

260. Über Loroglossin

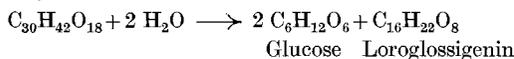
von P. Karrer und E. Matter.

(24. X. 47.)

In Orchideen entdeckten *E. Bourquelot* und *M. Bridel*¹⁾ vor längerer Zeit ein Glucosid Loroglossin; es findet sich in den oberirdischen Organen zahlreicher Orchideen-Arten²⁾, aber stets in kleiner Menge und ist daher relativ schwer zugänglich.

Aus 40 kg frischem Pflanzenmaterial, für welches wir Herrn Prof. *A. U. Däniker* (Zürich) zu grossem Dank verpflichtet sind und das im wesentlichen aus den oberirdischen Teilen von *Orchis latifolia*, *Orchis mascula* und *Orchis maculata* bestand, gelang es uns, nach der Methode von *Delauney*³⁾ ca. 2,2 g krystallisiertes Loroglossin zu gewinnen. Die Krystallisation und Reinigung des Glucosids ist langwierig und erfordert monatelange Zeit.

Dem Loroglossin wird von früheren Bearbeitern die Formel $C_{30}H_{42}O_{18}$ zuerteilt; seine Hydrolyse soll sich nach der Gleichung



vollziehen. Der Sinterungspunkt des Glucosids wird mit 133,5⁰ (korr.), der Schmelzpunkt mit 143,5⁰ (korr.) angegeben.

Wir stellten an unseren gut krystallisierten Präparaten fest, dass sie etwas Methoxyl enthielten (ca. 3 %); da dieser Methoxylgehalt auf die Beimengung einer Methoxyl-haltigen Substanz zurückgehen musste, wurde die Verbindung durch weitere Krystallisationen gereinigt, bis nur noch Spuren von Methoxyl nachweisbar waren. Diese Reinigung ist verlustreich. Solche Präparate zeigten folgende Zusammensetzung:

C 53,11 H 6,25%.

Die Verhältnisformel $(C_7H_{10}O_4)_x$ verlangt C 53,16 H 6,33%

Während unser Wasserstoffwert mit dem von *P. Delauney* gefundenen übereinstimmt, liegt unser C-Wert ca. 1 % höher.

Unser Präparat sinterte bei 136⁰ und war bei 149—151⁰ (unkorr.) geschmolzen.

Obwohl wir vom Loroglossin bisher keine guten Molekulargewichtsbestimmungen ausführen konnten, erscheint es uns wahrscheinlich, dass die Molekularformel des Loroglossins $C_{14}H_{20}O_8$ bzw.

¹⁾ C. r. **168**, 701 (1919).

²⁾ *P. Delauney*, C. r. **171**, 435 (1920); **176**, 598 (1923); *C. Charaux* und *P. Delauney*, C. r. **180**, 1770 (1925); *P. Delauney*, C. r. **180**, 224 (1925).

³⁾ Contribution à l'étude des Glucosides de la famille des Orchidées. Diss. Paris.

$C_8H_9O_3 \cdot C_6H_{11}O_5$ ist. Dafür sprechen die Analysen gut kristallisierter Tetraacetyl-, Tetrabenzoyl- und Tetra-(p-nitrobenzoyl)-Derivate, die sich aus dem Glucosid herstellen liessen.

Das Tetrabenzoylderivat, Smp. 117—118° ergab

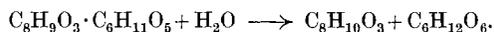
$C_{14}H_{16}O_8(COC_6H_5)_4$	Ber. C 68,8	H 4,9%
	Gef. ,, 69,05	„ 5,1%.

Die Tetra-(p-nitrobenzoyl)-Verbindung, Smp. 154°, hatte die Zusammensetzung:

$C_{14}H_{16}O_8(COC_6H_4NO_2)_4$	Ber. C 55,26	H 3,51	N 6,14%
	Gef. ,, 55,64	„ 3,68	„ 6,38%.

Nach unserer Auffassung handelt es sich somit beim Loroglossin um ein Mono- und nicht um ein Di-glucosid.

Da Loroglossin durch Hydrolyse mit Emulsin nur teilweise in Zucker und Aglucon gespalten wird¹⁾, versuchten wir, es durch die im Hepato-pankreassaft der Weinbergschnecke vorkommenden Enzyme zu zerlegen. Es wird von diesen leicht hydrolysiert. Die nach 3 Tagen abgespaltene Glucosemenge betrug 84,4% der Theorie, wenn man der Hydrolyse folgende hypothetische Gleichung zugrunde legt:



Leider gelang es uns mit der Substanzmenge, die wir für diese Versuche einsetzen konnten, nicht, das Aglucon rein zu fassen.

