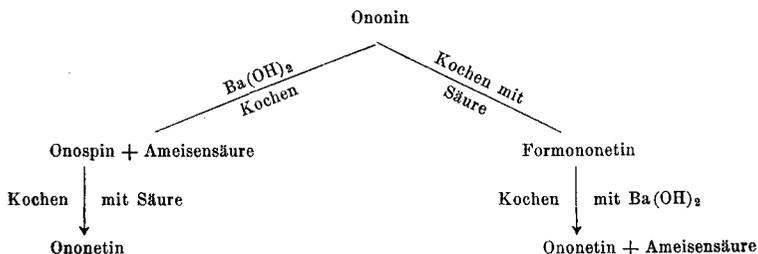
Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 4. Dezember 1930)

Aus der Wurzel von *Ononis spinosa* (Hauhechel) hat HLASIWETZ neben anderen Verbindungen einen Stoff isoliert, den er Ononin benannte und der nach seinen Angaben ein Glukosid darstellen soll¹.

HEMELMAYR² hat dieses Naturprodukt näher untersucht, doch ist auch er zu keiner endgültigen Aufklärung der Konstitution vorgedrungen, weder für das Ononin noch für eines seiner Spaltprodukte.

Das nachstehende Schema gibt die grundlegenden Umsetzungen an, die von den genannten Autoren durchgeführt wurden, nebst den von ihnen beschriebenen Spaltprodukten.



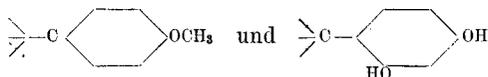
Im Detail werden wir auf diese Ergebnisse erst eingehen, wenn unsere Untersuchungen eine klare Stellungnahme dazu erlauben werden.

Wir mußten uns zunächst die Aufgabe stellen, das einfachste Spaltprodukt, das *sogenannte Ononetin*, aufzuklären.

¹ J. prakt. Chem. 65, 1855, S. 419.

² Monatsh. Chem. 23, 1902, S. 133; 24, 1903, S. 132, 25, 1904, S. 555, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien 111, 1902, S. 133; 112, 1903, S. 132; 113, 1904, S. 555.

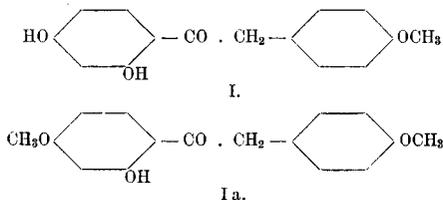
HEMMELMAYR hat in diesem die Reste



durch die Bildung von Anissäure bei der Oxydation mit KMnO_4 und der β -Resorzylsäure bei der Kalischmelze nachgewiesen.

Wir haben diesen Befund auf anderem Wege voll bestätigt, nur sind wir zur begründeten Überzeugung gekommen, daß das „Ononetin“, wie es durch Alkalibehandlung aus Formononetin und durch Säurespaltung aus Onospin entsteht, *kein einheitlicher Stoff* ist, sondern ein *Gemisch* von *zumindest zwei verschiedenen, nicht isomeren Stoffen* darstellt. Den einen Bestandteil des „Ononetins“ haben wir rein dargestellt und seine Konstitution eindeutig bestimmt.

Behandelt man das Formononetin mit 10%iger Natronlauge bis zur völligen Lösung am Wasserbad, was nur sehr kurze Zeit, ca. 5 Minuten, in Anspruch nimmt, so läßt sich das mit Säuren ausgefällte Produkt, ähnlich wie es schon HEMMELMAYR beobachtet hat, mit heißem Wasser in Fraktionen zerlegen, von welchen wir die am schwersten lösliche Substanz vom F. P. 158° als einheitliche Verbindung der Formel $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ charakterisiert haben. Sie enthält eine Methoxylgruppe, freie Hydroxyle, die durch schonende Azetylierung mit Pyridin und Essigsäureanhydrid nachgewiesen werden³, und eine Carbonylgruppe, nachweisbar durch Oximbildung. Zusammen mit den genannten Ergebnissen HEMMELMAYR⁸ war für diese Verbindung die Konstitution I eines [2, 4-Dioxy-phenyl]-[4-methoxy-benzyl]-ketons

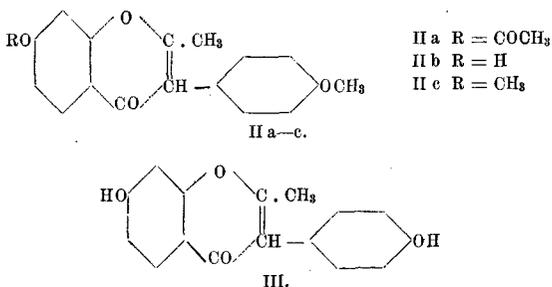


wahrscheinlich.

