

Tabelle 13

Auf eine trockene Säule von 30 g Aluminiumoxyd „Woelm basisch“ wurden verschieden große Mengen Chinin-hydrochlorid in methanolischer Lösung gegeben. Zunächst wurde mit Methanol, sodann mit Wasser und schließlich mit 1 n-Salpetersäure nachgewaschen (Lösungsmittelwechsel durch punktierte Linie gekennzeichnet).

Fraktion	g Filtrat	mval Na	mval Cl	mmol Chinin	g Filtrat	mval Na	mval Cl	mmol Chinin
1	12,3	—	—	0,99	13,2	—	—	1,39
2	12,5	—	—	0,50	12,9	—	0,27	1,53
3	12,3	—	—	0,01	13,1	—	1,04	1,36
4	12,3	—	—	—	12,3	—	0,36	0,25
5	13,8	0,12	0,12	—	12,3	0,16	0,22	0,04
6	15,0	0,61	0,60	—	14,2	0,52	0,51	—
7	15,2	0,08	0,08	—	15,0	0,06	0,05	—
8	15,0	—	—	—	15,1	0,05	0,04	—
9	15,3	—	0,26	—	15,2	0,03	0,04	—
10	15,1	—	0,37	—	15,1	—	0,69	—
11	15,2	—	0,06	—	15,0	—	1,06	—
12	—	—	—	—	15,3	—	0,20	—
13	—	—	—	—	15,2	—	—	—
Summe gef.	—	0,81	1,49	1,50	—	0,82	4,48	4,57
Summe ber.	—	—	1,51	1,51	—	—	4,54	4,54

C. H. Brieskorn und L. Schlumprecht

Über das Vorkommen von Ursolsäure im Salbei*

8. Mitteilung über die Inhaltsstoffe von *Salvia officinalis* L.¹⁾

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München

(Eingegangen im Juli 1951)

Ätherische oder alkoholische Extrakte aus Salbeiblättern hinterließen nach der Digestion mit Chloroform bei Raumtemperatur eine grünlich-weiße Substanz. Sie stellte 2,1% der Ausgangsdroge dar. Nach einer im Versuchsteil näher beschriebenen Reinigung wurde die Substanz in schön ausgeprägten Nadeln, die zu Rosetten angeordnet waren, erhalten. Die Krystalle schmolzen im Schmelzblock nach *Lunge-Berl* bei 285° (korr.). Sie lösten sich in organischen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur nur schlecht, auffallend leicht dagegen in basischen Lösungsmitteln, wie Pyridin, Anilin, Chinolin, Chinoldin und alkoholischer Kalilauge. Die Krystalle gaben die Reaktion nach *Liebermann — Storch — Morawski*. Mit konz. Schwefelsäure betupft, färbten sie sich gelb und in der Wärme rot. Mit Chlorsulfonsäure trat eine violettrote Färbung, mit Thionylchlorid eine blaurote Färbung ein. Die Krystalle bestanden aus C, H und O. Eine Molekulargewichtsbestimmung ließ sich nicht durchführen, da die Krystalle in Campher unlöslich waren und mit Pyridin oder Toluolsulfochlorid chemische Reaktionen eingingen. Die Löslichkeit der Krystalle in alkoholischer Kalilauge ließ sich zur Bestimmung des Äquivalentgewichtes heranziehen. Bei Annahme von nur einer sauer reagierenden Gruppe wurde das

*) Herrn Prof. Dr. F. v. Bruchhausen zum 65. Geburtstag gewidmet.

1) 7. Mitteilung, *Apotheker Zeitung* 61, 82—84 (1949).

Äquivalentgewicht zu 456 ermittelt, entsprechend einer Bruttoformel $(C_{30}H_{48}O_3)_n$. Als funktionelle Gruppen wurden in der Molekel eine Alkohol- und eine Carboxylgruppe nachgewiesen. Der Nachweis gelang durch Erhitzen der Krystalle mit Acetanhydrid und partielle Verseifung des Reaktionsproduktes. Mittels Dimethylsulfat konnte der Methylester der Krystalle erhalten werden. Er löste sich gut in allen Lösungsmitteln und eignete sich auch zur Molekulargewichtsbestimmung nach *Rast*. Dabei wurde gefunden, daß das durch Titration ermittelte Äquivalentgewicht dem Molekulargewicht entsprach. Auf Grund der Farbreaktionen, des Molekulargewichtes und der funktionellen Gruppen konnte die Verbindung als Oxytriterpencarbonsäure angesprochen werden.

