

Die Ergebnisse der Titration von 2-Sulfanilamino-4-methylthiazol, die nach der gleichen Methodik wie vorher erhalten wurden, sind graphisch in Abb. 3 aufgeführt. Diese zeigen bei den Proben, in denen der KJ-Zusatz unmittelbar nach der Bromierung erfolgt, eine wesentlich geringere Streuung als bei der Tosylverb. (Abb. 2). Infolge der beim Sulfanil-derivat stattfindenden Arylbromierung liegt hier der Halogenverbrauch bei 4 Brom-äquivalenten. Die Umlagerung der 4-Methyl-4-oxy-5-bromthiazolin- in die 4-Methyl-5-bromthiazolgruppe macht sich aber auch bei längerer Bromierungsdauer bemerkbar, was an dem durch die jodometrische Rücktitration gemessenen höheren Br-Verbrauch von 5 und mehr Äquivalenten zu beobachten ist.

1406. H. Borsutzki

Beitrag zur chemischen Kenntnis der *Artemisia maritima* L.

Aus dem Pharmazeutischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

(Eingegangen am 27. Dezember 1954)

Bei Gehaltsbestimmungen und auch bei der Gewinnung des Santonins aus *Artemisia*-Arten erschweren Stoffe oder Stoffgemische harzigen Charakters die Isolierung. Viele Verfahren sind entwickelt worden, bei denen die Trennung des Santonins von den Begleitstoffen auf Grund chemischer oder physikalischer Eigenschaften durchgeführt wird. Eine Einführung und einen Überblick in die Problematik gewähren die Arbeiten von *Steinegger, Hahn*¹⁾ und *Oelßner*²⁾.

Unsere Untersuchungen erstrecken sich auf die in Mitteldeutschland angebaute, santoninhaltige Art *Artemisia maritima* L. Es wurde durch die Anwendung verschiedener Lösungsmittel (Petroläther, Äther, Chloroform und Äthanol) und auch durch die Anwendung der chromatographischen Methode eine Fraktionierung der Inhaltsstoffe angestrebt und zum Teil erreicht. Darüber hinaus konnte durch Entfetten der Droge mittels Petroläther eine Trennung von einigen sehr lästigen, petrolätherlöslichen Stoffen erreicht werden. Nach *Beckurts*³⁾ sollen die als „Harze“ bezeichneten Störstoffe nur in den Extrakten des Äthers, des Chloroforms und des Äthanol zu finden sein; im Petroläther sind diese nicht löslich.

Als Störstoffe kommen bei *Artemisia maritima* besonders fettartige und wachsartige Substanzen, Chlorophylle, Flavonderivate und nicht zuletzt auch Derivate des Santonins selbst in Frage. Als neue Inhaltsstoffe von *Artemisia*-Arten wurden α -Oxysantonin, Desmotroposantonin und aller Wahrscheinlichkeit auch Dihydro-santonin isoliert.

α -Oxysantonin, das bisher nur im Harn mit Santonin gefütterter Tiere gefunden wurde, konnte aus dem Ätherextrakt isoliert und durch seinen Schmelzpunkt, den seines Azetylderivates sowie durch einige Eutektika identifiziert und charakterisiert werden.

Desmotroposantonin konnte in geringer Menge aus dem Äthanolextrakt der Droge gewonnen werden. Diese Substanz wurde sowohl durch den Schmelzpunkt,

¹⁾ *E. Steinegger* und *O. Hahn*, *Pharmac. Acta Helvetiae* 28, 206 (1953).

²⁾ *W. Oelßner*, *Pharmazie* 6, 515—520 (1951).

³⁾ *H. Beckurts*, Festschrift für *Alexander Tschirch* zu seinem 70. Geburtstag, Leipzig 1926, Seite 6.

den Mischschmelzpunkt als auch durch die Eutektika charakterisiert und identifiziert.