Die Richtigkeit dieser Annahme wurde durch die Synthese dieser Verbindung aus Resorzin und *p*-Methoxy-benzylcyanid nach HOESCH bewiesen. Die Gegenwart dieser Verbindung im „Ononetin“ bedingt einige Reaktionen, die schon von HEMMELMAYR beschrieben, aber nicht gedeutet werden konnten.

³ Auf diesen Versuch kommen wir in anderem Zusammenhang in einer späteren Arbeit zu sprechen.

Behandelt man das Keton I mit Natriumazetat und Essigsäureanhydrid unter energischen Bedingungen, so bildet sich eine Verbindung der Formel $C_{19}H_{16}O_5$ vom F. P. 194—195°; es muß ihr die Konstitution II a eines 7-Azetoxy-4'-methoxy-2-methyl-isoflavons zukommen, dessen Entstehung aus I unter den genannten Bedingungen möglich⁴ ist. Durch Abspaltung der Azetylgruppe mit verdünnter Säure wurde das Isoflavon der Konstitution II b, durch Kochen mit Jodwasserstoffsäure die Verbindung III erhalten.



Ferner entsteht bei der Methylierung des Ketons I mit Diazomethan ein Methyläther I a⁵. Daß die zur Carbonylgruppe orthoständige OH-Gruppe nicht methyliert ist, wird durch die Überführbarkeit von I a in II c durch energische Azetylierung mit Essigsäureanhydrid und Natriumazetat bewiesen. II c wurde andererseits durch Methylierung von III erhalten.

Die genannten Verbindungen haben wir sowohl aus dem Abbauketon als auch aus dem synthetischen Produkt gewonnen, so daß an ihrer Identität nicht zu zweifeln ist.

Das Keton I erhielten wir neben dem gleich zu beschreibenden, in seiner Konstitution noch nicht aufgeklärten, zweiten Spaltprodukt, auch bei der sauren oder Emulsinspaltung des Onospins.

Über die Natur dieses zweiten Spaltstückes, wir nennen es kurz X, aus Formononetin und aus Onospin können wir noch keine endgültige Aussage machen. Die Trennung von dem Keton ist äußerst schwierig und verlustreich, und das uns bisher zur Verfügung gestandene Formononetin war nicht ausreichend. Wir danken an dieser Stelle Herrn Prof. HEMMELMAYR für die Über-

⁴ W. BAKER und R. ROBINSON, Journ. chem. Soc. London 1929, S. 152.

⁵ Dieser kommt, wie aus dem experimentellen Teil zu ersehen, in 2 Formen von verschiedenem F. P. vor.

lassung einer kleinen Menge von diesem und anderen Präparaten. Wir möchten betonen, daß auch ein Ononetin HEMMELMAYR'S sich durch unser Reinigungsverfahren in das Keton I und das zweite, unbekannte Spaltstück zerlegen ließ.

Die weitere Untersuchung dieser Substanz ist im Gange. Jedenfalls ist es sicher, daß die unbekannte Substanz nicht aus dem Keton I stammt, denn dieses bleibt bei einer unter gleichen Bedingungen wie bei der Spaltung des Formononetins ausgeführten Alkalibehandlung unverändert. Als wir das im Versuchsteil beschriebene Methylformononetin der gleichen Behandlung mit Alkali unterwarfen, fanden wir einerseits das methylierte Keton I a und eine andere noch nicht völlig reine Substanz, die aller Wahrscheinlichkeit nach mit dem Produkt identisch ist, das man, wie weiter unten beschrieben wird, bei der Methylierung von X erhält.

Wir beschreiben im Versuchsteil auch Derivate des Onospins, Ononins und Formononetins, die teilweise schon HEMMELMAYR erhalten hat. Über die Konstitution dieser Verbindungen wollen wir gegenwärtig, da diese Untersuchungen nicht abgeschlossen sind, noch keine Angaben machen und verschieben daher auch die Mitteilung der Analysen, Molekulargewichtsbestimmungen und der Reaktionen auf eine spätere Mitteilung.

Der eine von uns, F. W., hat der hohen Akademie der Wissenschaften in Wien für die Gewährung eines Stipendiums bestens zu danken.

