

Ibamarin, der Bitterstoff aus *Iberis amara* L.

J. B.-SON BREDEBERG und ROLF GMELIN

Laboratorium der Stiftung für chemische Forschung, Biochemisches Institut, Helsinki, Finnland

Herrn Professor Holger Erdtman zum 60. Geburtstag gewidmet

Ibamarin, $C_{20}H_{28}O_5$, enthält eine enolisierte α -Diketo-Gruppe in einem Sechsring, eine α,β -ungesättigte Keto-Gruppe und zwei nicht-acylierbare Hydroxylgruppen. Ibamarin wird in alkalischer Lösung isomerisiert. Dabei entsteht Isoibamarin, dem die zur Ketogruppe konjugierte Doppelbindung fehlt.

Die *Cruciferae* zeichnen sich durch das Vorkommen einer S-haltigen Naturstoffklasse, der Senfölglycoside¹, aus. Einzelne Gattungen enthalten zusätzliche Inhaltsstoffe wie z. B. Herzglykoside², die besonders in Arten der Gattungen *Cheiranthus* und *Erysimum* verbreitet sind. Wir möchten heute über einen Inhaltsstoff verschiedener *Iberis*-Arten, das Ibamarin berichten, das zur Gruppe der pflanzlichen Bitterstoffe gezählt werden kann. Ibamarin wurde erstmals 1954 beschrieben³ und wurde zunächst irrtümlich als ein glucosidischer Bitterstoff angesehen, was wahrscheinlich der Analyse eines nicht genügend gereinigten Präparats zuzuschreiben war. Ibamarin wurde nun aus den Samen von *Iberis amara* L. im wesentlichen nach der früheren Vorschrift³ nach mehrmaligem Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol in feinen weissen Nadeln erhalten, Schm.p. 143–148° (Zersetzung); $[\alpha]_D^{20} - 58,5^\circ$. Ibamarin schmeckt noch in einer Verdünnung von $1:5 \times 10^6$ deutlich bitter (Grenzwert für Chinin $1:2 \times 10^6$)⁴.

Die Verbindung $C_{20}H_{28}O_5$, kristallisiert aus dem verwendeten Lösungsmittel mit einem Mol Kristallwasser, das fest gebunden ist und nur unter teilweiser Zerstörung des Moleküls entfernt werden kann. Ibamarin bildet leicht ein Monoacetat, $C_{22}H_{30}O_6$, Schm.p. 238–241° (Zersetz.); $[\alpha]_D^{20} - 80,5^\circ$, dem der bittere Geschmack fehlt.

In alkalischer Lösung erleidet Ibamarin eine sehr rasche Umlagerung in eine amorphe Substanz, Isoibamarin. Diese Isomerisierung lässt sich UV-spektrometrisch gut verfolgen durch die Veränderung von zwei Maxima bei 234 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3,98) und 269 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3,78) zu einem einzelnen Maximum bei 269 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3,79). Auch in saurer Lösung findet dieselbe Isomerisierung langsam statt, wie sich aus der Veränderung des UV-Spektrums schliessen lässt.

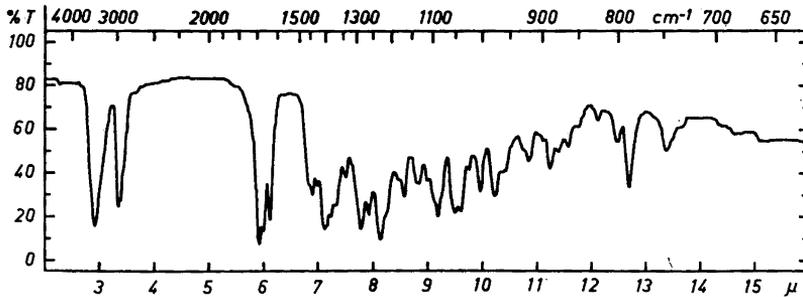


Abb. 1. Infrarot-Spektrum von Ibamarin, 2,4 mg/300 mg KBr.

von zwei Hydroxyl-Gruppen anzeigt. Ausserdem absorbiert es bei 3 550 und 3 430 cm^{-1} (in KBr). Diese Banden lassen sich den beiden Hydroxyl-Gruppen zuteilen. Die Möglichkeit einer Aufspaltung der Absorption einer einzelnen Hydroxyl-Gruppe infolge partieller Assoziation kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Die beiden Hydroxyl-Gruppen sind offenbar schwer acetylierbar. Unter energischeren Bedingungen verläuft die Acetylierung von Ibamarin in tiefer eingreifenden Reaktionen. Alle Derivate von Ibamarin zeigen durchweg Hydroxyl-Absorption im IR-Bereich. Die Analyse des Acetats von hydrogeniertem Ibamarin passt jedoch besser zu einer Diacetat-Formel, was auf die Möglichkeit weist, dass unter bestimmten Bedingungen eine der Hydroxyl-Gruppen acetylierbar ist.

