

Dann fügt man zu einem aus 3,9 g Magnesium, 34 g p-Brombenzol und 40 ml wasserfreiem Äther bereiteten Grignardreagens 16,5 g 2-Äthylloxazolidin in 35 ml wasserfreiem Äther zu. Anschließend wird, wie vorausgehend beschrieben, aufgearbeitet.

$C_{11}H_{18}ClNO$ (213,7) Ber.: C 61,82 H 7,55 N 6,55 O 7,49 Cl 16,59
Gef.: C 61,84 H 7,31 N 6,71 O 7,63 Cl 16,42

8. 1-Äthanolamino-1-p-chlorphenyläthan (Nr. 28)

10,3 g 1-Amino-1-p-chlorphenyläthan werden mit 30 ml 20proz. Natronlauge versetzt. Man fügt 5,3 g Äthylenchlorhydrin hinzu und kocht 7 Std. unter Rückfluß. Die obere Schicht wird dann abgetrennt und destilliert. Man erhält in 35proz. Ausbeute 1-Äthanolamino-1-p-chlorphenyläthan. Daneben werden 43% unverändertes Ausgangsprodukt zurückgewonnen, das von neuem mit Äthylenchlorhydrin umgesetzt werden kann.

$C_{10}H_{14}ClNO \cdot HCl$ (236,2) Ber.: C 50,86 H 6,40 N 5,93 O 6,78 Cl 30,03
Gef.: C 50,80 H 6,63 N 6,23 O 6,35 Cl 30,53

9. 1-Propanolamino-1-p-chlorphenylpropan (Nr. 30)

83 g Formylpropanolamin, 45,3 g p-Chlorpropiofenon, 12 g 85proz. Ameisensäure und 16,2 g Magnesiumchloridhexahydrat werden 6 Std. auf 180—185° erwärmt. Dann fügt man 100 ml Wasser hinzu, nimmt das Öl in Benzol auf, macht die wäßrige Schicht alkalisch und extrahiert mit Benzol. Die vereinigten Benzolextrakte werden nun mit 15 ml Salzsäure 1 Std. gekocht. Man trennt die Salzsäureschicht ab und schüttelt die Benzolschicht mit Salzsäure aus. Die vereinigten Säureextrakte werden alkalisiert und mit Äther ausgezogen. Die ätherische Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet und der Äther abdestilliert.

$C_{18}H_{24}ClNO \cdot HCl$ (264,2) Ber.: C 54,55 H 7,25 N 5,30 O 6,06 Cl 26,84
Gef.: C 54,50 H 7,15 N 5,37 O 6,06 Cl 27,10

Anschrift: Dr. H. Haury, 8 München 13, Schießheimerstr. 343.

2364. C. H. Brieskorn und G. Großkettler

Über die Isoprenoide des Salbeisamens

18. Mitteilung über die Inhaltsstoffe von *Salvia officinalis* L.*)

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg

(Eingegangen am 20. Februar 1964)

Der Same von *Salvia* off. L. enthält 25% eines dünnflüssigen fetten Öles von grünlich brauner Farbe und würzigem Geruch. Auf Grund der Anwesenheit von 16,8% Linolensäure-Glyceriden ist es den trocknenden Ölen zuzurechnen. Der Gehalt an Unverseifbarem entspricht mit 1,95% der üblichen Größenordnung.

Das Unverseifbare besteht zu 0,16% aus α -Amyrin, zu 0,1% aus β -Amyrin und zu 33% aus Phytosterinen mit β -Sitosterin als Hauptbestandteil. Ferner wiesen

*) 17. Mitt: Naturwissenschaften 51, 216 (1964).

wir ein Trihydroxytriterpen nach. Wegen des geringen Vorkommens von unter 0,0001% konnte seine Struktur noch nicht näher aufgeklärt werden. Schließlich vermuten wir auf Grund des dünn-schichtchromatographischen Verhaltens, der Refraktion und der Banden im IR-Spektrum die Anwesenheit von Squalen im Unverseifbaren. Das Überführen in das Squalenhexahydrochlorid gelang nicht. Hieran können verschiedene Ursachen, hauptsächlich aber die geringe Menge an Ausgangssubstanz Schuld tragen.

Im Salbei-Samenöl ist zu 0,0001% weiter ein Sitosterin-D-glucosid enthalten, das sich am besten aus den Phosphatiden des Öles isolieren läßt. Sein Aglucon dürfte dem Schmelzpunkt von 136,5° nach nahezu reines β -Sitosterin sein.