Aus dem Ätherextrakt wurde ein Körper vom Schmp. 97—98° isoliert und durch seine Eutektika charakterisiert. Er konnte infolge seines geringen Anfalles nicht identifiziert werden. Es besteht die Möglichkeit, daß er die von *Will*⁴⁾ gefundene Substanz vom Schmp. 95—98° ist. (Vom Dihydrosantonin ist ein Schmp. 99° bekannt.)

Alle Schmelzpunkte (korr.) wurden nach *Kofler*⁵⁾ mittels des Mikroheiztisches „Boëtius“ bestimmt. Zur chromatographischen Analyse wurde Aluminiumoxyd Merck, stand. nach Brockmann, verwendet.

Versuchsteil

Petrolätherextrakt:

1 kg Droge wurde im Soxhlet-Apparat (40 Stdn.) mit Petroläther entfettet. In der kalten Extraktlösung schieden sich neben Santonin noch β -Santonin, Schmp. 216—218°, und etwas Pseudosantonin, Schmp. 190°, aus. Die beiden letzten Substanzen lagerten sich in etwa 1½ Monaten zu Santonin um.

Bei der chromatographischen Prüfung der Petrolätherlösung konnte aus den nicht von der Säule aufgenommenen Anteilen durch Behandeln mit Methanol und nochmaliger Chromatographie (Petroläther) Stearinsäure, Schmp. 69—70°, Mischschmelzpunkt 69°, isoliert werden.

Eutektika: Stearinsäure / Benzil 61°
Stearinsäure / Azobenzol 55°

Weitere Fraktionen enthielten Chlorophylle, Polyenkohlenwasserstoffe und Farbwachse.

Nach der Verseifung des Rohfettes nach *Leys*⁶⁾ in der Modifikation nach *Grimme*⁷⁾ wurde aus dem Unverseifbaren ein Paraffingemisch, Schmp. 64—65°, und ein Wachsalkohol, Schmp. 76—77°, Azetylderivat Schmp. 65°, isoliert.

Im ätherlöslichen Anteil der Seifenlösung konnte durch einen Entmischungsversuch mit Petroläther/Methanol (80%) nach *Kuhn* und *Brockmann*⁸⁾ in der hypophasischen Zone ein aus den verseiften Farbwachsen erhaltener Polyenalkohol nachgewiesen werden. Bei der chromatographischen Prüfung der Ätherlösung wurde im Säulenkopf eine festgehaltene Zone durch Digerieren mittels Methanol/Eisessig (100 : 1) eluiert. Das Lösungsmittel wurde darauf abdestilliert und der Rückstand durch mehrmaliges Auskochen mit Wasser säurefrei gewaschen. Die getrocknete Substanz, Schmp. 134—136°, ergab ein Azetylderivat, Schmp. 125°.

Eutektika: Acetylderivat / Phenacetin 68°
Acetylderivat / Acetanilid 62°

Aus der Seifenlösung wurden im Verlauf der weiteren Aufarbeitung Palmitinsäure Schmp. 62°, Mischschmelzpunkt 62—63°,

Eutektika: Palmitinsäure / Azobenzol 49°
Palmitinsäure / Benzil 58°

und eine methanollösliche Säure, Cerotinsäure, Schmp. 78°, Mischschmelzpunkt 78° isoliert.

Eutektika: Cerotinsäure / Azobenzol 52—54°
Cerotinsäure / Benzil 71—73°

⁴⁾ *H. Will*, Apotheker-Ztg. 73, 549 (1931).

⁵⁾ *L. Kofler*, Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Weinheim-Berlin 1945.

⁶⁾ *A. Leys*, J. Pharm. e Phys. 5, 255 (1921).

⁷⁾ *C. Grimme*, Pharmaz. Zentralhalle Deutschland 62, 255 (1921).

⁸⁾ *R. Kuhn* und *H. Brockmann*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 200, 255 (1931).