Bei der katalytischen Hydrierung des Loroglossins in Wasser mit Platinoxid und Wasserstoff wurden pro Mol des Glucosids (Mol.-gew. 316) 3,5—3,7 Mol. H_2 aufgenommen. Ein Teil dieses Wasserstoffs dient zur reduktiven Abspaltung des Zuckerrestes; dieser geht dabei in *d*-Sorbit über, der sich als Dibenzal-sorbit und Hexaacetyl-sorbit isolieren liess.

Loroglossin reagiert nicht mit Hydroxylamin. Es zeigt auch die für Furanverbindungen charakteristischen Farbreaktionen nicht. Bei der polarographischen Untersuchung liessen sich keine Stufen erkennen.

Experimenteller Teil.

Isolierung von Loroglossin.

Die Isolierung des Glucosids erfolgte in der von *Delauney* angegebenen Weise. Die hier angeführten Zahlen beziehen sich auf die Aufarbeitung von 10 kg frischen Pflanzen.

Wir kochten das zerkleinerte Pflanzenmaterial zweimal mit je 50 Liter 85-proz. Alkohol unter Zusatz von $CaCO_3$ aus. Der bräunlichgrüne, alkoholische Extrakt wurde im Vakuum eingedampft, wobei sich ein Rückstand von ca. 300 g ergab, eine braune Masse von heuartigem Geruch. Sie wurde in 300 cm³ heissem Wasser aufgenommen, mit 3 Liter 90-proz. Alkohol versetzt, die Lösung von dem ausfallenden Niederschlag abfiltriert und 15 Min. unter Rückfluss erhitzt. Nach 24 Stunden haben wir den gebildeten Schlamm abgenutscht und die rotbraune Lösung unter Zugabe von $CaCO_3$ im Vakuum zur Trockene verdampft.

¹⁾ *P. Delauney*, l. c.

Der Rückstand wurde mit Seesand und CaCO_3 verrieben und 10–12mal mit je 5 Liter wasserhaltigem Essigester ausgekocht. Jede Extraktion dauerte ca. $\frac{3}{4}$ Stunden. Die gelbgrün gefärbten Essigesterlösungen hat man im Vakuum unter Zusatz von CaCO_3 eingeeengt.

Der bräunliche Rückstand wurde mit 150 cm^3 warmem Wasser aufgenommen, die erkaltete Lösung im Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt und von der dunkelolivegrünen Ätherlösung abgetrennt. Hierauf haben wir die wässrige Lösung im Vakuum zur Trockne eingeeengt und den Rückstand mit ca. 500 cm^3 heissem Alkohol aufgenommen. Nach 24 Stunden wurde die braune, alkoholische Lösung filtriert und zum Filtrat 250 cm^3 absolutem Äther zugegeben. Wir liessen sie 24 Stunden im Eisschrank stehen, dekantierten von dem amorphen Niederschlag ab, versetzten die klare Lösung erneut mit 1200 cm^3 absolutem Äther und dekantierten nach 24-stündigem Stehen nochmals. Aus der so erhaltenen Lösung schieden sich nach 2–3tägigem Aufbewahren im Eisschrank feine Krystalldrusen ab.

Die durch anhaftendes Öl noch stark verunreinigten Krystalle krystallisierten wir zuerst aus Aceton und dann mehrmals aus Alkohol um.

Das Glucosid schied sich in feinen, leichten Nadelchen ab und schmolz bei $149\text{--}151^\circ$.

Hydrolyse des Loroglossins.

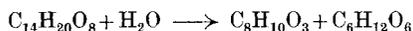
Da *DeLauney* mit Emulsin nur eine unvollständige Spaltung des Glucosids erreicht hatte (41,66%), versuchten wir, das Loroglossin mit Hilfe von Schneckenferment zu spalten.

Wir versetzten eine wässrige Lösung des Glucosids mit Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke und bestimmten nach einer gewissen Zeit den Zuckergehalt der Lösung nach der Methode von *Bertrand*.

Zu unserem Versuch lösten wir 49,916 mg Loroglossin in ca. 5 cm^3 Wasser und versetzten die Lösung mit 1 cm^3 Schneckenferment. Die braune, klare Lösung wurde 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen und anschliessend 24 Stunden im Brutschrank bei einer Temperatur von 30° aufbewahrt.

Nach dieser Zeit hatte sich die Lösung stark getrübt und ein weissgrauer Bodensatz gebildet.

Wir entnahmen dann der Lösung, deren Gesamtgewicht 6,6456 g betrug, zur Bestimmung des Zuckergehalts 2,0314 g Flüssigkeit. Diese enthielt 15,25 mg Loroglossin und $0,305 \text{ cm}^3$ Ferment. Wenn sich die Glucosidspaltung nach der Gleichung



vollzieht, müssten bei vollständiger Hydrolyse 8,69 mg Glucose gebildet werden.