Aus den entfetteten Samen extrahiert Äther ein Glykosid-Gemisch, das zu 0,016% im ursprünglichen Ausgangsmaterial enthalten ist. Nach seiner Hydrolyse sind Glucose und Arabinose nachweisbar. Eines der Genine ist β -Sitosterin, das im Glykosid-Gemisch mit großer Wahrscheinlichkeit an Glucose gebunden vorliegt. Das zweite Genin stellt eine ölige, ungesättigte acyclische Substanz dar, die bei 135° unter Zersetzung siedet. Mit dem Reagens nach *Liebermann-Burchard* gibt sie ein violettes, nach stahlblau verlaufendes Farbspiel. Ihr IR-Spektrum zeigt jedoch wesentliche Unterschiede gegenüber denen von Sterinen, Mono- und Diterpenen. Mit der Konstitutionsaufklärung dieses Aglykons sind wir noch beschäftigt. Sie ist erschwert durch seine Sauerstoff- und Temperaturempfindlichkeit.

Die isoprenoiden Bestandteile des Samens weichen in mehrfacher Hinsicht von denen des Blattes von *Salvia* off. ab. Während im Blatt die triterpenoiden Bestandteile weit überwiegen, herrschen im Samen Phytosterine vor. Das Verhältnis von Gesamtphytosterinen zu Gesamttriterpenen beträgt im Blatt etwa 1:1000, im Samen 130:1. Im Samen sind im Gegensatz zum Blatt auch Phytosterin-Glykoside enthalten.

Die im Samen vorkommenden Triterpene haben nur alkoholischen Charakter. Zwei von ihnen, das α - und β -Amyrin, sind die Stammsubstanzen von Ursol- und Oleanolsäure, welche die Haupttriterpene des Blattes darstellen. Der α -Amyrin-Anteil ist im Samen um rund 50% größer als der des β -Amyrins. Dieser Befund ist erwähnenswert, da auch im Blatt stets sehr viel mehr Ursolsäure als Oleanolsäure vorkommt. Das im Blatt von uns aufgefundene Germanicol¹⁾ war im Samen nicht nachweisbar. Trotz des hohen Triterpengehaltes im Blatt gelang es uns bisher nicht, dort Anhaltspunkte für das Vorkommen von Squalen zu gewinnen. In Samen und Fruchtteilen ist dieser aliphatische Triterpenkohlenwasserstoff schon öfter aufgefunden worden²⁾. Das Salbei-Samenöl würde damit nur ein weiteres Beispiel eines squalenhaltigen fetten Öles sein.

¹⁾ C. H. Brieskorn und W. Polonius, *Pharmazie* 17, 705 (1962).

²⁾ W. Dickhardt, *Amer. J. Pharmacy Sci.* 127, 359 (1955).

Während das Blatt reichlich ätherisches Öl enthält, ist das Wasserdampfdestillat der Samen frei von einem wägbaren Rückstand an organischen Verbindungen.

Aus dem Vergleich der isoprenoiden Bestandteile von Samen und Blatt kann gefolgert werden, daß kein Transport von Blattisoprenoiden zu den Samen stattfindet. In beiden Organen muß ein getrennter Isoprenoidstoffwechsel ablaufen. Der Same besitzt, wie sich zeigen läßt, die Fähigkeit zur Isoprenoid-Synthese. Sie macht sich beim Auskeimen bemerkbar. In den Keimen sind schon sehr bald ätherisches Öl und Triterpensäuren nachweisbar³⁾.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir aufrichtig für die erwiesene Unterstützung.

Beschreibung der Versuche

Das fette Öl wird durch Soxhletextraktion der feingemahlene Samen mit Petroläther (50—60%) gewonnen. Der Gehalt an Linolensäure-Glyceriden errechnet sich aus der Rhodanzahl (= 97) und dem Anteil an gesättigten Glyceriden (= 5%) nach folgender Formel⁴⁾:

$$\text{Linolensäure-Glyceride} = -(100-5) + 1,154 \times 97 = 16,8$$

Aufarbeiten des Öles

a) Abtrennen der Phosphatide

1,25 kg Öl werden mit der gleichen Menge Wasser und 12,5 g NaCl unter Rühren so lange gekocht, bis sich die Phosphatide zwischen der öligen und der wäßrigen Phase abcheiden. Sie werden im Scheidetrichter abgetrennt und durch Zentrifugieren von der Hauptmenge des anhaftenden Öles befreit.

