Letztere Formulierung entspricht der Konstitution, welche dem von *Bradley*¹⁾ aus Homosalicylaldehyd und Acetylchlorid erhaltenen Homo-Disalicylaldehyd

zuerkannt wird.

Da di-aldehydische Kondensationsprodukte (Oxim, Phenylhydrazon) nicht darstellbar waren, wird man der Formel II den Vorzug einräumen.

Mitteilungen aus dem pharmazeutischen Institut
der Universität Straßburg i. E.

Ueber die Beziehung des Hesperidins zu Pflanzenfarbstoffen.

Von O. A. Oesterle und R. Kueny.

(Eingegangen den 20. VII. 1915.)

Mit der Erforschung der Konstitution des Hesperidins hat sich zuerst *Ed. Hoffmann*²⁾ beschäftigt. Er erkannte die Glykosidnatur und bezeichnete das bei der Spaltung neben Zucker entstehende Produkt als „Hesperetin“. Durch Einwirkung von Alkali auf Hesperetin erhielt er „Hesperetinsäure“, deren Konstitution aufzuklären ihm jedoch nicht möglich war.

Ferd. Tiemann und *W. Will*³⁾ führten die Versuche *Hoffmann*'s weiter. Sie fanden als weiteres Abbauprodukt des Hesperetins Phloroglucin und charakterisierten die neben diesem Phenol entstehende Hesperetinsäure als Isoferulasäure.

¹⁾ *Beilstein* III., 88.

²⁾ *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.* 9 (1876), 685.

³⁾ *Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch.* 14 (1881), 946.

Auf Grund dieser Spaltungsprodukte erteilten Tiemann und Will dem Hesperetin die Formel

also diejenige eines Isoferulasäure-Phloroglucin-Esters. Der bei der Hydrolyse des Hesperidins abgespaltene Zucker ist, wie Will¹⁾ sowie Tanret²⁾ feststellte, Traubenzucker und Isodulcit.

Gegen die Auffassung des Hesperetins als Ester wandte sich Fr. Tutin³⁾. Aus der Tatsache, daß Hesperetin befähigt ist ein Tetraacetylderivat zu bilden, zieht Tutin den Schluß, daß im Hesperetin nicht ein Isoferulasäure-Phloroglucin-Ester, der ja nur drei acetylierbare Hydroxylgruppen enthalten würde, vorliegen kann. Da ein Tetraacetat entsteht, müssen im Hesperetin die Phloroglucin-Hydroxyle noch vorhanden sein, der Isoferulasäure-Rest muß demnach am Phenolkern stehen. Tutin erteilt dem Hesperetin somit die Konstitution eines 2:4:6-Trioxyphenyl-3-oxy-4-methoxystyrylketons:

Als Stütze für die Richtigkeit dieser Formulierung führt er die Identität des völlig methylierten Hesperetins mit dem synthetisch dargestellten 2:4:6-Trimethoxyphenyl-3:4-dimethoxystyrylketon an.

Nach einer Reihe von Beobachtungen ist das Vorkommen des Hesperetin-Glykosides, des Hesperidins, nicht auf die Familie der Rutaceen beschränkt, es scheint vielmehr, daß das Glykosid ziemlich verbreitet ist und in den verschiedensten Familien in nicht unbeträchtlichen Mengen auftritt. Ueber die Bedeutung, welche dem Hesperetin in der Pflanze zukommt, ist man noch nicht im klaren.

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 20 (1887), 1186.

²⁾ Bull. soc. chim. 49 (1888), 20.

³⁾ Transact. of the chem. Soc. 97 (1910), 2054.

