ETH zürich

ETH Library

Die Isolierung und Konstitutionsaufklärung einiger spasmolytisch wirksamer Inhaltsstoffe von Petasites hybridus(L.) Fl.Wett

Doctoral Thesis

Author(s):
Waaler, Tor

Publication date:
1957

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-000317671

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

Prom. Nr. 2658

Die Isolierung und Konstitutionsaufklärung einiger spasmolytisch wirksamer Inhaltsstoffe von Petasites hybridus (L.) Fl. Wett.

Von der
Eidgenössischen Technischen
Hochschule in Zürich

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften
genehmigte

PROMOTIONSARBEIT

vorgelegt von

TOR WAALER
dipl. Apotheker
Norwegischer Staatsangehöriger

Referent: Herr Prof. Dr. J. Büchi
Korreferent: Herr Prof. Dr. H. Flück

Juris-Verlag Zürich
1957

Leer - Vide - Empty

Meiner lieben Frau

Meinen lieben Eltern

Leer - Vide - Empty

Die vorliegende Arbeit entstand am Pharmazeutischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich.

Meinem hochverehrten Lehrer,

Herrn Prof. Dr. J. Büchi,

möchte ich an dieser Stelle für seine wertvollen Anregungen und das lebhafte Interesse sowie das stetige Wohlwollen, das er sowohl meiner Arbeit als auch mir persönlich entgegenbrachte, recht herzlich danken. Es war für mich eine anregende und lehrreiche Zeit unter seiner Leitung arbeiten zu dürfen.

Auch Herrn Dr. A. Aebi danke ich aufrichtig für sein Interesse und für die vielen guten Ratschläge bei den experimentellen Arbeiten sowie für die Hilfe bei der Abfassung des Manuskriptes in deutscher Sprache.

Zu aufrichtigem Dank für seine unermüdliche Hilfsbereitschaft bin ich auch Herrn R. Schwegler, Verwalter des Pharmazeutischen Institutes, verpflichtet.

In zuvorkommender und grosszügiger Weise erhielt ich Unterstützung von Herrn Dr. Georges Wander, Präsident des Verwaltungsrates der Firma Dr. A. Wander AG in Bern, für die ich ihm auch an dieser Stelle herzlich danke.

Leer - Vide - Empty

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung 9

B. Allgemeiner Teil 10

I. Bedeutung von Petasites hybridus in der Volksmedizin 10

II. Bisherige pharmakognostische, chemische und pharmakologische Untersuchungen an Petasites hybridus 11

III. Die eigenen Arbeiten 16

a) Beschaffung, Identifizierung und Wertbestimmung des Ausgangsmaterials 16
b) Vorversuche zur Ausarbeitung eines Extraktionsverfahrens 17
c) Extraktion einer grösseren Menge von Petasites-Wurzeln 18
d) Trennung des ursprünglichen Alkoholextraktes durch Chromatographie auf Silicagel und Isolierung von Reinsubstanzen 18
e) Eigenschaften von Petasin, iso-Petasin und S-Petasin, sowie Isomerisierung von Petasin und S-Petasin 19
f) Charakterisierung und Chemie 21
Petasin 21
Iso-Petasin 23
S-Petasin und iso-S-Petasin 25
Iso-Petasol 26
Des-isopropyliden-petasol 35
g) Selendehydrierung und Vorschlag einer Struktur 45

C. Experimenteller Teil 48

I. Vorversuche zur Extraktion, zur Bestimmung der Stabilität des Extraktes und zur Chromatographie 48

II. Hauptversuch zur Extraktion und Isolierung von Petasites-Substanzen 51

III. Charakterisierung und Chemie 60

Petasin 60
Iso-Petasin 61
Iso-Petasol 66
Des-isopropyliden-petasol 70
Ozonspaltung 73
Dehydrierung 78

D. Zusammenfassung 79

E. Literaturverzeichnis 80

Leer - Vide - Empty

A. EINLEITUNG

Wir stellten uns zur Aufgabe, einige Inhaltsstoffe von Petasites hybridus (L.) Fl. Wett. zu isolieren*). Die Anwendung von Wurzelextrakten dieser Pflanze als Heilmittel, seit den letzten Jahrhunderten bis auf die heutige Zeit, veranlasste uns, den Wirkstoff zum Studium seiner Pharmakologie und zur chemischen Aufklärung seiner Struktur rein zu erhalten. Petasin und S-Petasin liessen sich als die eigentlichen Träger der pharmakologischen Reaktion erkennen und wurden weitgehend in ihrer Struktur aufgeklärt.

*) Petasites hybridus (L.) Fl. Wett. = Petasites officinalis Moench.

B. ALLGEMEINER TEIL

I. Die Bedeutung von Petasites hybridus in der Volksmedizin

Im Altertum und Mittelalter[1] war Petasites eine sehr bekannte und beliebte Heilpflanze. Die im Hallstatter Salzberg aufgefundenen gebündelten Laubblätter der Pflanze weisen sogar auf eine prähistorische Benützung hin. Die alten griechischen Aerzte gebrauchten die Blätter äusserlich bei Geschwüren. So schreibt z.B. Dioskurides: "Das Blatt wirkt fein gestossen als Umschlag gegen bösartige und krebsige Geschwüre". Infolge ihrer ausgezeichneten diaphoretischen Wirkung wurde die Pestwurz im Mittelalter als eines der besten Mittel gegen die Pest angesehen, wovon schon Paracelsus, Fuchs und andere Schriftsteller des 16. - 18. Jahrhunderts reden.

Lonicerus[1] bezeichnet die Pestwurz als gutes Diaphoreticum, Diureticum, Antiasthmaticum, Emmenagogum und Wurmmittel, äusserlich lässt er sie als Wundheil- und hautreinigendes Mittel anwenden.

Von Matthiolus[2] wird sie "wider die Pestilentz behülflich" genannt, "denn sie jagt das Gift mit Gewalt durch den Schweiss", auch gegen Uteruskoliken sei sie dienlich.

Nach v. Haller[3] wird "vorzüglich die Wurzel gerühmt, als eine Herzstärkende und Gifttreibende Arzney".

Gebraucht wurden der Wurzelstock (Radix Petasitidis) und die Laubblätter (Folia Petasitidis).

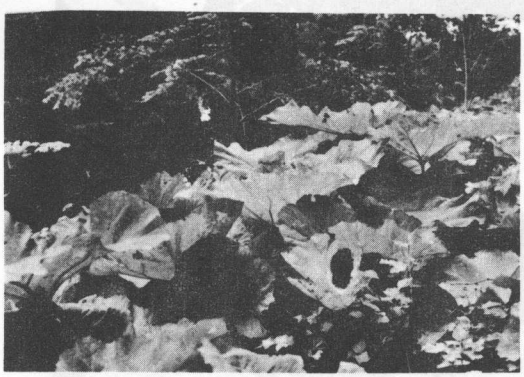
Es gab eine Aqua destillata Petasitidis, Essentia Petasitidis etc. Trotz ihres unangenehmen, bitterlich herben Geschmacks werden sie in der Moldau und Walachei kräftig abgebrüht, als Gemüse genossen. Die Slowaken sagen: "Ihr Blatt hat neun Adern, neun Kräfte und nützt gegen neun Krankheiten".

Die Indikationen von Petasites gleichen denen des Huflattichs. Eine ganze Anzahl von Pflanzen, die dem Huflattich bzw. der Pestwurz botanisch nahe stehen, werden unabhängig voneinander in den verschiedensten Ländern der Welt als Volksmittel bei Husten verwendet. Diese Indikationen findet man in Europa wie in China und Westindien. Rosenthal[1] schliesst daraus, dass in diesen Pflanzen ein spezifisch wirkender, der Pharmakologie bisher noch nicht bekannter Stoff vorhanden ist, der bei Bronchialkatarrhen wirksam sein muss.

II. Bisherige pharmakognostische, chemische und pharmakologische Untersuchungen an Petasites hybridus

Petasites hybridus ist eine Staude mit kräftigem Wurzelstock von meterlangen Ausläufern, die schon im zeitigen Frühjahr bis 40 cm hohe Blütenschäfte mit traubenförmig angeordneten, rötlich-weissen Blütenköpfchen treibt. Anschliessend erscheinen breite herzförmige Blätter, die der Pflanze ein rhabarberähnliches Aussehen geben.

Vorkommen von Petasites hybridus



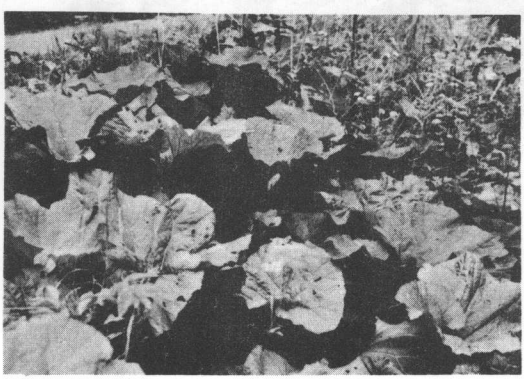
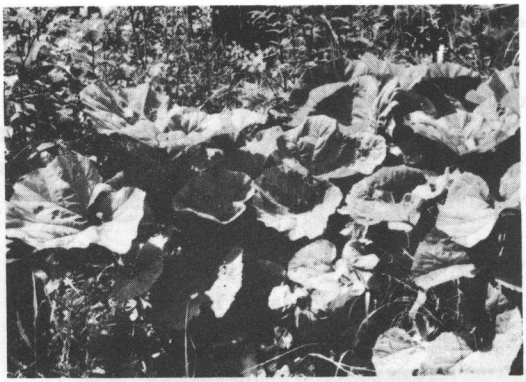


Abb. 1 a und b

Standort Tal



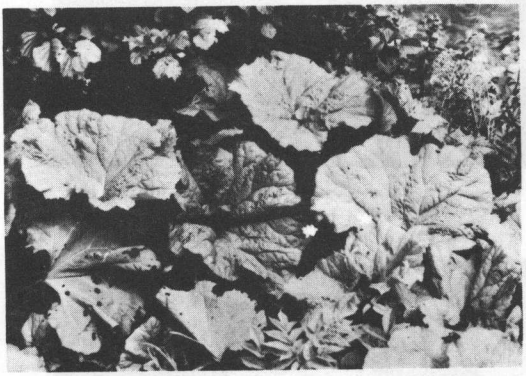


Abb. 1 c und d

Standort Brücke

Eine eingehende pharmakognostische Untersuchung vom Genus Petasites wurde im Jahre 1940 von Jeuch[4] verfasst. Er beschreibt die Pflanze wie folgt:

Die Blätter sind sehr gross, bis 1 m lang, meist 30 bis 60 cm breit, langgestielt, rundlich-nierenförmig, am Grund tief herzförmig und bis auf die Seitenı erven zweiter und dritter Ordnung ausgeschnitten. Rand fast regelmässig und scharfzahnig. Auf der Oberfläche sind sie trübgrün und zerstreut behaart, auf der Unterseite nur in der Jugend grauwollig, später sind sie fast kahl und bleichgrün.

Der Wurzelstock ist kurz, 3 bis 4 cm dick, bräunlich, nur wenige Wurzeln zweigen ab (bei kultivierten Exemplaren ist der Wurzelstock reichlich bewurzelt).

Die Wurzeln sind gelblich-weiss, 10 bis 15 cm lang und bis 5 mm dick.

Die Ausläufer sind gelblich-weiss bis gelblich-braun mit stellenweise violettem Unterton, bis 1,5 m lang und gegen 15 mm dick. Sie sind in einzelne Abschnitte gegliedert.

Der Geruch des Rhizoms ist charakteristisch, der Geschmack etwas süsslich, mit starkem Beigeschmack und etwas adstringierend. Beim Schneiden des frischen Rhizoms läuft das Messer des Mikrotoms an.

Die mikroskopische Ueberprüfung von Petasites hybridus bedient sich folgender Charakteristika: Die Zellen des Rindenparenchyms sind rundlich-polygonal, dickwandig, mit grossen Intercellularen und unregelmässig angeordnet (siehe Abb. 2). Die Zellen des Rindenparenchyms sind rundlich, mit kleinen bis grösseren Intercellularen (siehe Abb. 3).

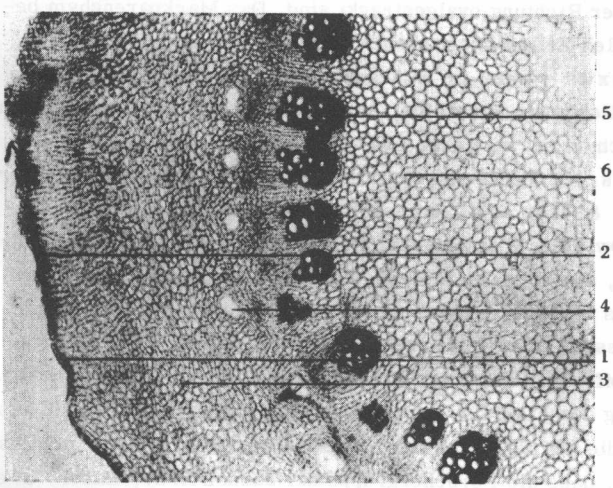


Abb. 2

Petasites hybridus[4]

Ausläufer Herbst

1. Epidermis
2. Kork
3. Parenchymgewebe
4. Schizogener Sekretbehälter
5. Gefässbündel
6. Mark

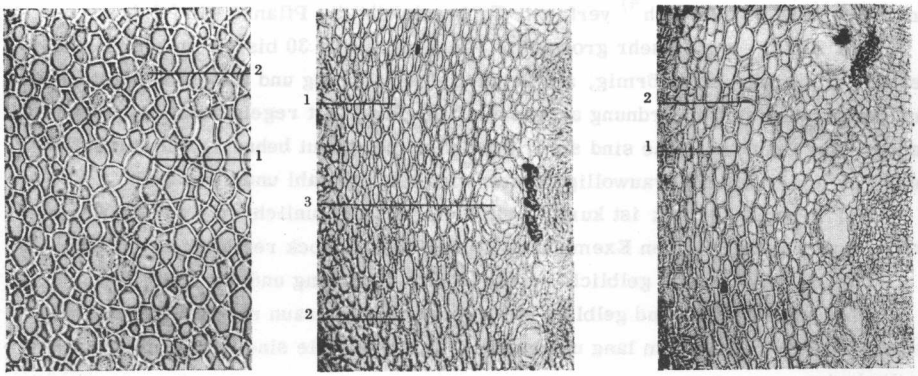


Abb. 3

Petasites hybridus[4]	Petasites albus[4]	Petasites paradoxus[4]
Ausläufer Herbst	Ausläufer Herbst	Ausläufer Herbst
1. Rindenparenchym 2. Getüpfelte Zelle	1. Rindenparenchym 2. Getüpfelte Zelle 3. Schizogener Sekretbehälter	1. Rindenparenchym 2. Zelle mit eingelagerter radialer Trennwand

Petasites albus[4] hat Rindenparenchymzellen, die in ± tangentialen Reihen angeordnet und in tangentialer Richtung ovalgestreckt sind. Das Markparenchym besteht aus gerundet-polygonalen Zellen mit recht kleinen Intercellularen.

Petasites paradoxus[4] weist im Rindenparenchym undeutlich tangentiale Reihen von in tangentialer Richtung gestreckten, ovalen bis polygonalen dickwandigen Zellen auf. Das Markparenchym hat ähnlichen Bau wie Petasites albus.

Erfolgreiche chemische Untersuchungen dieser Pflanze waren bis vor kurzem unbekannt. Gillot & Legras[5] berichteten über das Vorhandensein verschiedener Kohlenhydrate sowie 0,1 % ätherischer Oele in frischen Wurzeln. Im Jahre 1934 gelang es Zellner[6], das sogenannte Hesse'sche Steringemisch zu isolieren und nach der Schmelze eines Alkoholextraktes mit Kaliumhydroxyd, geringe Mengen an Protokatechusäure zu fassen. Dann existieren ferner zwei Patente[7] auf die Isolierung der rohen Inhaltsstoffe von Petasites officinalis, und russische Forscher[8] berichteten über die Isolierung der Alkaloide Senecionin, Platiphyllin und Renardin aus Nardosmia laevigata DC., die mit Petasites laevigatus Rch.G. identisch ist. Schliesslich wurde kürzlich bekannt, dass die Forschergruppe der Sandoz A.G., Basel[9] zwei neue, spasmolytisch wirksame Verbindungen isolierte. Stoll und Mitarb. [9] schrie-

ben: Einige aktive Inhaltsstoffe aus Petasites officinalis Moench. Die Wurzeln von Petasites officinalis Moench, einer einmal pro Jahr blühenden Pflanze, ist weitverbreitet in Europa und Nordamerika und wurde schon in frühen Zeiten gegen Magengeschwüre und Asthma verwendet. Im Mittelalter wurde diese Pflanze als sehr wirksam gegen die Pest erkannt. Kürzlich publizierte Angaben über die Gegenwart von spasmolytisch aktiven Substanzen in der Wurzel veranlassten uns, die Pflanze einer genauen Prüfung zu unterwerfen. Wir waren imstande, eine Anzahl, nicht stickstoffhaltiger Substanzen zu isolieren, die sich hauptsächlich in der Wurzel, aber auch in den Blättern und Blüten befanden. Zwei dieser Substanzen wurden aus den Wurzeln in genügender Menge isoliert, um ihre Eigenschaften, sowie einige Abbaureaktionen zu studieren. Eine der Verbindungen besitzt die Summenformel $C_{20}H_{28}O_3$. Sie kristallisiert aus Hexan und besitzt den Smp. 96 - 98°. Es konnte gezeigt werden, dass diese Verbindung den Ester von Angelicasäure darstellt. Die zweite Substanz enthält Schwefel und besitzt die empirische Formel $C_{19}H_{26}O_3S$. Sie kristallisiert aus Alkohol in Prismen mit Smp. 136 - 138°. Die spasmolytische Aktivität von Petasites officinalis wird durch diese beiden Verbindungen hervorgerufen.

In einer vorläufigen ersten Mitteilung hat der Autor dieser Arbeit die ersten Ergebnisse der Isolierung der Inhaltsstoffe publiziert[10].

Die pharmakologische Untersuchung von Petasites hybridus steht noch in den Anfängen. Uns ist nur eine Studie von Bucher[11] bekannt, der einen methanolischen Extrakt der Pestwurzel überprüfte. Er fand einen antispastischen Effekt, der qualitiativ demjenigen von Papaverin ähnlich ist.

III. Die eigenen Arbeiten

a) Beschaffung, Identifizierung und Wertbestimmung des Ausgangsmaterials

Die für unsere Isolierungsarbeiten erforderliche Droge, Petasites hybridus (L.) Fl. Wett., sammelten wir*) im schweizerischen Voralpengebiet und zwar

1. Beim Bahnhof Biberbrugg (Kt. Schwyz) an der Alpbrücke. Spärliches Vorkommen auf humusartigem Boden in eher offenem sonnigem Gebiet. Wir erhielten 845 g trockenes Pflanzenmaterial.
2. An der Talstrasse nach Einsiedeln (Kt. Schwyz), ca. 1 km oberhalb Brücke Biberbrugg. Reichliches Vorkommen auf humusartigem, mit Steinen durchsetztem Waldboden, in eher schattigem Gebiet. Wir erhielten 1145 g trockenes Pflanzenmaterial.

Die Resultate unserer makroskopischen, sowie mikroskopischen Untersuchungen entsprechen den von Jeuch[4] angegebenen Merkmalen, sodass die Identität der gesammelten und aufgearbeiteten Droge mit Petasites hybridus feststeht.

Da die Inhaltsstoffe von Arzneipflanzen sehr oft jahreszeitlichen Schwankungen unterliegen, wurden an den beiden Fundorten (Brücke und Tal) jeweils bei trockenem Wetter und am Nachmittag je 5 bis 7 Pflanzen ausgegraben, sofort am kalten Wasserstrahl von Erde befreit und auf Filterpapier während einigen Stunden trokknen gelassen. Zur gleichzeitigen Bestimmung der Lokalisation der Wirkstoffe in den verschiedenen Pflanzenteilen wurde in Wurzel, Stengel und Blätter abgetrennt und von jedem Pflanzenteil, nach Zerkleinern, je 20 g fünfmal mit je 150 cm^3 Methanol extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden bei 45° vollständig eingedampft und in 33 cm^3 Methanol wieder aufgenommen. Nicht lösliche Anteile wurden als Suspension aufgeschlämmt. Diese Lösungen besassen somit eine Konzentration von 60%, bezogen auf die frische Droge.

Die spasmolytische Wirksamkeit dieser Extrakte wurde einzeln am isolierten Meerschweinchendarm geprüft. Die Resultate sind in negativen Logarithmen der 100% spasmolytischen Drogenkonzentration angegeben**).

---

*) Wir möchten auch an dieser Stelle unseren besten Dank an Herrn Prof. Dr. H. Flück (ETH Zürich) aussprechen, der uns auf unserer ersten Sammelexkursion begleitete und das Pflanzenmaterial botanisch identifizierte.

**) Die pharmakologischen Prüfungen wurden durch Herrn Dr. E. Eichenberger in der Wissenschaftlichen Forschungsabteilung der Dr. A. Wander A. G. (Bern) durchgeführt, wofür wir nochmals bestens danken.

Tabelle 1

Spasmolytische Wirksamkeit in Abhängigkeit von Jahreszeit und Pflanzenteil

Sammeldatum	Wurzel		Stengel		Blatt	
	Brücke	Tal	Brücke	Tal	Brücke	Tal
30. 7.1954	4,0	4,0	< 4,0	< 4,0	4,0	4,0
6.10.1954	4,3	4,3	< 4,0	< 4,0	4,0	4,0
1. 5.1955	3,7	4,3	< 4,0	< 4,0	4,0	3,7
16. 5.1955	4,0	4,0	< 4,0	< 4,0	4,3	3,7

Die gefundenen Resultate zeigen, dass eine jahreszeitliche Schwankung in der spasmolytischen Aktivität praktisch kaum vorhanden ist. Ebenso besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen den bei der Brücke und im Tal gesammelten Exemplaren. Die Wurzeln (unterirdische Organe) weisen eine wesentlich stärkere spasmolytische Wirksamkeit auf als die Blätter und die Stengel. Dies veranlasste uns, die weiteren Untersuchungen mit den Wurzeln durchzuführen.

b) Vorversuche zur Ausarbeitung eines Extraktionsverfahrens

Die Ausläufer und Wurzeln von Petasites hybridus wurden, wie wir im experimentellen Teil genau beschrieben, mit Alkohol erschöpfend extrahiert. Eine 10 %ige methanolische Lösung des Verdampfungsrückstandes des Alkoholextraktes diente uns zur Durchführung einiger Stabilitätsprüfungen der spasmolytisch wirksamen Inhaltsstoffe. Diese Behandlung mit verschiedenen Reagenzien, die für die Isolierung in Frage kommen, sollte uns zeigen, wie weit das spasmolytische Prinzip dieser Pflanze beständig ist. Wir beziehen uns dabei auf die Aktivität des frisch hergestellten Extraktes und bezeichnen sie mit +++.