Eine Kuhn-Roth-Bestimmung von Ibamarin gibt 1,87 Mole C-Methyl-Gruppen. Dieser Wert gibt einen Hinweis, dass die Verbindung wahrscheinlich drei oder mehr C-Methyl-Gruppen enthält. Dies und die empirische Formel machen es sehr wahrscheinlich, dass Ibamarin ein Diterpen-Derivat, eventuell mit einer tricyclischen Struktur ist. Verschiedene Bitterstoffe vom Diterpen-Typ sind bekannt: Andrographolid^{14,15}, Clerodin^{16,17}, Columbin¹⁸, Marrubiin¹⁹, Darutoside²⁰ und Quassin^{21,22}. Die ersteren vier Verbindungen haben alle eine bicyclische Struktur mit einer Furan- oder Butenolid-Gruppe in der Seitenkette gemeinsam. Es sei auf die interessante Tatsache hingewiesen, dass Quassin methylierte Diosphenol-Gruppen besitzt^{21,23}. Die folgenden Verbindungen sind wahrscheinlich auch vom Diterpen-Typ: Chasmanthin und Palmarin von *Jatrochiza palmata* Miers²⁴, die Bitterstoffe in *Isodon trichocarpus* Kudo²⁵⁻²⁷ und *Simarouba*-Arten²⁸⁻³⁰, Chaparrin³¹ und Tinosporin³². Ein Bitterstoff, Erysimupikron³³, wurde aus der botanisch nahe verwandten Art, *Erysimum crepidifolium* Rchb., isoliert. Eine Formel $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_5$ wurde für diese Substanz angegeben. Zu wenig ist jedoch für diese Substanz bekannt, um einen näheren Vergleich mit Ibamarin anstellen zu können.

EXPERIMENTELLER TEIL

Alle Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Mikroheiztisch bestimmt und sind korrigiert. Die Infrarot-Spektren wurden mit einem Beckman IR-5-Gerät, die Ultraviolet-Spektren mit einem Beckman DK-2-Gerät aufgenommen. Die Analysen wurden bei A. Bernhardt, Mülheim a.d.R., Deutschland, ausgeführt.

Isolierung von Ibamarin

Im wesentlichen wurde die früher beschriebene Methode zur Isolierung von Ibamarin verwendet². Das aus Aceton-Petroläther erhaltene Roh-Ibamarin wurde noch dreimal mit verdünntem Äthanol umkristallisiert. Feine, farblose Nadeln, Schmp. 143–148° (Zers.), $[\alpha]_D^{20} -58,5^\circ$ ($c = 2,0$; in Methanol). (Gef.: C 65,55; H 8,31; O 21,57; O—CH₃ 1,70; C—CH₃ 7,67. Ber. für C₂₀H₂₈O₆·H₂O: C 65,55; H 8,25; O 26,20. Nach Trocknung bei 100° im Hochvakuum: Gef.: C 68,24; H 7,87. Ber. für C₂₀H₂₈O₆: C 68,94; H 8,10).

Ultraviolett-Spektren: Äthanol λ_{\max} 234, 269 m μ (log ϵ 3,98, 3,78); 0,1 N NaOH in Äthanol-Wasser (1:1), 7 Min nach Auflösung λ_{\max} 231, 312 m μ (log ϵ 3,73, 3,65), keine weitere Veränderung bei längerem Stehen. Ansäuerung der alkalischen Lösung 15 Min nach Alkalisches-Machen λ_{\max} 268 m μ (log ϵ 3,80); 0,05 N HCl, Äthanol-Wasser, unmittelbar nach Auflösen λ_{\max} 236, 265 (Schulter) (log ϵ 3,99, 3,79). Die Intensität bei 236 m μ nahm beim Kochen der Lösung langsam ab (Stunden, log ϵ : 1, 3,97; 2, 3,95; 3, 3,94), keine Abnahme wurde bei 265 m μ beobachtet; 1 N HCl, Äthanol-Wasser, Siedetemperatur, 236 m μ : Min: 0, 30, 60, 90, log ϵ 3,98, 3,73, 3,64, 3,62, keine Veränderung bei 265 m μ .