Experimenteller Teil.

Formononetin, Methylformononetin, Azetylformononetin.

Formononetin gewannen wir durch Hydrolyse mit 4%iger H_2SO_4 (1 Stunde Kochzeit) aus Ononin, von welchem wir eine kleine Menge von Merck bezogen haben. Letzteres enthält noch andere Verbindungen, die bei der Säurehydrolyse mit dem Formononetin ausfallen und von diesem durch Lösen des Niederschlages in 5%igem NaOH , in welchem jene nicht löslich sind, getrennt werden können. Das Formononetin geht in 5%igem NaOH unter allen Umständen in Lösung; in höher konzentriertem Alkali löst sich das gebildete Salz nicht mehr in der Kälte. Es muß dann erwärmt werden, wobei aber sehr leicht Spaltung ein-

tritt. Das Formononetin wurde aus der alkalischen Lösung möglichst rasch durch Säure in Freiheit gesetzt und aus 96%igem Alkohol umgelöst. Es wurde in der schon von HEMMELMAYR beschriebenen, charakteristischen Kristallform (spiral gebogene fadenförmige Kristalle) erhalten. Der F. P. lag bei 265° nach kurzem, vorhergehenden Sintern. Ein Präparat von HEMMELMAYR zeigte den gleichen F. P., auch die Mischung beider Präparate ergab keine Depression. Zur weiteren Charakterisierung wurde der Methyläther dargestellt. 0·13 g wurden in absolutem Alkohol gelöst und mit einer ätherischen Lösung von Diazomethan aus 3 cm³ Nitrosomethylurethan vier Tage stehen gelassen, nach dem Umkristallisieren aus 96%igem Alkohol zeigten die Kristalle den F. P. 156°, ab 154° Sintern. HEMMELMAYR gibt für dieses Produkt den F. P. 156° an. Daß das Formononetin eine einheitliche Verbindung darstellt, wurde durch die fast quantitative Überführung in ein Azetylderivat sichergestellt. 0·05 g Formononetin wurden mit Pyridin und Essigsäureanhydrid (je 5 cm³) zwei Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann in Eiswasser gegossen und mit verdünnter HCl schwach kongosauer gemacht und der Niederschlag abfiltriert, 0·052 g, F. P. 164—165°. Aus Äther-Petroläther umgelöst, F. P. 167°, ab 164° Sintern. HEMMELMAYR gibt für dieses Derivat den F. P. 164—165° an.

Spaltung des Formononetins mit Alkali.

0·2 g Formononetin wurden mit 10 cm³ 10%igem NaOH übergossen, wobei in der Kälte nichts in Lösung ging. Auf dem Wasserbad trat bald Lösung ein, worauf noch 5 Minuten erwärmt wurde. Nach dem Ansäuern wurde mit H₂O bis auf ca. 80 cm³ verdünnt, zum Sieden erhitzt und noch heiß filtriert. Der Rückstand wog 0·094 g und zeigte roh den F. P. 148—153°. Es wurde dieses Produkt nochmals mit heißem Wasser extrahiert und der Rückstand aus verdünntem Alkohol mehrmals umgelöst, F. P. 157°, farblose Kristalle. Mischschmelzpunkt mit dem später beschriebenen synthetischen Keton 157—159°.

3·563 mg Substanz gaben 9·107 mg CO₂ und 1·782 mg H₂O.

1·982 mg „ „ 1·783 mg AgJ.

Ber. für C₁₅H₁₄O₄: C 69·76, H 5·47 und OCH₃ 12·01%.

Gef.: C 69·71, H 5·60 und OCH₃ 11·89%.

Die wässrige Lösung ergab Kristalle, die alle unscharf zwischen den Grenzen 132—150° schmolzen und deren Methoxyl-

werte zwischen 6—7·5% lagen. Durch diese Werte und den unscharfen F. P. verraten sie sich unzweifelhaft als Gemisch der obigen mit einer anderen methoxylfreien Verbindung. Die Gemische sind in Bikarbonat nicht löslich, löslich dagegen in Alkalikarbonat und Hydroxyd. Auch sehr häufiges Fraktionieren aus heißem Wasser oder anderen Lösungsmitteln führte nicht zu einem einheitlichen Produkt. Etwas bessere Resultate erhielten wir bei folgendem Arbeitsgang, der aber zu einem Methyläther der fraglichen Substanz führen muß.