Berzelius¹⁾ dachte an eine Beziehung zwischen Hesperidin und einem gelben Farbstoff; er schreibt: „Vielleicht ist die gelbe Farbe in der Epidermis der Pomeranzen die Folge der Metamorphose dieses Körpers (Hesperidin) in einen gelben Farbstoff.“ Tunmann²⁾ hält es für wahrscheinlich, daß dem Hesperidin die Aufgabe zufällt, das Phloroglucin, das er als Abbauprodukt sekretartiger Natur bezeichnet, zu eliminieren. An anderer Stelle³⁾ schreibt er: „Da es (Hesperidin) häufig bei Sonnenpflanzen auftritt, in den Blättern überwiegend in der belichteten Epidermis vorkommt und durch reichliches Vorkommen den Zellsaft zähflüssig-dick und gelblich macht, so ist die Annahme berechtigt, daß Hesperidin bisweilen als Schutz gegen zu intensive Belichtung dient (Lichtfilter, Dämpfungsschirm).“ In einer vor kurzem erschienenen Arbeit⁴⁾ bestätigt Tunmann seine Ansicht, daß das Hesperidin zu den Sekreten zu zählen sei und führt an, daß in neuerer Zeit sich Himmelbaur seiner Ansicht anschließt. Himmelbaur⁵⁾ sagt: „Das Hesperidin ist wie eine Schlacke des Stoffwechsels, es wird in ihn nie mehr einbezogen.“

Für die Deutung der Rolle, welche das Hesperidin in der Pflanze spielt, scheint uns die Tutin'sche Formulierung des Hesperetins von Wichtigkeit zu sein. Legt man dem Hesperetin die neue Formel zugrunde, so ist, bei geeigneter Schreibweise, die Beziehung dieser Verbindung zu den Farbstoffen der γ -Pyronreihe nicht zu verkennen:

¹⁾ Jahresbericht 22 (1843), 452.

²⁾ Apotheker-Zeitung 1909, 731.

³⁾ Pflanzenmikrochemie, Bornträger, Berlin 1913, S. 370; vergl. auch Schweiz. Wehschr. f. Chemie u. Pharmazie 1909, 797.

⁴⁾ Pharmazeutische Zentralhalle 56 (1915), 140.

⁵⁾ Zitiert nach Tunmann; die Originalarbeit war uns nicht zugänglich.

Es braucht nur die ungesättigte Kette des Säurerestes mit einem Phloroglucinhydroxyl zum γ -Pyronring geschlossen zu werden, um zu einem Monomethyläther des Luteolins zu gelangen. Vielleicht vollzieht sich ein ähnlicher Ringschluß in der Pflanze, wenigstens deutet das gemeinschaftliche Vorkommen von Butein und Butin in den Blüten von *Butea frondosa* darauf hin.

Nach den Untersuchungen von R. Willstätter¹⁾ ist es wahrscheinlich, daß zwischen den Flavonen bzw. Flavonolen und den Anthocyanidinen Beziehungen bestehen. Als Beispiel dieser Beziehungen mögen nachstehende Formelbilder dienen:

Wenn nun das Hesperetin wirklich die Konstitution eines zur Oxyflavon-Bildung befähigten Polyoxychalkons besitzt, ist es sehr wohl möglich, daß das Glykosid dieser Verbindung, das Hesperidin, sowohl an der Entstehung der Farbstoffe der γ -Pyronreihe, als auch bei der Bildung der Anthocyane beteiligt sein kann, daß es also eine Quelle gewisser Pflanzenfarbstoffe darstellt. Willstätter²⁾ führt übrigens an, daß nach Beobachtungen von

¹⁾ Annalen 408 (1915), 20.

²⁾ Annalen 408 (1915), 19 (Fußnote).

A. Czartkowski die Anthocyanbildung durch Phloroglucin oder durch Phlorhizin, das in seiner Konstitution dem Hesperidin nahesteht, gefördert wird.

Wir haben versucht, das Hesperetin in ein Flavonderivat überzuführen, um mit dieser Umwandlung einen Beweis für die Richtigkeit der T u t i n'schen Formulierung zu erbringen und die Beziehungen des Hesperidins zu gewissen Pflanzenfarbstoffen festzulegen. Als Arbeitsweise haben wir die Methode benützt, deren sich K o s t a n e c k i und T a m b o r mit zahlreichen Mitarbeitern zum Aufbau des Flavons und verschiedener Oxyflavone bedient hat. Diese Methode wurde von T a m b o r bequemer gestaltet. In zuvorkommender Weise hat er uns den zum Teil noch nicht in Zeitschriften veröffentlichten Arbeitsgang mitgeteilt. Wir sprechen ihm dafür auch an dieser Stelle den besten Dank aus.