b) Herstellen des Unverseifbaren

Das von den Phosphatiden befreite Öl wird mit der doppelten Menge 20proz. methanol. KOH versetzt und auf dem Wasserbad am Rückflußkühler erhitzt. Die Verseifung ist unter zeitweiligem Umschütteln der Lösung nach 3¹/₂ Std. beendet. Der Alkohol wird abdestilliert, zum Rückstand die doppelte Menge Wasser hinzugefügt und die Lösung nach dem Erkalten so lange mit Äther extrahiert, bis eine Probe keine Liebermann-Burchard-Reaktion mehr gibt. Das nach dem Abdestillieren des Äthers erhaltene Unverseifbare wird zum Beseitigen geringer Restmengen von Fett nochmals mit wäßriger KOH 10 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem erneuten Ausschütteln mit Äther, Trocknen und Abdestillieren wird als Unverseifbares eine feste, wachsartige Masse erhalten.

Isolieren der Isoprenoide

Das Unverseifbare wird mit Kieselgel-Merck (für Chromatographie 0,2—0,5 mm) verrieben und in ein mit Kieselgel gleicher Größe gefülltes Chromatographierrohr von 70 cm Länge und 5 cm Durchmesser gegeben. Als Fließmittelgemisch dient Petroläther/Äther 8 : 2.

³⁾ P. Behrens, Beiträge zur Kenntnis des Terpenstoffwechsels der Labiaten, Dissertation Univ. München 1956.

⁴⁾ A. Börner und J. Grossfeld, Hdb. der Lebensmittelchemie, IV. Band, S. 199, Springer-Verlag, Berlin 1939.

Die Durchlaufgeschwindigkeit beträgt 1 ml in 15 Sek. Jeweils 100 ml Eluat werden aufgefangen (Tab. 1).

Tabelle 1

Beschaffenheit der Fraktionen bei der Chromatographie des Unverseifbaren

Fraktionen zu 100 ml	Aufgefangene Fließmittelmenge in ml	Beschaffenheit nach Abdampfen des Fließmittels	Menge in g	Liebermann-Burchard-Reaktion
1—16	1600	braun-ölig	0,1	rötlich-braun
17—30	1300	braun-fest	12	negativ
31—55	2400	braun-fest	1	blutrot
56—111	5500	hellbraun-fest	13,5	violett-blau-grün
112—162	5000	gelbbraun schmierig	0,1	kurz blutrot, dann dunkelbraun

Die Fraktionen 1—16 werden vor Ausführen spezieller Reaktionen über eine Säule aus Al_2O_3 (standardisiert nach Brockmann) chromatographiert. Zum Eluieren dient Petroläther. Über den Ausfall der Vergleichsreaktionen mit Squalen gibt Tab. 2 Auskunft.

Tabelle 2

Vergleichsreaktionen mit Squalen

	Isolierte ölige Substanz	Authentisches Squalen
Bromlösung	entfärbt	entfärbt
Acetanhydrid- H_2SO_4 (Liebermann-Burchard-Reaktion)	rötlich-braun	rötlich-braun
Tetranitromethan	gelbe Färbung	gelbe Färbung
Jodzahl	300	370
Refraktion	1,493	1,490
Rf-Wert	0,52	0,52
IR-Banden	bei 820, 880 und 980 cm^{-1}	bei 820, 880 und 980 cm^{-1}

Für die DC des Squalens auf Kieselgel-G-Platten dient Petroläther als Fließmittel, gesättigte $SbCl_5$ /Chloroformlösung als Anfärbereagens. Die Farbe tritt nach 15 Min. auf (Temp. 150°). Im Unverseifbaren dürfte Squalen zu etwa 0,4% enthalten sein.

α - und β -Amyrin sind in den Fraktionen 31—55 enthalten: Der schmierige Rückstand wird in möglichst wenig Pyridin unter vorsichtigem Erwärmen gelöst. Nach Zusatz der gleichen Menge Essigsäureanhydrid läßt man über Nacht stehen und versetzt dann mit reichlich Wasser. Die acetylierten Substanzen lassen sich durch zweimaliges Ausschütteln mit Äther extrahieren. Die ätherische Phase wird je zweimal mit Wasser, verd. Salzsäure und nochmals mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über geglühtem Natriumsulfat wird der Äther i. Vak. abdestilliert. Das Umkristallisieren erfolgt aus Essigsäureanhydrid. Nach dem Abfiltrieren wird das Gemisch der Acetate bis zur Säurefreiheit mit Wasser gewaschen.