	Spasmolytische Aktivität
Methanolische Extraktlösung	+++
erhitzt am Rückfluss	+++
Nach Behandlung:	
mit 10 %iger Schwefelsäure heiss	+++
mit 2 n-Sodalösung heiss	0
mit frisch gefälltem $Pb(OH)_2$, bei Zimmertemperatur	+++
auf Al_2O_3 chromatographiert	++(+) etwas schwächer
auf Silicagel chromatographiert	+++

Wir schliessen aus diesen Resultaten, dass eine Aufarbeitung sehr wohl durchführbar sein sollte, wenn wir die Gegenwart von Alkali und Aluminiumoxyd vermeiden.

c) Extraktion einer grösseren Menge von Petasites-Wurzeln

15 kg Wurzeln von Petasites hybridus wurden mit insgesamt 200 Litern Alkohol erschöpfend extrahiert. Nach sorgfältigem Eindampfen im Wasserstrahlvakuum bei 45° erhielten wir 935 g öligen Rückstand, der nach Verteilung in Chloroform und Wasser 572 g chloroformlöslichen Anteil lieferte*).

d) Trennung des ursprünglichen Alkoholextraktes durch Chromatographie auf Silicagel und Isolierung von Reinsubstanzen **) ***) (siehe Abb. 4)

92 g Alkoholextrakt wurden auf 600 g Silicagel chromatographiert (Chromatogramm I). Die mit Benzol und Benzol-Chloroform 9 : 1 eluierten Fraktionen 6 - 11 gaben 260 mg β-Sitosterin vom Smp. 136 - 138,5° und $[\alpha]_D^{20} = -32,57^{o}$ · 45 mg β-Sitosterin wurden zur weiteren Charakterisierung acetyliert. Es resultierten farblose Plättchen vom Smp. 127,5 - 129° und $[\alpha]_D^{18} = -39,5^{o}$, die mit β-Sitosterinacetat identisch waren.

Die verbliebenen Mutterlaugen 6 - 11 von β-Sitosterin wurden sorgfältig auf Silicagel chromatographiert (Chromatogramm 5 - 11, Silicagel). Die mit Benzol eluierten Fraktionen 21 - 29 lieferten ein etwas gelb gefärbtes Oel, dessen ausserordentlich hohe spasmolytische Aktivität uns zeigte, dass wir eine stark angereicherte Fraktion des spasmolytischen Prinzips erhalten hatten.

Wir versuchten, mit der gleichen Mutterlauge 6 - 11 von β-Sitosterin auch eine Trennung auf Aluminiumoxyd zu bekommen (Chromatogramm 6 - 11, Aluminiumoxyd) und erhielten in guter Ausbeute Kristalle vom Smp. 96 - 98°, die aber die isomerisierte Form von Petasin darstellen. Wir bezeichneten diesen Stoff als Iso-Petasin.

---

*) Wir danken Herrn Dr. J. Schmutz (Bern), der uns beim Sammeln und bei der Extraktion der Droge behilflich war.

**) Für eine genaue Untersuchung der Inhaltsstoffe wurde zur ersten Totalauftrennung der gesamte Alkoholextrakt chromatographiert. Bei späteren Wiederholungen der Isolierung der Inhaltsstoffe von Petasites hybridus trennten wir von den wasserlöslichen Komponenten, wie S. 18 (theoret. Teil) und S. 51 (exp. Teil) beschrieben, durch Verteilen des Alkoholextraktes zwischen Chloroform und Wasser.

***) Wir danken Herrn L. Eckert für die Ausführung mehrerer grossen Chromatographien zur Isolierung von Petasin.

Die weitere Reinigung der Fraktionen 12 - 23 des Chromatogramms I, die hauptsächlich mit Chloroform-Benzol 9 : 1 eluiert wurden, gab schliesslich das gesuchte spasmolytische Prinzip in grösserer Menge auf folgende Weise. Die genannten Fraktionen wurden vereinigt und nochmals über Silicagel chromatographiert (Chromatogramm 12 - 23, Silicagel). Die mit Benzol eluierten Fraktionen 21 - 23 wurden zusammengegeben und durch Destillation im Hochvakuum in mehrere Fraktionen aufgeteilt. Eine dieser Fraktionen zeigte nach Stehenlassen über Nacht deutliche Kristallbildung, und es war möglich, fast den ganzen Rest der destillierten Fraktionen durch Animpfen zur Kristallisation zu bringen. In dieser Weise erhielten wir das hauptsächliche, genuine spasmolytische Prinzip in kristallisierter Form und nannten es nach der Namensbezeichnung der Pflanze Petasin. Die Fraktionen 15 - 30 aus dem Chromatogramm 12 - 23, Silicagel, konnten ebenfalls auf diese Weise angeimpft und kristallisiert werden. Schliesslich kristallisierten noch die mit Benzol eluierten Fraktionen 27 - 29 des Chromatogramms I und lieferten nach nochmaliger Reinigung (Chromatogramm 27 - 29, Silicagel) eine schwefelhaltige Verbindung vom Smp. 134 - 136°, die wir infolge der später festgestellten Verwandtschaft mit Petasin als S-Petasin bezeichneten.

Abb. 4 zeigt die Auftrennung des Alkoholextraktes durch Chromatographie.

e) Eigenschaften von Petasin, Iso-Petasin und S-Petasin sowie Isomerisierung von Petasin und S-Petasin

Petasin analysiert gut auf die Summenformel $C_{20}H_{28}O_3$ und besitzt die spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{21,5} = +49^o$ ($CHCl_3$). Molekulargewichtsbestimmungen von wohldefinierten Abbauprodukten haben später die Richtigkeit der hier postulierten Summenformel bestätigt. Petasin lässt sich ausserordentlich leicht in Gegenwart von sauren oder alkalischen Reagenzien, sowie von Aluminiumhydroxyd isomerisieren. Wir benützten jeweils diese Eigenschaft, um bei späteren Isolierungen unreine Fraktionen, die z. T. Mutterlaugen von Petasin oder Randfraktionen der Chromatographie I darstellten, auf Aluminiumhydroxyd zu chromatographieren und konnten auf diese Weise noch beträchtliche Mengen an iso-Petasin gewinnen.

Iso-Petasin analysiert ebenfalls gut auf die Formel $C_{20}H_{28}O_3$, zeigt aber eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{21} = +28,0^o$ ($CHCl_3$) und schmilzt bei 96 - 98°. Diese Verbindung besitzt ähnliche Eigenschaften wie die von Stoll und Mitarb.[9] aus Petasites hybridus isolierte aktive Substanz A der Formel $C_{20}H_{28}O_3$. Nach einem

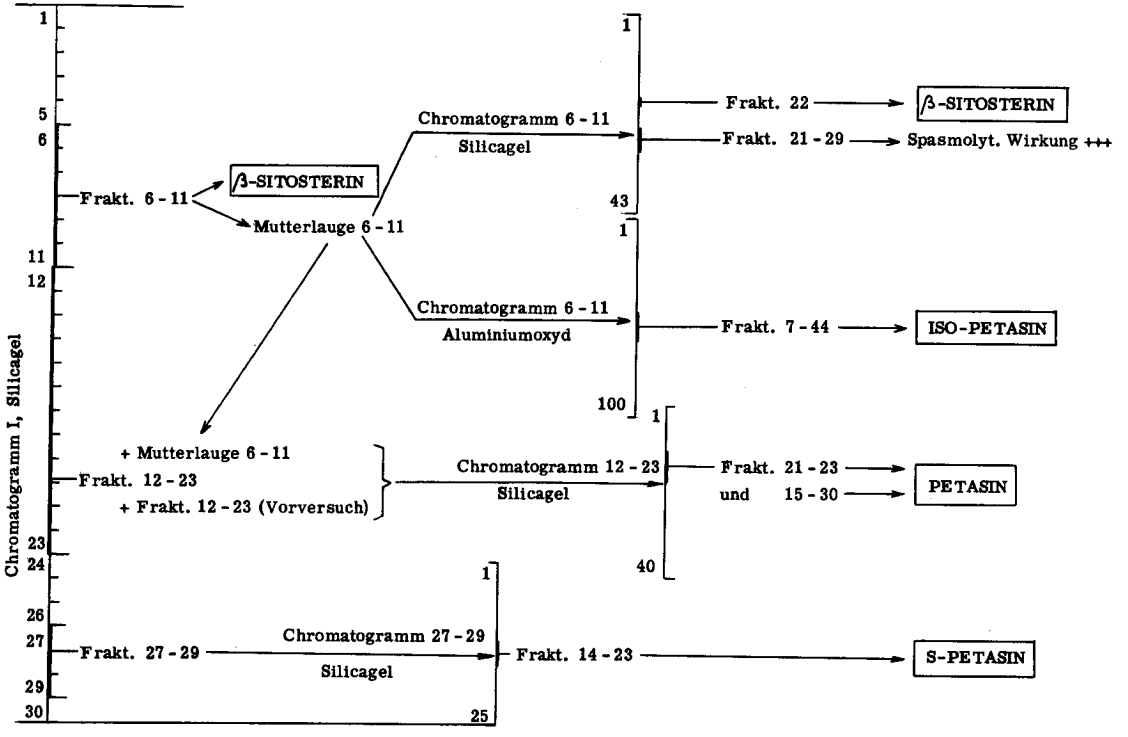


Abb. 4

Auftrennung des Alkoholextraktes (Hauptversuch) durch Chromatographie

(die Zahlen bedeuten die Fraktionsnummern)

Austausch von Substanzproben*) mit dieser Forschergruppe konnten wir die vermutete Identität dieser Substanz A mit unserem isomerisierten Petasin bestätigen.

S-Petasin analysiert am besten auf die Formel $C_{19}H_{26}O_3S$, besitzt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{18} = +78,8^o$ ($CHCl_3$), hat einen Smp. von 134 - 136° und zeigte mit der Substanz B von Stoll und Mitarb.[9] *) eine Smp.-Depression von etwa 30°. Nach der Isomerisierung von S-Petasin auf Aluminiumhydroxyd erhielten wir iso-S-Petasin der gleichen Summenformel $C_{19}H_{26}O_3S$ und vom gleichen Smp. 136 - 138°, das aber mit Substanz B keine Mischsmp.-Depression mehr zeigte. Die spezifische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +41,6^o$ ($CHCl_3$). Eine Bestimmung der uns in freundlicher Weise überlassenen und mit iso-S-Petasin identischen Substanz B gab $[\alpha]_D^{20} = +44,7^o$.

f) Charakterisierung und Chemie

Petasin

Petasin besitzt, wie wir schon erwähnten, die Summenformel $C_{20}H_{28}O_3$. Die Mikrohydrierung ergab eine Aufnahme von 4 Mol H_2, wobei nach der genannten Summenformel noch ungesättigte Valenzen zurückbleiben, die auf mehrzyklische Systeme, schwer hydrierbare Doppelbindungen oder Estergruppierungen hinweisen. Das UV-Absorptionsspektrum von Petasin (Fig. 1) zeigt ein Maximum bei 230 mμ (ε = 21500) mit einem Vormaximum bei 318 mμ (ε = 45), was auf eine Enongruppierung mit einer bei 230 mμ allerdings etwas erhöhten Extinktion hinweist. Diese Extinktionserhöhung hat ihre besonderen Gründe, und wir werden in dieser Abhandlung darauf zurückkommen. Petasin bildet ein gut kristallisierbares 2,4-Dinitrophenylhydrazon vom Smp. 232,5 - 234,5°, das im UV eines der typischen Maxima bei 379 mμ (ε = 31410) besitzt. Dieses Maximum deutet ebenfalls auf eine α,β-ungesättigte Ketogruppe hin[12]. Das Semicarbazon von Petasin schmilzt bei 175° und absorbiert bei 272 mμ (ε = 21300). Auch hier finden wir einen weiteren Hinweis auf die Enongruppierung, die als Semicarbazon im allgemeinen bei 267 - 270 mμ absorbiert[13]. Petasin besitzt ein interessantes Infrarotspektrum (vgl. Fig. 2)**). Die Bande bei 1680 cm^{-1} wäre für die im UV schon festgestellte α,β-ungesättigte Ketogruppe verantwortlich. Die

---

*) Wir danken an dieser Stelle auch Herrn Dr. J. Renz (Sandoz A.G., Basel) für den bereitwilligen Austausch von Proben der gennannten Verbindungen. Die angegebenen Daten sind für:
Substanz A: Smp. 98°; $[\alpha]_D = +31,7^o$; ($CHCl_3$) = iso-Petasin
Substanz B: Smp. 136°; $[\alpha]_D = +49,8^o$; ($CHCl_3$) = iso-S-Petasin.

**) Wir danken Herrn siv.ing.J. Lothe, Central Institute for Industrial Research, Blindern (Oslo) für die Aufnahme und genaueste Interpretation der meisten in dieser Arbeit diskutierten Infrarotspektren. Wenn nichts anderes bemerkt wird, wurden die IR.- resp. UV.-Spektren in CCl_4- resp. Alkohollösungen aufgenommen.

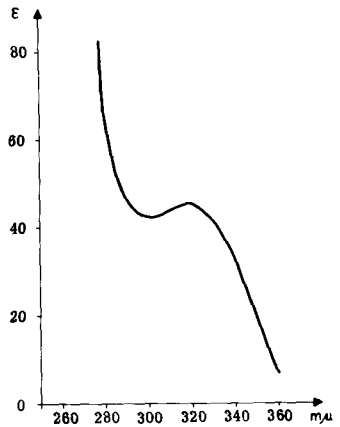


Fig. 1 a

UV.-Absorptionsspektum von Petasin

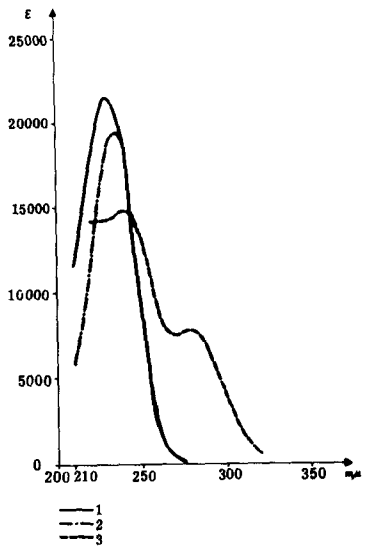


Fig. 1

UV.-Absorptionsspektrum von

1. Petasin
2. Petasin weniger Angelicasäure
3. iso-Petasin

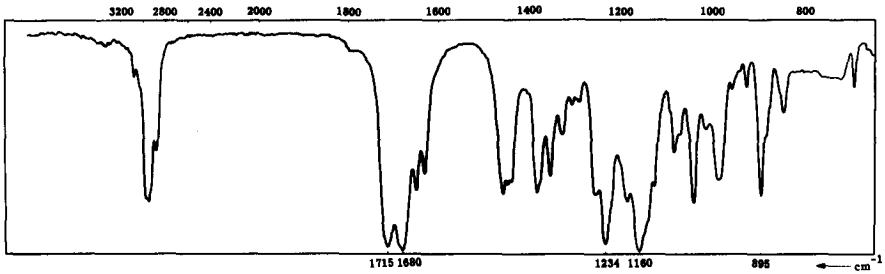


Fig. 2

IR. -Absorptionsspektrum von Petasin

benachbarte Bande bei 1715 cm^{-1} kann eine Carbonylgruppe im 6-gliedrigen Ringsystem oder von aliphatischem Charakter bedeuten; wir müssen aber auch an die Möglichkeit einer α,β-ungesättigten Estergruppierung denken. Diese Möglichkeit wird unterstützt durch die Banden bei 1234 cm^{-1} und 1160 cm^{-1} der C-O "stretching - vibration" wie sie z.B. bei Acrylsäure zu finden sind. Bei 895 cm^{-1} befindet sich eine verhältnismässig starke Bande, die für eine asymmetrische substituierte Aethylengruppe ($>C = CH_2$) verantwortlich sein könnte, und gleich benachbart dazu bei 845 cm^{-1} finden wir eine solche von niederer Intensität, die auf eine trisubstituierte Aethylengruppe hinweisen dürfte.

Iso-Petasin

Wir besprechen nun die Isomerisierung von Petasin wie sie im folgenden Schema angegeben ist. Verdünnte Mineralsäuren oder aktiviertes neutrales Aluminiumoxyd

Petasin $C_{20}H_{28}O_3$	$\xrightarrow[\text{od. } Al_2O_3]{H^+}$	iso-Petasin $C_{20}H_{28}O_3$
Smp. 70 - 72°		Smp. 96 - 98°
$[\alpha]_D^{21,5} = +49°$		$[\alpha]_D^{21} = +28°$

isomerisieren Petasin in guter Ausbeute zu iso-Petasin, $C_{20}H_{28}O_3$ *), unter grundlegender Aenderung der Absorptionsspektren. Iso-Petasin nimmt bei der Mikrohydrierung immer noch 4 Mol Wasserstoff auf, besitzt aber ein komplizierteres UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 1) mit Maxima bei 245 mμ (ε = 13550) und 280 mμ (ε = 7460), auf dessen Bedeutung wir nochmals zurückkommen werden.

Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon von iso-Petasin bildet sich nur sehr langsam und

*) Vgl. experimenteller Teil

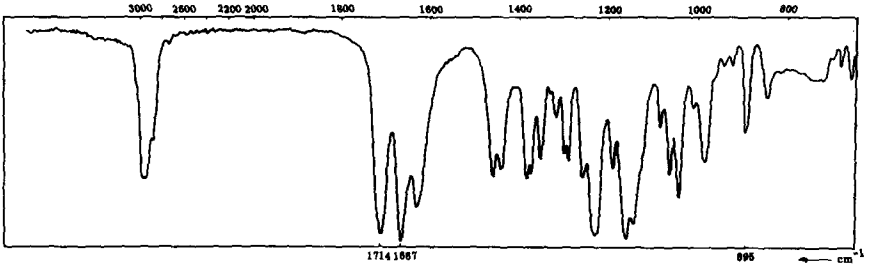


Fig. 3

IR.-Absorptionsspektrum von iso-Petasin

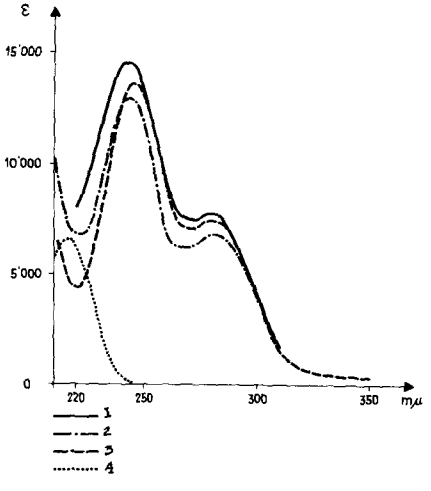


Fig. 4

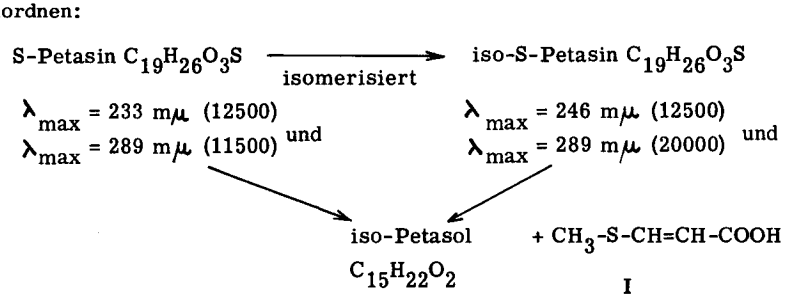
UV.-Absorptionsspektrum von

1. iso-Petasin weniger Angelicasäure
2. iso-Petason
3. iso-Petasol
4. Angelicasäure

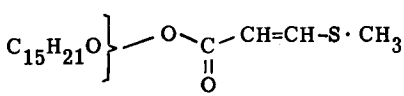
zeigt eines der Maxima bei 391 mμ (ε = 29840). Enonene[14] und Dienone[12,14] zeigen als Dinitrophenylhydrazone Maxima bei 375 - 400 mμ. Dieses neugebildete ungesättigte Carbonylsystem ist somit reaktionsträger geworden; es bildet im Gegensatz zu Petasin nur noch ein Dinitrophenylhydrazon und kein Semicarbazon mehr. Die Isomerisierung zeigt sich auch deutlich im Infrarotspektrum von iso-Petasin (vgl. Fig. 3). Die Infrarotbande bei 1714 cm^{-1} findet sich wieder wie beim Petasin (vgl. Fig. 2), hingegen zeigt die Enon-Bande bei der Isomerisierung eine Frequenzabnahme von 1680 cm^{-1} auf 1667 cm^{-1}. α, β - γ, δ und α, β - α', β' -ungesättigte Carbonylgruppen absorbieren ungefähr bei 1660 cm^{-1}; eine solche Interpretation würde die Resultate der UV-Absorption von iso-Petasin und besonders seines Dinitrophenylhydrazons ergänzen. Im übrigen blieben die bei Petasin diskutierten Banden unverändert, ausgenommen diejenige bei 895 cm^{-1}, die durch die Isomerisierung deutlich an Intensität verloren hat. Wenn unsere Interpretation dieser Intensitätsabnahme richtig ist, so würde die Isomerisierung die Doppelbindungsverschiebung einer $>C=CH_2$-Gruppe bedeuten.

S-Petasin und iso-S-Petasin

In einem früheren Abschnitt erwähnten wir die Isolierung von S-Petasin und dessen Isomerisierung zu iso-S-Petasin. Da letzteres von Stoll und Mitarb.[9] durch alkalische Verseifung in β-Methylthioacrylsäure I und iso-Petasol getrennt worden war, wären aus Analogiegründen auch diese Verbindungen dem folgenden Schema zuzuordnen:



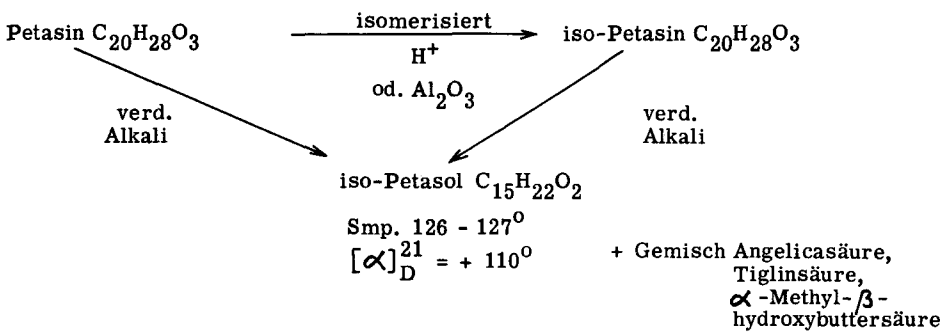
S-Petasin und iso-S-Petasin besitzen mit Petasin bzw. iso-Petasin identische Alkohole und unterscheiden sich von den letzteren nur durch die unterschiedliche Säuregruppe. Für beide Verbindungen gilt die analoge Teilstruktur II.



