

Über das Ononin II

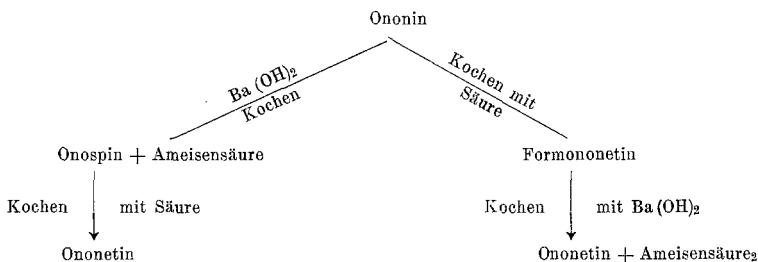
Von

FRITZ WESSELY, FRANZ LECHNER und KONSTANTIN DINJASKI

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität in Wien

(Vorgelegt in der Sitzung am 30. Juni 1933)

In der ersten Arbeit über diesen Gegenstand¹ wurde festgestellt, daß das „Ononetin“, das auf Grund der Untersuchungen von HLASIWETZ und HEMMELMAYR auf verschiedenen Wegen, die in dem untenstehenden Schema zusammengefaßt sind, aus Ononin, einem Glukosid aus *Ononis spinosa* erhalten werden kann, keine einheitliche Verbindung, sondern ein Gemisch des Ketons I mit anderen, noch nicht genauer bekannten Stoffen darstellt.



Bei der weiteren Untersuchung², die wir zunächst auf das Formononetin ausdehnten, stiegen uns aber bald Bedenken hinsichtlich der Einheitlichkeit auch dieses Stoffes auf. Zunächst macht freilich das Formononetin, das wir bei der Hydrolyse des Ononins nach öfterem Umlösen mit den von HEMMELMAYR angegebenen Eigenschaften erhielten, ebensowenig wie die daraus dargestellten Derivate, das Azetylprodukt und der Methyläther, den Eindruck eines Stoffgemisches. Die Schmelzpunkte sind ziemlich scharf und Umlösen auch aus verschiedenen Lösungsmitteln änderten diese, wenn überhaupt, nur sehr wenig. Es gelang aber nicht, die

¹ F. WESSELY, F. LECHNER, Monatsh. Chem. 57, 1931, S. 395, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b) 139, 1930, S. 1061. Dort auch die ältere Literatur. Dissertation F. LECHNER, Wien, April 1932.

² Unsere Untersuchungen waren durch Materialmangel sehr erschwert. Versuche zur Reindarstellung von Ononin aus Hauhechelwurzeln verschiedener Provenienz brachten keinen Erfolg. So stand uns nur wenig eines sehr unreinen Ononins von Merck zur Verfügung.

analytischen Resultate durch eine Bruttoformel befriedigend wiederzugeben, sondern es ergaben sich besonders im OCH_3 -Gehalt und im Molekelgewicht Differenzen zwischen den gefundenen und den theoretisch berechenbaren Werten, die die Fehlergrenzen der angewandten Methoden überschritten. Wir mußten aus diesem Grunde die von HEMMELMAYR angegebenen Formeln ablehnen, obwohl unsere experimentell erhaltenen Werte meist gute Übereinstimmung mit den Resultaten des genannten Autors zeigten. So gewann eine von uns schon zu Beginn unserer Untersuchungen diskutierte Vermutung, es handle sich im Ononin um ein Isoflavonglukosid II, im Formononetin um ein Isoflavon der Konstitution III, wieder an Wahrscheinlichkeit, um so mehr als ja mit dieser Formulierung die Ergebnisse der alkalischen Hydrolyse — die Bildung des Ketons I neben Ameisensäure — übereinstimmen. Wir haben deshalb, worüber in einer kürzlich erschienenen Arbeit berichtet wurde³, das Isoflavon II nach der Methode von E. SPÄTH⁴ synthetisiert, um es mit dem Formononetin zu vergleichen. Die Tabelle orientiert über die gemachten Beobachtungen:

		Schmelzpunkt	Mischschmelzpunkt von
synth. nat.	Formononetin . . . A	265° Mutterlaugenprod. 255—260°	
	Azetylformononetin B	170°	A + A'
	Methylformononetin C	160°	B + B'
	Formononetin . . . A'	257°	C + C'
	Azetylformononetin B'	172°	
	Methylformononetin C'	162—164°	

keine Depression

Das Ausbleiben jeder Depression und die sehr nahe aneinanderliegenden Schmelzpunkte der entsprechenden Derivate sprachen für Identität. Das trifft aber nur teilweise zu, denn wie die analytischen Resultate klar zeigten, ist in den natürlichen Formononetinpräparaten, die nur durch Kristallisation gereinigt wurden, noch eine Verunreinigung enthalten, und der obige Vergleich der letzteren mit dem synthetischen Isoflavon III berechtigt nur zur Behauptung, daß den Hauptbestandteil des bis jetzt als einheitlich betrachteten natürlichen Formononetins das Isoflavon III, für das wir den Namen Formononetin beibehalten,

³ Dissertation F. LECHNER und L. KORNFELD, Wien, April und Juli 1932. W. BAKER, R. ROBINSON und N. M. SIMPSON, Journ. Chem. Soc., London, 1933, S. 276; F. WESSELY, L. KORNFELD und F. LECHNER, Chem. Ber. 66, 1933, S. 685.

⁴ E. SPÄTH und E. LEDERER, Chem. Ber. 63, 1930, S. 743.

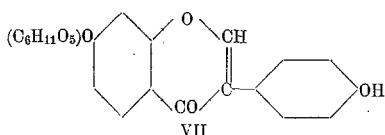
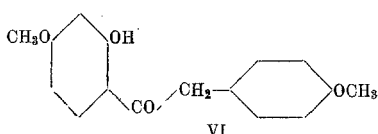
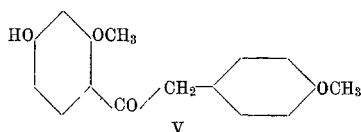
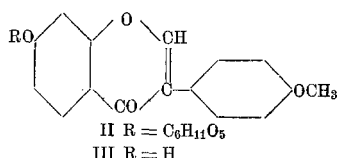
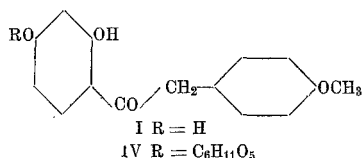
ausmacht. Die gleiche Vermutung hat kürzlich auch W. BAKER, R. ROBINSON und N. M. SIMPSON⁵, allerdings ohne Angabe experimentellen Materials ausgesprochen.

Das bisher als einheitliche Verbindung angesehene Formononetin erscheint als ein Gemisch des Isoflavons III mit anderen chemisch nahe verwandten Stoffen und ist, wie unsere Versuche zeigten, durch Kristallisation wohl nur unter Verwendung von wesentlich mehr Material als uns zur Verfügung stand, in reine Einzelindividuen aufzulösen. Hingegen gelang es uns, durch oftmalige Sublimation eine weitgehende Trennung und Anreicherung von III in bestimmten Fraktionen zu erreichen.

Auch die bisher für das Ononin und das Onospin aufgestellten Bruttoformeln haben der Überprüfung nicht standhalten können. Auch für diese bisher als einheitlich angesehenen Stoffe läßt sich zeigen, daß sie noch Gemische darstellen. Und zwar überwiegt in den Ononinpräparaten das Isoflavonglukosid II, im Onospin das Glukosid IV. Wir haben des Mercksche Ononin in Form seines Azetylderivates reinigen können, beim Onospin gelang uns die Zerlegung in chemische Individuen noch nicht. Wir haben aber auf synthetischem Weg ein Glukosid der Konstitution IV dargestellt, um es mit unseren Onospinpräparaten vergleichen zu können. Der Schmelzpunkt des synthetischen Präparates lag bei 179.5°, der des Onospins bei 176°. Das Gemisch schmolz bei 177.5°. Da bei der Synthese von IV aus dem Keton I und α -Azetobromglukose 2 isomere Glukoside entstehen können, haben wir den Konstitutionsbeweis für unser Produkt geführt. Dieses wurde mit Jodmethyl methyliert und das nicht in Substanz isolierte Methylglukosid mit Säure hydrolysiert. Es entstand bei dieser Reaktionsfolge eine Verbindung der Formel $C_{16}H_{16}O_4$, die erwartungsgemäß zwei Methoxylgruppen enthielt^{5a}. Sie erwies sich identisch mit einem Stoff, der aus Resorzin-monomethyläther und *p*-Methoxy-benzyl-zyanid nach der Reaktion nach HOESCH entsteht und dem nur die Konstitution V zukommen kann, da die isomere Verbindung VI, für die der Konstitutionsbeweis in unserer ersten Arbeit geführt wurde, bei 92—93° oder bei 104° schmilzt. Die gleiche Reaktionsfolge wie beim synthetischen Glukosid wurde auch mit dem natürlichen durchgeführt und es konnte auch hier das Keton V erhalten werden.