Die beiden bekanntesten Vertreter der pentacyclischen Oxytriterpencarbonsäuren sind die Oleanolsäure und die Ursolsäure^{1a)}. Infolge des niederen Schmelzpunktes schloß sich eine Identität der isolierten Verbindung mit der Oleanolsäure (Schmp. 307 bis 308° korr.)²⁾ aus.

Ursolsäure trägt ihren Namen nach dem Vorkommen in den Bärentraubenblättern. Da die Angabe ihres Schmelzpunktes in der Literatur³⁾ innerhalb erheblicher Grenzen schwankt, wurde Ursolsäure aus Bärentraubenblättern dargestellt⁴⁾. Dabei zeigte sich, daß das angegebene Verfahren ein nur unreines Produkt liefert. Erst das von uns entwickelte Alkoholextraktverfahren lieferte in guter Ausbeute sehr reine Krystalle. Sie schmolzen gleichfalls bei 285° und gaben im Mischschmelzpunkt mit den aus Salbei isolierten Krystallen keine Depression. Damit war erwiesen, daß die isolierten Krystalle mit Ursolsäure identisch sind.

Außer in Salbeiblättern, in denen sie zu 2,1% vorkommt (s. o.), konnte Ursolsäure noch in Salbeistengeln bis 1%, in Salbeiblütenkelchen bis 0,38%, in Salbeiblütenstielen bis 0,32% und in Salbeiblumenkronen spurenweise nachgewiesen werden.

Beschreibung der Versuche

Isolierung der Ursolsäure:

1. Ätherextrakt: Salbeiblätter wurden zunächst mit Petroläther und anschließend mit Äther erschöpfend extrahiert. Der pulverförmige, grüngefärbte Ätherextrakt diente als Ausgangsmaterial.

10 g pulverisierter Ätherextrakt wurden mit 200 ccm Chloroform in einem Scheidetrichter von 250 ccm 48 Stunden unter öfterem Umschütteln stehen gelassen. Nach Abiauf dieser Zeit schwamm auf dem Chloroform eine schmutziggüne, etwa 1 cm hohe Schicht der rein darzustellenden Substanz. Das Chloroform hatte sich dunkelgrün gefärbt und wurde von der Substanz abgetrennt. Der im Scheidetrichter verbliebene Rückstand wurde erneut mit Chloroform geschüttelt. Diese Behandlung wurde fortgesetzt, bis die Substanz eine weißliche Farbe angenommen hatte. Hierzu war eine zehnmahlige Erneuerung des Chloroforms notwendig. Mit der letzten Menge Chloroform wurde die Substanz

^{1a)} O. Jeger, „Über die Konstitution der Triterpene“ in „Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe“ 7. Band, Wien 1950, Springer-Verlag.

²⁾ W. Poethke, A. Wilhelm und W. Arnold, Archiv d. Pharmaz. 383/55, 269 (1951).

³⁾ W. H. Gintl, Monatsh. Chem. 14, 255 (1893); S. Markley und C. E. Sando, J. Biol. Chem. 105, 643 (1934); A. Sosa, Bull. Soc. chim. 32, 344 (1950).

⁴⁾ E. I. van Itallie, Pharm. Weekbl. Nederland, 58, 824 (1921).

auf eine Nutsche gebracht und der Rückstand nach zweimaligem Waschen mit Chloroform bei 105° getrocknet. Die Substanz bestand aus einer grünlichweißen, leicht pulverisierbaren Masse, die geruch- und geschmacklos war und an den Händen harzig haftete. Weiterverarbeitung siehe unten.