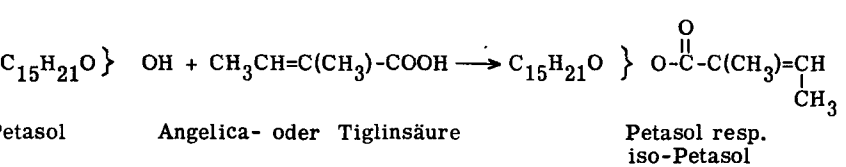
II

Iso-Petasol

Mehr Einblick in die Struktur dieser Substanzen gab uns die Verseifung von Petasin bzw. iso-Petasin. Nach der Behandlung mit 0,25 n-alkoholischer Kalilauge erhielten wir aus beiden Verbindungen die gleiche Substanz, die wir iso-Petasol nennen. Eine identische Substanz isolierten Stoll und Mitarb. *) durch Verseifung ihrer Substanz A (= iso-Petasin). Daneben bildete sich ein Gemisch von Angelicasäure, Tiglinsäure und der daraus durch Wasseranlagerung entstandenen α-Methyl-β-hydroxybuttersäure. Wie wir noch zeigen werden, besitzt iso-Petasol noch die isomerisierte chromophore Gruppe von Petasin. Nach dem folgenden Schema lassen sich nun Petasin und sein Isomerisierungsprodukt in eine gemeinsame Beziehung bringen.



Das obige Schema zeigt auch, dass Petasin in Gegenwart von Alkali ebenfalls isomerisiert, jedoch ist es uns bis jetzt nicht gelungen, Bedingungen der Alkaliisomerisierung von Petasin zu finden, die nicht auch gleichzeitig eine Verseifung zum Alkohol und dem Säuregemisch gaben. Iso-Petasol besitzt die Summenformel $C_{15}H_{22}O_2$ und ergänzt sich, mit Angelica- oder Tiglinsäure verestert, zur Formel $C_{20}H_{28}O_3$ von Petasin bzw. iso-Petasin. Damit wären zwei Sauerstoffatome von Petasin und seinem Isomeren als zur Estergruppe gehörend bestimmt. Das dritte Sauerstoffatom



muss die Rolle des ungesättigten Carbonylsauerstoffs übernehmen, der sich in Petasin und iso-Petasin spektralanalytisch und mit Carbonylreagenzien nachweisen lässt. Das UV.-Absorptionsspektrum von iso-Petasol besitzt Maxima bei 245 mμ (ε =

*) Wir danken auch hier Herrn Dr. J. Renz bestens für die private Mitteilung und für die Ueberlassung einer als Substanz AR 4 A bezeichneten Probe, die mit unserem iso-Petasol identisch war.

13350) und 280 mμ (ε = 7160) (vgl. Fig. 4). Seine Aehnlichkeit mit iso-Petasin (Fig. 1) ist unverkennbar, und wir haben nach der bekannten Methode der Addition chromophorer Gruppen im Ultraviolett[15] die Absorption von Angelicasäure*) (Fig. 4) von der Absorptionskurve des iso-Petasins substrahiert. Die resultierende Kurve (Fig. 4) stimmt mit derjenigen von iso-Petasol gut überein. In diesem Zusammenhang erinnern wir an das UV.-Absorptionsspektrum von Petasin, das auf eine α,β-ungesättigte Carbonylgruppe hinweist, aber eine etwas aussergewöhnlich hohe Extinktion besitzt. Wir haben auch hier die Absorption von Angelicasäure (Fig. 4) substrahiert und erhielten als resultierende Kurve (Fig. 1) ein Maximum bei 236 mμ (ε = 17800), das der wahren Absorption der ungesättigten Carbonylgruppe von Petasin eher entsprechen sollte. Das Infrarotabsorptionsspektrum (Fig. 5) von iso-Petasol bildet zu den eben angeführten Argumenten eine schöne Ergänzung, denn der Vergleich mit den IR.-Spektren von Petasin (Fig. 2) und iso-Petasin (Fig. 3) sowie mit Angelicasäuremethylester (Fig. 6) führt zu den folgenden interessanten Feststellungen. Nach der Verseifung erkennen wir bei iso-Petasol (Fig. 5) eine OH-Bande (3625 cm^{-1}), es fehlt die Bande bei 1715 cm^{-1}, die aber beim Angelicasäuremethylester (Fig. 6) wieder zu finden ist und somit in Petasin (Fig. 2) und iso-Petasin (Fig. 3) eindeutig der α,β-ungesättigten Estergruppierung zugeschrieben werden darf. Ebenso verhält es sich mit den Banden bei 1234 cm^{-1} und 1160 cm^{-1}, die sich nicht mehr in iso-Petasol

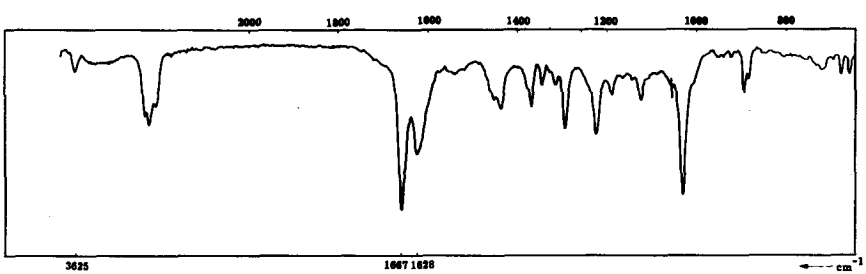


Fig. 5

IR.-Absorptionsspektrum von iso-Petasol

*) R.E. Buckless, G.V. Mock & L. Locatell, Chem. Reviews 55, 659 (1955) geben Maxima für

		unsere Bestimmungen:
Angelicasäure	217 mμ ε = 5150	216 mμ ε = 6600
Tiglinsäure	216 - 217 mμ ε = 10700	215 mμ ε = 10700 (für den Aethylester)

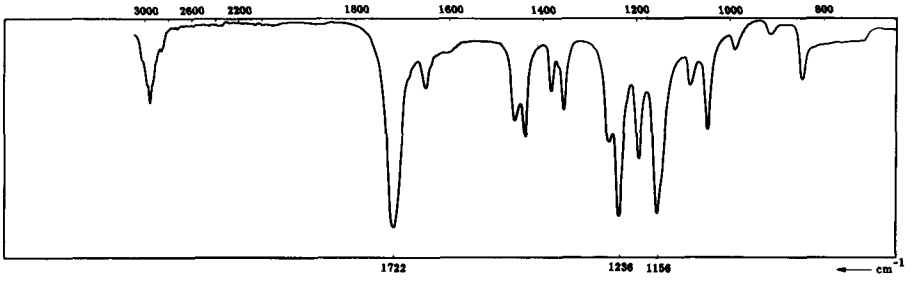
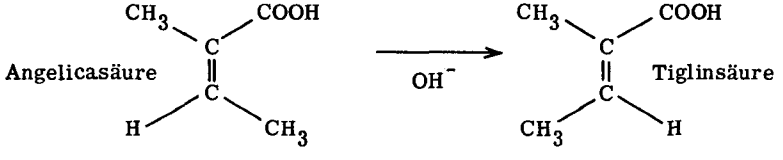


Fig. 6

IR. -Absorptionsspektrum von Angelicasäure-methylester

(Fig. 5) finden, wohl aber bei 1236 cm^{-1} und 1156 cm^{-1} in Angelicasäuremethylester (Fig. 6) gut ausgebildet sind. Die isomerisierte chromophore Gruppe für iso-Petasol (Fig. 5) hat dieselbe Frequenz bei 1667 cm^{-1} wie iso-Petasin (Fig. 3) selbst und ergänzt die Erkenntnis aus den Betrachtungen der UV. -Absorptionsspektren, dass iso-Petasin und sein Verseifungsprodukt iso-Petasol wahrscheinlich eine identische chromophore Gruppe besitzen. Iso-Petasol liess sich wie erwartet sehr leicht zu einem Monoacetat vom Smp. 85 - 86° acetylieren.

Es bleibt uns nun noch übrig, den Säureteil von Petasin und iso-Petasin näher zu untersuchen. Vorsichtige Verseifung in mildem Alkali ergab von beiden Verbindungen immer ein Gemisch von Angelica- und Tiglinsäure, die nach papierchromatographischer Trennung und nach fassbaren Derivaten von Tiglinsäure eindeutig identifiziert werden konnten*). Die α-Methyl-β-hydroxybuttersäure bildete sich bei den Verseifungen durch Wasseranlagerung an die ungesättigten Säuren als sekundäres Produkt, wie es sich in der Folge zeigen wird. Es ist bekannt, dass Angelicasäure in Gegenwart von Alkali leicht zu Tiglinsäure isomerisiert wird[16]. Die Umwandlung besteht in einer einfachen cis-trans-Isomerisierung der folgenden Art:



*) Vgl. experimenteller Teil

Auf Grund dieser Tatsachen kann nicht ohne weiteres entschieden werden, ob Petasin und iso-Petasin nur Angelicasäureester darstellen und erst der Alkalieinfluss bei der Verseifung beide Komponenten liefert, oder ob schon von Anfang an ein Gemisch der beiden möglichen Säuren, verestert mit Petasol bzw. iso-Petasol vorliegt. Die pyrolytische Esterspaltung[17] von Petasin und iso-Petasin im Stickstoffstrom bei 495° und 0,3 - 0,5 mm Hg lieferte von beiden Verbindungen nur reine Angelicasäure*). Einen Vergleich dieser Säuren mit den R_f-Werten von authentischer Angelica- und Tiglinsäure zeigt die folgende Abbildung 5**).

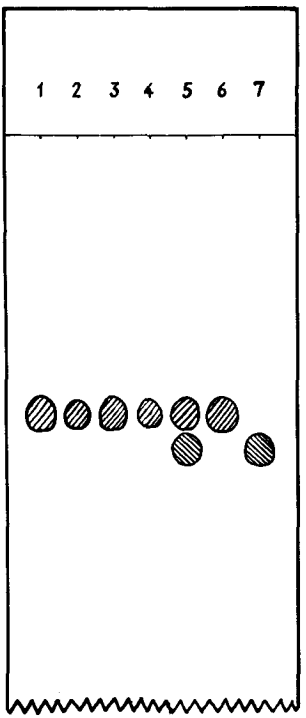


Abb. 5

Papierchromatographie von Säure-Gemisch

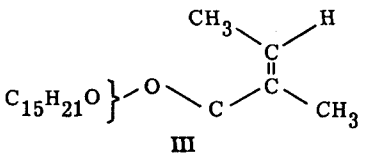
1. Säure aus Petasin-pyrolyse 50 µl (ca. 210 γ)
2. Säure aus Petasin-pyrolyse 30 µl (ca. 125 γ)
3. Angelicasäure 125 γ
4. Säure aus iso-Petasin-pyrolyse 30 µl (ca. 125 γ)
5. Angelicasäure + Tiglinsäure je 125 γ
6. Säure aus iso-Petasin-pyrolyse 50 µl (ca. 250 γ)
7. Tiglinsäure 125 γ

*) Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. D.H.R. Barton (Glasgow), der uns auf die pyrolytische Methode aufmerksam machte und uns eine beträchtliche Menge an reiner Angelicasäure zur Verfügung stellte, herzlich danken. Ebenso danken wir Herrn Dr. P. de Mayo (Glasgow) für technische Details zur Ausführung der Pyrolyse.

**) Einzelheiten der Ausführung des Papierchromatogrammes vgl. experimenteller Teil.

Die Identität und Reinheit der durch Pyrolyse erhaltenen Angelicasäurefraktionen zeigten sich auf eindrückliche Weise und wurden durch die Herstellung eines p-Bromphenacylesters noch zusätzlich bestätigt.

Damit sind wir imstande, für Petasin und iso-Petasin die Teilstruktur III zu formulieren. Wir wissen ferner, dass die Isomerisierung nicht im Säureteil stattfinden kann, sondern dass das ungesättigte Carbonylchromophor des Alkohols dafür verantwortlich sein muss.



III

Die bisherigen Resultate weisen nun eindeutig darauf hin, dass iso-Petasol der Summenformel $C_{15}H_{22}O_2$ eine leicht acetylierbare OH-Gruppe enthält, die auch für ein aktives H-Atom des Moleküls verantwortlich ist. Milde Oxydation mit Chromsäure gab iso-Petason der Formel $C_{15}H_{20}O_2$ und zeigt, dass die OH-Gruppe von iso-Petasol sekundärer Natur sein muss. Das UV-Absorptionsspektrum besitzt Maxima bei 243 mμ (ε = 12930) und bei 280 mμ (ε = 6790) (Fig. 4) und ist mit der Absorptionskurve von iso-Petasol (Fig. 4) interessanterweise sehr ähnlich. Iso-Petason bildet spontan ein Mono-2,4-dinitrophenylhydrazon, welches mit seinem Maximum bei 362 mμ (ε = 23170) sowie mit den gefundenen CH-Werten zeigt, dass nur die neugebildete gesättigte Ketogruppe mit dem Carbonylreagens reagiert hat*). Die Banden bei 1667 cm^{-1} und bei 1628 cm^{-1} der chromophoren Gruppe von iso-Petasol (Fig. 5) finden sich auch wieder im Infrarotspektrum des oxydierten iso-Petasols (Fig. 7). Durch die Oxydation wurde aber eine zusätzliche Bande bei 1721 cm^{-1} gebildet, die als Ketogruppe eines sechsgliedrigen Ringsystems interpretiert werden kann. Denn iso-Petasol der Formel $C_{15}H_{22}O_2$ nimmt bei der Mikrohydrierung 3 Mol Wasserstoff auf, was nach den restlichen ungesättigten Valenzen auf ein bicyclisches System hindeutet, das auch von der Summenformel $C_{15}H_{20}O_2$ des iso-Petasons in dieser Weise unterstützt wird. Es ist bemerkenswert, dass die chromophore Gruppe von iso-Petasol in ihrer Absorption im Ultraviolett und im Infrarot nach der Ausbildung einer zusätzlichen Ketogruppe im Molekül unbeeinflusst blieb. Die UV.-Absorptionsspektren von iso-Petasol und iso-Petason in 0,28 n-alkoholischer Kaliumhydroxydlösung (Fig. 8) zeigten keine Verschiebung der Maxima, wohl aber eine deutliche Abnahme der Extink-

*) Vgl. experimenteller Teil.

tionen. Ob hier die Endform der neugebildeten Ketogruppe mit der chromophoren Gruppe in Beziehung getreten ist, kann jedoch nicht mit Sicherheit entschieden werden. Die Reduktion von iso-Petasol mit Natrium und Propanol gab eine Substanz der Formel $C_{15}H_{28}O_2$, die unter milden Bedingungen sich zum Diacetat $C_{19}H_{32}O_4$ acetylieren liess. Unter der Annahme, dass das bicyclische System erhalten geblieben sei, muss es sich um ein gesättigtes Diol handeln. Die Tetranitromethanprobe war negativ und das UV.-Absorptionsspektrum zeigte keine Absorption. Im Infrarot fanden wir eine stark ausgeprägte OH-Bande bei 3280 cm^{-1}, hingegen fehlten die Banden der chromophoren Gruppe von iso-Petasol bei 1667 cm^{-1} und 1628 cm^{-1} (Fig. 5 und 9) vollständig.

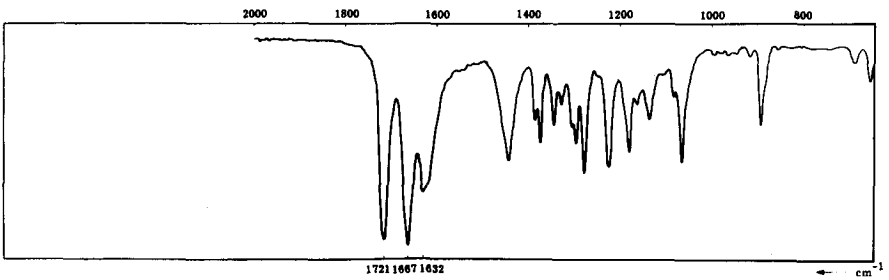


Fig. 7

IR.-Absorptionsspektrum von iso-Petason

Hydro-iso-Petasole

Iso-Petasol liess sich auch hydrieren unter Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff in Gegenwart von Raney-Nickel und lieferte in schlechter Ausbeute ein kristallines Tetrahydro-iso-petasol der Formel $C_{15}H_{26}O_2$. Das IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 10) zeigt mit dem Spektrum von Fig. 9 insofern eine gewisse Aehnlichkeit, als auch hier die Absorptionsbanden der chromophoren Gruppe vollkommen fehlen und nur eine ausgeprägte OH-Bande bei 3290 cm^{-1} sichtbar wird. Mit stärkeren Hydrierungsbedingungen in Gegenwart von PtO_2 nach Adams als Katalysator beobachteten wir eine Aufnahme von 3 Mol Wasserstoff, doch konnte kein kristallisiertes Hexahydro-iso-petasol erhalten werden. Dieses Hydrierungsprodukt muss aber eine, zum mit Natrium und Propanol erhaltenen gesättigten Diol, isomere Verbindung darstellen, denn milde Oxydation mit Chromsäure lieferte ein kristallisiertes Dihydro-iso-petasoldion der Formel $C_{15}H_{24}O_2$. Die Gegenwart zweier gesättigter Ketogruppen wurde durch das

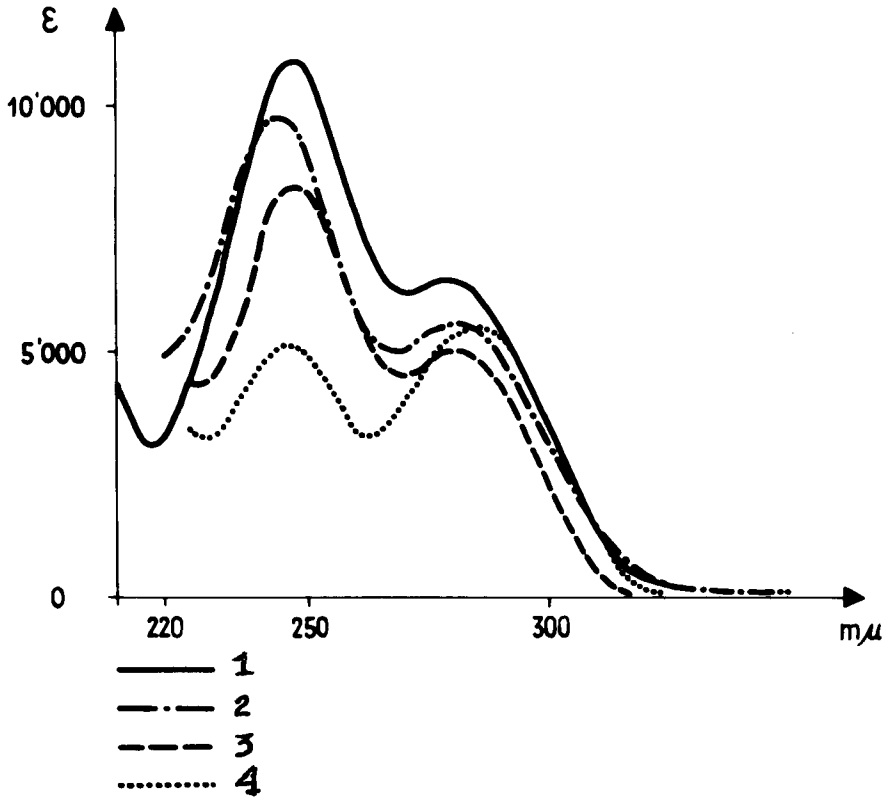


Fig. 8

UV.-Absorptionsspektrum von

1. iso-Petasol
2. iso-Petason
3. iso-Petasol in 0,278 n alkohol. KOH
4. iso-Petason in 0,278 alkohol. KOH

UV.-Absorptionsspektrum, das ein Maximum bei 286 mμ (ε = 38) aufwies (Fig. 11), bestätigt, und es war möglich, ein kristallisiertes Bis-2,4-dinitrophenylhydrazon mit Maximum bei 369 mμ (ε = 45700) herzustellen*). Die Oxydation der beiden Hydroxylgruppen findet mit unterschiedlicher Geschwindigkeit statt, denn es gelang uns, aus den Mutterlaugen des Dions ein Tetrahydro-iso-petason als 2,4-Dinitrophenylhydrazon*) mit Maximum bei 365 mμ (ε = 15650) zu isolieren. Eine einzelne starke Bande bei 1723 cm^{-1} im Infrarot (Fig. 12) gibt uns den ersten Hinweis, dass auch der zweite

*) Vgl. experimenteller Teil.

Carbonylsauerstoff, der in iso-Petasol die chromophore Gruppe bildet, an einem sechsgliedrigen Ringsystem substituiert sein könnte.

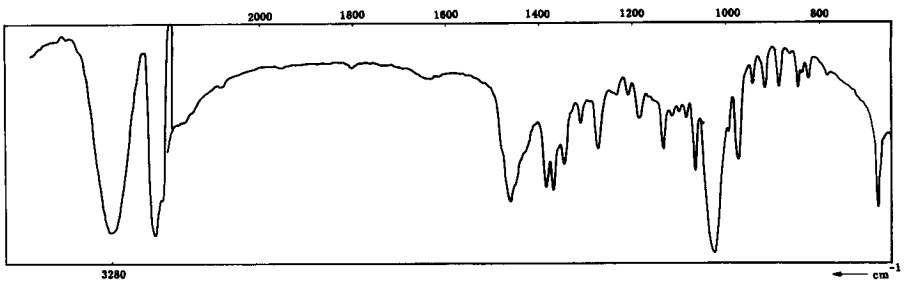


Fig. 9

IR.-Absorptionsspektrum von mit Natrium und Propanol reduziertem iso-Peasol*)

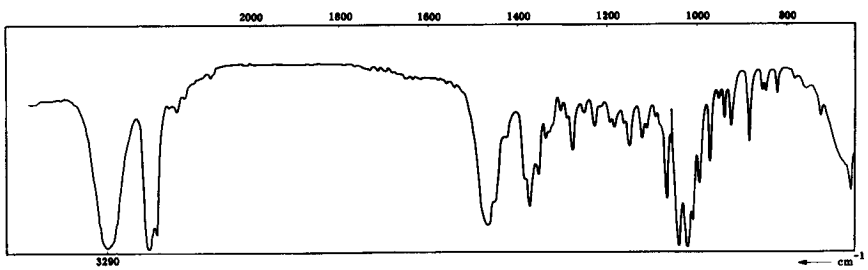


Fig. 10

IR.-Absorptionsspektrum von Tetrahydro-iso-petasol*)

*) in KBr aufgenommen.

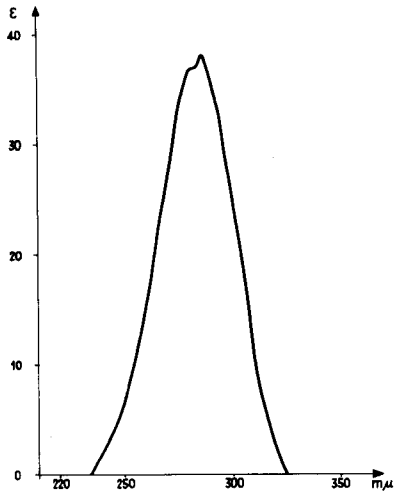


Fig. 11

UV. -Absorptionsspektrum von Dihydro-iso-petasoldion

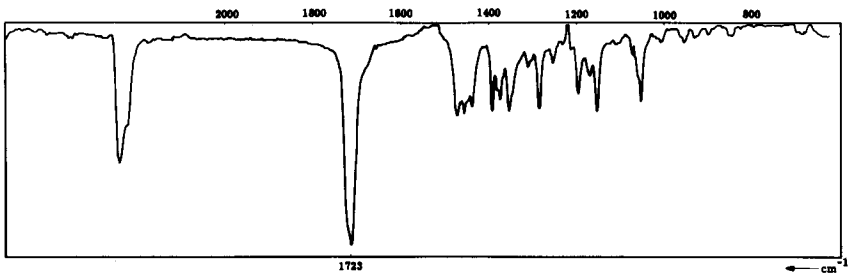


Fig. 12

IR. -Absorptionsspektrum von Dihydro-iso-petasoldion

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass iso-Petasol bicyclisch ist, eine sekundäre OH-Gruppe, eine etwas reaktionsträge Carbonylgruppe und zwei Doppelbindungen besitzt. Die zwei Doppelbindungen bilden mit der Carbonylgruppe wahrscheinlich die für iso-Petasol und somit auch für iso-Petasin charakteristische chromophore Gruppe. Beide Sauerstoffunktionen sind an sechs- oder siebengliedrigen Ringsystemen substituiert.