Bei den älteren Synthesen von Oxyflavonen wurden stets die partiell alkylierten Polyoxoxychalkone verwendet, nach T a m b o r erfolgt der Aufbau von Oxyflavonen ebenso glatt bei Anwendung der acylierten an Stelle der alkylierten Oxychalkone. Dadurch wird die Synthese wesentlich vereinfacht. Das acetylierte Oxychalkon wird bromiert und aus dem Dibromid, durch Abspaltung von Bromwasserstoff das Flavon gewonnen. Auf diese Weise ist es uns gelungen, das Hesperetin in ein Trioxy-methoxyflavon überzuführen, das, da es bei der Entalkylierung Luteolin liefert, als ein Luteolinmethylläther zu betrachten ist.

Von Monomethyläthern des Luteolins sind bis jetzt zwei sicher bekannt. Die eine Verbindung wurde von Kostanecki und Diller¹⁾ durch partielle Entalkylierung des 1:3:3'-Trimethoxy-4'-äthoxyflavons dargestellt. Dieser Aether ist schwer löslich in Alkohol und krystallisiert in glänzenden Blättchen vom Schmelzpunkt 270°. Die Stellung der Methoxylgruppe ist nicht mit Sicherheit bekannt. Da die Verbindung Beizen anfärbt, nimmt Kostanecki an, daß die Methoxylgruppe im Phloroglucinkern und nicht im Protokatechusäure-Rest stehen muß. Für diesen Aether kommen somit die Formeln

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 34 (1901), 1452.

in Betracht. Von diesen besitzt, nach Kostanecki die Formel I die größere Wahrscheinlichkeit.

Ein zweiter Luteolinmethylläther wurde von E. Vongerichten¹⁾ als Spaltungsprodukt eines, das Apiin der Petersilie begleitenden Glykosids aufgefunden. Der Schmelzpunkt dieses, in kleinen Nadeln krystallisierenden Aethers liegt bei 250°. Das Acetat schmilzt bei 195°. Bei der Entmethylierung entsteht Luteolin. Durch Spaltung der Verbindung mit Kalilauge bei 220° erhielt Vongerichten neben Phloroglucin ein Phenolketon vom Schmelzpunkt 94—95°, dessen Natur, aus Mangel an Material, nicht endgültig aufgeklärt werden konnte, das aber wahrscheinlich Acetoisovanillon darstellt. Vongerichten nimmt daher für dieses Methylluteolin die Formel

als wahrscheinlich an.

Der von uns aus Hesperetin dargestellte Luteolinmonomethylläther ist identisch mit der von Vongerichten aufgefundenen Verbindung. Da die Stellungen der Hydroxyle und der Methoxylgruppe im Hesperetin bekannt sind, sind sie auch in dem durch Ringschluß daraus entstehenden Oxyflavon festgelegt. Durch den Uebergang von Hesperetin in Methylluteolin ist die Richtigkeit der Tutin'schen Hesperetin-Formel erwiesen und das Hesperetin in Zusammenhang mit den Farbstoffen der γ -Pyronreihe gebracht. Außerdem hat damit auch die von Vongerichten für das Petersilien-Methylluteolin aufgestellte Formel eine Bestätigung gefunden.

Das Resultat vorliegender Arbeit läßt es ferner als möglich erscheinen, auch bei dem Hesperidin selbst den Ringschluß zu bewirken und auf diese Weise zu einem Oxyflavon-Glykosid zu gelangen. Wir gedenken in dieser Richtung Versuche anzustellen.

Dem Hesperetin entsprechend aufgebaut sind, nach Tutin, Eriodictyol und Homoeriodictyol aus Herba Santa. Wir sind im Begriff die aufgestellten Formeln ebenfalls nachzuprüfen dadurch, daß wir versuchen, auch hier den Ringschluß herbeizuführen. Eriodictyol läßt dabei Luteolin erwarten und Homoeriodictyol

¹⁾ Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 33 (1900), 2334.

einen, mit dem Petersilien-Methyluteolin nicht identischen Luteolin-methyläther, der vielleicht mit Scoparin aus *Spartium Scoparium* übereinstimmt.

Da es noch nicht festgestellt ist, ob die als Hesperidin bezeichneten Substanzen verschiedener Pflanzen untereinander identisch sind, haben wir uns die Aufgabe gestellt, diese Körper zu isolieren und zu vergleichen, sowie die Ueberführbarkeit der daraus abgespaltenen Aglykone in Flavon-Derivate zu prüfen.