Infrarot-Spektrum: siehe Abb. 1. Beim Trocknen bei höheren Temperaturen färbte sich Ibamarin gelb. Im IR-Spektrum des gelben Ibamarins waren die Maxima im Bereich 1 600–1 700 cm⁻¹ verbreitert und zeigten Anzeichen für Nebenbanden. Der "Fingerprint"-Bereich war beinahe flach. Die Intensitäten oder Maxima im Ultraviolett-Gebiet nahmen ebenfalls ab.

Acetylierung

a) *Monoacetat*. Das Monoacetat wurde durch Acetylierung mit Acetanhydrid und Pyridin zwei Tage bei Zimmertemperatur erhalten. Ein identisches Produkt erhielt man, wenn 2 Std. unter Erwärmen auf dem Wasserbad acetyliert wurde. Die Verbindung kristallisierte aus verdünntem Methanol in kleinen Nadeln, Schmp. 238–241°, $[\alpha]_D^{20} -80,5^\circ$ ($c = 2$; in Äthanol). (Gef.: C 67,45, 67,50; H 7,57, 7,60; Acetyl 10,93; Activ. H 0,53. Ber. für C₂₂H₃₀O₆: C 67,67; H 7,74; Acetyl (ein OH) 11,02; Activ. H (zwei) 0,51). Ultraviolett-Spektren: Äthanol, λ_{\max} 232 m μ (log ϵ 4,14); 0,1 N NaOH in Äthanol-Wasser (1:1), 10 Min nach Auflösen, λ_{\max} 232, 312 m μ (log ϵ 3,84, 3,64). Infrarot-Maxima (in KBr): 3 550 (m), 3 430 (m), 1 745 (s), 1 690 (s), 1 630 (m) und 782 (m) cm⁻¹. Die Intensität der Bande bei 1 690 cm⁻¹ hatte im Verhältnis zur Bande bei 1 630 cm⁻¹ zugenommen, verglichen mit den Banden-Intensitäten von Ibamarin. Das Acetat besass keinen bitteren Geschmack.

b) *Acetylierung bei höheren Temperaturen*. Ibamarin (32 mg) wurde mit Acetanhydrid (10 ml) und Kaliumacetat (200 mg) durch 24 stdg. Kochen acetyliert. Die Mischung wurde in Wasser gegossen und in üblicher Weise mit Äther extrahiert. Das gelbe amorphe Produkt, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde weiter mit Acetanhydrid und Pyridin (2 Tage, Zimmertemperatur) behandelt. Aus Petroläther (K.p. 40–60°) schied sich ein amorphes, gelbes Pulver aus (12 mg), das bei 157–162° schmolz. (Gef.: C 68,09; H 6,94. Ber. für C₂₂H₂₈O₆: C 68,36; H 6,77; für C₂₂H₂₈O₆: C 68,00; H 7,26). Ultraviolett-Spektrum: Äthanol λ_{\max} 236, 267 m μ (log ϵ 3,92, 3,81); 0,1 N NaOH in Äthanol-Wasser (1:1) λ_{\max} 284 m μ (log ϵ 4,00) (Aromatisierung?). Infrarot-Maxima (in KBr): 3 420 (w), 1 760 (s), 1 695 (m) und 1 615 (w).

Isomerisierung

a) *Bei niedrigerer Temperatur*. Ibamarin (30 mg) wurde in Äthanol (5 ml) gelöst. 1 N NaOH-Lösung (20 ml) wurde zugegeben. Nach ½ Std. bei Zimmertemperatur wurde die Lösung mit 1 N HCl-Lösung (25 ml) angesäuert und die Mischung mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde gewaschen, getrocknet und im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand bestand aus einem leicht gelblichen amorphen Pulver, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Ultraviolett-Spektren: Äthanol λ_{\max} 269 m μ (log ϵ 3,79); 0,1 N NaOH in Äthanol (1:1) λ_{\max} 232, 312 m μ (log ϵ 3,74, 3,64). Infrarot-Maxima (in KBr): 3 420 (s), 1 690 (s), 1 660 (s) und 1 590 (w) cm⁻¹.