Des-isopropyliden-petasol

Einen ersten Einblick in die Struktur der chromophoren Gruppe gab uns der Alkaliabbau von iso-Petasol, der in quantitativer Ausbeute 1 Mol Aceton und eine neue Verbindung, Des-isopropyliden-petasol, lieferte. Die Summenformel $C_{12}H_{18}O_2$ zeigt den Verlust von 3 C-Atomen und 4 Wasserstoffatomen, sodass summarisch betrachtet, das Sauerstoffatom zur Bildung des Acetons von der Reaktionslösung geliefert werden muss. Des-isopropyliden-petasol besitzt im Ultraviolett nunmehr ein Maximum bei 237 mμ (ε = 17520) sowie ein Vormaximum bei 314 mμ (ε = 59) und zeigt ein dem "Petasin minus Angelicasäure" fast identisches Kurvenbild (Fig. 13, vgl. auch Petasin Fig. 1). Die leichte Bildung eines 2,4-Dinitrophenylhydrazons mit einem der Maxima bei 386 mμ (ε = 29340) unterstützt die Tatsache, dass die Acetonabspaltung eine α,β-ungesättigte Ketogruppe als chromophores System zurückbildete. Die Schwerlöslichkeit dieser Substanz gestattete nur eine Aufnahme des IR.-Spektrums in Kaliumbromid und in Dichlormethylen und zeigte neben der OH-Bande bei 3290 cm^{-1} auch die Bande des α,β-ungesättigten Carbonylsystems bei 1670 cm^{-1}, sowie eine Bande bei 875 cm^{-1}. Erwartungsgemäss liess sich Des-isopropyliden-petasol zu einem kristallisierten Monoacetat der Formel $C_{14}H_{20}O_2$ acetylieren und bildete nach milder Oxydation mit Chromsäure in Eisessig Des-isopropyliden-petason der Formel $C_{12}H_{16}O_2$. Dieses Keton zeigte keine Veränderung der Absorption der Enongruppierung im Ultraviolett (Fig. 13), nur das Vormaximum bei 314 mμ wird durch die Addition der neugebildeten isolierten Ketogruppe nicht mehr deutlich sichtbar. Das 2,4-Dinitrophenylhydrazon besitzt eines der Maxima bei 381 mμ (ε = 51650) und weist nach der Summenformel auf ein Bis-2,4-dinitrophenylhydrazon hin, dessen Maxima sich aus der Addition der Hydrazone eines gesättigten und eines ungesättigten Carbonylsystems ergeben. Es ist interessant, das Infrarotspektrum von Des-isopropyliden-petason (Fig. 14) mit demjenigen von Petasin (Fig. 2) und iso-Petason (Fig. 7) zu vergleichen. Die Ketone zeigen die Bande der isolierten Carbonylgruppe eines sechs- oder siebengliedrigen Ringsystems bei 1721 cm^{-1} (Fig. 7) und 1723 cm^{-1} (Fig. 14). Die aus zwei Doppelbindungen und einer Ketogruppe bestehende chromophore Gruppe von iso-Petason (Fig. 7) mit Banden bei 1667 cm^{-1} und 1632 cm^{-1} finden sich nach der Acetonabspaltung nicht mehr. Sie sind ersetzt durch Banden bei 1681 cm^{-1} und 1623 cm^{-1} (Fig. 14), wie wir sie vor der Isomerisierung bei Petasin (Fig. 2) antreffen. Schliesslich könnte die Bande bei 869 cm^{-1} ein trisubstituierte Doppelbindung bedeuten. Wir werden nochmals darauf zurückkommen. Auch hier ergänzen sich die Infrarotdaten mit der Interpretation der UV.-Absorptionsspektren, dass Des-isopropyliden-petasol eine α,β-ungesättigte Ketogruppe besitzt.

Das folgende Schema soll eine Uebersicht über die wichtigsten der bisher besprochenen Reaktionen von iso-Petasol geben:

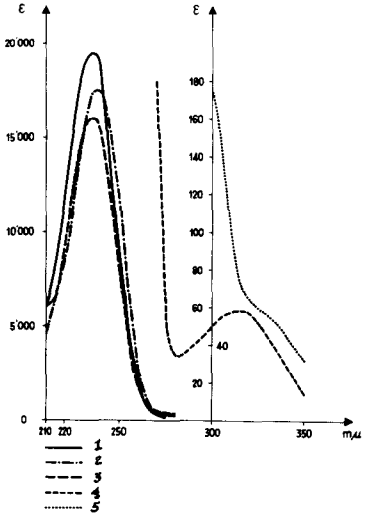


Fig. 13

UV.-Absorptionsspektrum von

1. Petasin weniger Angelicasäure
2. Des-isopropyliden-petasol
3. Des-isopropyliden-petason
4. Des-isopropyliden-petasol
5. Des-isopropyliden-petason

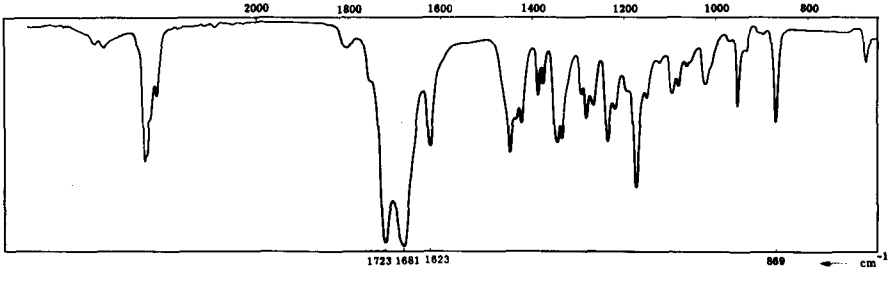
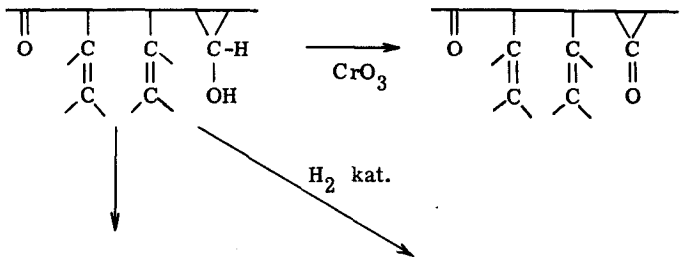


Fig. 14

IR.-Absorptionsspektrum von Des-isopropyliden-petason

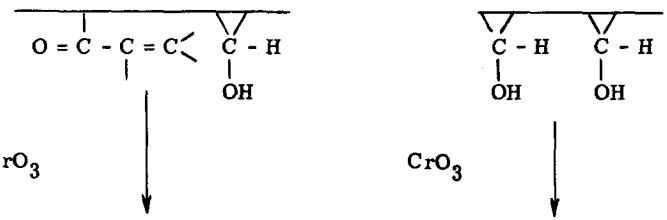
iso-Petasol $C_{15}H_{22}O_2$
Smp. 126 - 127° $[\alpha]_D = +110°$

iso-Petason $C_{15}H_{20}O_2$
Smp. 115 - 117° $[\alpha]_D = +33°$



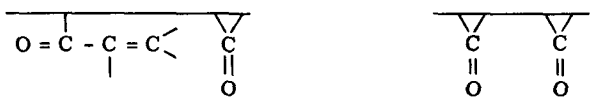
Des-isopropyliden-petasol
$C_{12}H_{18}O_2$ + Aceton
Smp. 102 - 103°
$[\alpha]_D = +177°$

Hexahydro-iso-petasol
nicht kristallin

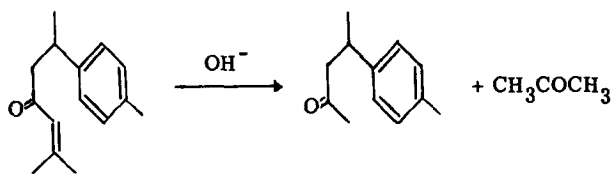


Des-isopropyliden-petason
$C_{12}H_{16}O_2$
Smp. 99,5 - 100° $[\alpha]_D = +96°$

Dihydro-iso-petasoldion
$C_{15}H_{24}O_2$
Smp. 107 - 108° $[\alpha]_D = +57°$

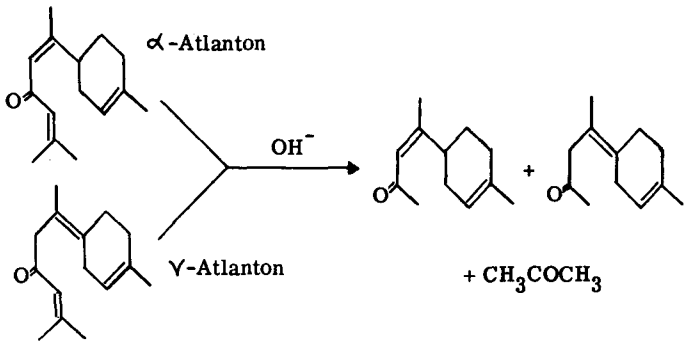


Es sind Beispiele der Sesquiterpenreihe bekannt, wo nach Behandlung von ungesättigten Carbonylsystemen mit Alkali eine Acetonabspaltung stattfand. Das aromatische Keton ar-Turmeron spaltet sich auf diese Weise in Curcumon und Aceton[18].

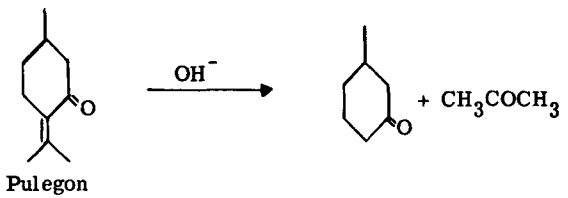


ar-Turmeron Curcumon

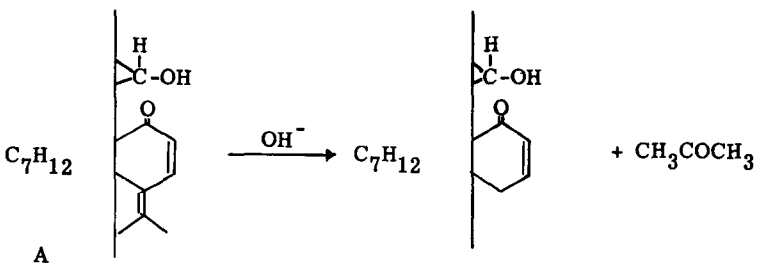
Auch α- und γ-Atlanton geben in Gegenwart von Alkali eine analoge Reaktion[19].

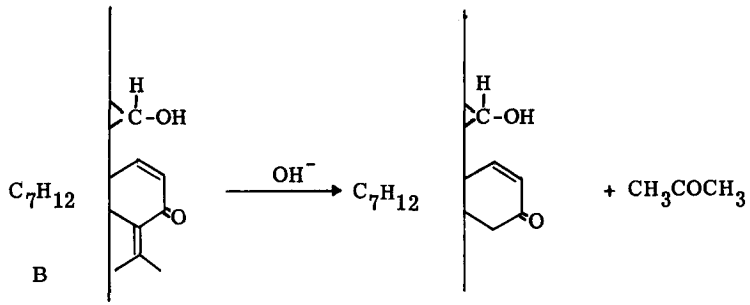


Von den Monoterpenen gibt Pulegon ein gutes Beispiel der Acetonabspaltung in Alkali[20].

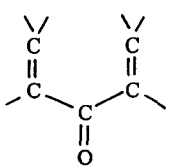


Auf Grund dieser Ueberlegungen würden sich für die Struktur der chromophoren Gruppe von iso-Petasol die zwei Möglichkeiten A und B ergeben, die beide den Resultaten der Acetonabspaltung unter Bildung von Des-isopropyliden-petasol in Gegenwart von Alkali gerecht werden.

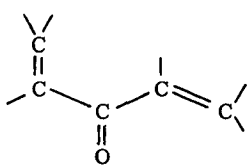




Die Carbonylbande im Infrarot bei 1667 cm^{-1} (Fig. 3 und 7) lässt keinen Entscheid zu, da sowohl Dienon (A) als auch Enonene (B) bei 1660 - 1670 cm^{-1} absorbieren[21]. Im Ultraviolett besitzen Dienone im allgemeinen ein einzelnes Maximum bei 260 - 300 $m\mu$ je nach der Anzahl der Substituenten der chromophoren Gruppe. Doch besteht die Möglichkeit, dass infolge sterischer Hinderung ein Dienon eine Enonbande und eine Dienonbande im Ultraviolett ausbildet[22]. Die Dienonbande besitzt aber eine etwa zweifache Extinktion der Enonbande, was mit der UV-Absorption der isomerisierten chromophoren Gruppe in iso-Petasin (Fig. 1), iso-Petasol und seinem Keton (Fig. 4) nicht übereinstimmt. Spring und Mitarb.[23] unterscheiden zwischen einer ditransoiden und einer cisoid-transoiden Geometrie von Enonenen auf folgende Weise:



ditransoid

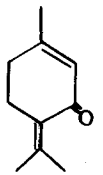


cisoid-transoid

Ditransoide Gruppierungen zeigen mit kleinen Unterschieden ein einzelnes Absorptionsmaximum bei 240 $m\mu$[24]. Hingegen besitzt das cisoid-transoide Chromophor zwei Maxima bei 256 - 261 $m\mu$ (ε = 8600 - 11000) und 287 - 296 $m\mu$ (ε = 7400 - 10200). Diese Werte wurden an entsprechenden chromophoren Gruppen in starren Triterpengerüsten gemessen. Die Verbindung Piperitenon diente uns als Modell zum Vergleich mit der chromophoren Gruppe von iso-Petasol*). Wir vergleichen in der folgenden Tabelle die Daten von iso-Petasin, iso-Petasol, iso-Petason und Piperi-

*) Wir möchten an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. V. Prelog (ETH. Zürich), der uns auf diese Verbindung aufmerksam machte, bestens danken.

tenon*). Das UV.-Absorptionsspektrum von Piperitenon (Fig. 15) und seinem 2,4-Dinitrophenylhydrazon ist mit der Absorption der chromophoren Gruppe von iso-Petasin, iso-Petasol und iso-Petason praktisch identisch. Im weniger typischen Infrarotspektrum (Fig. 16) besitzt Piperitenon eine Bande bei 1663 cm^{-1} für die Enonengruppierung, die sich bei 1667 cm^{-1} unserer Vergleichspräparate wiederfindet. Die Bande bei 875 cm^{-1} sind wir geneigt der trisubstituierten Doppelbindung der Piperitenons zuzuweisen. Diese Bande möchten wir vorläufig mit derjenigen bei 869 cm^{-1} von Des-isopropyliden-petason (Fig. 14) identifizieren und werden später nochmals darauf zurückkommen.



Piperitenon

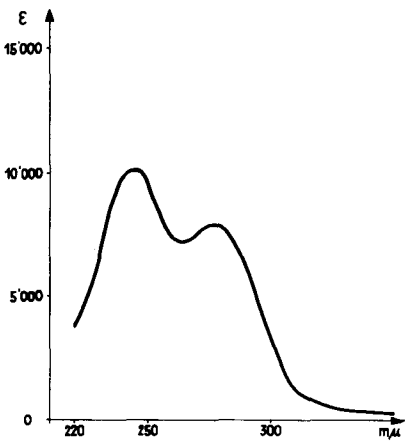


Fig. 15

UV.-Absorptionsspektrum von Piperitenon

*) Herr Dr. Y.R. Naves hat uns eine grössere Menge an Piperitenon und dessen 2,4-Dinitrophenylhydrazon zur Verfügung gestellt, wofür wir nochmals bestens danken vgl. Y. R. Naves, Bull.Soc.chim.France 370 (1951).

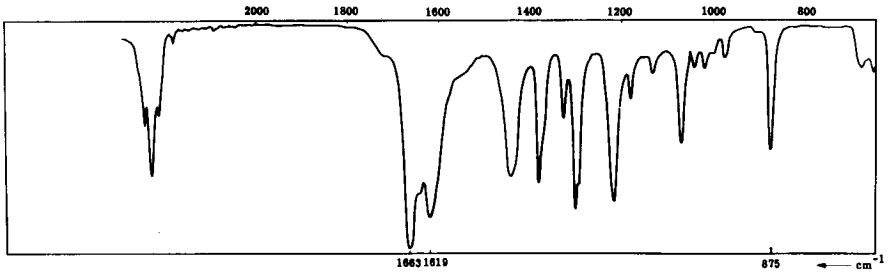


Fig. 16

IR.-Absorptionsspektrum von Piperitenon

Tabelle 2

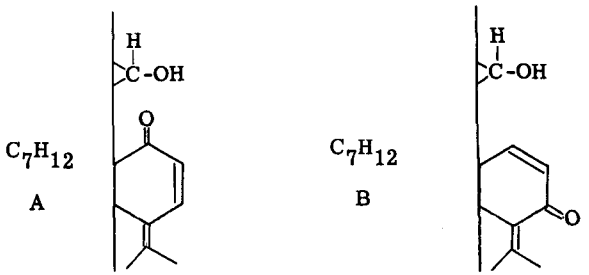
Vergleich der Spektren der chromophoren Gruppen mit Piperitenon

	iso-Petasin	iso-Petasol	iso-Petason	Piperitenon
Ultraviolett Chromophor	243 mμ *) ε = 14600 und 280 mμ *) ε = 7800	245 mμ ε = 13350 und 280 mμ ε = 7460	243 mμ ε = 12930 und 280 mμ ε = 6790	243 mμ ε = 10220 und 278 mμ ε = 7900
2,4-Dinitrophenylhydrazon	255 mμ ε = 19680 und 391 mμ ε = 29840	reagiert nicht	236 mμ **) ε = 22470 und 362 mμ **) ε = 23170	256 mμ ε = 17000 und 392 mμ ε = 27090
Infrarot C = C C = C - C - C = C ‖ O	1630 cm^{-1} 1667 cm^{-1}	1628 cm^{-1} 1667 cm^{-1}	1632 cm^{-1} 1667 cm^{-1}	1619 cm^{-1} 1663 cm^{-1}

*) Angelicasäure subtrahiert.

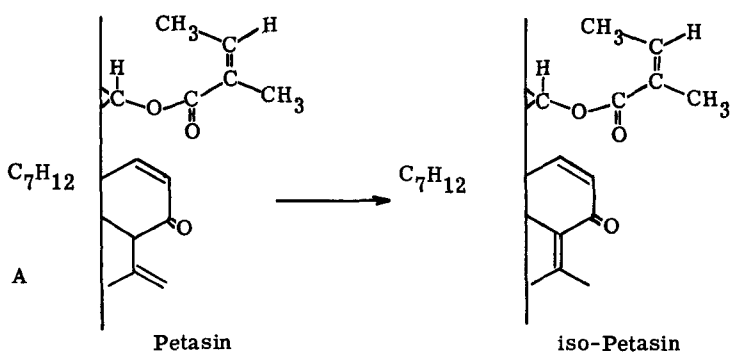
**) Nur die isolierte Ketogruppe hat reagiert.

Auf Grund dieser Argumente ziehen wir für iso-Petasol die Partialstruktur B vor. Struktur A sollte nach Reduktion mit $LiAlH_4$ ein Dien, hingegen B eine Verbindung mit zwei isolierten Doppelbindungen liefern [25].

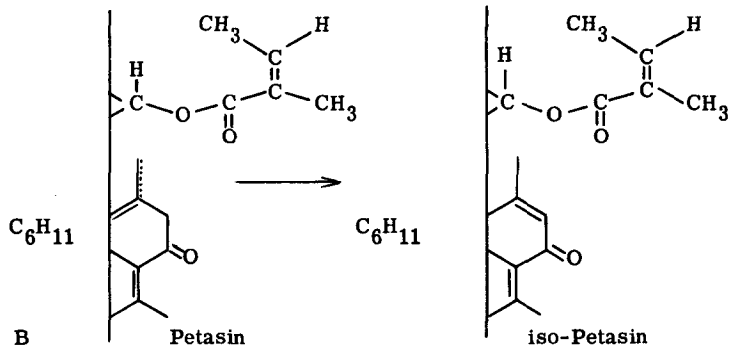


Die Reduktion von iso-Petasol mit $LiAlH_4$ gab aber keine kristallisierte Verbindung. Das UV.-Absorptionsspektrum des Rohproduktes (Fig. 17) besass ein Maximum bei 248 mμ (ε = 6200). Die Bande bei 1680 cm^{-1} des Rohproduktes im Infrarot (Fig. 18) bestätigt die Vermutung, dass sich bei der Reduktion mit $LiAlH_4$ kein Dien, wohl aber neben anderen Produkten ein α,β-ungesättigtes Keton gebildet hat, was die Partialstruktur A für iso-Petasol ebenfalls ausschliessen würde.

Mit diesen Ergebnissen sind wir nun so weit fortgeschritten, um zum Problem der Isomerisierung von Petasin zu iso-Petasin zurückzukehren. Wir erkennen die Tatsache, dass die α,β-ungesättigte Carbonylgruppe des Petasins in Gegenwart von Säuren oder Basen mit einer neuen Doppelbindung unter Ausbildung einer cisoid-transoiden Enonengruppierung in Konjugation tritt*). Dieser Isomerisierungsvorgang lässt sich nach den beiden Möglichkeiten A und B formulieren:



*) Ueber ähnliche Isomerisierungsvorgänge, besonders in Gegenwart von Al_2O_3 vgl. E. Lederer & M. Lederer Chromatography (Elsevier Publ.Comp. 1955). S. 277.



B Petasin iso-Petasin

Für Petasin, formuliert nach Schema B liesse sich ein Absorptionsmaximum im Ultraviolett bei 254 mμ ± 5 mμ berechnen[26], was mit dem gefundenen Wert (Fig. 1) bei 230 mμ resp. 236 mμ (Fig. 1) nicht übereinstimmt. Hingegen liesse sich Petasin nach Schema A formuliert, mit einem zusätzlichen Substituenten in α- oder β-Stellung vergleichen.

Ueber die quantitative und semiquantitative Ozonspaltung von Petasin, iso-Petasin, iso-Petasol und Des-isopropyliden-petasol*) zur Bestimmung der Mengen an gebildetem Formaldehyd bzw. Aceton orientiert die folgende Tabelle.