2. Alkoholextrakt: Für die Aufarbeitung größerer Mengen des Pflanzenmaterials war nachfolgendes Verfahren einfacher und billiger:

100 g feinpulverisierte und bei 105° getrocknete Salbeiblätter wurden viermal mit 300 ccm heißen 96proz. Athanol übergossen und anschließend 15 Min. unter Rückfluß auf dem Wasserbad gekocht. Aus dem heiß abgegossenen alkoholischen Auszug fielen nach dem Erkalten und zwölfstündigem Stehen Wachse aus, die verworfen wurden. Der alkoholische Auszug wurde dann bis auf 50 ccm eingeeengt und die nach dem Erkalten ausfallende, dunkelgefärbte Substanz auf einer Nutsche gesammelt. Sie wurde auf der Nutsche solange mit Chloroform gewaschen, bis sie gelbbraun bis gelbgrün gefärbt war. Dann wurde mit heißem Wasser gewaschen, bis keine merkliche Aufhellung der Substanz mehr erfolgte. Sie wurde anschließend nochmals mit Chloroform gewaschen und dann bei 105° getrocknet. Die Substanz wurde in einer ausreichenden Menge von siedenden 96%igen Alkohols gelöst und diese Lösung durch einen Heißwassertrichter filtriert. Aus dem Filtrat krystallisierten nach dem Erkalten Nadeln, zu Rosetten angeordnet, aus. Durch nochmaliges Lösen in Alkohol und durch Filtrieren über Aktivkohle wurden sie analysenrein erhalten.

Elementaranalyse:

Gef.: C	78,65%	H	10,61%
Ber. (C ₁₀ H ₁₆ O)n:	» 78,88%	»	10,61%

Bestimmung des Äquivalentgewichtes:

Etwas 0,4 g Krystalle vom Schmelzpunkt 285° wurden genau gewogen und in 20 ccm 0,1 n-methylalkoholischer KOH gelöst. Das nicht verbrauchte Alkali wurde gegen Phenolphthalein als Indikator mit 0,1 n-HCl zurücktitriert. Als Endpunkt der Titration wurde die erste Entfärbung des Indikators bei gleichzeitigem Auftreten einer bleibenden Trübung angenommen. Ein späteres Wiedererscheinen der roten Farbe wurde nicht beachtet. Das Äquivalentgewicht ergab sich nach der Formel

$$\ddot{A} = \frac{a \times 1000}{b}$$

wobei a die eingewogene Substanzmenge und b die verbrauchten Kubikzentimeter 0,1 n-KOH bedeuten. Als Mittelwert von 3 Titrationen wurde ein Äquivalentgewicht von 455,8 gefunden. Der theoretische Wert für die Formel C₃₀H₄₈O₃ beträgt 456.

Darstellung der Diacetylverbindung:

1 g der Krystalle vom Schmelzpunkt 285° wurde mit 10 ccm frischdestillierten Azetanhidrids am Ölbad unter Rückfluß 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Aus der klaren Lösung krystallisierten nach dem Erkalten feine Nadeln aus, die abgenutscht wurden. Die Krystalle wurden mit kaltem absolutem Alkohol gewaschen und dann aus Petroläther (Sdp. 30 bis 40°) umkrystallisiert. Die Gesamtausbeute betrug 0,95 g. Die Krystalle schmolzen bei 198° (korr.). Bei etwa 210° wurde die Schmelze wieder fest, um dann bei 318° erneut zu sintern und sich bei 330° zu zersetzen.

Gef.: C	75,68%	H	9,68%
Ber.: C ₃₄ H ₅₂ O ₅ :	» 75,49%	»	9,69%

Partielle Verseifung der Diacetylverbindung:

1. Aufspaltung der Anhydridbindung; Darstellung der Monoacetylverbindung: 0,1 g der Diacetylverbindung wurde unter öfterem Umschütteln mit 8 ccm 70%igen Alkohols 2½ Stunden auf dem Wasserbad unter Rückfluß gekocht. Nach

24 Stunden schieden sich feine Krystallnadeln ab, die abgenutzt wurden. Die Krystalle schmolzen bei 286—287° (korr.); sie waren in organischen Lösungsmitteln gut löslich.