Das Produkt wurde acetyliert (Acetanhydrid-Pyridin, 2 Std. auf dem Wasserbad) und gab 10 mg eines kristallinen Pulvers, Schmp. 108–112°. Ultraviolett-Spektren:

Äthanol, λ_{\max} 231 $m\mu$, 275 $m\mu$ (Schulter) ($\log \epsilon$ 3,95, 3,19); 0.1 N NaOH in Äthanol-Wasser, λ_{\max} 231, 308 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3,85, 3,65). Infrarot-Maxima (in KBr): 3 440 (m), 1 740 (s), 1 695 (s), 1 630 (w), 1 590 (w) cm^{-1} .

b) Bei höherer Temperatur. Ibamarin (50 mg) wurde in 1 N NaOH-Lösung (25 ml) gelöst und auf dem Wasserbad $\frac{1}{2}$ Std. erhitzt. Nach etwa 10 Min. färbte sich die Lösung gelb. Die Lösung wurde mit Wasser verdünnt, angesäuert und mit Äther extrahiert. Die Ätherphase hinterliess nach Abdampfen ein amorphes Pulver, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Infrarot-Maxima (in KBr): 3 450 (s), breite Absorption 3 400–2 500 und 1 695 (s) cm^{-1} .

Das amorphe Produkt wurde mit Acetanhydrid und Pyridin ($\frac{1}{2}$ Std. auf dem Wasserbad, dann Zimmertemperatur über Nacht) acetyliert. Das rohe, amorphe Acetat wurde mit Petroläther und einer kleinen Menge Äther extrahiert. Der Rückstand gab 6 mg Kristalle, Schm.p. 236–239° (Zers). Ultraviolett-Spektrum: Äthanol, keine besondere Absorption ausser einem Maximum geringer Intensität bei 285 $m\mu$. Infrarot-Maxima (in KBr): 3 480 (m), breite Absorption 3 500–2 700, 1 745 (s), 1 715 (m), 1 668 (w) cm^{-1} .

Hydrogenierung

Ibamarin (100 mg) wurde mit Platin in Äthanol bei Zimmertemperatur hydrogeniert. Ein Mol Wasserstoff wurde in 2 Stunden aufgenommen, ein weiteres Mol in etwa 24 Stunden. Die Lösung wurde filtriert und eingedampft. Dabei wurde eine farblose, zähe Masse erhalten (105 mg). Infrarot-Maxima (Film): 3 430 (s) und 1 690 (s) cm^{-1} . Das Produkt wurde acetyliert (Acetanhydrid-Pyridin, Zimmertemperatur, zwei Tage) und gab aus Petroläther ein amorphes Pulver (37 mg) ohne bitteren Geschmack, das bei 120–130° schmolz. (Gef.: C 66,06; H 8,39; O 25,26. Ber. für $C_{22}H_{34}O_8$: C 66,97; H 8,69; O 24,34; für $C_{24}H_{36}O_7$: C 66,04; H 8,31; O 25,66). Ultraviolett-Spektrum: keine besondere Absorption über 230 $m\mu$. Infrarot-Spektrum (in KBr): 3 450 (m), 1 735 (s) und 1 690 (s) cm^{-1} .

Chinoxalin

Ibamarin (20,8 mg) und *o*-Phenylendiamin (6,1 mg) wurden in Eisessig (1 ml) gelöst und auf dem Wasserbad 1 Std. lang erhitzt. Die Lösung war braun gefärbt, aber keine Fällung trat ein. Anschliessend wurde die Lösung über Nacht bei Zimmertemperatur gehalten, in Wasser gegossen und mit Äther extrahiert. Die Ätherphase wurde gründlich mit verdünnter Salzsäure und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde aus Petroläther kristallisiert. 3.2 mg eines feinen Pulvers; Schm.p. 138–145°. Ultraviolett-Spektrum: Äthanol λ_{\max} 237, 320 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 4,25, 3,51), Schultern bei 265 und 310 $m\mu$ ($\log \epsilon$ 3,72, 3,45). Infrarot-Maxima (in KBr): 3 420 (s), 1 690 (s), 1 660 (Schulter, m) und 1 620 (m) cm^{-1} .