Tabelle 3

Ozonspaltung von Petasin und Abbauprodukten

Ozonspaltung von	Semiquantitative Bestimmung von Aceton	Quantitative Bestimmung von Formaldehyd in Mol%
Petasin	Spuren **)	107 - 111 %
iso-Petasin	ca. 1 Mol	1,5 - 7 %
iso-Petasol	ca. 1 Mol	1,4 - 3,5 %
Des-isopropyliden-petasol	Spuren	6,2 - 11,4 %

In anschaulicher Weise zeigen diese Bestimmungen, dass Petasin kein Aceton, wohl aber 1 Mol Formaldehyd abspaltet. Nach der Isomerisierung zeigen iso-Petasin und iso-Petasol, die dasselbe Chromophor enthalten, nur Bildung von Aceton. Nach der alkalischen Spaltung besitzt das Molekül keine Isopropylidengruppe mehr, sondern nur das schon im Petasin festgestellte α,β-ungesättigte Carbonylsystem, das jetzt weder

*) Vgl. experimenteller Teil.
**) Der vom Angelicasäurerest gebildete Acetaldehyd gab ein 2,4-Dinitrophenylhydrazon vom Smp. 160 - 165° (vgl. experimenteller Teil).

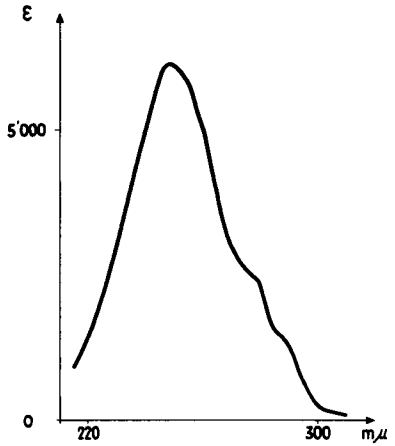


Fig. 17

UV.-Absorptionsspektrum von Rohprodukt nach $LiAlH_4$-Reduktion von iso-Petasol

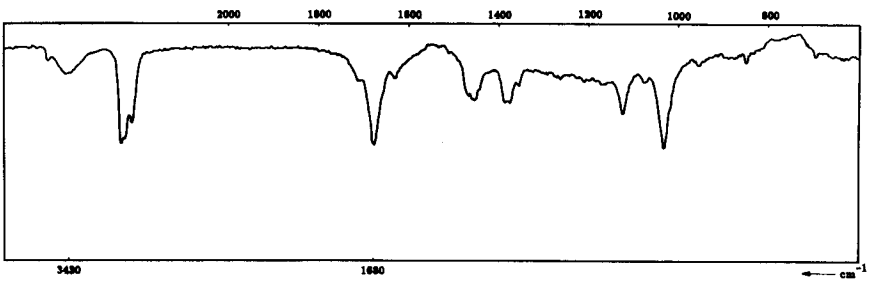
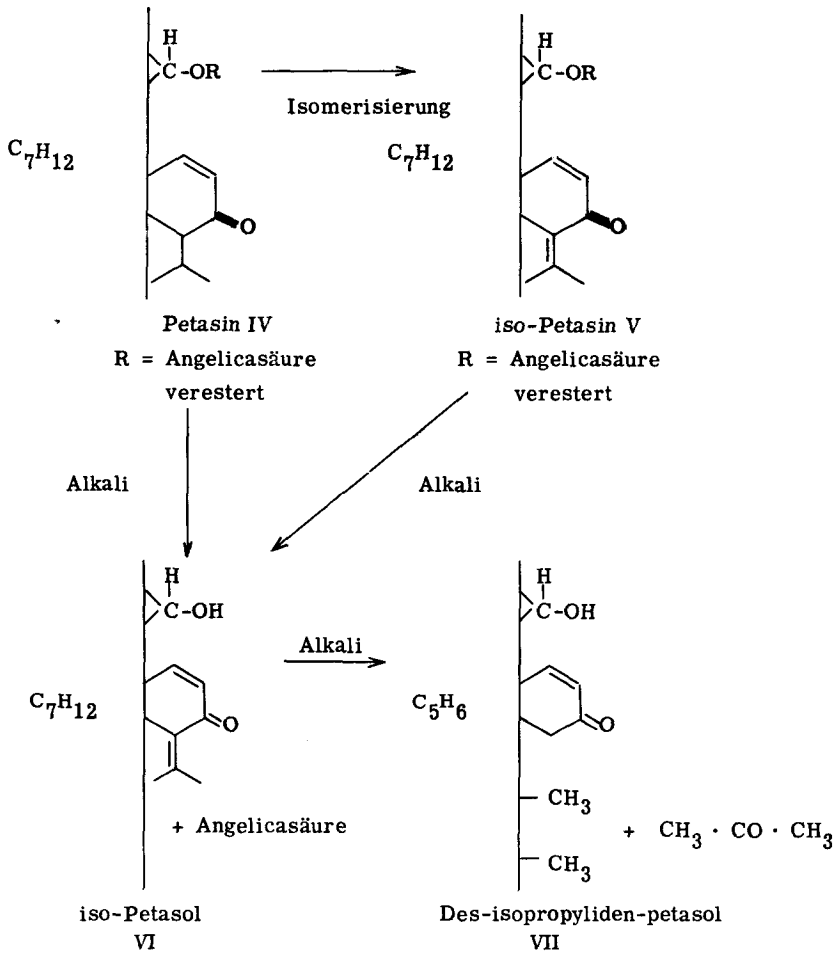


Fig. 18

IR.-Absorptionsspektrum von Rohprodukt nach $LiAlH_4$-Reduktion von iso-Petasol

Aceton noch Formaldehyd liefern kann. Mit Schema A lassen sich diese Resultate sehr gut interpretieren, mit Schema B hingegen lässt sich keine Uebereinstimmung feststellen. Es ist nun möglich, die Partialstruktur IV für Petasin sowie den Verlauf der Isomerisierung zu iso-Petasin V zu formulieren. Die Partialstruktur VI für iso-Petasol ergibt sich ebenfalls aus diesen Ueberlegungen. Des-isopropyliden-petasol enthält die Partialstruktur VII, wobei die Gegenwart der beiden Methylgruppen vorläufig aus

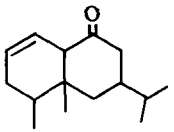
der C-Methylbestimmung nach Kuhn-Roth postuliert wird.



g) Selendehydrierung und Vorschlag einer Struktur

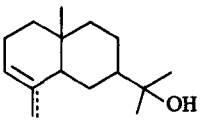
Wie wir oben erwähnt haben, deuten IR.-Spektren auf ein bicyclisches System. Da die Isopropylen- resp. Isopropylidengruppen bei Petasin - resp. iso-Petasin und iso-Petasol eindeutig nachgewiesen sind, sollte für diese Verbindungen als Dehydrierungsprodukt ein Isopropylnaphtalingerüst in Frage kommen. In der Literatur sind mehrere Naturstoffe von diesem Typus beschrieben worden*), z.B.:

*) Vgl. auch L. Zechmeister Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe (Wien-Springer Verlag) 1955 S. 1.



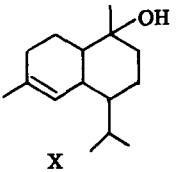
VIII

Eremophilon



IX

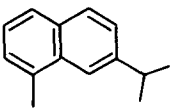
α-β-Eudesmol



X

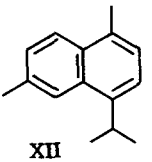
α-Cadinol

VIII und IX geben bei der Dehydrierung Eudalin XI (1.-Methyl 7.-isopropylnaphtalin). Bei Dehydrierung von X entsteht Cadalin XII (1.6.-Dimethyl 4.-isopropylnaphtalin).



XI

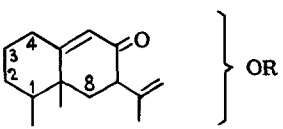
Eudalin



XII

Cadalin

Wir haben Hexahydro-iso-petasol mit Selen dehydriert. Es entstand ein schwer trennbares Gemisch von mindestens zwei Kohlenwasserstoffen, dessen 1.3.5-Trinitrobenzolat, als auch das Pikrat nach mehrmaligem Umkristallisieren gereinigt. Die Schmelzpunkte waren praktisch gleich den entsprechenden Derivaten von authentischem Eudalin, und die Mischproben zeigten auch keine Depression*). Der zweite Kohlenwasserstoff liess sich nicht mit Sicherheit identifizieren**). Bei den Schmelzpunkten von Derivaten verschiedener Tri- und Tetramethylnaphtaline konnten Ruzicka und Mitarb.[27] in einigen Fällen das Ausbleiben von Depressionen beim Mischen verschiedener Pikrate feststellen. Die Autoren wiesen darauf hin, dass man mit Vorsicht Pikrate auf Grund ihrer Mischproben identifizieren darf. In unserem Fall konnten wir keine Depression der Mischproben der Pikrate und 1.3.5-Trinitrobenzolate feststellen. Bei der Dehydrierung von VIII und IX wird in beiden Fällen die anguläre Methylgruppe abgespalten, und wir glauben aus analogen Gründen, dass dies auch bei der Dehydrierung von iso-Petasol der Fall ist. Für das cisoide-transoide Enonensystem kommt das Eremophilongerüst in Frage, und damit für Petasin die folgende Struktur:



XIII R = Angelicasäure verestert

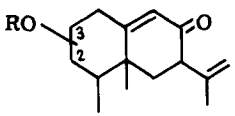
*) Wir möchten an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. O. Jeger (ETH, Zürich), der uns reines Eudalin zur Verfügung stellte, herzlich danken.

**) Herr Dr. A. Aebi hat die Dehydrierung wiederholt, wo er die beiden Kohlenwasserstoffe als Eudalin und β-Isopropylnaphtalin identifizieren konnte.

Die theoretische Berechnung der Maxima im Ultraviolett für diese Struktur ergibt 240 mμ ± 5 mμ, so dass wir mit den gefundenen Werte von 236 mμ (Fig. 1) und 237 mμ für Des-isopropyliden-petasol (Fig. 13) eine gute Uebereinstimmung haben, was auch im Infrarot unterstützt wird, wo für Petasin (Fig. 2), Des-isopropyliden-petasol, und Des-isopropyliden-petason (Fig. 14) die Banden bei 845 cm^{-1}, 875 cm^{-1} und 869 cm^{-1} mit derjenigen bei 875 cm^{-1} für eine trisubstituierte Doppelbindung von Piperitenon (Fig. 16) vergleichen werden können.

Die eindeutige Lage der sekundären OH-Gruppe kann mit Sicherheit nicht festgelegt werden. Die Stellungen am C_8 und C_4 kommen nicht in Betracht, denn nach der Oxydation dieser OH-Gruppe entsteht nach UV. - und IR. Spektren eine isolierte Ketogruppe. Für die sekundäre OH-Gruppe verbleiben somit noch die Stellungen am C_2 und C_3, sodass wir für Petasin und S-Petasin sowie für die isomerisierten Verbindungen die folgenden Strukturen vorschlagen möchten.

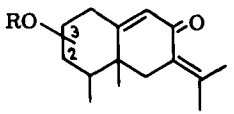
Petasin-Reihe



XIV

Name:	R:
Petasin	Angelicasäurerest
S-Petasin	β-Methylthioacrylsäurerest

iso-Petasin-Reihe



XV

Name:	R:
iso-Petasin	Angelicasäurerest
iso-S-Petasin	β-Methylthioacrylsäurerest
iso-Petasol	H

C. EXPERIMENTELLER TEIL

Sämtliche Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind korrigiert. Wir danken Herrn Dr. Lehner (Dr. A. Wander AG., Bern) und Herrn Manser (Org. Chem. Institut der ETH, Zürich) für die Ausführung der Mikroanalysen.

I. Vorversuche zur Extraktion, zur Bestimmung der Stabilität des Extraktes und zur Chromatographie

Die Ausläufer und Wurzeln von Petasites hybridus wurden sofort nach dem Sammeln von Erde befreit, grob zerschnitten, bei Zimmertemperatur getrocknet und in der Schlagmühle fein pulverisiert. Die pulverisierte Droge wurde in zwei Portionen von je 1 kg mit je 5 Litern Alkohol bei Zimmertemperatur während 24 bis 48 Stunden mazeriert. Jede Portion wurde mit insgesamt 30 Litern Alkohol extrahiert. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden im Wasserstrahlvakuum bei einer Wasserbadtemperatur von ca. 45° bis zur Honigkonsistenz eingedampft. Ausbeute 150 g (ca. 7,5% auf Droge berechnet), dunkelbraunes, bitteres Oel, das nur Spuren von Lösungsmitteln enthielt (= Extrakt-Vorversuch).

Zur Ausführung der folgenden Vorversuche wurden 1,2 g Extrakt in 160 cm^3 Methanol gelöst, was einer 10 %igen Lösung auf die Droge berechnet entspricht.

a) Erhitzen der Extraktlösung während 12 Stunden: 30 cm^3 der Extraktlösung wurden auf dem Wasserbad während 12 Stunden am Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde im Vakuum auf 5,0 cm^3 eingeengt.
Spasmolytische Wirksamkeit: +++ (unverändert).

b) Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure: Ein Gemisch von 30 cm^3 der Extraktlösung und 3 cm^3 10 %ige Schwefelsäure wurden auf dem Wasserbad am Rückfluss während 45 Minuten erhitzt. Nach einiger Zeit entstand eine grüne Farbe. Nach dem Erkalten wurde mit 2 n-Natronlauge neutralisiert und im Vakuum bei 45° eingedampft. Der Rückstand wurde mit ca. 10 cm^3 Methanol unter mildem Erwärmen extrahiert und im Vakuum auf 5,0 cm^3 eingeengt.
Spasmolytische Wirksamkeit: +++ (unverändert).
Der Rückstand wurde in 21,0 cm^3 Wasser aufgeschlämmt, zeigte aber keine spasmolytische Wirkung.

c) Erhitzen mit verdünnter Sodalösung: Ein Gemisch von 30 cm^3 Extraktlösung und 4 cm^3 10 %ige Sodalösung wurde auf dem Wasserbad am Rückfluss während 45 Minuten

erhitzt. Es entstand eine braunrote Farbe. Nach dem Erkalten wurde mit 2 n-Schwefelsäure neutralisiert. Nach dem Eindampfen im Vakuum bei 45° mit 10 cm^3 Methanol, wie oben erwähnt, wurde extrahiert und die Lösung auf 5,0 cm^3 eingeengt.
Spasmolytische Wirksamkeit: 0 (völliger Verlust).
Der Rückstand in 21,0 cm^3 Wasser aufgeschlämmt, zeigte ebenfalls keine spasmolytische Aktivität.

d) Einwirkung von frisch gefälltem Bleihydroxyd: 48 cm^3 der Extraktlösung wurden mit 30 cm^3 Wasser gemischt und mit frisch aus 4 g Blei-acetat-trihydrat mit der berechneten Menge verdünnter Natronlauge kalt gefälltem und mit destilliertem Wasser gewaschenem Bleihydroxyd versetzt und 8 Minuten energisch geschüttelt. Dann wurde etwas Kieselgur zugegeben, durch eine Schicht desselben Materiales abgenutscht und dreimal mit je 25 cm^3 50 %igem Alkohol nachgewaschen. Das leicht alkalische, klare Filtrat wurde mit 2 n-Schwefelsäure bis eben zur neutralen Reaktion versetzt, durch die Kieselgurschicht abgenutscht und bei 45° im Vakuum eingedampft. Nach Zugabe von 15 cm^3 Methanol wurde unter mildem Erwärmen geschüttelt. Die methanolische Lösung wurde im Vakuum bei 45° bis auf 8,0 cm^3 eingeengt.
Spasmolytische Wirksamkeit: +++ (unverändert)

e) Einwirkung von Aluminiumoxyd während 120 Stunden: 0,60 g Extrakt wurden in 16 cm^3 Methanol gelöst und in eine mit 50 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) präparierte Säule eingegeben, mit etwas Methanol nachgespült, 120 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschliessend mit 500 cm^3 einer Mischung Methanol-Alkohol (1 : 1) eluiert. Das Eluat wurde im Vakuum bei 45° eingedampft und in 14,0 cm^3 Methanol gelöst.
Spasmolytische Wirksamkeit: ++(+) (etwas herabgesetzt).

f) Chromatographie des Extraktes, Vorversuch auf Silicagel: 2,00 g Extrakt wurden auf 60 g Silicagel chromatographiert, wobei mit je 200 cm^3 Lösungsmittel eluiert wurde.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Verdampfungsrückstand mg	Aussehen
1	Benzol	58,0	gelbes Oel, teilw. krist.
2	"	21,5	"
3	"	17,0	"
4	Benzol-Chloroform (9 : 1)	23,0	"
5	"	17,0	"
6	"	8,5	"
7	Benzol-Chloroform (4 : 1)	15,0	"
8	"	34,0	gelbes Oel, etwas krist.
9	"	48,0	gelbes Oel
10	Benzol-Chloroform (1 : 1)	69,0	"

11	Benzol-Chloroform (1 : 1)	161,0	grünes Oel
12	"	99,5	"
13	Chloroform	11,5	gelbbraunes Oel
14	"	12,5	"
15	"	6,5	"
16	Chloroform-Methanol (99 : 1)	8,5	"
17	"	15,0	"
18	"	12,0	"
19	Chloroform-Methanol (99 : 5)	16,5	"
20	"	21,0	"
21	"	5,5	"
22	Chloroform-Methanol (9 : 1)	53,5	braun, amorph
23	"	19,5	"
24	"	11,5	"
25	Chloroform-Methanol (4 : 1)	39,0	gelbe Kristalle
26	"	42,5	grüngelbe Kristalle
27	"	39,5	braune Kristalle
28	Chloroform-Methanol (1 : 1)	85,0	"
29	"	225,5	"
30	"	64,5	"
31	Methanol	171,5	"
32	"	34,0	"
33	"	22,0	braun, amorph
34	Methanol m. 0,1% Essigsäure	23,5	"
35	"	111,0	gelblich. amorph
36	"	77,5	braun, amorph
37	Methanol m. 0,5% Essigsäure	51,0	"
38	"	40,0	grünlich, amorph
39	"	21,5	"
40	Methanol m. 1,0% Essigsäure	32,5	"
41	"	23,0	"
42	"	17,5	"
43	Methanol m. 2,0% Essigsäure	12,5	"
44	"	13,5	"
45	"	6,5	"

Die nachfolgenden bezeichneten Fraktionen wurden vereinigt und in 40 cm^3 Methanol aufgeschlämmt bzw. gelöst. Die spasmolytische Wirksamkeit wird wie üblich bei diesen Vorversuchen von 0 bis +++ angegeben. Ueber das Resultat orientiert folgende Tabelle:

Vereinigte Fraktionen	Spasmolytische Wirksamkeit
1 - 5	0
6 - 7	0
8 - 10	+++
11 - 12	+
13 - 21	+
22 - 24	0
25 - 27	0
28 - 30	0
31 - 34	0
35 - 37	0
38 - 45	0

II. Hauptversuch zur Extraktion und Isolierung von Petasitessubstanzen

a) Extraktion einer grösseren Menge an Wurzeln: 15 kg fein zermahlene Wurzeln von Petasites hybridus wurden dreimal mit 40 - 45 Litern Alkohol bei 18° und zweimal mit der gleichen Menge Alkohol bei 18°, aber mit jeweils anschliessendem Erwärmen auf 60°, extrahiert. Die vereinigten alkoholischen Extrakte wurden im Vakuum bei 45 - 50° Badtemperatur eingedampft und gaben 935 g öligen Rückstand, der auf folgende Weise in zwei Portionen verarbeitet wurde. Ca. 465 g Extrakt wurden in 500 cm^3 Wasser und 1 Liter Chloroform aufgenommen und tüchtig geschüttelt. Die wässrige Phase passierte nach dem Abtrennen noch viermal je 800 cm^3 Chloroform und wurde anschliessend verworfen. Die Chloroformlösungen wurden mit 50 cm^3 Wasser nachgewaschen, nacheinander getrocknet, vereinigt und eingedampft. Von beiden Portionen erhielten wir auf diese Weise 572 g chloroformlöslichen Extrakt, der nach mehrmaliger Zugabe von Benzol und anschliessendem Eindampfen im Vakuum bei 45° von Chloroform und Wasser vollständig befreit wurde (Extrakt Hauptversuch).

b) Isolierung von β-Sitosterin, Petasin und S-Petasin:

Chromatographie I: 92 g Alkoholextrakt (Vorversuch) wurden auf 600 g Silicagel chromatographiert, jede Fraktion wurde mit je 1 Liter Lösungsmittel eluiert.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Verdampfungsrückstand mg	Aussehen
1	Benzol	1414,5	rotgelbes Oel
2	"	2576,0	grünliches, dickes Oel
3	"	2527,5	"
4	"	1864,0	"
5	"	1889,5	"
6	"	1476,0	do., teilweise. krist.
7	"	1147,0	"
8	"	1077,5	"
9	"	926,0	"
10	Benzol-Chloroform (9 : 1)	744,5	"
11	"	847,0	grüngelbes, dickes Oel
12	"	1016,5	gelbes Oel
13	"	790,0	"
14	"	572,5	"
15	"	578,5	"
16	"	488,0	"
17	"	410,5	"
18	"	590,5	"
19	"	512,5	"
20	"	328,0	"
21	"	399,0	"
22	"	408,5	"
23	Benzol-Chloroform (4 : 1)	1480,0	"

24	Benzol-Chloroform (4 : 1)	881,0	grüngelbes Oel
25	"	1064,0	grünes Oel
26	"	1117,0	"
27	"	556,5	"
28	"	292,5	" teilw. krist.
29	"	90,0	grünes Oel
30	"	67,5	

Untersuchung der Fraktionen 6 - 11 von Chromatographie I: Fraktion 7 wurde mit wenig Methanol versetzt und in der Wärme gelöst. Beim langsamen Abkühlen kristallisierte eine Substanz, die abgenutscht und mit einigen Tropfen vorgekühltem Methanol gewaschen wurde. Es resultierten farblose Plättchen, die bei 121 - 134° schmolzen. Die Mutterlauge wurde im Vakuum bei 45° eingedampft und gab aus Methanol noch eine kleine Menge Kristalle vom Smp. 126,5 - 135,5^{o}. Auf diese Weise wurden die übrigen Fraktionen 6 - 11 aufgearbeitet.

Fraktionsnummer	Smp. der ersten Kristallisation	Smp. der zweiten Kristallisation
6	126,0 - 134,0^{o}	126,5 - 135,5^{o}
7	121,0 - 134,0^{o}	121,0 - 134,5^{o}
8	119,0 - 134,5^{o}	121,0 - 134,0^{o}
9	121,0 - 132,0^{o}	131,0 - 136,0^{o}
10	117,0 - 131,0^{o}	116,0 - 131,0^{o}
11	132,5 - 135,0^{o}	

Misch-Smp. 6 und 11: 125,5 - 132,0^{o}

Misch-Smp. 6 und 10: 118,0 - 134,0^{o}

Die Kristalle aus den Fraktionen 7 - 11 wurden vereinigt und gaben ein Gewicht von 260 mg. Die Mutterlaugen 6 - 11 wurden ebenfalls vereinigt und gaben ein Gewicht von 6,286 g.

Die Reaktionen nach Hager-Salkowsky[28)] und Liebermann-Burchard[28)] auf Sterine wurden mit diesen Kristallen ausgeführt. Als Modellsubstanz wurde Cholesterin verwendet. Mit Hager-Salkowsky-Reagens entstand in beiden Fällen eine tiefrote Farbe und mit Liebermann-Burchard eine grüne Farbe.