Zur Trennung der flüssigen Fettsäuren wurde nach *Hehner* und *Mitchel*⁹⁾ verfahren. Es konnte Linolensäure als Hexabromid, Schmp. 179°,

Eutektika: Linolensäurehexabromid / Benzanilid 153°
Linolensäurehexabromid / Salophen 163—164°

Linolsäure als Tetrabromid, Schmp. 115°, und Ölsäure nachgewiesen werden.

Ätherextrakt:

1. Die mit Petroläther entfettete Droge wurde im Soxleth-Apparat (40 Stdn.) mit Äther extrahiert.

a) Die Ausscheidungen der kalten Extraktlösung wurden abfiltriert und mehrmals mit Äther dekantiert. Der Rückstand wurde dann mit Chloroform aufgenommen und das Ungelöste abfiltriert.

Durch Eingießen der Chloroformlösung in Petroläther wurde eine Ausfällung erzielt, die auf dem Filter gesammelt wurde. Sowohl in der Ausfällung als auch in der Lösung lag Santonin vor, das sehr stark mit Chlorophyll verunreinigt war. Je nach dem Grade der Verunreinigung schmolz das Santonin bei etwa 90, 140 und 157° (Die Schmelzpunkte liegen auf der eutektischen Kurve). Nach dem Absaugen der eutektischen Schmelze nach *Kofler*⁶⁾ und auch nach der Anwendung der chromatographischen Methode konnte daraus reines Santonin gewonnen werden.

Im chloroformunlöslichen Anteil der Ausfällungen des Ätherextraktes lagen neben Santonin, Schmelzlinie 140—169°, Chlorophylle und noch eine weitere Substanz vor. Diese sublimierte teilweise bei etwa 265—275° und hatte eine Schmelzlinie von 285 bis 295° (s. u.).

b) Die filtrierte Extraktlösung wurde chromatographiert. Als Durchlauf wurde eine gelbe Lösung aufgefangen und nach dem Verdunsten des Lösungsmittels und dem darauffolgenden Entfetten mittels Petroläther konnte reines Santonin, Schmp. 173°, erhalten werden.

Eutektika: Santonin / Phenacetin 124°
Santonin / Benzanilid 142°

Auf der Säule festgehaltene Stoffe wurden mittels Salzsäure/Methanol (1 : 10) durch wiederholtes Aufwirbeln, Absetzenlassen und Filtrieren vom Aluminiumoxyd gelöst und getrennt. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert, die zurückgebliebene, saure Lösung mit Äther ausgeschüttelt und die Ätherphase mit Wasser säurefrei gewaschen. Nach dem Trocknen der abgetrennten Ätherlösung mittels Natriumsulfat und dem Abdestillieren des Lösungsmittels wurde aus dem Rückstand durch zweimaliges Chromatographieren (Chloroform) und durch Wiederholen des Ablöses von der Säule eine Substanz, Schmp. 97—98°, isoliert, die in Äther und Äthanol leicht und in Petroläther kaum löslich ist (Dihydrosantonin?).

Eutektika: Substanz / Azobenzol 48—49°
Substanz / Benzil 58—59°

Aus dem Eluat des letzten chromatographischen Versuches konnte bei der Entmischungsprobe mittels Petroläther/Methanol aus der Petrolätherphase Caprinsäure, Schmp. 29—30°, erhalten werden.

Eutektika: Caprinsäure / /Azobenzol flüssig
Caprinsäure / Benzil erweichend

2. Zur Isolierung weiterer Inhaltsstoffe wurde eine erneut gewonnene Ätherextraktlösung von den Ausscheidungen dekantiert. (Diese sind mit dem oben erwähnten Stoff, Schmp. 96—98°, identisch.) Die Extraktlösung wurde dann nach einiger Zeit von weiter sich bildenden Ausscheidungen dekantiert. Der Rückstand wurde mehrmals mit Äther gewaschen, dann getrocknet, zerrieben und nochmals wiederholt mit Äther dekantiert.