Die aus der wässerigen Lösung ausgefallenen Gemische wurden mit Diazomethan behandelt und das methylierte Produkt aus Alkohol umgelöst. Die Methyläther des Ketons I sind in Alkohol leichter löslich als die Methylierungsprodukte der unbekanntes Substanz. Beim Umlösen des rohen Methylierungsproduktes wurde in der Mutterlauge eine Substanz vom F. P. 101° gefunden, die das Produkt I a darstellt. Aber auch die ausgefallenen Kristalle enthalten noch diese Verbindung, und wir haben bei viermaligem Umlösen erst eine Substanz vom F. P. 131—136° erhalten. Diese Verbindung enthält 15·62% Methoxyl, ein Wert, der nach oben verfälscht erscheint, wegen der Gegenwart von I a, das 22·8% Methoxyl verlangt. Da das unmethylierte Produkt in Alkali löslich ist, nach der Methylierung aber nicht mehr, muß es saure Hydroxylgruppen enthalten, die phenolischer Natur sein dürften.

Spaltung des Onospins

- a) mit Säure,
- b) mit Emulsin.

Onospin wurde auf folgende Weise gewonnen:

0·5 g nicht ganz reines Ononin wurden mit 10 cm³ 10%igem NaOH 2 Minuten auf freier Flamme erhitzt, wobei bis auf einen ganz geringen Rest alles in Lösung ging. Nach Filtration des Ungelösten wurde angesäuert, worauf nach längerem Stehen Kristalle ausfielen, die den F. P. 150—165° zeigten. Nach dem Umlösen aus 96%igem Alkohol wurden 0·28 g farblose Kristalle vom F. P. 172° erhalten, der sich auch bei neuerlichem Umlösen nicht änderte. Versuche, mit Pyridin und Essigsäureanhydrid ein Azetylderivat herzustellen, führten nur zu amorphen Produkten. Eine vorläufige Bestimmung des Drehungsvermögens in absolutem Methylalkohol ergab $[\alpha]_D = -70^\circ$.

Zu a. 0.1 g Onospin wurde mit verdünnter H_2SO_4 eine halbe Stunde auf freier Flamme erwärmt. Zunächst trat Lösung, bald aber Trübung ein, es schied sich ein Öl aus, das später fest wurde; es wurde heiß filtriert. Der Filtrerrückstand schmolz nach dem Umlösen aus verdünntem Alkohol bei 153—156°. Der Mischschmelzpunkt mit reinem Keton I lag bei 154—158°, ergab also keine Depression. Dieses Spaltstück stellt also das noch etwas verunreinigte Keton I dar. Aus der heißen, wässrigen Lösung fielen Kristalle aus, die bei 128—132° schmolzen und nach der Methylierung und einmaligem Umlösen aus Alkohol bei 130—134° schmolzen. Mit dem früher beschriebenen Methylderivat der Substanz X vom F. P. 131—136° ergab sich keine Depression.

Zu b. 0.1 g Onospin wurde in 40 cm^3 Thymolwasser fast völlig gelöst, abkühlen gelassen und 0.05 g selbstbereitetes Emulsin zugefügt. Es schied sich zunächst wieder etwas Onospin aus, das aber im Verlaufe von vier Tagen in Lösung ging. An seiner Stelle hatten sich anders aussehende Kristalle abgeschieden, auch zeigte die Lösung schwache Rechtsdrehung (+ 0.03°). Es wurde nun öfters mit Äther ausgeschüttelt, der Rückstand der Ätherlösung zur Entfernung des Thymols mit Petroläther versetzt. Das Rohprodukt zeigte den F. P. von 148—154°. Aus Äther und Petroläther umgelöst, wurden Kristalle vom F. P. 150 bis 158° erhalten, die in der Mischung mit dem reinen Keton I keine Depression (F. P. 153—159°) ergaben. Aus der Mutterlauge wurde eine Verbindung des F. P. 130—135° erhalten, deren Menge leider zu einer Methylierung nicht ausreichte. Es ist aber kaum daran zu zweifeln, daß in ihr ein Gemisch des Ketons mit dem zweiten, unbekanntem Spaltstück X des Formononetins vorliegt.

Synthese des Ketons I.