⁵ l. c.

^{5a} Vgl. Fußnote 12.



Es kann also nach unseren Ergebnissen keinem Zweifel unterliegen, daß einer der Extraktivstoffe der Wurzel von *Ononis spinosa*, das Ononin, ein Isoflavonglukosid der Konstitution II darstellt. Es steht unter den bisher bekannten Stoffen dieser Verbindungsklasse dem Daidzin, VII, das von E. WALZ⁶ aus Sojabohnen isoliert wurde, sehr nahe.

Experimenteller Teil⁷.

Ononin und Tetraazetylononin.

Es standen uns im ganzen nur 3 g eines Ononinpräparates von Merck zur Verfügung, das aber sehr unrein (mindestens 30% Verunreinigungen) war. Es wurde zur Entfernung schwer löslicher Verbindungen mit heißem Alkohol ausgekocht. Das in diesem Lösungsmittel Unlösliche schmolz ober 240°. Aus der alkoholischen Lösung wurden durch fraktionierte Kristallisation Präparate gewonnen, deren Schmelzpunkt zwischen 214—222° lag. Durch oftmaliges Umlösen und Verarbeitung der Mutterlaugen erhielten wir sehr wenig eines Präparates, das bei 207° schmolz. Dieses und auch die genannten höher schmelzenden Fraktionen gaben mit einem aus Daidzin⁶ durch Methylierung erhaltenen Methyl daidzin vom Schmelzpunkt 206° keine Schmelzpunktsdepression. Etwas leichter war, wie aus den Analysen zu folgern ist, die Reinigung über das Azetylderivat zu erreichen. Dazu wurden 0.15 g eines durch Alkoholbehandlung vorgereinigten

⁶ E. WALZ, Liebigs Ann. 489, 1931, S. 118. Wir verdanken diesem Autor eine geringe Menge an natürlichem Daidzin.

⁷ Das umfangreichere Material ist in den Dissertationen von F. LECHNER und K. DINJAŠKI enthalten.

Rohononins mit Essigsäureanhydrid und Pyridin bei Zimmertemperatur azetyliert. Nach mehrmaligem Umlösen aus Chloroform und Petroläther lag der Schmelzpunkt bei 182.5° nach kurzem vorherigem Sintern. Die Analysen stimmen gut mit den für ein Tetraazetylderivat von II berechneten Werten überein.

4.004 mg Substanz gaben 8.76 mg CO_2 und 1.78 mg H_2O

2.700 mg „ „ 1.024 mg AgJ

3.636 mg „ „ 2.52 cm^3 $n/100$ NaOH (PREGL-SOLTYS)⁸.

Mol.-Gew. nach SCHWARTZ⁹: Bei Isotonie waren 4.779 mg Substanz in 0.1233 g Azeton, 50.885 mg Benzil in 3.8154 g Azeton gelöst.

Ber. $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$: C 60.17, H 5.05, OCH_3 5.18, COCH_3 28.77% und Mol.-Gew. 598.

Gef.: C 59.67, H 4.98 OCH_3 5.01, COCH_3 29.8% und Mol.-Gew. 610.

Formononetin und Derivate.

Zur Gewinnung von Formononetin gingen wir meist von dem Merckschen Ononinpräparat direkt aus und reinigten das bei dessen Hydrolyse entstandene Produkt auf die in der ersten Arbeit angegebene Weise. Umgelöst wurde aus Äthanol, Methanol und Eisessig. Das Formononetin kristallisierte teils in Form spiralig gebogener, fadenförmiger, teils als stäbchenförmige Kristalle. Nach öfterem Umlösen schmolzen die Präparate bei 265° nach kürzerem vorherigem Sintern. Aus den Mutterlaugen dieser höchstschmelzenden Substanzen wurden Präparate vom Schmelzpunkt 255 – 258° erhalten. Die Analysen der hochschmelzenden Fraktionen ergaben Werte, die mit den von HEMMELMAYR gefundenen gut übereinstimmen und auch mit Ausnahme des Methoxyl- und Molekulargewichtswertes mit der von ihm aufgestellten Formel $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5$ gut übereinstimmen.