⁹⁾ *Hehner* und *Mitchel*, Analyst 1898, S. 318.

Der getrocknete Rückstand ergab bei 270° ein sternförmiges Sublimat; daneben bildete sich ein Tröpfchensublimat. Diese Substanz schmolz bei 286—288° und wird als α -Oxy-santonin angesehen.

Eutektika: Substanz / Salophen	153°
Substanz / Dicyandiamid	143°
Acetylderivat nach Monaco ¹⁰⁾ :	164—165°
	(Polarisationsmikroskop)

Die von den Ausscheidungen befreite Ätherlösung wurde im Vakuum eingedampft. Der Abdampfückstand wurde mit Petroläther durchgearbeitet; dann wurde digeriert und nach dem Behandeln mit Methanol vom Ungelösten abfiltriert.

Das Methanol wurde darauf abdestilliert und der Destillationsrückstand in Äther gelöst und chromatographiert. Der auf der Säule festgehaltene Anteil wurde mit Salzsäure/Methanol wechselnder Mischungsverhältnisse eluiert. Nach dem Abdestillieren des Methanols wurde der Rückstand mit Wasser wiederholt bis zur Säurefreiheit gewaschen, dann getrocknet und mit Methanol digeriert. Der nichtlösliche Anteil ist Quercetin, Schmp. 314 bis 318°, Mischschmelzpunkt 310—315°.

Eutektika: Quercetin / Salophen	181°
Quercetin / Dicyandiamid	201—202°

Aus dem methanolunlöslichen Anteil wurde nach dem Chromatographieren (Äther) im Eluat Cerotinsäure, Schmp. 79—80°, gefunden. Eine auf der Säule festgehaltene Zone wurde mittels Chloroform/Methanol/Salzsäure verschiedener Konzentrationen eluiert. Im Scheidetrichter wurde das Chloroform abgetrennt und mit Wasser säurefrei gewaschen. Der Verdampfungsrückstand zeigte nach mehrmaligem Digerieren mittels Methanol einen Schmp. 73—74°.

Eutektika: Substanz / Azobenzol	63°
Substanz / Benzil	67°

Chloroformextrakt:

Die Droge wurde im Soxleth-Apparat (40 Stunden) mit Chloroform extrahiert. Die Extraktlösung wurde filtriert und dann chromatographiert. Aus dem Rückstand des Durchlaufes wurde Palmitinsäure, aus den Eluatfraktionen Santonin neben n-Eikosan, Schmp. 37° isoliert.

Eutektika: Substanz / Azobenzol	erweichend
Substanz / Benzil	23—25°

Die auf der Säule festgehaltenen Anteile wurden teils mit Chloroform, teils mit Methanol/Chloroform eluiert und zeigten unter dem Mikroheiztisch Schmelzintervalle von einmal 275—280° und zum anderen Male von 65—70°. Weitere auf der Säule verbliebene Anteile wurden mit mehreren Litern Methanol eluiert. Das Eluat wurde sodann mit Wasser bis zur Trübung versetzt und darauf mit Chloroform ausgeschüttelt. Aus der abgetrennten Chloroformphase schieden sich beim Schütteln mit Wasser an der Grenzschicht mikrokristallinische Flocken ab, die bei 176° zu schmelzen begannen und sich bei 317° zersetzten (s. o.). Letzte, auf der Säule verbliebene Anteile wurden mittels Methanol/Salzsäure wechselnder Konzentrationen eluiert. Nach dem Abdestillieren des Methanols wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Die erste Ausschüttelung enthielt n-Eikosan. Eine weitere Ausschüttelung wurde mit Wasser säurefrei geschüttelt und darauf das Chloroform abgetrennt. Der Rückstand wurde in Essigester gelöst und diese Lösung allmählichem Verdunsten überlassen. Am Rande des Gefäßes bildeten sich Kristalle, die nach einer Phasentrennung Chloroform/Methanol/Wasser einen Schmp. 183 bis 185° zeigten (Pseudosantonin?).