Die Kristalle wurden mehrmals aus Methanol umkristallisiert, da eine energisch anhaftende Verunreinigung sich nur sehr schwer entfernen liess. Die annähernd reinen Kristalle schmolzen bei 136,0 - 138,5^{o}.

$$[\alpha]_D^{20} = -32,57^{o} \quad (C = 1,815 \text{ in Chloroform}).$$

Acetat: 45,5 mg dieser Kristalle wurden mit 2 cm^3 Pyridin und 2 c m^3 Essigsäureanhydrid versetzt und bei Zimmertemperatur während 48 Stunden stehen gelassen. Die Lösung wurde im Vakuum bei 45° zur Trockene eingedampft, in Aether aufgenommen und unter Kühlung mit einigen Stückchen Eis dreimal mit 5 cm^3 2n-Salzsäure, dreimal mit 5 cm^3 2n-Natriumkarbonat und zweimal mit je 5 cm^3 Wasser gewaschen. Die ätherische Lösung wurde über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Wir erhielten 46,5 mg kristallinisches Rohprodukt, das bei 116,0 - 122,0° schmolz. Die Kristalle wurden mehrmals aus Alkohol umkristallisiert und gaben farblose Plättchen, die bei 127,5 - 129,0° schmolzen.

$$[\alpha]_D^{20} = -39,58^\circ \qquad (C = 1,895 \text{ in Chloroform})$$

2,410 mg Substanz gaben 7,194 mg CO_2 und 2,536 mg H_2O

$C_{31}H_{52}O_2$	Ber.	C 81,52	H 11,48%
(456,73)	Gef.	C 81,46	H 11,78%

Aus den Fraktionen 6 - 11 wurde somit β-Sitosterin isoliert.

Chromatographie 6 - 11 auf Silicagel: Die verbleibende Mutterlauge 6 - 11 vom Gewicht 6,286 g wurde folgendermassen aufgetrennt: 1,877 g wurden auf 60 g Silicagel chromatographiert und jede Fraktion mit 200 cm^3 Lösungsmittel eluiert.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Verdampfungsrückstand mg	Aussehen
1	Petroläther	9,0	farbloses Oel
2	"	1,0	ölig
3	"	0,5	"
4	"	2,0	"
5	"	0,5	"
6	Petroläther-Benzol (9 : 1)	0,0	-
7	"	3,0	öliger Rückstand
8	"	0,5	"
9	"	0,5	"
10	"	0,5	"
11	"	1,0	"
12	Petroläther-Benzol (4 : 1)	1,5	"
13	"	1,5	"
14	"	0,5	"
15	"	0,0	-
16	Petroläther-Benzol (1 : 1)	1,0	-
17	"	2,5	farbloses Oel
18	"	6,5	"
19	"	8,0	"
20	Benzol	15,5	schwach gelbliches Oel
21	"	84,0	"
22	"	213,5	"

23	Benzol	239,0	schwach gelbliches Oel
24	"	212,0	"
25	"	131,0	gelbliches Oel
26	"	110,0	"
27	"	121,0	"
28	"	91,5	"
29	"	71,0	allmählich gelber
30	"	65,0	"
31	"	60,5	"
32	"	60,5	"
33	"	30,0	"
34	"	24,5	gelbes Oel
35	Benzol-Chloroform (9 : 1)	35,0	"
36	"	30,0	"
37	"	21,5	"
38	"	22,5	"
39	Benzol-Chloroform (4 : 1)	20,0	"
40	Chloroform	24,0	"
41	"	56,0	grünes, dickes Oel
42	"	22,0	"
43	"	10,0	"

Fraktion 22 gab aus Alkohol wenige Kristalle vom Smp. 131 - 136°, die mit dem isolierten β-Sitosterin keine Depression zeigten.

Die Fraktionen 21 - 29 wurden vereinigt und lieferten 1,026 g eines etwas gelb gefärbten Oeles. Versuche mit verschiedenen Lösungsmitteln, dieses Oel zur Kristallisation zu bringen, blieben vorläufig erfolglos. Eine Probe dieses Oeles wurde zur biologischen Prüfung eingeschickt; es zeigte eine sehr starke spasmolytische Wirksamkeit.

Chromatographie 6 - 11 auf Aluminiumoxyd: 1,978 g Mutterlauge der Fraktionen 6 - 11 wurden auf 60 g Aluminiumoxyd chromatographiert und jede Fraktion mit 200 cm^3 Lösungsmittel eluiert.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Verdampfungsrückstand mg	Aussehen
1	Petroläther	9,0	ölig
2	"	1,5	"
3	"	2,0	"
4	"	2,0	"
5	"	4,0	"
6	Petroläther-Benzol (9 : 1)	3,0	"
7	"	4,0	gelbl. Kristalle
8	"	10,0	"
9	"	14,0	"
10	Petroläther-Benzol (4 : 1)	14,0	"
11	"	23,5	"
12	"	30,0	" Smp. ca. 92°
13	"	26,0	"

14	Petroläther-Benzol (4 : 1)	28,0	gelbl. Kristalle
15	"	23,5	"
16	"	20,0	"
17	"	21,5	" Smp. 86 - 95°
18	"	21,5	"
19	"	20,5	"
20	"	18,5	"
21	"	16,5	"
22	"	15,0	"
23	"	15,0	"
24	"	13,0	"
25	"	12,5	"
26	Petroläther-Benzol (1 : 1)	42,5	"
27	"	59,0	"
28	"	49,5	" Smp. 60 - 82°
29	"	34,0	"
30	"	31,0	"
31	"	32,5	"
32	"	30,0	"
33	"	21,5	"
34	"	19,5	"
35	"	18,0	"
36	"	15,0	" Smp. 62 - 84°
37	Benzol	59,0	"
38	"	52,5	"
39	"	40,0	"
40	"	51,5	"
41	"	40,0	" Smp. 65 - 89°
42	"	39,5	" Smp. 67 - 86°
43	"	43,0	"
44	"	35,0	"
45	"	37,0	gelb, ölig
46	"	37,5	"
47	"	31,5	"
48	"	28,0	"
49	"	30,5	"
50	"	31,0	"
51	"	33,5	"
52	"	41,0	"
53	"	37,5	"
54	"	23,0	"
55	"	32,0	"
56	"	18,0	"
57	"	16,5	"
58	"	9,5	"
59	"	7,0	gelbes, dickes Oel
60	"	4,5	"
61	Benzol-Chloroform (9 : 1)	4,0	"
62	"	3,0	"
63	"	2,0	"
64	"	4,5	"
65	"	4,5	"
66	Benzol-Chloroform (4 : 1)	5,0	gelbbraunes Oel
67	"	4,7	"
68	"	5,5	"
69	"	5,0	"
70	"	3,0	"
71	"	7,0	"

72	Benzol-Chloroform (4 : 1)	6,0	gelbbraunes Oel
73	"	9,5	"
74	"	5,5	"
75	Chloroform	20,0	dunkelgelbes Oel
76	"	9,0	"
77	"	3,5	"
78	"	4,0	"
79	"	5,5	"
80	Chloroform m. 1% Methanol	12,0	gelbes Oel
81	"	13,5	"
82	"	7,0	"
83	"	3,5	"
84	"	1,0	"
85	Chloroform m. 10% Methanol	13,5	gelbbraun, fest. Rückstand
86	"	3,5	"
87	"	2,0	"
88	"	3,5	"
89	Chloroform-Methanol (4 : 1)	3,0	"
90	"	4,0	"
91	"	1,5	"
92	"	6,5	"
93	Chloroform-Methanol (1 : 1)	3,0	"
94	"	2,5	"
95	"	2,5	"
96	"	2,5	"
97	Methanol	3,5	gelbbraun, Rückstand
98	"	11,5	"
99	"	8,5	"
100	"	5,0	"
101	"	5,5	"
102	Methanol m. 1/2% Essigsäure	65,0	gelatineähnlich und gelb-
103	"	76,5	braun Smp. ca. 255°
104	"	73,5	"
105	"	36,0	"
106	"	35,0	"

Die kristallinen Fraktionen 7 - 44 wurden vereinigt. Gewicht 1,050 g. Diese Kristalle wurden mehrmals aus Alkohol umkristallisiert und gaben farblose Nadeln vom Smp. 96 - 98° (Tropfenbildung bei 93°).

$$[\alpha]_D^{21,5} = +28,06^\circ \quad (C = 1,390 \text{ in Chloroform}).$$

3,661 mg gaben 10,200 mg CO_2 und 2,912 mg H_2O
3,828 mg gaben 10,658 mg CO_2 und 3,002 mg H_2O

$C_{20}H_{28}O_3$	Ber.	C	75,91	H	8,92%
(316,42)	Gef.	C	76,03	H	8,90%
			75,98		8,78%

Die Kristalle sind in organischen Lösungsmitteln leicht löslich. Beim Mischen mit verdünnter alkoholischer Kalilauge entsteht eine tiefrote Farbe.

Diese Verbindung nennen wir iso-Petasin.

Isolierung von Petasin aus Chromatographie I

Die Fraktionen 12 - 23, die verbliebene Mutterlauge 6 - 11 und die Fraktionen 21-29 des Vorversuches wurden vereinigt und gaben ein Totalgewicht von 11,03 g, die auf 360 g Silicagel chromatographiert wurden. Jede Fraktion wurde mit 1000 cm^3 Lösungsmittel eluiert.

Fraktions-nummer	Lösungsmittel	Verdampfungsrückstand mg	Aussehen
1	Petroläther	87,0	gelb, teilw. kristallin Smp. 112 - 114°
2	"	14,0	gelbes Oel
3	"	19,5	"
4	Petroläther-Benzol (9 : 1)	6,0	"
5	"	10,0	"
6	"	9,0	"
7	"	8,0	"
8	"	11,5	"
9	"	10,0	"
10	Petroläther-Benzol (1 : 1)	14,5	"
11	"	7,5	"
12	"	10,0	"
13	"	12,0	"
14	Benzol	41,0	gelboranges Oel
15	"	220,0	orangegefärbtes Oel
16	"	500,0	gelbes Oel
17	"	517,0	"
18	"	726,5	gelbliches Oel
19	"	795,0	hellgelbes Oel
20	"	1106,0	"
21	"	768,0	"
22	"	721,0	"
23	"	538,0	"
24	"	450,5	"
25	"	375,0	"
26	"	322,0	"
27	"	332,0	"
28	"	207,0	"
29	"	167,5	"
30	"	141,0	"
31	"	161,5	"
32	"	146,0	"
33	"	160,0	"
34	Benzol-Chloroform (9 : 1)	115,5	"
35	"	157,5	"
36	"	148,5	"
37	Chloroform	195,0	etwas grünlich gefärbt
38	"	216,0	grünlich gefärbt
39	Chloroform	572,0	grünes Oel
40	"	111,0	grünliches Oel

Die Fraktionen 21 - 23 wurden vereinigt und gaben ein etwas gelb gefärbtes Oel vom Gewicht 1,979 g, das im Hochvakuum (Reichstein Apparatur) bei 0,001 mm Hg destilliert wurde. Folgende Fraktionen wurden erhalten:

Nr.	Badtemp.	Gewicht mg	Aussehen
1	90°	0,8	farbloses, zähes Oel
2	120°	88,0	"
3	140°	168,0	"
4	140°	190,5	"
5	140°	150,0	"
6	140°	177,5	"
7	140°	223,0	"
8	140°	213,5	"
9	140°	156,0	etwas gelb gefärbt
10	160°	28,0	gelb gefärbt

Beim Stehenlassen über Nacht, nachdem die Fraktionen vollständig vom Lösungsmittel befreit waren, kristallisierte Fraktion 5 vollständig aus. Die anderen Fraktionen wurden mit diesen Kristallen angeimpft. Dadurch kristallisierten 4 - 10 vollständig, 3 unvollständig und 2 nur wenig aus. Die Fraktionen 4 - 10 wurden vereinigt und mehrmals aus Alkohol umkristallisiert.

Sämtliche Fraktionen von Chromatographie 12 - 23 wurden mit diesen Kristallen angeimpft. Fraktion 15 kristallisierte etwas träge, Fraktion 16 etwas besser, die Fraktionen 17 - 20 und 24 - 30 kristallisierten alle vollständig aus. Die Fraktionen 15 - 20 und 24 - 30, sowie die Mutterlauge von 21 - 23 wurden vereinigt und zweimal aus Alkohol umkristallisiert. Wir erhielten 4,517 g farblose Kristalle, die nach weiterem Trocknen im Vakuum bei 67 - 71° schmolzen.

Diese Substanz nennen wir Petasin und betrachten sie als die hauptsächliche spasmolytische Komponente von Petasites hybridus.

Aus Alkohol bei -60° umkristallisiert, erhielten wir farblose Körner mit Smp. 70 - 72°.

$[\alpha]_D^{21,5} = +49,01^{o}$ (C = 1,330 in Chloroform)

3,760 mg gaben 10,452 mg CO_2 und 3,005 mg H_2O

3,814 mg gaben 10,647 mg CO_2 und 3,052 mg H_2O

$C_{20}H_{28}O_3$	Ber.	C 75,91	H 8,92%
(316,42)	Gef.	C 75,86	H 8,93%
		76,18	8,95%

Die Kristalle sind in organischen Lösungsmitteln leicht löslich. Beim Mischen mit verdünnter alkoholischer Kalilauge entsteht eine tiefrote Farbe.

Untersuchung der Fraktionen 27 - 29 von Chromatographie I: Die Fraktionen 27 - 29 wurden vereinigt und lieferten 924 mg grünes Oel, das nach einiger Zeit vollständig kristallisierte (Smp. 95 - 123°) und auf 30 g Silicagel chromatographiert wurde. Jede Fraktion wurde mit 50 cm^3 Lösungsmittel eluiert.

Fraktions-nummer	Lösungsmittel	Verdampfungsrückstand mg	Aussehen
1	Petroläther-Benzol (1 : 1)	2,0	gelbliches Oel
2	"	2,0	"
3	"	-	"
4	"	-	"
5	Benzol	-	"
6	"	1,0	"
7	"	5,5	"
8	"	11,0	"
9	Benzol-Chloroform (9 : 1)	10,5	"
10	"	16,5	etwas brauner gefärbt
11	"	18,0	"
12	"	17,0	"
13	Benzol-Chloroform (4 : 1)	20,5	"
14	"	26,5	" teilw. krist.
15	"	30,5	" "
16	"	37,0	kristallinisch
17	Benzol-Chloroform (1 : 1)	41,0	" etwas grünlich
18	"	51,5	"
19	"	67,5	"
20	"	96,5	"
21	Chloroform	105,0	"
22	"	52,0	"
23	"	17,0	" teilw. krist.
24	"	11,0	grünliches Oel
25	"	10,0	"

Die Fraktionen 14 - 23 wurden vereinigt und gaben eine grünlich gefärbte Kristallmasse vom Gewicht 498 mg, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol bei 134 - 136° schmolz. Eine kleine Probe gab eine positive Heparreaktion.

Mehrere Male aus 95%igem Alkohol umkristallisiert gab farblose Nadeln vom Smp. 134 - 136°.

$$[\alpha]_D^{20} = + 78,8^\circ \qquad (C = 1,32 \text{ in Chloroform})$$

3,765 mg gaben 9,390 mg CO_2 und 2,622 mg H_2O
6,337 mg verbrauchten 9,23 cm^3 0,004 n $Ba(ClO_4)_2$

$C_{19}H_{26}O_3S$	Ber.	C 68,24	H 7,84	S 9,58%
(334,46)	Gef.	C 68,06	H 7,79	S 9,34%

Wir haben diese Substanz S-Petasin genannt.

Darstellung von iso-S-Petasin: 500 mg S-Petasin vom Smp. 134 - 136° wurden in benzolischer Lösung auf 15 g Aluminiumoxyd gegeben und über Nacht stehen gelassen. Anschliessend eluierten wir mit Aether-Methanol 1 : 1 und erhielten 500 mg Kristalle vom Smp. 134 - 138°, die mit S-Petasin einen Mischschmelzpunkt von 110 - 125°, also eine deutliche Depression zeigten.

Aus Aceton-Aether-Petroläther erhielten wir Nadeln vom Smp. 136 - 138°.

$[\alpha]_D^{20} = + 41,6^o$ (C = 1,61 in Chloroform)

3,748 mg gaben 9,338 mg CO_2 und 2,599 mg H_2O

$C_{19}H_{26}O_3S$	Ber.	C 68,24	H 7,84%
(334,46)	Gef.	C 67,99	H 7,76%

Ein Mischschmelzpunkt mit Substanz B von Stoll und Mitarb.[9] zeigte keine Depression.

III. Charakterisierung und Chemie

Petasin*)

$C_{20}H_{28}O_3$ (316,42)

10,675 mg Substanz verbrauchten 3,049 cm^3 H_2 bei 0°/760 mm Hg
Doppelbindungszahl: 4,03

Das UV.-Absorptionsspektrum zeigt Maxima bei 230 mμ (ε = 21500) und 318 mμ (ε = 45) in Alkohol (Fig. 1). In Cyclohexan findet eine hypsochrome Verschiebung auf 226 mμ (ε = 23650) statt.

2,4-Dinitrophenylhydrazon: 150 mg Petasin wurden in 3 cm^3 Alkohol gelöst und nach Erhitzen auf dem Wasserbad mit einer heissen Lösung von 300 mg Dinitrophenylhydrazin in 4 cm^3 Alkohol und 0,6 cm^3 Salzsäure versetzt. Es bildete sich sofort ein orangefarbener, kristalliner Niederschlag, der nach Abnutschen und Nachwaschen mit

*) Vgl. auch S. 58.

Alkohol-Wasser (1 : 1) bei 223 - 225° schmolz. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Alkohol gab orange Nadeln vom Smp. 232,5 - 234,5°.

3,178 mg gaben 7,335 mg CO_2 und 1,955 mg H_2O
3,232 mg gaben bei 22°, 712 mm Hg 0,332 cm^3 N_2

$C_{26}H_{32}O_6N_4$	Ber.	C 62,89	H 6,50	N 11,28%
(496,55)	Gef.	C 62,99	H 6,88	N 11,14%

Eine alkoholische Lösung zeigte im UV. Maxima bei 379 mμ (ε = 31410) und 255 mμ (ε = 18260).

Semicarbazon: 500 mg Petasin, 500 mg Semicarbazid-Hydrochlorid und 360 mg wasserfreies Natriumazetat wurden in 20 cm^3 abs. Alkohol gelöst und während einer Stunde am Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht stehen gelassen, dann vollständig eingedampft, in Wasser und Aether aufgenommen, ätherische Lösung mit Wasser, 2n-Salzsäure und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Während der Isolierung kristallisierte eine ätherschwerlösliche Verbindung aus. Diese Kristalle aus Alkohol-Aether umkristallisiert gaben den Smp. 175°.

3,725 mg gaben 9,225 mg CO_2 und 2,740 mg H_2O
1,930 mg gaben bei 23°, 716 mm Hg 0,202 cm^3 N_2

$C_{21}H_{31}O_3N_3$	Ber.	C 67,53	H 8,37	N 11,25%
(373,48)	Gef.	C 67,58	H 8,23	N 11,37%

Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigt ein Maximum bei 272 mμ (ε = 21300).

Die Mutterlauge dieser Kristalle (416 mg) wurde auf 12 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform 1 : 1 und mit Chloroform eluierten Fraktionen wurden zusammengegeben und amorph zur Analyse gegeben.

4,520 mg gaben 11,200 mg CO_2 und 3,431 mg H_2O
2,135 mg gaben bei 23°, 714 mm Hg 0,215 cm^3 N_2

$C_{21}H_{31}O_3N_3$	Ber.	C 67,53	H 8,37	N 11,25%
(373,48)	Gef.	C 67,66	H 8,49	N 10,91%

Iso-Petasin*)

$C_{20}H_{28}O_3$ (316,42)

H-aktiv: Ber. 0,341 Gef. 0,15%

12,167 mg Substanz verbrauchten 3,550 cm^3 H_2 bei 0°/760 mm Hg

Doppelbindungszahl: 4,12

*) Vgl. auch S. 56.

Eine alkoholische Lösung zeigte im UV Maxima bei 245 mμ (ε = 13550) und 280 mμ (ε = 7460) (Fig. 1). In Cyclohexan sind die Maxima hypsochrom auf 280 mμ (ε = 16800) und 268 mμ (ε = 7490) verschoben.

2,4-Dinitrophenylhydrazon: Die Herstellung aus 150 mg iso-Petasin geschah analog zu derjenigen von Petasin. Der Niederschlag bildete sich nur langsam aus einer zuerst entstehenden Trübung. Aus Alkohol, rote Nadeln vom Smp. 182 - 184,5°.

3,022 mg gaben 6,983 mg CO_2 und 1,835 mg H_2O
3,721 mg gaben bei 22°, 712 mm Hg 0,384 cm^3 N_2

$C_{26}H_{32}O_6N_4$	Ber.	C 62,89	H 6,50	N 11,28%
(496,55)	Gef.	C 63,06	H 6,79	N 11,19%

Eine alkoholische Lösung zeigte im UV. Maxima bei 391 mμ (ε = 29840) und 255 mμ (ε = 19680).

Semicarbazon: Iso-Petasin trat mit Semicarbazid unter obgenannten Bedingungen nicht in Reaktion.

Isomerisierung von Petasin in Gegenwart von Mineralsäuren: 492 mg Petasin wurden in 200 cm^3 Alkohol gelöst und mit 4 cm^3 konz. Schwefelsäure (oder konz. Salzsäure) versetzt und auf dem Wasserbad während 5 Stunden am Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurden 40 cm^3 Wasser zugegeben und die Lösung, nach Neutralisation mit festem Na_2CO_3 von Alkohol im Vakuum weitgehend befreit. Uebliche Aufarbeitung nach Aufnahme in Aether gab 473 mg Rückstand, der zur weiteren Reinigung über 12 g Silicagel chromatographiert wurde. Die mit Petroläther-Benzol 1 : 1 eluierten Fraktionen lieferten 424 mg Kristalle, die, aus Alkohol umkristallisiert, farblose Nadeln vom Smp. 96 - 98° gaben. Mischschmelzpunkt mit iso-Petasin zeigte keine Depression.

$[\alpha]_D^{21}$ = + 28,49° (C = 0,979 in Chloroform)

3,980 mg gaben 11,072 mg CO_2 und 3,155 mg H_2O

$C_{20}H_{28}O_3$	Ber.	C 75,91	H 8,92%
(316,42)	Gef.	C 75,92	H 8,87%

Das Dinitrophenylhydrazon schmolz bei 180 - 182,5° und gab mit einem authentischen Präparat von iso-Petasin keine Depression.

Isomerisierung von Petasin auf Aluminiumoxyd: 4,5 g Petasin wurden in wenig Petroläther gelöst, auf einer mit Aluminiumoxyd in Petroläther gefüllten Säule verteilt und über Nacht stehen gelassen. Anschliessend eluierten wir mit Benzol 3,04 g

und mit Chloroform 1,127 g iso-Petasin vom Smp. 95 - 98°.