Trennen von α - und β -Amyrin: Das Amyrinacetat-Gemisch wird aus viel Petroläther umkristallisiert. Es bilden sich feine Nadeln und dicke Prismen. Sie können durch

Aussuchen und nachträgliches Auswaschen mit Petroläther von den anhaftenden α - bzw. β -Amyrinacetat-Resten sauber getrennt werden.

Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Petroläther wird für α -Amyrinacetat ein Schmp. von 224,5°, für β -Amyrinacetat ein Schmp. von 238° gefunden. Zum Verseifen der Acetate werden sie mit 0,5 n alkoholischer KOH 1½ Std. am Rückflußkühler erhitzt. Die freien Amyrine zeigen dann folgende Schmp.: α -Amyrin Schmp. 172°, β -Amyrin Schmp. 190°.

Das Phytosterin ist in den Fraktionen 56—111 enthalten. Zum Abtrennen von begleitenden Kohlenwasserstoffen werden die vereinigten Fraktionen in Benzol warm gelöst und die Lösung unter Umrühren mit harnstoffgesättigtem Methanol von möglichst gleicher Temperatur versetzt. Das Kohlenwasserstoff-Harnstoff-Addukt fällt bei einer Temperatur von 0° innerhalb von 4 Std. aus. Der Niederschlag wird abfiltriert und mehrmals mit harnstoffgesättigtem Methanol von 0° gewaschen.

Das Filtrat der Harnstoff-Fällung wird mit reichlich Wasser versetzt. Die Mischung teilt sich in 2 Schichten. Die abgetrennte Benzolphase wird über geglühtem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand kristallisiert aus Äthanol. Schmp. des Phytosterins 138,5°. Das IR-Spektrum ist identisch mit einem β -Sitosterin des Handels (Fa. Roth, Karlsruhe).

Trihydroxytriterpen: Die vereinigten Fraktionen 112—162 werden nach Entfärben mit Kohle eingedampft und der Rückstand in wenigen ml einer Mischung aus Äther und Petroläther im Verhältnis 1:1 aufgenommen. Nach sehr langsamem Abdunsten des Lösungsmittelgemisches bilden sich Kristalle. Sie werden aus Äthanol mehrmals umkristallisiert. Schmp. 199°, Banden im IR-Spektrum bei 1043, 1157, 3350 cm^{-1} .

β -Sitosterin-D-glucosid: Das abgetrennte Phosphatid (s. o.) wird etwa achtmal in einer Reibschale mit Aceton gut durchgeknetet und das Ungelöste jeweils von der überstehenden Lösung abzentrifugiert. Die vereinigten Aceton-Anzüge werden abgedampft und aus dem noch Restöl enthaltenden Rückstand das Glucosid durch Äther ausgefällt. Der Niederschlag wird durch einen Glasfiltertiegel G 3 abgenutscht. Er wird nacheinander mit Äther, Alkohol, Wasser, Alkohol und abschließend wiederum mit Äther gewaschen und bei 50° i. Vak. getrocknet. Nach Umkristallisieren aus Amylalkohol schmilzt die Substanz bei 20° (Zers.). β -Sitosterin-D-glucosid-tetraacetat Schmp. 164°.

Das Glucosid wird in alkoholischer Lösung mit einer Mischung aus 30 ml Amylalkohol und 10 ml 16proz. HCl durch 2stdg. Erhitzen auf dem Wasserbad hydrolysiert. Nach dem Abdestillieren unter vermindertem Druck und Ausschütteln mit Äther wird das Aglycon erhalten. Schmp. 136,5°. Das IR-Spektrum ist identisch mit einem β -Sitosterin des Handels (Fa. Roth, Karlsruhe).

Aus der wäßrigen Phase wird pc in üblicher Weise Glucose nachgewiesen (Papier Schleicher u. Schüll 2043 b). Fließmittel Isobutanol/Pyridin/Wasser (6:4:3). Anfärben mit Anilinphthalat, Erhitzen 10 Min. auf 105°.