Eutektika: Substanz / Benzanilid	140°
Substanz / Salophen	121°

¹⁰⁾ L. Monaco, Gazz. chim. ital. 27, II, 87 (1897).

Zur Prüfung auf Helenin wurde ein erneut gewonnener Rückstand eines Chloroform-extraktes mit Äther durchgearbeitet und die dekantierte und filtrierte Ätherlösung chromatographiert. Nach weiterer Chromatographie des erhaltenen Durchlaufes, dem Entfetten des Verdunstungsrückstandes mittels Petroläther und dem mehrmaligen Dekantieren mittels Äther schmolz diese Substanz bei 75—76° (Helenin).

Eutektika: Substanz / Azobenzol	59°
Substanz / Benzil	69°

Aus dem Wasserdampfdestillat der Stengelanteile der Droge konnte ebenfalls Helenin gewonnen werden.

Äthanolextrakt:

Die Droge wurde im Anschluß an den Chloroformextrakt mit Äthanol im Soxleth-Apparat (40 Stunden) extrahiert. Der Rückstand der eingedampften Extraktlösung wurde zuerst mit warmem Chloroform und anschließend mit Äther öfters digeriert. (Aus der Ätherlösung wurde eine Fraktion gewonnen, die nach dem Entfetten bei 95—98° schmolz, s. o.). Der getrocknete Rückstand schmolz bei 172—173°. Nach seinem Verhalten auf der Aluminiumoxydsäule (Lackbildung) wird er als Flavonderivat angesehen. (Eventuell Glykosid?)

Eutektika: Substanz / Salophen	137°
Substanz / Benzanilid	118—120°

Bei der chromatographischen Prüfung eines Teiles der Extraktlösung konnte im Verlauf der weiteren Aufarbeitung Quercetin (s. o.) isoliert werden.

Eine Probe der Droge (250 g) wurde nach dem von *Adrian* und *Trillat*¹¹⁾ angegebenen Verfahren zur Isolierung des Anabsinthiins mit Äthanol im Soxleth-Apparat (40 Stunden) extrahiert. Der Rückstand der Extraktlösung wurde mit Chloroform ausgezogen und die Chloroformlösung darauf in siedend heißen Äthanol gegossen. Dann wurde mit Bleiazetat versetzt und filtriert. Zum kalten Filtrat wurde Weinsäure gegeben. Es wurde getrocknet und der Rückstand mit Wasser gewaschen. Der wieder getrocknete Rückstand wurde in einem Teil siedenden Benzols gelöst. Beim Abkühlen schied sich am Rande Santonin aus, das entfernt wurde. Nach einigen Tagen schieden sich weitere Kristalle aus, die auf einer Nutsche gesammelt und mit Äther gewaschen wurden. Diese Kristalle (0,05 g) schmolzen bei 261° und sind mit dem nach *Bargellini* und *Mannino*¹²⁾ hergestellten Desmotroposantonin identisch. Mischschmelzpunkt 259—261°.

Eutektika: Desmotroposantonin / Salophen	162°
Desmotroposantonin / Dicyandiamid	187°

Bei der Aufarbeitung eines weiteren Äthanolextraktes fanden sich einige Kristalle des Artemisins, Schmp. 202°.

Weiter konnte bei der chromatographischen Analyse der Extraktlösung aus dem auf der Säule festgehaltenen Anteil Myristinsäure isoliert werden, Schmp. 51°, Mischschmelzpunkt 50—51°.

Eutektika: Myristinsäure / Azobenzol	40—41°
Myristinsäure / Benzil	47°

¹¹⁾ *M. M. Adrian* u. *A. Trillat*, C. R. hebdomadaire Séances Acad. Sci. 127, 874 (1898); 128, 115 (1899).

¹²⁾ *G. Bargellini* und *H. Mannino*, Gazz. chim. ital. 39, II, 101 (1909).