Milde Verseifung von Petasin in Alkali: 808 mg reines Petasin wurden in 10 cm^3 Alkohol gelöst, mit 10 cm^3 0,5n-alkoholischer Kalilauge versetzt und während 2 Stunden am Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung wurde tropfenweise mit 50%iger Schwefelsäure angesäuert und von der Reaktionslösung 3 cm^3 in einer dichten Mikrodestillationsapparatur abdestilliert. Nach Zugabe von 2,4-Dinitrophenylhydrazin als Reagens zum Destillat konnte keine Fällung beobachtet werden.

Die verbleibende Reaktionslösung wurde mit 2n-Natronlauge wieder alkalisch gemacht, von Alkohol im Vakuum weitgehend befreit und zwischen wenig Wasser und viel Aether verteilt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser neutral gewaschen, getrocknet und eingedampft. Es resultierten 627,5 mg iso-Petasol, das aus Aether Kristalle vom Smp. 126 - 127° gab.

Nach Ansäuern der verbleibenden wässrigen Lösung und anschliessender Extraktion mit Aether erhielten wir 160 mg Säureteil in Form eines gelblichen Oeles, das bei -10° kristallin erstarrte, aber bei Zimmertemperatur wieder geschmolzen war. Es wurde im Hochvakuum bei 0,05 mm Hg und 40° Badtemperatur destilliert und gab 127 mg Kristalle, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Petroläther farblose Nadeln vom Smp. 63,5 - 64,5 bildeten.

4,277 mg gaben 9,365 mg CO_2 und 3,130 mg H_2O

$C_5H_8O_2$	Ber.	C 59,98	H 8,06%
(100,11)	Gef.	C 59,75	H 8,19%

Ein Mischschmelzpunkt mit β,β-Dimethylacrylsäure vom Smp. 68 - 70° gab eine Depression von 30°, mit Angelicasäure zerfloss das Gemisch schon bei Zimmertemperatur, hingegen zeigte ein solcher mit Tiglinsäure keine Depression.

p-Bromphenacylester[29] aus Alkohol, Smp. 66 - 68°

3,890 gaben 7,476 mg CO_2 und 1,165 mg H_2O

$C_{13}H_{13}O_3Br$	Ber.	C 52,53	H 4,41%
(297,15)	Gef.	C 52,45	H 4,50%

Ein Mischschmelzpunkt mit Tiglinsäure-p-bromphenacylester zeigte keine Depression.

p-Phenylphenacylester[30] aus Alkohol, Smp. 105 - 106°

2,727 mg gaben 7,734 mg CO_2 und 1,150 mg H_2O

$C_{19}H_{18}O_3$	Ber.	C 77,53	H 6,16%
(294,33)	Gef.	C 77,40	H 6,28%

Ein Mischschmelzpunkt mit Tiglinsäure-p-phenylphenacylester zeigte keine Depression.

Spätere Fraktionen der Destillation des Säureteiles gaben wenige Milligramme

einer flüssigen Säure, die mit ätherischer Diazomethanlösung verestert und nochmals im Wasserstrahlvakuum bei 60° Badtemperatur destilliert wurde.

3,820 mg gaben 7,591 mg CO_2 und 3,236 mg H_2O

$C_6H_{12}O_3$	Ber.	C 54,53	H 9,15%
(132,16)	Gef.	C 54,23	H 9,48%

Milde Verseifung von iso-Petasin in Alkali: 640 mg iso-Petasin wurden wie unter "Petasin" (vgl. oben) verseift. Das Destillat zeigte ebenfalls keine Fällung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens. Die übliche Aufarbeitung gab 437 mg iso-Petasol, das mehrmals aus Aether umkristallisiert farblose Nadeln vom Smp. 126 - 127° lieferte.

Der Säureanteil wog 130 mg. Eine fraktionierte Sublimation im Molekularkolben bei 15 mm Hg gab folgendes Bild:

Fraktion	Oelbadtemp.	Gewicht	Aussehen	
			bei Ztp.	bei 6°
1	45°	16,0 mg	fliessend	fliessend
2	50°	24,0 mg	fliessend	teilw. krist.
3	55°	30,0 mg	teilw. krist.	kristallin
4	55°	27,0 mg	teilw. krist.	kristallin
5	65°	20,0 mg	teilw. krist.	kristallin

Die Fraktionen wurden alle papierchromatographisch untersucht. 3,2; 4,8; 6,0; 5,4; und 4,0 cm^3 Aether wurden den Fraktionen zur Herstellung gleichkonzentrierter Lösungen zugegeben. Von diesen wurden je 25 - 50 mμ auf die Startlinie aufgetragen.

Als Referenzsubstanz haben wir reine Tiglinsäure und Angelicasäure benützt. Zur Entwicklung des Chromatogramms wurde n-Butanol gesättigt mit 1n-NH_4OH verwendet [31]. Elutionsdauer: 48 Stunden. Zur Identifizierung der Säuren benützten wir folgende Reagenzien:

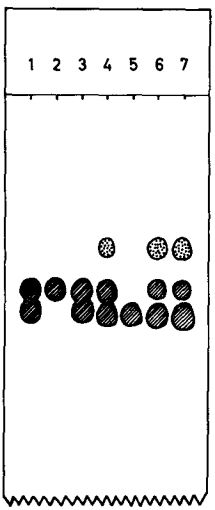
1. Bromthymolblau: 50 mg in 100 cm^3 50%igem Alkohol + 1/2n-Kalilauge bis eben zur Blaufärbung.
2. 0,01 n-Kaliumpermanganat [32].

Pyrolyse von Petasin: 56,5 mg Petasin wurden bei 0,3 - 0,5 mm Hg verdampft und in gasförmigem Zustand im leichten Stickstoffstrom bei 495° durch ein Pyrolyserohr geleitet. Am kalten Ende des Rohres kondensierte der schwerflüchtige Teil,

Abb. 6

Iso-Petasin

Papierchromatographischer Nachweis von Säuregemisch nach der Verseifung



1 = Fraktion 1
2 = Angelicasäure
3 = Fraktion 2
4 = Fraktion 3
5 = Tiglinsäure
6 = Fraktion 4
7 = Fraktion 5

gesättigte Säure (α-Methyl-β-hydroxybuttersäure)

ungesättigte Säure

der vorläufig nicht weiter untersucht wurde. In der vorgelegten Kältefalle (Trockeneis in Aceton) erhielten wir die leicht flüchtige Säurefraktion, die in Aether gelöst wurde und nach dem Eindunsten des Aethers in farblosen schönen Nadeln vom Gewicht 20 mg kristallisierte. Smp. 43 - 45°. Mischschmelzpunkt mit reiner Angelicasäure zeigte keine Depression. Die Kristalle wurden in 4 cm^3 Aether gelöst, wovon je 25 und 50 µl papierchromatographiert wurden. Das Resultat und das Chromatogramm sind im theoretischen Teil besprochen.

3,126 mg gaben 6,705 mg CO_2 und 2,335 mg H_2O

$C_5H_8O_2$	Ber.	C 59,98	H 8,06%
(100,11)	Gef.	C 58,53	H 8,36%

p-Bromphenacylester[29] aus Alkohol, Smp. 66 - 67°

3,844 mg gaben 7,375 mg CO_2 und 1,530 mg H_2O

$C_{13}H_{13}O_3Br$	Ber.	C 52,53	H 4,41%
(297,15)	Gef.	C 52,36	H 4,45%

Ein Mischschmelzpunkt mit Angelicasäure-p-bromphenacylester zeigte keine Depression.

Pyrolyse von iso-Petasin: 48,5 mg iso-Petasin wurden, wie oben, pyrolysiert. Die leichtflüchtige Säurefraktion lieferte 12,5 mg Angelicasäure vom Smp. 43 - 45°, die mit authentischem Material keine Depression zeigte. Die Kristalle wurden in 2,5 cm^3 Aether gelöst, wovon je 25 und 50 µl papierchromatographiert wurden (vgl. theoretischer Teil).

Iso-Petasol

Iso-Petasol wird bei der Reinigung mittels Chromatographie über Aluminiumoxyd hauptsächlich mit Benzol-Chloroform 9 : 1 eluiert. Aus Aether entstehen Kristalle vom Smp. 126 - 127°. $[\alpha]_D^{21} = +110,4°$, (C = 1,090 in Chloroform).

3,370 mg gaben 9,492 mg CO_2 und 2,897 mg H_2O
2,195 mg gaben 6,198 mg CO_2 und 1,860 mg H_2O
4,087 mg gaben 11,524 mg CO_2 und 3,485 mg H_2O

$C_{15}H_{22}O_2$	Ber.	C 76,88	H 9,46%
(234,33)	Gef.	C 76,86	H 9,62%
		77,06	9,48%
		76,95	9,54%

8,040 mg verbrauchten 2,31 cm^3 H_2 0°/760 mm Hg
Doppelbindungszahl 3,00

1,505 mg wurden in 18,870 mg Campher gelöst, $\Delta t = 11,5°$

Mol. Gew. Bestimmung:	Ber.	234,33	Gef.	252
Methylbestimmung:	Ber.	1 CH_3-C		6,41%
	Gef.	1 CH_3-C		9,06%

Eine alkoholische Lösung zeigte im UV. Maxima bei 245 mµ (ε = 13350) und 280 mµ (ε = 7160) (Fig. 4). In Cyclohexan sind die Maxima bei 246 mµ (ε = 12130) und 271 mµ (ε = 7100).

Iso-Petasol-acetat: 338 mg iso-Petasol wurden in einem Gemisch von 4 cm^3 Pyridin und 4 cm^3 Essigsäureanhydrid gelöst und 48 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Uebliche Aufarbeitung ergab 341 mg Acetat, die aus Alkohol farblose Nadeln vom Smp. 85 - 86° gaben. $[\alpha]_D^{22} = +78,7°$ (C = 1,41 in Chloroform).

4,182 mg gaben 11,312 mg CO_2 und 3,265 mg H_2O
6,930 mg brauchten 0,495 cm^3 0,05 n NaOH. Die Verseifung erfolgte mit H_2SO_4 nach Wurzel.

$C_{17}H_{24}O_3$	Ber.	C 73,88	H 8,75	CH_3CO-	15,57%
(276,36)	Gef.	C 73,82	H 8,74	CH_3CO-	15,37%

Iso-Petason

1,029 g iso-Petasol wurden in 20 cm^3 Eisessig gelöst, mit einer Lösung von 300 mg CrO_3 in 10 cm^3 Eisessig und drei Tropfen Wasser versetzt und bei 20° während 7 Stunden stehen gelassen. Uebliche Aufarbeitung gab 901 mg Rückstand, der nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol farblose Nadeln vom Smp. 115 - 117° lieferte. $[\alpha]_D^{22} = +33,3°$ (C = 1,535 in Chloroform).

3,555 mg gaben 10,112 mg CO_2 und 2,780 mg H_2O
3,495 mg gaben 9,917 mg CO_2 und 2,722 mg H_2O

$C_{15}H_{20}O_2$	Ber.	C 77,55	H 8,68%
(232,31)	Gef.	C 77,62	H 8,75%
		77,43	8,72%

Eine alkoholische Lösung zeigte im UV. Maxima bei 243 mμ (ε = 12930) und bei 280 mμ (ε = 6790) (Fig. 4).

2,4-Dinitrophenylhydrazon: Mehrmaliges Umkristallisieren aus Alkohol gab orange Nadeln vom Smp. 206,5 - 209,5°.

3,750 mg gaben 8,351 mg CO_2 und 2,020 mg H_2O
2,147 mg gaben bei 23°, 718 mm Hg 0,264 cm^3 N_2

$C_{21}H_{26}O_5N_4$	Ber.	C 60,85	H 6,32	N 13,52%
(414,45)	Gef.	C 60,77	H 6,03	N 13,40%

Das UV-Absorptionsspektrum einer alkoholischen Lösung zeigte Maxima bei 362 mμ (ε =23170) und 236 mμ (ε = 22470).

Hydro-iso-petasole

Reduktion von iso-Petasol mit Natrium und Propanol: 619,5 mg iso-Petasol wurde in 250 cm^3 frisch gereinigtem Propanol gelöst und die Lösung bei Siedehitze nach und nach mit kleinen Natriumstückchen von insgesamt 10 g Gewicht versetzt. Nach 5½ Stunden war alles Natrium gelöst. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Aether und Wasser verteilt und auf übliche Weise aufgearbeitet. Es resultierten 677,5 mg Oel, das auf 15 g Silicagel chromatographiert wurde. Die mit

Benzol-Chloroform 1 : 1 und Chloroform eluierten Fraktionen gaben aus Benzol Nadeln vom Smp. 151 - 152,5°.

$[\alpha]_D^{20} = -69,3^o$ (C = 1,389 in Alkohol).

2,517 mg gaben 6,893 mg CO_2 und 2,630 mg H_2O

$C_{15}H_{28}O_2$	Ber.	C 74,95	H 11,74%
(240,37)	Gef.	C 74,73	H 11,69%

Das UV.-Absorptionsspektrum einer alkoholischen Lösung zeigt erst bei 220 mμ den Beginn einer Endabsorption (ε = 174 bei 210 mμ).

Acetat: 97,5 mg des obigen Reduktionsproduktes wurden in einem Gemisch von 3 cm^3 Essigsäureanhydrid und 3 cm^3 Pyridin während 48 Stunden bei 20° stehen gelassen. Uebliche Aufarbeitung gab 113 mg gelbliches Oel, das aus 80%igem Alkohol in der Kälte farblose Kristalle vom Smp. 73 - 75° lieferte.

3,398 mg gaben 8,755 mg CO_2 und 3,020 mg H_2O

$C_{19}H_{32}O_4$	Ber.	C 70,33	H 9,94%
(324,45)	Gef.	C 70,31	H 9,94%

Tetrahydro-iso-petasol

713,5 mg iso-Petasol wurden in alkoholischer Lösung in Gegenwart von Raney-Nickel als Katalysator hydriert. Nach einer Destillation im Hochvakuum wurde das immer noch nicht kristallisierbare farblose Oel auf 17 g Aluminiumoxyd (Neutral, Akt. I) chromatographiert. Mit Benzol-Chloroform (9 : 1) und Chloroform eluierte Fraktionen gaben wenig Kristalle, die aus Chloroform mehrmals bis zum konstanten Schmelzpunkt von 206 - 206,5° umkristallisiert wurden.

2,754 mg gaben 7,620 mg CO_2 und 2,905 mg H_2O

$C_{15}H_{26}O_2$	Ber.	C 75,58	H 11,00%
(238,36)	Gef.	C 75,51	H 10,80%

Das UV.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung zeigt erst bei 220 mμ den Beginn einer Endabsorption.

Hexahydro-iso-petasol

855 mg iso-Petasol wurden in 60 cm^3 Feinsprit in Gegenwart von PtO_2 (Adams) hydriert. Nach der Aufnahme von 3 Mol Wasserstoff filtrierten wir vom Katalysator,

dampften das Filtrat ein und chromatographierten einen Teil des Rückstandes. Jeder Versuch zur Kristallisation blieb erfolglos.

Dihydro-iso-petasoldion

2 g Hexahydro-iso-petasol wurden in 40 cm^3 Eisessig gelöst und unter Kühlen mit einer Lösung von 1,2 g CrO_3 in 30 cm^3 Eisessig und 5 Tropfen Wasser versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde während 4 Tagen bei 20° stehen gelassen. Uebliche Aufarbeitung. 1,8 g Rückstand, der aus Aceton-Petroläther Kristalle vom Smp. 107 - 108° lieferte. $[\alpha]_D^{20} = +57,0°$, (C = 1,0 in Chloroform)

3,532 mg gaben 9,859 mg CO_2 und 3,223 mg H_2O

$C_{15}H_{24}O_2$	Ber.	C 76,22	H 10,24%	
(238,36)	Gef.	C 76,18	H 10,21%	

Eine alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett ein Maximum bei 286 mμ (ε = 38) (Fig. 11).

2,4-Dinitrophenylhydrazon: Aus Chloroform-Aethanol gelborange Kristalle vom Smp. 270° (Zers.)

3,565 mg gaben 7,135 mg CO_2 und 1,735 mg H_2O
2,899 mg gaben bei 23°, 721 mm Hg 0,500 cm^3 N_2

$C_{27}H_{32}O_8N_8$	Ber.	C 54,31	H 5,40	N 18,78%
(596,58)	Gef.	C 54,62	H 5,44	N 18,87%

Eine alkoholische Lösung besitzt im UV, ein Maximum bei 369 mμ (ε = 45700).

Tetrahydro-iso-petason

Durch Behandeln eines Teiles der nicht kristallisierbaren Mutterlauge von Dihydro-iso-petasoldion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin nach der üblichen Weise, kristallisierte das Tetrahydro-iso-petason-2,4-dinitrophenylhydrazon aus. Aus Aceton-Petroläther Nadeln vom Smp. 175 - 180°.

3,358 mg gaben 7,430 mg CO_2 und 2,138 mg H_2O

$C_{21}H_{30}O_5N_4$	Ber.	C 60,27	H 7,23	N 13,39%
(418,48)	Gef.	C 60,38	H 7,11	

Das UV.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung zeigte ein Maximum bei 365 mμ (ε = 15650).

Reduktion von Petasin mit $LiAlH_4$: Zu einer Lösung von 2 g Petasin in 40 cm^3 absolutem Aether wurde, unter gutem Rühren und Kühlen im Eiswasserbad langsam eine Lösung von 1 g $LiAlH_4$ in 60 cm^3 Aether zugegeben, ohne dass die Temperatur sichtbar stieg. Nach Erwärmen der Reaktionslösung auf Zimmertemperatur wurde diese schliesslich unter stetem Rühren noch eine halbe Stunde am Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen der Lösung auf 0° wurde der Ueberschuss an $LiAlH_4$ mit etwas Aethylacetat zerstört und die grauweisse Suspension mit 10%iger H_2SO_4 bis zur klaren Lösung versetzt. Die ätherische Lösung wurde mit Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es resultierten 1,565 g Oel. Zweimalige Chromatographie auf Al_2O_3 (Akt. I) gab nacheinander kristalline, isomere Diole, die hauptsächlich mit Chloroform eluiert wurden.

Dihydro-petasol A: Aus Aether-Petroläther Kristalle vom Smp. 139 - 141°.

3,215 mg gaben 8,959 mg CO_2 und 2,920 mg H_2O

$C_{15}H_{24}O_2$	Ber.	C 76,22	H 10,24%
(236,34)	Gef.	C 76,05	H 10,16%

Das UV.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung zeigte erst bei 216 mμ den Beginn einer Endabsorption.

Dihydro-petasol B: Aus Aether-Petroläther Kristalle vom Smp. 130 - 132°

$[\alpha]_D^{20} = -52,2^o$ (C = 1,907 in Chloroform)

2,230 mg gaben 6,210 mg CO_2 und 2,035 mg H_2O

$C_{15}H_{24}O_2$	Ber.	C 76,22	H 10,24%
(236,34)	Gef.	C 76,00	H 10,21%

Das UV.-Absorptionsspektrum in alkoholischer Lösung zeigte erst bei 220 mμ den Beginn einer Endabsorption.

Reduktion von iso-Petasol mit $LiAlH_4$: 1,5 g iso-Petasol wurden nach der Seite 70 angegebenen Methode mit $LiAlH_4$ reduziert. Es resultierten 1,40 g Oel. Eine Chromatographie auf 42 g Aluminiumoxyd gab keine Kristallbildung. Das UV.-Absorptionsspektrum des Rohproduktes zeigte in alkoholischer Lösung ein Maximum bei 248 m μ (ε = 6200), (Fig. 17).

Des-isopropyliden-petasol

Eine Lösung von 1,065 g iso-Petasol wurde mit 4 cm^3 10%ige Kalilauge und 8 cm^3 Alkohol vermischt und unter dauerndem Stickstoffstrom während 48 Stunden am Rückfluss erhitzt. Schon von Anfang an färbte sich die Reaktionslösung tiefrot.

Von dieser Reaktionslösung wurden 5 cm^3 Lösungsmittel abdestilliert und das Destillat mit 2,4-Dinitrophenylhydrazinreagens versetzt. Es bildeten sich gelb-orange Kristalle des 2,4-Dinitrophenylhydrazons von Aceton vom Smp. 123,5 - 125°. Ein Mischschmelzpunkt mit einem authentischen Präparat zeigte keine Depression.

3,785 mg gaben 6,327 mg CO_2 und 1,483 mg H_2O
1,172 mg gaben bei 23°, 718 mm Hg 0,252 cm^3 N_2

$C_9H_{10}O_4N_4$	Ber.	C	45,38	H	4,23	N	23,52%
(238,20)	Gef.	C	45,62	H	4,38	N	23,42%

Die Reaktionslösung wurde anschliessend im Vakuum von Alkohol befreit und nach Verteilen zwischen Wasser und Aether wie üblich aufgearbeitet. Der rotgefärbte, ölige Rückstand wog 595 mg und wurde zur weiteren Reinigung bei 0,02 mm Hg und 100° Badtemperatur im Molekularkolben destilliert. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Aether gab farblose Nadeln vom Smp. 102 - 103°.

$[\alpha]_D^{21,5} = +177,3°$, (C = 1,176 in Chloroform).

4,572 mg gaben 12,421 mg CO_2 und 3,785 mg H_2O
3,590 mg gaben 9,758 mg CO_2 und 2,980 mg H_2O
5,920 mg brauchten 1,715 cm^3 0,02 n KOH
6,320 mg brauchten 1,815 cm^3 0,02 n KOH

$C_{12}H_{18}O_2$	Ber.	C	74,19	H	9,34	$C-CH_3$	7,14%
(194,26)	Gef.	C	74,14	H	9,26	$C-CH_3$	8,71%
			74,18		9,29		8,64%

Eine alkoholische Lösung zeigte im UV. Maxima bei 237 mμ (ε = 17520) und 314 mμ (ε = 59) (Fig. 13).

<u>2,4-Dinitrophenylhydrazon:</u> Aus Alkohol rote Blättchen vom Smp. 192 - 194°.

3,808 mg gaben 8,055 mg CO_2 und 2,095 mg H_2O
2,660 mg gaben bei 24°, 719 mm Hg 0,363 cm^3 N_2

$C_{18}H_{22}O_5N_4$	Ber.	C	57,74	H	5,92	N	14,97%
(374,39)	Gef.	C	57,73	H	6,16	N	14,84%

Das UV.-Absorptionsspektrum der alkoholischen Lösung zeigte Maxima bei 386 mμ (ε = 29340) und 256 mμ (ε = 17620).

<u>Quantitative Bestimmung der alkalischen Acetonabspaltung von iso-Petasol:</u> 3,465 mg iso-Petasol wurden während 15 Stunden mit 2 cm^3 n-methanolischer Natronlauge am Rückfluss gekocht und das dabei abgespaltene Aceton mit Stickstoff in eine mit 0,5 mg Semicarbazid-hydrochlorid bei pH 4 versehene Vorlage getrieben. Diese Vor-

lage wurde in ein 20 cm^3 Messkölbchen gegeben, 0,5 cm^3 2%ige Tylose zugesetzt und mit der gleichen Semicarbazidlösung aufgefüllt. Anschliessend erfolgte die polarographische Bestimmung des Acetons.

Aceton: Ber. 0,636 mg Gef. 0,641 mg = 101% der Theorie.