Im Mittel von 6 Bestimmungen wurden gefunden:

C 70.50 H 4.17 OCH_3 8.57%.

Berechnet ist für die obige Formel:

C 70.81 H 4.38 OCH_3 9.63%

und das Mol.-Gew. von 322. Die in schmelzendem Phenol unter Einhaltung aller Vorsichtsmaßregeln vorgenommene Mol.-Gew.-Bestimmung ergab aber den Wert von 267.

0.1673 g Formononetin Schmp. 265° in 21.55 g Phenol ergaben eine Erniedrigung des Schmp. um 0.21 im Mittel von 8 Ablesungen.

Für die Isoflavonformel $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_4$ berechnen sich: C 71.61, H 4.48, OCH_3 11.57%, Mol.-Gew. 268.

⁸ Mikrochemie VII, 1929, S. 1.

⁹ K. SCHWARTZ, Monath. Chem. 53–54, Wegscheider-Festschrift, 1929 S. 926, bzw. Sitzb. Ak. Wiss. Wien (II b), 138, Suppl., 1929, S. 926.

Sämtliche Präparate des von uns gewonnenen Formononetins gaben mit dem synthetischen Isoflavon III keine Depression. Da dieses aber bei 256° schmilzt und auch andere analytische Werte fordert, versuchten wir durch Kristallisation den Schmelzpunkt unserer Präparate herabzudrücken und damit die analytischen Resultate zu verbessern. Die geringe uns zur Verfügung stehende Substanzmenge ließ uns dieses Ziel nicht voll erreichen. Das Isoflavon reichert sich, wie aus den steigenden Methoxylwerten zu schließen ist, in den Mutterlaugen an und bei Anwendung größerer Substanzmengen wird sich auf diesem Wege eine Reindarstellung des Formononetins ermöglichen lassen. So ergab ein Präparat vom Schmelzpunkt 260° folgenden Wert:

4.063 mg Substanz gaben 2.303 cm³ n/30 Na₂S₂O₃ (VIEBÖCK u. BRECHER)¹⁰.
Gef. für OCH₃: 9.77%.

Auch durch Sublimation erscheint eine Trennung, u. zw. leichter als durch Kristallisation möglich. Unter 0.003 mm wurde bei 245–250° Badtemperatur sublimiert. Die im kälteren Teil des Kugelrohres niedergeschlagene Substanz wurde öfters, zusammen sechsmal resublimiert und so aus 0.2 g Substanz 20 mg eines Präparates erhalten, das bei 259° schmolz und deren Methoxylgehalt bereits auf einen höheren Reinheitsgrad, als wir ihn durch Kristallisation erreichen konnten, schließen läßt.

2.559 mg Substanz gaben 1.620 cm³ n/30 Na₂S₂O₃ (VIEBÖCK u. BRECHER).
Gef. für OCH₃: 10.91%.

Auch dieses Präparat gab mit synthetischem Formononetin keine Depression und lieferte bei der Methylierung mit Diazomethan einen Methyläther, der bei 163° schmolz und mit synthetischen Methylformononetin vom Schmelzpunkt 165° ebenfalls keine Depression ergab.

2.565 mg Substanz gaben 3.132 cm³ n/30 cm³ Na₂S₂O₃ (VIEBÖCK u. BRECHER).
Ber. für C₁₇H₁₄O₄ 21.98%.
Gef.: 21.05%.

Azetylformononetin und Methylformononetin.