1 g Resorzin wurde mit 1.2 Molen *p*-Methoxy-benzylcyanid in 20 cm^3 absolutem Äther gelöst, granuliertes $ZnCl_2$ zugefügt ($ZnCl_2$ wird geschmolzen und in wasserfreien Tetrachlorkohlenstoff einfließen gelassen), dann eine Stunde in der Kältemischung HCl eingeleitet. Nach längerem Stehen, zuletzt bei Zimmertemperatur, schied sich ein Öl ab, das nicht kristallinisch erstarrte. Es wurde unter Kühlung in H_2O gelöst, die wässrige Lösung öfters ausgeäthert und zum Schluß anderthalb Stunden am Wasserbad erwärmt. Dabei schieden sich Kristalle ab, die nach dem Erkalten der Lösung abfiltriert wurden. Nach dem Umlösen aus Alkohol war die Ausbeute 1.5 g, farblose Nadeln vom F. P. 159.5°.

Der Mischschmelzpunkt mit dem Abbauprodukt aus Formononetin lag bei 159°. Das Keton ist leicht löslich in Alkalien, Alkalikarbonat, nicht in NaHCO_3 . Alkalieinwirkung, so wie sie bei der Spaltung des Formononetins angewandt wird, verändert die Substanz nicht. 0.2 g des synthetischen Ketons wurden mit 15 cm^3 10%iger Lauge eine halbe Stunde am Wasserbad erwärmt und dann angesäuert. Es wurden 0.2 g unverändertes Keton vom F. P. 158—159° erhalten. Auch der Mischschmelzpunkt mit dem Ausgangsprodukt war derselbe.

4.273 mg Substanz gaben 2.040 mg H_2O und 10.950 mg CO_2 .

Ber. für $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$: C 69.76 und H 5.47%.

Gef.: C 69.86 und H 5.34%.

Im folgenden beschreiben wir die Umsetzungen mit dem synthetischen Keton, die aber auch analog mit dem Abbauprodukt vorgenommen wurden und immer zu den gleichen Derivaten führten.

Methylierung (Ia).

0.1 g von I wurden in absolutem Methylalkohol gelöst und mit Diazomethan im Überschuß behandelt. Nach zweitägigem Stehen wurde das Produkt zur ersten Reinigung bei 0.01 mm destilliert und das Destillat aus verdünntem Alkohol umgelöst. Farblose Kristalle vom F. P. 104°, ab 97° Sintern. F. P. des Methyläthers aus dem Abbauketon 102°, ab 97° Sintern. Mischschmelzpunkt unverändert. Aus 96% Alkohol umgelöst wurden Kristalle vom F. P. 92—93° erhalten, die aber gleichen Methoxylgehalt zeigen und durch Umlösen aus verdünntem Alkohol oder Animpfen in die Form vom F. P. 104° überführbar sind.

2.705 mg Substanz gaben 4.630 mg AgJ.

Ber. für $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$: 22.8% OCH_3 .

Gef.: 22.61%.

Nach der Analyse ist nur eine Methoxylgruppe eingetreten; daß die zur CO-Gruppe orthoständige OH-Gruppe frei ist, wird durch die Überführung des Methyläthers Ia in II c bewiesen, die wir weiter unten beschreiben.

Synthese der Isoflavonderivate II a, b, c und III.

II a. 0.17 g 2,4-Dioxyphenyl-4-methoxy-benzyl-keton I wurden mit 2 g Natriumazetat und der gleichen Menge Essigsäureanhydrid sechs Stunden auf 160—170° erhitzt. Nach dem Zersetzen des Essigsäureanhydrides wurde der Rückstand zunächst mit wenig Alkohol ausgekocht und das Ungelöste dann aus diesem Lösungs-

mittel umkristallisiert. Die so erhaltenen schwach gelb gefärbten Nadeln (0.12 *g*) schmolzen bei 194—195° und wurden nach neuerlichem Umlösen unter Zusatz von Tierkohle farblos. Das analog hergestellte Produkt aus dem Abbauketon zeigte den gleichen F. P. und Mischschmelzpunkt.

3.980 *mg* Substanz gaben 10.26 *mg* CO₂ und 1.76 *mg* H₂O

2.589 *mg* „ „ 1.978 *mg* AgJ.

Ber. für C₁₉H₁₆O₅: C 70.37, H 4.93 und OCH₃ 9.57%.

Gef.: C 70.33, H 4.95 und OCH₃ 10.09%.

HEMMELMAYR erhält bei der gleichen Azetylierungsart ein Präparat, das nach seinen Angaben bei 190° schmilzt. Wir konnten den F. P. eines übersandten Originalpräparates, das als nicht rein bezeichnet war, durch einmaliges Umlösen auf 192° steigern und der Mischschmelzpunkt dieses Produktes mit II a ergab keine Depression, womit also die Identität nachgewiesen erscheint.