Glykosid-Gemisch: Die erschöpfend mit Petroläther extrahierten Samen werden so lange mit Äther ausgezogen, bis die ablaufende Flüssigkeit farblos ist. Während des Einengens der ätherischen Lösung fällt ein amorphes Substanzgemisch aus. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der Rückstand einige Min. mit Petroläther am Rückflußkühler gekocht, die Mischung erkalten gelassen und 5 Min. bei 3000 U/Min abgeschleudert. Der Niederschlag wird mehrmals mit Petroläther gewaschen, bis dieser sich nicht mehr grün färbt. Die getrocknete Substanz ist von hellbrauner Farbe und zeigt unter dem Mikroskop bei 450facher Vergrößerung kristallinen Aufbau. Schmp. 290° (Zers.).

Acetylesther: schuppenförmig gehäufte Platten, Schmp. 165° (β -Sitosterin-D-glucosid-tetraacetat).

Das fein pulverisierte Glykosidgemisch wird mit HCl-gesättigtem Äthanol (hundertfache Menge) 1 Std. auf dem Wasserbad unter Rückfluß hydrolysiert. Nach Abdestillieren des Alkohols wird Wasser zugefügt und mit Äther ausgeschüttelt. Aus der wäßrigen Phase erfolgt pc der Zuckernachweis. Papier: Schleicher u. Schüll 2043 b. Fließmittel: n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 1). Sprühreagens: Anilinphtalat in wassergesättigtem n-Butanol, 10 Min. Erwärmen auf 105°. Die Ätherphase des Hydrolysats der Glykoside wird eingengt. Über eine Säule (Kieselgel Merok, Durchmesser 0,2–0,5 mm, Füllhöhe 26 cm, Durchmesser 1,3 cm) werden die Genine mit Äther-Petroläther (1 : 1) chromatographiert.

In den ersten 10 ml (!) Durchlauf ist nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels ein helles Öl enthalten. Es muß verschlossen unter Stickstoff aufbewahrt werden. Der Sdp. wird im Schmp.-röhrchen nach *Wiegand* zu 135° (Zers.) bestimmt. Das IR-Spektrum (KBr-Preßling) zeigt bei 3400 cm^{-1} die Valenzschwingungsbande der Hydroxylgruppe. Banden bei 1450 und 1370 cm^{-1} deuten auf Methylgruppen hin, während die bei 1610, 1294, 980 und 961 cm^{-1} für den ungesättigten Charakter der Molekel sprechen. Aus der „Rocking-Schwingung“ bei 720 cm^{-1} kann auf eine Kohlenstoff-Kette von mindestens 4 C-Atomen geschlossen werden.

Die nächsten 10 ml Durchlauf geben eine intensive Liebermann-Burchard-Reaktion. Nach vorsichtigem Abdunsten des Lösungsmittels werden weiße Kristalle erhalten. Schmp. 138,0°, Acetat: Schmp. 126°. Die Liebermann-Burchard-Reaktion zeigt das Farbspiel der Sterine. Im DC hat die kristalline Substanz den gleichen Rf-Wert wie Vergleichs-Sitosterin. Ein Mischschmp. mit β -Sitosterin des Handels weist keine Depression auf. Die IR-Spektren des isolierten Aglykons und des Vergleichs- β -Sitosterins stimmen weitgehend überein.

Anschrift: Prof. Dr. C. H. Brieskorn, 87 Würzburg, Koellikerstraße 2.

2365. G. Wagner und P. Nuhn

Synthese von Selenoglykosiden mit Acetyl-glykosylisosenonium-bromiden

4. Mitt. über „Selenoglykoside“¹⁾

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Karl-Marx-Universität Leipzig

(Eingegangen am 6. März 1964)

Acetylierte Selenoglykoside waren bisher nur durch Umsetzung von Alkalisalzen von Selenolen mit Acetohalozuckern zugänglich²⁾). Dieses Verfahren kann nicht immer angewendet werden, da die für die Synthese benötigten Selenole nicht in jedem Falle darstellbar sind. Acetylierte Thioglucoside können außer durch Umsetzung von Alkalimercaptiden mit Acetobromglucose auch aus Tetraacetyl-glucosyl-

¹⁾ 3. Mitt. G. Wagner und P. Nuhn, Arch. Pharmaz. 297, 81 (1964).

²⁾ W. A. Bonner und A. Robinson, J. Amer. chem. Soc. 72, 354 (1950).

³⁾ G. Wagner und G. Lehmann, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 100, 160 (1961).