Wir fanden 7,85 mg Glucose, wovon 0,52 mg als Reduktionsanteil des Fermentes zu subtrahieren sind.

Die 7,33 mg Glucose entsprechen daher einer Hydrolyse von 84,4%.

Isolierung des Aglucons.

Die Hydrolyse wurde mit 200 g Loroglossin wiederholt, das man während 4 Tagen der Einwirkung des Schneckenfermentes aussetzte. Anschliessend schüttelten wir die wässrige Lösung dreimal mit Äther aus und engten die filtrierte Ätherlösung im Vakuum ein. Wir erhielten als Rückstand eine harzige, gelbe Masse, die man in Chloroform aufnahm, wobei ein Teil des Harzes ungelöst zurückblieb. Die Chloroformlösung wurde im Vakuum eingeeengt und das zurückbleibende Öl in Äther gelöst. Beim Einengen der Ätherlösung blieb ein öliger Rückstand, in dem sich winzige Krystallkeime bildeten.

Auch durch wiederholtes Aufnehmen in Äther und Chloroform liess sich die Substanz nicht in reinen Krystallen gewinnen.

Erst nach mehrwöchigem Stehen krystallisierte die Masse teilweise durch, wobei sich gelbliche, blattförmige Krystalle bildeten.

Die Krystalle besaßen einen angenehmen Geruch nach frischem Heu und gaben mit FeCl_3 eine schwache, violette Farbreaktion. Die erhaltene Substanzmenge war sehr gering und noch nicht rein.

Löslichkeit, Geruch und FeCl_3 -Reaktion stimmten mit den von *Delauney* gemachten Angaben überein.

Hydrierung des Loroglossins.

Die Mikrohydrierung wurde in wässriger Lösung durchgeführt. Als Katalysator verwendeten wir Platin.

Die Substanz nahm rasch Wasserstoff auf und nach $1\frac{1}{2}$ Stunden war die Hydrierung beendet. Zur Berechnung des aufgenommenen Wasserstoffs wurde als Mol.-Gewicht des Loroglossins 316, entsprechend der Formel $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_8$, angenommen.

9,80 mg Loroglossin nahmen $2,542\text{ cm}^3\text{ H}_2$ auf (0° , 760 mm), entsprechend 3,64 Mol. H_2 auf 1 Mol. Loroglossin.

5,402 mg Loroglossin nahmen $1,321\text{ cm}^3\text{ H}_2$ auf (0° , 760 mm), entsprechend 3,44 Mol. H_2 pro Mol. Loroglossin.

Bei der Hydrierung des Loroglossins in präparativem Maßstab haben wir 200 mg des Glucosids in 30 cm^3 Wasser mit 50 mg Platinoxid und Wasserstoff reduziert. Nach 3 Stunden war die Wasserstoffaufnahme beendet. Die vom Platin abfiltrierte Flüssigkeit wurde im Vakuum zur Trockene gebracht, der farblose, halb feste Rückstand mit 200 cm^3 Äther ausgekocht und der Ätherextrakt eingedampft. Der zurückgebliebene Rückstand besaß angenehmen Geruch, war schwer löslich in Wasser, aber leicht löslich in Aceton, Äther, Petroläther und Chloroform. Seine Krystallisation gelang bisher nicht.

Der in Äther nicht lösliche Anteil des Reduktionsproduktes wurde mit einigen Tropfen Wasser zu einem Sirup angerührt und 1 cm^3 50-proz. Schwefelsäure sowie 0,2 g Benzaldehyd zugefügt. Nachdem dieses Gemisch 2 Stunden auf der Maschine geschüttelt worden war, haben wir es mit 100 cm^3 Wasser verdünnt, den Niederschlag abzentrifugiert und mit Alkohol und Äther gewaschen. Das farblose Produkt schmolz bei 161° und gab mit Dibenzal-sorbit keine Schmelzpunktniedrigung.

In der vom Dibenzal-sorbit abgetrennten wässrigen Lösung haben wir die SO_4 -Ionen mit Bariumhydroxydlösung quantitativ gefällt, BaSO_4 abfiltriert, das Filtrat eingedampft, getrocknet und hierauf in 2 cm^3 trockenem Pyridin und $0,3\text{ cm}^3$ Essigsäureanhydrid aufgenommen. Nach 24-stündigem Stehen wurde das Lösungsmittel im Vakuum verdampft. Es blieb ein in Wasser unlösliches, in Äther leicht lösliches Öl zurück. Dieses wurde mit Äther extrahiert und hierauf im Hochvakuum ($0,04\text{ mm}$) in einer Kugelhöhre destilliert. Nach einigen Tropfen Vorlauf ging bei 155° (Luftbadtemperatur) ein Öl über, das innerhalb 24 Stunden krystallin erstarrte. Die Krystalle schmolzen bei 97° . Ein zu Vergleichszwecken hergestelltes Präparat von Hexaacetyl-sorbit zeigte den Smp. 98° ; Mischschmelzpunkt der beiden Präparate 97 — 98° .