Eine ähnliche Konstitution wie das Hesperetin besitzt das Phloretin, das Spaltungsprodukt des Phlorhizins. Nach neueren Untersuchungen stellt es ebenfalls ein Keton vor, dessen Konstitution durch die Formel

ausgedrückt wird. Auch hier scheint die Möglichkeit vorhanden zu sein, zu einem γ -Pyronderivat zu gelangen. Wir sind mit diesbezüglichen Versuchen beschäftigt.

Experimentelles.

Hesperetin.

Das zu unseren Versuchen verwendete Hesperetin wurde zum Teil von Merck bezogen, zum größeren Teil wurde es von uns durch Hydrolyse von Hesperidin dargestellt¹⁾. Die Spaltung erfolgte nach den Angaben von Tiemann und Will durch dreistündiges Erhitzen von 40 Teilen Glykosid mit 200—250 Teilen einer alkoholisch-wässrigen 2%igen Schwefelsäure in Druckgefäßen auf 115—120°. Zur Reinigung wurde das ausgewaschene

¹⁾ Das Hesperidin wurde im Sommer 1914 im hiesigen Institut von Herrn O. Halse, Assistent am chemischen Laboratorium der Universität Christiania aus Frct. Aurantii immaturi dargestellt. Veranlaßt durch eine Notiz von Tunnann (Zeitsch. des allg. österr. Apoth.-Vereins 1906, 421) wurde gleichzeitig auch aus Herba Hyssopi der als Hesperidin bezeichnete Körper gewonnen. Nach Tunnann (Pharmazeutische Zentralhalle 1915, 135) ist diese Verbindung identisch mit Citrus-Hesperidin. Wir haben sie noch nicht näher untersucht, zur Spaltung wurde nur Citrus-Hesperidin verwendet.

rohe Hesperetin in Alkohol gelöst, die Lösung mit Bleiacetat versetzt und das erwärmte, mit Essigsäure angesäuerte Filtrat mit heißem Wasser gemischt. Bei genügendem Zusatz von Bleiacetat erhält man das Hesperetin in einem zur weiteren Verarbeitung ausreichenden Grad von Reinheit.

Hesperetin-Acetat.

Zur Darstellung des Acetats erhitzt T u t i n das Hesperetin während drei Stunden mit einem beträchtlichen Ueberschuß von Essigsäureanhydrid. Wir haben gleiche Teile Hesperetin und entwässertes Natriumacetat mit der ungefähr vierfachen Menge Essigsäureanhydrid während 4—5 Minuten zum Sieden erhitzt und dadurch vollständige Acetylierung erreicht. Nach einmaliger Krystallisation aus Alkohol schmilzt das Acetat bei 126—127°. T u t i n gibt für Tetraacetylhesperetin den Schmelzpunkt 127°.

Acetyl-Hesperetinbromid.

5 g Acetylhesperetin (1 Mol.) wurden in wenig Chloroform unter Erwärmen gelöst und in die Lösung 1,6 g Brom (2 At.) ebenfalls in Chloroform gelöst, unter Umschütteln in kleinen Anteilen eingetragen. Beim freiwilligen Verdunsten der Lösung hinterbleibt eine schmierige Masse, welche durch Verreiben mit Petroläther fest wird. Bei den Versuchen, das Bromid zu krystallisieren, konnten wir beobachten, daß sich dasselbe aus Essigäther in kleinen, gelblichweißen Nadeln ausscheidet. Die Krystalle waren in eine schmierige Masse eingebettet, die völlig zu entfernen uns bis jetzt nicht geglückt ist. Wir haben daher das Bromierungsprodukt ohne weitere Reinigung verarbeitet.

Trioxymethoxyflavon (Luteolinmonomethyläther).