Gef.: C 76,95% H 10,12%
Ber. $C_{32}H_{50}O_4$: » 77,10% » 10,04%

2. Verseifung der Monoacetylverbindung; Rückgewinnung der Ursolsäure: 0,1 g der Monoacetylverbindung wurde auf dem Wasserbad 3 Stunden mit 1-n alkoholischer KOH unter Rückfluß gekocht. Die Reaktionslösung wurde mit verd. HCl angesäuert, der ausfallende Niederschlag abfiltriert und nach dem Trocknen mit Äther gewaschen. Der ätherunlösliche Anteil wurde aus 96%igem Alkohol umkrystallisiert. Der Schmelzpunkt der erhaltenen Krystalle lag bei 285°. Er gab mit den aus Salbei isolierten Krystallen keine Depression des Schmelzpunktes.

Herstellung des Methylesters:

1 g der aus Salbei isolierten Krystalle vom Schmp. 285° wurde in 60 ccm 0,1 n-methyl-alkoholischer KOH gelöst und mit 2 Tropfen 0,1%iger alkoholischer Phenolphthaleinlösung als Indikator versetzt. Dann wurde tropfenweise unter ständigem Rühren 1 g frisch destilliertes Dimethylsulfat hinzugegeben, wobei eine feine weiße Trübung entstand. Nach Zugabe von 1 ccm 1-n alkoholischer NaOH wurde 40—60 Min. weitergerührt. Die Trübung wurde während dieser Zeit stärker, und der Indikator entfärbte sich. Sobald diese Entfärbung eintrat, wurden weitere 4 ccm 1-n alkoholische NaOH hinzugefügt und solange gerührt, bis sich der Indikator wieder entfärbte. Es wurden nochmals 3 ccm 1-n alkoholischer NaOH hinzugefügt und das Reaktionsgemisch nochmals 4 Stunden weitergerührt. Nach dieser Zeit war ein feiner weißer Niederschlag entstanden. Die Lösung mit dem Niederschlag wurde über Nacht in Eis gestellt. Bis zum nächsten Tage waren kräftige Krystallnadeln entstanden. Sie lösten sich in heißem 96%igem Alkohol und krystallisierten daraus, nach Zugabe von Wasser bis zur gerade beginnenden Trübung, wieder aus. Die lufttrockenen Krystalle sinterten bei 112—115°, wobei, wie wir nachweisen konnten, 1 Mol Krystallwasser entwich. Die bei 105° getrockneten Krystalle schmolzen ohne vorheriges Sintern bei 168°. Eine genaue Einhaltung der angegebenen Versuchsordnung war für die Ausbeute von größter Wichtigkeit.

Gef.: C 78,94% H 10,66% —OCH₃ 6,56%
Ber.: $C_{31}H_{50}O_3$: » 79,08% » 10,71% —OCH₃ 6,59%

Molekulargewichtsbestimmung des Methylesters nach Rast:

Im Gegensatz zur Ausgangsverbindung war der Methylester in Campher löslich. Die Bestimmung wurde an der konstant-getrockneten Verbindung vom Schmp. 168° (korr.) vorgenommen.

0,730 mg Substanz 8,345 mg Campher Δ 7,8°
Gef.: 448; Ber.: $C_{31}H_{50}O_3$: 470

Damit entsprach das durch Titration ermittelte Äquivalentgewicht dem Molekulargewicht.

Acetylierung des Methylesters:

0,1 g des Methylesters (Schmp. 168°) wurde mit 3 ccm frischdestillierten Azetanhydrids 40 Min. am Ölbad unter Rückfluß zum schwachen Sieden erhitzt. Nach mehrstündigem Stehen schieden sich aus der Lösung stäbchenförmig Krystalle ab. Die abgesaugten Krystalle wurden mit wenig absolutem Alkohol gewaschen und dann heiß aus absolutem Alkohol umkrystallisiert. Die bei 105° getrockneten Krystalle schmolzen bei 239—240° (korr.).

Gef.: C 76,80% H 10,01% —OCH₃ 5,98%
Ber.: $C_{33}H_{52}O_4$: » 77,28% » 10,22% —OCH₃ 6,05%