Nach der Vollendung des Manuskripts erfuhren wir von einer Arbeit von Pourrat und Decorps (*Bull. soc. chim. France* 1961 670), in der sie die Isolierung von einem Bitterstoff "Ibamarin" aus *Iberis amara* L. beschreiben. Dieser Bitterstoff ist wahrscheinlich identisch mit unserer Verbindung. Sie erklären jedoch, das die Ergebnisse die Anwesenheit eines Phenol-Hydroxyls, eines nicht-acetylierbaren Hydroxyls, einer Keton- und einer Ester- oder Lacton-Gruppe zeigen. Gemäss unseren Ergebnissen ist die Anwesenheit einer Phenol-, Ester- oder Lacton-Gruppe in Ibamarin ausgeschlossen.

LITERATUR

1. Kjær, A. in *Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe* 18 (1960) 129.
2. Kowalewski, Z., Jäger, H., Schindler, O. und Reichstein, T. *Helv. Chim. Acta* 43 (1960) 957.
3. Schultz, O. E. und Gmelin, R. *Arch. Pharm.* 59 (1954) 404.
4. Korte, F., Barkemeyer, H. und Korte, I. *Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe* 17 (1959) 124.
5. Gillam, A. E. und Stern, E. S. *An Introduction to Electronic Absorption Spectroscopy in Organic Chemistry*, Edward Arnold Ltd, London, 1957, a S. 103, b. S. 113.

6. Bellamy, L. J. *Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution*, Dietrich Steinkopff, Darmstadt 1955.
7. Lavie, D. und Shvo, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 3058.
8. Lavie, D., Shvo, Y. und Willner, D. *J. Am. Chem. Soc.* **81** (1959) 3062.
9. Stiller, E. T. und Rosenheim, D. *J. Chem. Soc.* **1938** 353.
10. Lavie, D. und Szinai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **80** (1958) 707.
11. Bredenberg, J. B. *Acta Chem. Scand.* **13** (1959) 1733.
12. Bohlmann, F. *Chem. Ber.* **84** (1951) 860.
13. Albert, A., Brown, D. J. und Cheeseman, G. *J. Chem. Soc.* **1951** 474.
14. Cava, M. P. und Weinstein, B. *Chem. & Ind. London* **1959** 851.
15. Chan, W. R., Haynes, L. J. und Johnson, L. F. *Chem. & Ind. London* **1960** 22.
16. Sim, G. A., Hamor, T. A., Paul, I. C. und Robertson, J. M. *Proc. Chem. Soc.* **1961** 75.
17. Barton, D. H. R., Cheung, H. T., Cross, A. D., Jackman, L. M. und Martin-Smith, M. *Proc. Chem. Soc.* **1961** 76.
18. Overton, K. H., Weir, N. G. und Wylie, A. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 211.
19. Burn, D. und Rigby, W. *J. Chem. Soc.* **1957**, 2964.
20. Diara, A., Asselineau, C. und Lederer, E. *Bull. soc. chim. France* (5) **1960**, 2171.
21. Valenta, Z., Gray, A. H., Papadopoulos, S. und Podešva, C. *Tetrahedron Letters* **1960**, No. 20, 25.
22. Carman, R. M. und Ward, A. D. *Ibid.* **1961**, 317.
23. Hanson, K. R., Jaquiss, D. B., Lamberton, J. A., Robertson, A. und Savige, W. E. *J. Chem. Soc.* **1954**, 4238.
24. Barton, D. H. R. und Elad, D. *J. Chem. Soc.* **1956** 2085.
25. Naya, K. *Nippon Kagaku Zasshi* **79** (1958) 885; *Chem. Abstracts* **55** (1961) 495.
26. Ikeda, T. und Kanatomo, S. *Yakugaku Zasshi* **78** (1958) 1128; *Chem. Abstracts* **53** (1959) 3389.
27. Takahashi, M., Fujita, T. und Koyama, Y. *Yakugaku Zasshi* **80** (1960) 594; *Chem. Abstracts* **55** (1961) 2590.
28. Glemser, O. und Ott, E. *Ber.* **70 B** (1937) 1513.
29. Ham, E. A., Schafer, H. M., Denkwalter, R. G. und Brink, N. G. *J. Am. Chem. Soc.* **76** (1954) 6066.
30. Polonsky, J. *Bull. soc. chim. France* (5) **1959**, 1546.
31. Geissman, T. A. und Chandorkar, K. R. *J. Org. Chem.* **26** (1961) 1217.
32. Chatterjee, A. und Ghosh, S. *Sci. and Culture (Calcutta)* **26** (1960) 140; *Chem. Abstracts* **55** (1961) 13470.
33. Berger, R. *Heil- und Gewürzpflanzen* **8** (1925) 1.

Received August 28, 1961.