Das aus 10 g Hesperetin-Acetat dargestellte rohe Bromid wurde in Alkohol gelöst und die Lösung mit einer Mischung von 25 ccm 50%iger Kalilauge, 50 ccm Wasser und 25 ccm Alkohol versetzt. Die Lösung nimmt dabei sofort tiefgelbrote Färbung an. Wir haben das Reaktionsgemisch noch kurze Zeit auf dem Drahtnetz erhitzt und hierauf in Wasser gegossen. Durch Zusatz von verdünnter Salzsäure scheidet sich ein gelbbrauner, flockiger Niederschlag aus, der nach dem Auswaschen auf Ton getrocknet wurde. Die alkoholische Lösung des Rohproduktes kann durch

Zusatz von Petroläther von einem großen Teil der Verunreinigungen befreit werden, die filtrierte Alkohol-Petrolätherlösung hinterläßt nadelförmige Krystalle, welche aber noch sehr unrein sind. Durch wiederholtes Lösen in Alkohol und Versetzen der Lösung mit Petroläther wurden die Verunreinigungen möglichst vollständig entfernt. Die völlige Reinigung wurde durch oftmaliges Krystallisieren aus Alkohol bewirkt. Aus Alkohol krystallisiert die Verbindung in kleinen, blaßgelben Nadeln, deren Schmelzpunkt anfänglich bei 248° lag. Durch wiederholtes Umkrystallisieren wurde der Schmelzpunkt auf $253\text{--}254^{\circ}$ gehoben (Vongerichten 250°). Die alkoholische Lösung gibt mit Eisenchlorid eine dunkelbraune Färbung. In konzentrierter Schwefelsäure löst sich die Verbindung mit gelber Farbe, die Lösung zeigt schwache grüne Fluoreszenz.

8,035 mg gaben 18,860 mg CO_2 und 3,015 mg H_2O .

8,995 mg gaben 21,080 mg CO_2 und 3,350 mg H_2O .

Berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$:

C = 64,00

H = 4,00

Gefunden:

64,01 63,91%

4,16 4,13%

Acetyl-Trioxymethoxyflavon (Luteolinmonomethyläther-Acetat).

Zur Darstellung des Acetats gingen wir vom rohen Trioxymethoxyflavon aus. Die Acetylierung wurde durch kurzes Kochen mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat bewirkt. Das rohe Acetat löst sich leicht in Benzol, aus der konzentrierten Lösung scheiden sich Krystalle aus, die noch dunkel gefärbt sind. Die harzartigen Verunreinigungen lassen sich zum größten Teil entfernen, wenn man die Lösung in Benzol mit Petroläther versetzt. Der Zusatz muß vorsichtig erfolgen, da durch Petroläther auch das Acetat ausgeschieden wird. Am besten setzt man den Petroläther tropfenweise unter kräftigem Umschütteln zu, die harzartigen Beimengungen, die etwas Acetat einschließen, bleiben dabei an der Gefäßwandung haften und aus der abgegossenen Flüssigkeit scheidet sich das Acetat allmählich aus. Durch weitere Zugabe von Petroläther kann die Ausscheidung beschleunigt werden. Dem Acetat haftet eine gelbe Verunreinigung hartnäckig an. Auch durch sehr häufiges Umkrystallisieren aus Alkohol konnten wir die Verbindung nicht völlig farblos, sondern nur in Form von gelblich weißen Nadeln erhalten. Schmelzpunkt $192\text{--}193^{\circ}$. (Vongerichten: Farblose Nadeln, Schmelzpunkt 195° .)

0,0610 g gaben 0,1390 g CO_2 und 0,0247 g H_2O .

9,010 mg gaben 20,550 mg CO_2 und 3,670 mg H_2O .

Berechnet für $C_{16}H_{10}O_8(C_2H_3O)_3$:	Gefunden:	
C = 61,97	62,14	62,20%
H = 4,22	4,49	4,52%

Luteolin.

Die Verseifung und Entalkylierung des Acetyllyuteolinmonomethyläthers wurde durch einstündiges Erhitzen mit einem Gemisch gleicher Raunteile Jodwasserstoffsäure (1,96) und Eisessig vorgenommen. Das Reaktionsgemisch wird durch Natriumbisulfit entfärbt und die Lösung in wenig Alkohol mit viel heißem Wasser versetzt. Beim Erkalten krystallisieren blaßgelbe Nadeln aus, welche zur völligen Reinigung in das Acetat übergeführt wurden. Die Verseifung des Luteolinacetats wurde durch kurzes Kochen mit Jodwasserstoffsäure (1,96) bewirkt. Nach der Entfärbung mit Natriumbisulfit haben wir das Verseifungsprodukt nach dem oben erwähnten Verfahren als blaßgelbe, seideglänzende Nadeln erhalten. Die Verbindung ist sublimierbar, sie schmilzt unter Zersetzung zwischen $328-330^{\circ}$ (Vongerichten $326-328^{\circ}$, Kostanecki $328-329,5^{\circ}$). Beim Erhitzen auf 150° erfährt die lufttrockene Verbindung einen Gewichtsverlust.