In dem aus Loroglossin bei der katalytischen Reduktion erhaltenen Zuckerderivat handelte es sich somit um *d*-Sorbit.

Loroglossin-tetraacetat.

100 mg Loroglossin wurden in 8 cm^3 wasserfreiem Pyridin gelöst und mit $0,5\text{ cm}^3$ Essigsäureanhydrid versetzt. Die sich gelbbraun färbende Lösung liessen wir unter Ausschluss von Feuchtigkeit 2 Tage bei Zimmertemperatur stehen und engten sie dann im Vakuum ein. Der Rückstand, ein braunes, zähflüssiges Öl, wurde in Äther gelöst, filtriert und mit wenig verdünnter Salzsäure geschüttelt. Dann hat man die Ätherlösung dreimal mit Wasser gewaschen und den Äther abdestilliert. Wir erhielten so eine halb feste, gelbliche Masse, die sich leicht in Äther löste und in Petroläther schwer löslich war.

Es wurde versucht, die Substanz aus einem Gemisch von Äther und Petroläther umzukrystallisieren, was aber erst gelang, nachdem die Lösung mit festem Kohlendioxid stark gekühlt worden war. Nachdem sich beim Abkühlen ein farbloser Stoff abgeschieden

hatte, wurde die überstehende Lösung vorsichtig abdekantiert, etwas eingengt und nochmals gekühlt. So erhielten wir 2 Fraktionen, die man im Trockenapparat bei 60° trocknete.

Fraktion I Smp. 81—90°		
Fraktion II Smp. 83—91°		
$C_{22}H_{26}O_{12}$	Ber. C 54,52	H 5,82%
(484,2)	Gef. ,, 54,95	,, 6,05%

Loroglossin-tetrabenzoat.

100 mg Loroglossin wurden in 10 cm³ wasserfreiem Pyridin gelöst und mit 0,3 cm³ Benzoylchlorid versetzt. Die Lösung färbte sich rasch rot, wobei sich Pyridin-hydrochlorid in farblosen Krystallen abschied. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur unter Ausschluss von Feuchtigkeit wurde die Lösung mit 30 cm³ Äther versetzt, filtriert und mit Hydrogencarbonatlösung, dann mit verdünnter Salzsäure ausgeschüttelt. Wir wuschen die Ätherlösung noch dreimal mit Wasser und engten sie ein.

Der gelbbraune, ölige Rückstand erstarrte beim Stehen über Nacht teilweise zu einer gelblichen Krystallmasse, welche leicht löslich war in Äther, weniger löslich in Aceton, Chloroform, Alkohol, schwer löslich in Petroläther.

Das den Krystallen anhaftende Öl war in Äther schwerer löslich als die Krystalle. Wir nahmen daher die Krystalle in Äther auf, kochten mit etwas Tierkohle, filtrierten und erhielten nach dem Einengen eine feste Substanz. Zum Umkrystallisieren lösten wir sie in wenig Äther und fügten Petroläther bis zur Trübung zu. Beim Abkühlen mit festem CO₂ schieden sich gelbliche Krystalle ab, die nach dem Trocknen bei 117—118° schmolzen. Die Mutterlauge wurde nochmals mit Petroläther versetzt und bei Zimmertemperatur langsam eingedunstet.

Nach drei Tagen hatten sich fast farblose, quaderförmige Krystalle abgeschieden. Ihr Schmelzpunkt lag ebenfalls bei 117—118°.

$C_{42}H_{36}O_{12}$	Ber. C 68,82	H 4,95%
(732,2)	Gef. ,, 69,05	,, 5,09%

Loroglossin-tetranitrobenzoat.

150 mg Loroglossin wurden in 10 cm³ wasserfreiem Pyridin gelöst und die Lösung mit 450 mg p-Nitrobenzoylchlorid versetzt. Hierauf erwärmten wir sie 2 Stunden auf 60° und liessen sie 3 Tage unter Feuchtigkeitsausschluss bei Zimmertemperatur stehen, worauf sich farblose, zu Büscheln vereinigte Krystallnadeln abgeschieden hatten. Beim Zugiessen von 50 cm³ Wasser erfolgte eine weitere Abscheidung von Krystallnadeln.

Die Krystalle, die sich auch in Äther nur sehr schwer lösten, wurden abgenutscht und mit Natriumhydrogencarbonatlösung, dann mit Wasser gewaschen. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Alkohol schmolzen sie bei 154°.

$C_{42}H_{32}O_{20}N_4$	Ber. C 55,25	H 3,53	N 6,14%
(912,2)	Gef. ,, 55,64	,, 3,68	,, 6,38%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.