Des-isopropyliden-petasolacetat: 195,5 mg Des-isopropyliden-petasol wurden in einem Gemisch von je 4 cm^3 Pyridin und Essigsäureanhydrid gelöst und 48 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Eindampfen der Reaktionslösung wurde zwischen Wasser und Aether verteilt und wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand gab aus Petroläther farblose Nadeln vom Smp. 68 - 68,5°.

$[\alpha]_D^{21} = +106,9^o$ (C = 1,212 in Chloroform).

3,648 mg gaben 9,521 mg CO_2 und 2,805 mg H_2O
5,340 mg brauchten 1,099 cm^3 0,02 n KOH,
Verseifung 1 1/2 Std. Methanol/NaOH

$C_{14}H_{20}O_3$	Ber.	C 71,16	H 8,53	CH_3CO 18,22%
(236,30)	Gef.	C 71,22	H 8,60	CH_3CO 17,72%

Des-isopropyliden-petason

170 mg Des-isopropyliden-petasol wurden in 2 cm^3 Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 66,5 mg CrO_3 und 2 Tropfen Wasser versetzt. Nach 24 Stunden wurde im Vakuum von Eisessig befreit und der Rückstand zwischen Aether und Wasser verteilt. Aus Hexan erhielten wir farblose Nadeln vom Smp. 99,5 - 100°.

$[\alpha]_D^{21,5} = +96,3^o$ (C = 1,068 in Chloroform).

3,621 mg gaben 9,950 mg CO_2 und 2,771 mg H_2O

$C_{12}H_{16}O_2$	Ber.	C 74,97	H 8,39%
(192,25)	Gef.	C 74,99	H 8,56%

Das UV.-Absorptionsspektrum einer alkoholischen Lösung zeigte Maxima bei 235 mμ (ε = 15980) und 318 mμ (ε = 67) (Fig. 13).

2,4-Dinitrophenylhydrazon: Aus Chloroform-Alkohol tiefrot gefärbte Kristalle vom Smp. 280,5 - 283,5° (Zers.)

2,990 mg gaben 5,720 mg CO_2 und 1,195 mg H_2O

$C_{24}H_{24}O_8N_8$	Ber.	C 52,17	H 4,38%
(552,50)	Gef.	C 52,21	H 4,47%

Das UV.-Absorptionsspektrum einer Chloroformlösung zeigte Maxima bei 381 mμ (ε = 51650) und 258 mμ (ε = 26790).

Ozonspaltung

Ozonspaltung von Petasin

274,5 mg Petasin wurden in 5 cm^3 stabilisiertem Eisessig gelöst und bei 20° in einem 7,55 mg Ozon pro Minute enthaltenden Sauerstoffstrom ozonisiert. Nach Verbrauch der theoretischen Menge an Ozon wurde die Reaktionslösung unter Kühlen mit 8 cm^3 Wasser versetzt und von diesem Gemisch 5 cm^3 Flüssigkeit abdestilliert. Das Destillat wurde mit einer konzentrierten alkoholischen Dimedonlösung versetzt und nach Zufügen von weiteren 15 cm^3 Wasser sowie einem Tropfen Pyrimidin über Nacht stehen gelassen. Es bildete sich ein reichlicher kristalliner Niederschlag von Formaldehyd-Dimedon, der nach Umkristallisieren aus Alkohol farblose Nadeln vom Smp. 187 - 189° und mit einem aus Formaldehyd und Dimedon hergestellten Präparat keine Schmelzpunktsdepression zeigte.

Das Filtrat des Formaldehyd-Dimedon Niederschlages von ca. 20 cm^3 wurde nochmals einer Destillation unterworfen und das 10 cm^3 umfassende Destillat mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens versetzt. Es bildete sich ein kristalliner Niederschlag vom Gewicht 69,5 mg und von unscharfem Smp. 130 - 140°. Dieses Hydrazon wurde auf 3 g Aluminiumoxyd (neutral, Akt. I) chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther 1 : 1 eluierten Fraktionen gaben orangerote Kristalle, die aus Aether umkristallisiert bei 160 - 165° schmolzen. Ein aus 2,4-Dinitrophenylhydrazin und Acetaldehyd hergestelltes Derivat besass nach Umkristallisieren aus Alkohol den Smp. 165 - 166°. Ein Mischschmelzpunkt zeigte keine Depression. Die Ozonspaltung von Petasin ergab somit nur Formaldehyd und Acetaldehyd als flüchtige Fraktionen, Aceton konnte nicht nachgewiesen werden.

Ozonspaltung von iso-Petasin

186,5 mg iso-Petasin wurden in 5 cm^3 stabilisiertem Eisessig gelöst und bei 20° in einem 7,8 mg Ozon pro Minute enthaltenden Sauerstoffstrom ozonisiert. Wie bei der Ozonisierung von Petasin beschrieben wurde, mit Dimedon und 2,4-Dinitrophenylhydrazin geprüft. Der Dimedonniederschlag bildete sich nur in Spuren, was auf Abwesenheit von Formaldehydbildung hinweist, hingegen gab 2,4-Dinitrophenylhydrazin 113,5 mg Kristalle vom Smp. 100 - 115°. Nach Chromatographie auf Aluminiumoxyd wurden in den mit Petroläther-Benzol 1 : 1 eluierten Fraktionen Kristalle vom Smp. 122 - 124° gefunden, die mit authentischem Acetonderivat keine Depression zeigten. Spätere Fraktionen gaben Kristalle, die nach der obigen Weise als 2,4-Dinitrophenylhydrazon von Acetaldehyd identifiziert wurden. Die Ozonspaltung von iso-Petasin gibt somit praktisch keinen Formaldehyd, wohl aber Aceton und Acetaldehyd als flüchtige Anteile.

Ozonspaltung von iso-Petasol

185,5 mg iso-Petasol wurden in 5 cm^3 stabilisiertem Eisessig gelöst und bei 20° in einem 5,6 mg Ozon pro Minute enthaltenden Sauerstoffstrom oxydiert. Nach üblicher Aufarbeitung und Abtrennung, wie oben beschrieben, zeigte Dimedon nur Spuren eines Niederschlages, hingegen gab 2,4-Dinitrophenylhydrazin 119 mg orange Kristalle vom Smp. 114 - 121°. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Alkohol gab Smp. 123 - 125°, der mit dem authentischen Acetonderivat keine Depression zeigte. Ozonspaltung von iso-Petasol gab nur Aceton.

Ozonspaltung von Des-isopropyliden-petasol

167 mg Des-isopropyliden-petasol wurden in 5 cm^3 stabilisiertem Eisessig gelöst und bei 20° in einem 5,4 mg Ozon pro Minute enthaltenden Sauerstoffstrom oxydiert. Dimedon und 2,4-Dinitrophenylhydrazin zeigten nur Spuren von Kristallbildung. Somit gab die Ozonspaltung von Des-isopropyliden-petasol weder Aceton noch Formaldehyd noch Acetaldehyd.

Quantitative Ozonisierung von Petasin und Abbauprodukten

Methode von Doeuvre-Naves zum Nachweis von $>C=CH_2$-Gruppen

Die Methode der ozonolytischen Spaltung von Methylengruppen und quantitativen Bestimmung des gebildeten Formaldehyds wurde zum ersten Mal von Doeuvre[33] ausgearbeitet. Naves[34] hat diese Methode modifiziert und sie für Mikrobestimmungen ausgearbeitet. Karrer & Kebrle[35] geben eine kurze Zusammenfassung dieser Methode und fanden, dass auch Substanzen, die keine Methylengruppen besitzen, kleine Mengen an Formaldehyd entstehen lassen. Später haben Knights & Waight [36] Unregelmässigkeiten bei dieser Reaktion gefunden, die dann von Naves[37] widerlegt wurden.

Herstellung der Reagenzien

a) Formaldehydlösung zur Herstellung der Eichkurve

Eine reine Formaldehydlösung wurde nach der Methode von Neuberg & Welde hergestellt[38]. 70 g reines Hexamethylentetramin wurde in 1,5 Liter Wasser gelöst und mit 100 g berechneter Menge konz. Schwefelsäure unter Kühlung zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde einer Wasserdampfdestillation unterworfen, bis insgesamt 0,5 Liter Destillat sich gebildet hatten. Das Destillat wurde zur Entfernung von Ameisensäure mit $CaCO_3$ geschüttelt und noch einmal einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Es wurden wiederum 500 cm^3 Destillat aufgefangen und die so gereinigte Formaldehydlösung durch Oxydation mit Jod in Alkali nach der Methode von Büchi [39] auf Formaldehyd titriert.

b) Farbreagens

Die Rosanilinhydrochloridlösung wurde nach der Methode von Doeuvre[40] hergestellt.

c) Bestimmung der Eichkurve

Verschiedene Mengen der Formaldehydlösung von bekanntem Gehalt wurden mit Reagens versetzt und gaben die folgenden Extinktionswerte, die mit einem Beckman-Spektrophotometer Modell DU bei 580 mμ mit dem Reagens als Blindwert gemessen wurden.

Formaldehyd mg/100 cm³	Extinktion
0,195	0,222
0,250	0,325
0,313	0,483
0,361	0,570
0,417	0,690
0,472	0,810

Mit diesen Werten erhielten wir die folgende Eichkurve, die zur Bestimmung der gebildeten Menge an Formaldehyd nach erfolgter Mikroozonisierung genützt wurde.

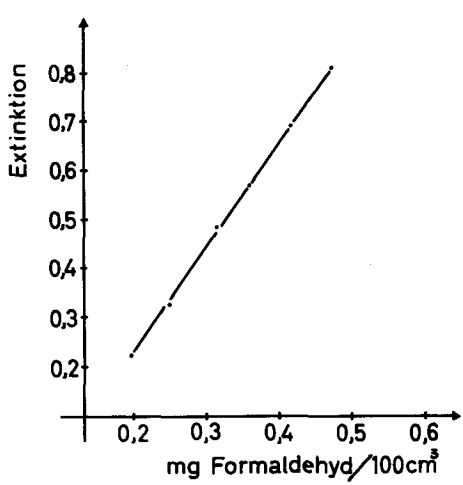


Abb. 7

Eichkurve zur quantitativen Formaldehyd-Bestimmung

Ozonolyse und quantitative Bestimmung des gebildeten Formaldehyds

a) Camphen

Eine Probe von 1,425 mg Camphen, gelöst in 3 cm^3 Aethylacetat-Eisessig 2 : 1 wurde in einem 7,2 mg Ozon pro Minute enthaltenden Sauerstoffstrom während 1 Minute bei -10°, eine zweite Probe vom selben Gewicht während 3 Minuten bei -10° ozonisiert. Die folgenden Resultate wurden erhalten:

Menge Camphen in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge Camphen
1,425	1 min.	0,470	0,3142	0,304	96,9%
1,425	3 min.	0,525	0,3142	0,340	108,1%

b) Petasin

Je 3,186 mg Petasin wurden in 3 cm^3 Aethylacetat-Eisessig 2 : 1 in einem 10,5 mg Ozon pro Minute liefernden Sauerstoffstrom bei -10° während 1 und 3 Minuten ozonisiert.

Menge Petasin in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge Petasin
3,186	1 min.	0,502	0,3022	0,3249	107,5 %
3,186	3 min.	0,510	0,3022	0,3301	109,2 %

Ein zweiter Versuch zur Ozonisierung von Petasin in einem 7,2 mg Ozon pro Minute enthaltenden Sauerstoffstrom bei -10° gab folgende Werte:

Menge Petasin in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge Petasin
2,844	1 min.	0,456	0,2698	0,2951	109 %
2,844	3 min.	0,488	0,2698	0,3301	110,3%

c) iso-Petasin

3,171 mg iso-Petasin in 3 cm^3 Aethylacetat-Eisessig gelöst wurden in einem

10,5 mg Ozon pro Minute liefernden Sauerstoffstrom bei -10° ozonisiert.

Menge iso-Petasin in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge iso-Petasin
3,171	1 min.	0,007	0,3008	0,0045	ca. 1,5%
3,171	3 min.	0,032	0,3008	0,0207	ca. 7%

Wiederholung mit 2,796 mg iso-Petasin in 3 cm^3 Aethylacetat-Eisessig. 7,2 mg Ozon pro Minute bei ebenfalls -10° Reaktionstemperatur.

Menge iso-Petasin in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge iso-Petasin
2,796	1 min.	0,008	0,2653	0,0052	ca. 2%
2,796	3 min.	0,008	0,2653	0,0052	ca. 2%

d) iso-Petasol

2,16 mg iso-Petasol in 3 cm^3 Aethylacetat-Eisessig gelöst wurden in einem 10,50 mg Ozon pro Minuten liefernden Sauerstoffstrom bei -10° ozonisiert.

Menge iso-Petasol in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge iso-Petasol
2,16	1 min.	0,015	0,2768	0,0097	ca. 3,5%
2,16	3 min.	0,006	0,2768	0,0039	ca. 1,4%

e) Des-isopropyliden-petasol

2,163 mg Des-isopropyliden-petasol in 3 cm^3 Aethylacetat-Eisessig gelöst wurden in einem 10,50 mg Ozon pro Minute liefernden Sauerstoffstrom bei -10° ozonisiert.

Menge Des-isopropyliden-petasol in mg	Dauer der Ozonisierung	Extinktion	Ber. HCHO in mg	Gef. HCHO in mg	proz. Ausbeute 1 Mol = 100% ber. auf Menge Des-isopropyliden-petasol
2,163	1 min.	0,032	0,3343	0,0207	ca. 6,2%
2,163	3 min.	0,059	0,3343	0,038	ca. 11,4%

Die hier gefundenen Werte sind etwas höher als gewöhnlich. Aber Karrer & Kebrle[35] betonen, dass man ca. 15 - 20% HCHO bei 5 Minuten dauernder Ozonisierung nachweisen muss, um mit einer Methylengruppe rechnen zu dürfen. Ebenso haben wir absichtlich mit einer höheren O_3-Konzentration gearbeitet, um eine unvollständige Reaktion zu vermeiden; Des-isopropyliden-petasol besitzt also ebenfalls keine Methylengruppe.

Dehydrierung

Selendehydrierung von Hexahydro-iso-petasol

9,1 g Hexahydro-iso-petasol wurden mit 27 g Selen innig vermischt und im Einschlussrohr während 48 Stunden auf 325° erhitzt. Der Rückstand wurde mit Petroläther-Benzol (1 : 1) erschöpfend extrahiert, und die Extraktlösung durch eine Säule mit 160 g Aluminiumoxyd (Neutral, Aktivität I) filtriert. Das Eluat enthielt 3,698 g flüssige, farblose Kohlenwasserstoffe, die auf 400 g Aluminiumoxyd (Neutral, Aktivität I) chromatographiert wurden. Jede Fraktion wurde mit 10 cm^3 Lösungsmittel eluiert.

Die ersten 132 Fraktionen wurden mit Petroläther eluiert, und gaben mit 1,3,5-Trinitrobenzol in einigen Tropfen Alkohol gelöst, keinen Niederschlag.

Mit Petroläther-Benzol (9 : 1) wurden 368 mg eines sehr schwer trennbaren Gemisches von Kohlenwasserstoffen eluiert. (Fraktionsnummer 133 - 157). Jede dritte dieser Fraktionen wurde mit 1.3.5-Trinitrobenzol versetzt, und es bildete sich sehr langsam ein Niederschlag, der abgenutscht wurde. Bei den Mischschmelzpunkten konnten wir keine Depression feststellen.

168 mg des Gemisches wurden mit insgesamt 161 mg Pikrinsäure versetzt, der Niederschlag wurde mehrmals aus Alkohol fraktioniert kristallisiert. Es entstanden wenige mg orange Nadeln, Smp. 88 - 91,5°. Authentisches Eudalinpikrat Smp. 92 - 94° wurde mit diesen Kristallen in Verhältnis 1 : 1 gemischt, Smp. 89,5 - 94°.

46 mg des Kohlenwasserstoffgemisches wurden mit 50,5 mg 1,3,5-Trinitrobenzol versetzt. Der citronengelbe Niederschlag gab nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol citronengelbe Nadeln, die bei 110 - 113° scharf schmolzen. Mit authentischem Eudalintrinitrobenzolat Smp. 111,5 - 114° im Verhältnis 1 : 1 gemischt, Smp.

110 - 114°. Aus der Mutterlauge der Trinitrobenzolverbindung konnten wenige mg orangegelben Nadeln von Smp. 73 - 76° isoliert werden.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Die Isolierung von zwei spasmolytisch wirksamen Substanzen, Petasin $C_{20}H_{28}O_3$ und S-Petasin $C_{19}H_{26}O_3S$ von Petasites hybridus (L.) Fl. Wett. wird beschrieben. Daneben wurde auch β-Sitosterin isoliert.

Petasin stellt den Angelicasäureester eines Sesquiterpenalkoholes dar, den wir nurin isomerisierter Form als iso-Petasol $C_{15}H_{22}O_2$ isolieren konnten. Das S-Petasin ist der β-Methylthioacrylsäureester des iso-Petasols.

Petasin und S-Petasin isomerisieren leicht auf aktivem Aluminiumoxyd oder mittels verdünnter Mineralsäuren zu den entsprechenden iso-Petasin und iso-S-Petasin-Verbindungen.

Beim Behandeln mit starkem Alkali spaltet iso-Petasol ein Mol Aceton ab und gibt eine neue Substanz genannt Des-isopropyliden-petasol $C_{12}H_{18}O_2$.

Auf Grund einiger Abbaureaktionen wurde der Vorgang der Isomerisierung aufgeklärt. Eine isolierte Doppelbindung wandert in Konjugation mit einer α,β-ungesättigten Ketogruppe unter Ausbildung eines Enonens.

Auf Grund der Ergebnisse von den Dehydrierungsversuchen konnte eine Struktur der isolierten Substanzen vorgeschlagen werden.

E. LITERATURVERZEICHNIS

1. G. Madaus, Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Leipzig (1938), Bd. III, S. 2084.
2. P.A. Matthiolus, New-Kreuterbuch, Prag (1626), S. 293 D.
3. A.v. Haller, Medicinisches Lexicon, Ulm-Frankfurt-Leipzig (1755), S. 1118.
4. J. Jeuch, Dissertation ETH, Zürich (1940): Vergleichende pharmakognostische Untersuchungen der Drogen aus den Genera Arctium und Petasites.
5. P. Gillot & L. Legras, Bull. sci. pharmacol. 34, 205 (1927).
6. J. Zellner, Arch. Pharm. 272, 601 (1934).
7. D.B.P. 897145.
   Schw.P. 223340.
8. P.S. Massagetov & A.D. Kuzovkov, J. Gen. Chem. (U.S.S.R.). 23, 161 (1953) ref. Chem. Abstr. 48, 697 a, 12758 e (1954).
9. A. Stoll, J. Renz & R. Morf, Referatenband XIV. Internationaler Kongress für reine und angewandte Chemie, Zürich (1955), Referat 306: Some Active Principles Isolated from Petasites Officinalis Moench.
10. A. Aebi, J. Büchi, T. Waaler, E. Eichenberger & J. Schmutz, Pharm. Acta Helv. 29, 277 (1955).
11. K. Bucher, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 213, 69 (1951).
12. A. Gillam & E.S. Stern, Electronic Absorption Spectroscopy in organic Chemistry, London (1954), S. 107.
13. L. Dorfman, Chem. Rev. 53, 47 (1953), S. 86.
14. C. Djerassi & E. Ryan, J. Am. Chem. Soc. 71, 1000 (1949).
    Y. Abe, T. Harukawa, H. Ishikawa, T. Miki, M. Sumi & T. Toga, ibid. 78, 1422 (1956).
    D.H.R. Barton & E. Miller, J. Chem. Soc. 1028 (1955).
15. A. Aebi, Helv. Chim. Acta 39, 153 (1956).
16. R. Fittig & H. Kopp, Ann. Chem. 195, 81 (1879).
    R. Fittig, ibid. 283, 101 (1894).
17. D.H.R. Barton & P. de Mayo, J. Chem. Soc. 887, 900 (1954).
    D.H.R. Barton, P. de Mayo, E.W. Warnhoff, O. Jeger & G.W. Perold, ibid. 3689 (1954).
18. H. Rupe, G. Clar, A.St. Pfau & P. Plattner, Helv. Chim. Acta 17, 372 (1934).
    H. Rupe & A. Gassmann, ibid. 19, 569 (1936).
19. A.St. Pfau, Helv. Chim. Acta 15, 1481 (1932).
    A.St. Pfau & P. Plattner, ibid. 17, 129 (1934).
20. O. Wallach, Ann. Chem. 365, 243 (1909).
21. R.N. Jones, P. Humphries, S. Packard & K. Dobriner, J. Am. Chem. Soc. 72, 86 (1950).
22. Vgl. 12) S. 243;
    W. Klyne, Progress in Stereochemistry, Vol. I, London 151 (1954).
23. G.G. Allan, M.B.E. Fayez, F.S. Spring & R. Stevenson, J. Chem. Soc. 456 (1956).

24. Vgl. 13) S.68.

25. Vgl. 13) S.74 und 23) S. 460.

26. R.B. Woodward, J.Am.Chem.Soc. 63, 1123 (1941).
R.B. Woodward, ibid. 64, 72, 76 (1942).

27. L. Ruzicka & L. Ehmann, Helv.Chim.Acta 15, 140 (1932).
L. Ruzicka, L. Ehmann & E. Mörgeli, ibid. 16, 314 (1933).

28. L. Rosenthaler, Der Nachweis organischer Verbindungen, Stuttgart (1923), S. 95.

29. E. Bueding, J.Biol.Chem. 202, 505 (1953).

30. S.W. Pelletier & W.L.McLeish, J.Am.Chem.Soc. 74, 6292 (1952).

31. F. Brown & L.P.Hall, Nature 166, 66 (1950).

32. A. Jermstad & K. Briseid Jensen, Pharm.Acta Helv. 25, 209 (1950).

33. J.Doeuvre, Bull.soc.chim.France 612, (1936).

34. Y.R. Naves, Helv.Chim.Acta 32, 1151 (1949).

35. P. Karrer & J. Kebrle, ibid. 35, 862 (1952).

36. J. Knights & E.S. Waight, J.Chem.Soc. 2830 (1955).

37. Y.R.Naves, Bull.soc.chim.France 297 (1956).

38. C. Neuberg & E. Welde, Biochem.Z. 67, 104 (1914).

39. J.Büchi, Pharm.Acta Helv. 6, 1 (1931).

40. J. Doeuvre, Bull.soc.chim.France 140 (1929).

Curriculum Vitae

Am 24. März 1927 wurde ich als Sohn des Jörgen Waaler, Inspektor von Lörenskog, Norwegen und der Margrit Ingeborg geb. Thorstensen in Oslo geboren.

In Eidsvoll besuchte ich das Landsgymnasium, welches ich im Jahre 1946 mit der Matura abschloss. Im gleichen Jahre immatrikulierte ich mich an der Universität Oslo und absolvierte dort das Studium der Pharmazie, das mit dem Apothekerexamen 1951 abgeschlossen wurde. Anschliessend versah ich die Stelle eines Forschungsassistenten bei Herrn Prof. Dr. Axel Jermstad am Pharmazeutischen Institut der Universität Oslo bis Frühling 1954. Dann begann ich mit der vorliegenden Promotionsarbeit am Pharmazeutischen Institut der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich (Schweiz) unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. J. Büchi. Diese Arbeit konnte im Herbst 1956 abgeschlossen werden.