0,0513 g ergaben einen Gewichtsverlust von 0,00305 g.

Berechnet für $C_{15}H_{10}O_8 + H_2O$:	Gefunden:
$H_2O = 5,92$	5,94%

Durch konzentrierte Schwefelsäure werden die Krystalle intensiv gelb gefärbt, die Lösung in Schwefelsäure ist grüngelb. Die alkoholische Lösung gibt mit verdünnter Eisenchloridlösung eine Grünfärbung. In der angesäuerten alkoholischen Lösung erzeugt Natriumamalgam eine purpurrote Farbe. Rote Farbstoffe sind schon öfters bei der Reduktion von γ -Pyronderivaten erhalten worden und man hat versucht, diese Farbstoffe mit den Blütenpigmenten in Beziehung zu bringen. Nach Willstätter¹⁾, der die gefärbten Reduktionsprodukte einiger Flavonderivate ebenfalls untersucht hat, scheinen jedoch diese Farbstoffe nicht Pyryliumverbindungen, wie die Anthocyane zu sein, bei deren Entstehung die Reduktion am Carbonyl angreifen müßte. Willstätter hält es für wahrscheinlicher, daß bei der Bildung der gefärbten Reduktionsprodukte der Pyronring aufgespalten wird. Für diese Anschauung spricht, daß auch Hesperetin unter denselben Bedingungen die gleiche Färbung liefert wie Luteolin.

¹⁾ Annalen 408 (1915), 27.

Acetyl-Luteolin.

Das Acetat wurde durch kurzes Kochen des Luteolins mit Essigsäureanhydrid und entwässertem Natriumacetat dargestellt. Es ist ziemlich schwer löslich in Alkohol und krystallisiert aus diesem Lösungsmittel in langen, schönen, seideglänzenden, weißen Nadeln, welche bei 221° schmelzen (Vongerichten 220° bis 222°, Perkin 213—215°, Herzig 221—225°, Kostanecki 222—224°).

Aus dem pharmazeutisch-chemischen Universitätsinstitut
Königsberg.

Zur Gehaltsbestimmung von Chinarinde.

Von F. Lehmann und Ph. Palm.

(Eingegangen den 22. VII. 1915.)

Die Laboratoriumspraxis lehrt, daß die Gehaltsbestimmung von Chinarinden immer noch weiterer Klärung bedürftig ist. Wir sind daher auf Veranlassung von Herrn Professor Rupp schon vor längerer Zeit in entsprechende Untersuchungen eingetreten. Da diese durch Kriegsdienst des einen von uns unterbrochen wurden und jüngst von anderen Autoren¹⁾ mehrfache Mitteilungen zur selben Sache erschienen, soll über unsere bislang gemachten Ermittlungen und deren weiteres Ziel kurz berichtet werden.

Die Arzneibuchmethode zur Wertbestimmung der Chinarinde beruht auf folgendem Prinzip: Das Rindenpulver wird zur Extraktion der Alkaloide drei Stunden lang mit Chloroform, Aether und Lauge mazeriert. Ein aliquoter Filtratteil der Chloroformätherlösung wird zur Reinigung der Alkaloide mit 1%iger Salzsäure, die salzsaure Flüssigkeit dann nochmals mit Chloroform und Sodalösung und endlich die Chloroformlösung mit $\frac{1}{10}$ -N.-Salzsäure ausgeschüttelt. Der Säureüberschuß wird mit $\frac{1}{10}$ -N.-Lauge unter Anwendung von Hämatoxylinlösung zurückgemessen.

¹⁾ Richter, Apotheker-Zeitung 1915, 254. Frerichs und Mannheim, dieses Archiv 1915, 117. Fromme, Apotheker-Zeitung 1915, 352.