Wir hofften mit Hilfe dieser Verbindungen das natürliche Formononetin leichter reinigen zu können. Aber auch bei diesen Derivaten führt wohl nur sehr oft wiederholte Kristallisation zum Ziel. Geht man zur Azetylierung von Formononetinpräparaten mit dem Schmelzpunkt 265° aus, so wurden Azetylverbindungen

¹⁰ Chem. Ber. 63, 1930, S. 3207.

erhalten, deren Schmelzpunkte sich nicht über 167° steigern ließen. Diese Präparate gaben wohl C- und H-Werte, die mit den für die Formel $C_{18}H_{14}O_5$ berechneten übereinstimmten, doch waren die Methoxylwerte um 1·5—2% zu tief. Aus den Formononetinpräparaten, die wir aus den Mutterlaugen der hochschmelzenden gewannen, kamen wir bei der Azetylierung zu Verbindungen, die bei 170° schmolzen. Sie ergaben auch wesentlich befriedigende Analysenzahlen.

3·596 mg Substanz gaben 9·162 mg CO_2 und 1·41 mg H_2O
 2·479 mg „ „ 0·82 cm^3 $n/100$ NaOH (PREGL-SOLTYS)
 1·652 mg „ „ 0·970 cm^3 $n/30$ $Na_2S_2O_3$ (VIEBÖCK u. BRECHER).
 Ber. für $C_{18}H_{14}O_5$: C 69·68, H 4·52, OCH_3 10·00 und $COCH_3$ 13·9%.
 Gef.: C 69·49, H 4·39, OCH_3 10·12 und $COCH_3$ 14·2%.

Alle Präparate des aus natürlichem Formononetin dargestellten Azetylproduktes, auch die mit tieferem Schmelzpunkt und niedrigem Methoxylwert, gaben mit synthetischem Azetylformononetin, das bei $172\cdot5^{\circ}$ schmilzt, keine Depression.

Die Methylierung wurde entweder mit Diazomethan oder mit Jodmethyl durchgeführt. Die so erhaltenen Präparate von Methylformononetin zeigten den Schmelzpunkt von 156 — 160° und gaben mit synthetischem Derivat vom Schmelzpunkt 165° keine Depression. Auch öfteres Umlösen aus verschiedenen Lösungsmitteln änderte den Schmelzpunkt der natürlichen Präparate nicht wesentlich und auch die analytischen Daten lagen für das methylierte Isoflavon zu niedrig.

4·27 mg Substanz gaben 1·76 mg H_2O und 11·12 mg CO_2
 3·014 mg „ „ 3·422 cm^3 $n/30$ $Na_2S_2O_3$.
 Ber. für $C_{17}H_{14}O_4$: C 72·34, H 4·96 und OCH_3 21·98%.
 Gef.: C 71·02, H 4·61 und OCH_3 19·57%.

Wir zweifeln aber auch bei diesen Präparaten nicht, daß in ihnen als Hauptbestandteil das methylierte Isoflavon enthalten ist.

Synthese des Glukosids IV.

2 g Keton I wurden in 3 cm^3 wässriger Natronlauge, die 0·3 g NaOH enthielt, gelöst und unter Eiskühlung mit einer kalten Lösung von 3·18 g α -Azetobromglukose in 40 cm^3 Azeton allmählich versetzt. Nach 12stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde das Azeton im Vakuum abgetrieben, der braune Rückstand mit Wasser verdünnt und mit Essigester ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen dieser Lösung über Na_2SO_4 wurde der Essigester

im Vakuum abgetrieben und der Rückstand in absolutem Methylalkohol aufgenommen. In diese Lösung wurde 2 Stunden unter Kühlung trockenes Ammoniakgas eingeleitet und nachher der Methylalkohol im Vakuum abgedampft. Der bräunliche, halb feste Rückstand wurde nach häufigem Waschen mit Wasser in 5%iger Natronlauge gelöst und dann in diese alkalische Lösung CO_2 eingeleitet. Der so abgeschiedene Niederschlag wurde nach scharfem Trocknen mit Essigester ausgekocht, wodurch unverändertes Ausgangsmaterial und andere Verunreinigungen entfernt werden. Das Rohprodukt wurde dann öfters aus Alkohol und Wasser, wenn nötig unter Tierkohlezusatz, umgelöst. Die farblosen Kristalle schmolzen bei 179.5° und geben mit dem gleich zu beschreibenden natürlichen Onospin vom Schmelzpunkt 176° keine Depression. Ausbeute 0.8 g.

3.605 mg Substanz gaben 1.87 mg H_2O und 7.93 mg CO_2

3.190 mg „ „ 1.404 cm^3 $n/30$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (VIEBÖCK u. BRECHER).

Ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_9$: C 60.0, H 5.76 und OCH_3 7.38%.

Gef.: C 60.0, H 5.8 und OCH_3 7.58%.

Für $[\alpha]_D$ in absolutem Methylalkohol verschiedener Präparate wurde gefunden: 67.21° , 66.68° , 65.92° . Es wird von Emulsin gleich dem natürlichen Onospin gespalten.

Die Darstellung des natürlichen Onospins wurde wie in der ersten Mitteilung beschrieben durchgeführt. Öfters Umlösen aus Alkohol steigerte den Schmelzpunkt auf 176° . Das Präparat ist, was besonders aus dem zu niedrigen OCH_3 -Wert folgt, noch nicht völlig rein, doch zwang uns Materialmangel, von weiteren Reinigungsversuchen abzusehen.

4.303 mg Substanz gaben 2.21 mg H_2O , 9.42 mg CO_2

3.642 mg „ „ 1.89 mg H_2O , 7.96 mg CO_2

5.491 mg „ „ 2.694 mg AgJ.

Ber. für $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_9$: C 60.0, H 5.76 und OCH_3 7.38%.

Gef.: C 59.7, 59.61, H 5.75, 5.81 und OCH_3 6.48%.

Für $[\alpha]_D$ wurden 63.9° gefunden.

Zum Konstitutionsbeweis des synthetischen Glukosids wurden 0.5 g mit 1 g K_2CO_3 in wenig Methanol mit einem Überschuß von Jodmethyl 2 Stunden am Wasserbad gekocht¹¹. Nach dem Verdampfen der Lösungsmittel im Vakuum wurde mit Wasser aufgenommen und das ölige Methylglukosid mit Essigester ausgeschüttelt. Der Rückstand der Essigesterlösung wurde

¹¹ Auch Methylierung mit Diazomethan ist anwendbar.

mit verdünnter Schwefelsäure 20 Minuten gekocht und der bald sich kristallinisch abscheidende Niederschlag durch öftere Kristallisation aus Alkohol gereinigt. Schmelzpunkt 173° ab 171° Sintern¹².

3·248 mg Substanz gaben 1·82 mg H_2O und 8·385 mg CO_2

5·428 mg „ „ 7·032 cm³ $n/30$ $Na_2S_2O_3$ (VIEBÖCK u. BRECHER).

Ber. für $C_{16}H_{16}O_4$: C 70·59, H 5·9 und OCH_3 22·79%.

Gef.: C 70·41, H 6·27 und OCH_3 22·33%.

Auch das natürliche Onospin gab bei der analogen Reaktionsfolge das gleiche Keton V.

Zur Synthese dieses wurde 1 g Resorzin-monomethyläther mit 1·5 g *p*-Methoxybenzylcyanid in absolutem Äther gelöst, mit wasserfreiem $ZnCl_2$ versetzt und unter Kühlung mit trockenem Salzsäuregas gesättigt. Nach längerem Stehen schied sich ein Öl aus, das nach dem Abgießen des Äthers in Wasser aufgenommen wurde. Beim Erhitzen der wässrigen Lösung fiel zunächst ein Öl aus, das in der Kälte leicht kristallisierte. Es wurde mit kaltem Äthanol gewaschen und die dabei zurückgebliebenen Kristalle aus Äthanol umgelöst. Schmelzpunkt 175° ab 172° Sintern. Mit dem Keton, das bei der Hydrolyse der methylierten Glukoside entstand, gemischt, trat keine Depression des Schmelzpunktes ein.

Als Nebenprodukt trat bei der Synthese auch das Keton VI auf.

¹² Die Reinigung des Rohketons, das in 85% der Theorie mit dem Schmelzpunkt 159° erhalten wurde, ist mit erheblichen Verlusten verbunden. Die Ursache dafür kann kaum in einer Uneinheitlichkeit des synthetischen Onospins liegen, da diesbezügliche Versuche keine Anhaltspunkte für diese Möglichkeit boten. Dagegen müssen wir aus anderen Beobachtungen schließen, daß im Laufe der Hydrolyse des methylierten Onospins sekundäre Reaktionen vor sich gehen, die zur Bildung von noch nicht näher untersuchten Spaltprodukten führen, die die Ausbeute an Keton wesentlich herabsetzen können.