II b. Zur Gewinnung des 7-Oxy-4'-methoxy-2-methyl-isoflavons wurde die obige Azetylverbindung mit alkoholischer H₂SO₄ drei Viertelstunden gekocht. Dabei schieden sich Kristalle ab, die nach dem Umlösen aus Alkohol bei 276—280° schmolzen.

1.753 *mg* Substanz gaben 1.55 *mg* AgJ.

Ber. für C₁₇H₁₄O₄: OCH₃ 11.0%.

Gef.: OCH₃ 11.68%.

III. Wurde II a mit Jodwasserstoffsäure (*D* = 1, 7) 20 Minuten gekocht, so schieden sich beim Erkalten Kristalle ab, die mit der Mutterlauge zusammen in schweflige Säure eingetragen wurden. Nach dem Umlösen aus verdünntem Alkohol wurden feine weiße Nadeln erhalten, die bei 317° unter Zersetzung schmolzen, nachdem ab 310° starke Dunkelfärbung eingetreten war.

II c. 0.1 *g* Methyläther Ia wurden mit 1 *g* Natriumazetat und der gleichen Menge Essigsäureanhydrides sechs Stunden auf 170° erhitzt. Die weitere Aufarbeitung geschah wie bei II a angegeben. Nach dem Umlösen aus Alkohol zeigten die Kristalle den F. P. 166—168°.

4.089 *mg* Substanz gaben 10.940 *mg* CO₂ und 1.960 *mg* H₂O

3.101 *mg* „ „ 4.812 *mg* AgJ.

Ber. für C₁₈H₁₆O₄: C 72.92, H 5.41 und OCH₃ 20.95%.

Gef.: C 72.99, H 5.36 und OCH₃ 20.50%.

Zu der gleichen Verbindung kamen wir durch Methylierung von III, die mit Diazomethan durchgeführt wurde. Die Kristalle wurden aus Alkohol umgelöst und zeigten allein und in Mischung mit dem obigen Derivat den F. P. 166—168°.

Die Oximierung des synthetischen und des Abbauketons wurde auf die gleiche Weise durchgeführt, indem die Substanzen mit überschüssigem Hydroxylamin in alkoholischer Lösung auf dem Wasserbade erwärmt wurden. Nach dem Umlösen aus verdünntem Alkohol schmolzen die Oxime beim raschen Erhitzen bei 218° unter Zersetzung. Auch die Mischung zeigte den gleichen F. P.

4·067 mg Substanz gaben 9·82 mg CO₂ und 2·045 mg H₂O.

Ber. für C₁₅H₁₅NO₄: C 65·93 und H 5·49%.

Gef.: C 65·88 und H 5·64%.

Spaltung von Methylformononetin mit Kalilauge.

Dieser Versuch beansprucht, da er nur mit einer kleinen Menge vorgenommen wurde, nur orientierenden Charakter. 0·1 g Methylformononetin wurde mit 10 cm³ 10%igem NaOH eine Stunde am Wasserbad erwärmt. Ein Teil blieb ungelöst, es war unverändertes Methylformononetin. Die Lösung färbte sich gelb, es trat Anisgeruch auf, und beim Erkalten schied sich ein Kristallbrei aus. Mit Wasser verdünnt, trat Lösung ein, die angesäuert wurde. Der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert und zeigte nach dem Trocknen den F. P. 98—110°. Aus Alkohol umgelöst, wurden Kristalle *A* erhalten, die zwischen 109—117° schmolzen. Aus der Mutterlauge wurde *B* erhalten, weiße Kristalle, die bei 97° schmolzen und vermutlich die unreine Verbindung *I a* darstellen, denn eine Mischung der beiden Substanzen schmolz zwischen 99—104°. *A* wurde nochmals aus Alkohol umgelöst und so Kristalle erhalten, die ab 124° sinterten und bei 130° klar schmolzen. Mit der methylierten Verbindung *X* gemischt, lag der F. P. bei 132°, ab 125° sintern.

Azetylierung des Ononins.

0·15 g nicht ganz reines Ononin wurden mit 6 cm³ Pyridin und 6 cm³ Essigsäureanhydrid zwei Tage stehen gelassen. Die Aufarbeitung geschah wie üblich. Nach dem Umlösen aus Chloroform und Petroläther lag der F. P. bei 182·5°, ab 180° Sintern.