

78. Die Glykoside der Samen von *Corchorus capsularis* L.¹⁾Glykoside und Aglykone, 175. Mitteilung²⁾von **W. Kreis, Ch. Tamm und T. Reichstein.**

(9. III. 57.)

Aus Blättern und Samen der Jutepflanzen *Corchorus capsularis* L. und *C. olitorius* L. (Tiliaceae) wurde eine Reihe von krist. Bitterstoffen isoliert³⁾, von denen Corchorin, Corchorgenin und Corchsularin sicher mit Strophanthidin (III) identisch sind⁴⁾. Nach *Frèrejacque & Durgeat*⁵⁾ enthalten die Samen beider Arten ein praktisch gleiches Gemisch äusserst wasserlöslicher Glykoside, die sich bereits mit sehr verdünnten Säuren in Strophanthidin und Zucker spalten lassen, von denen aber bisher keines in krist. Zustand isoliert werden konnte. Nach Abbau mit dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke, *Helix pomatia*, gelang es den genannten Autoren 2 gut krist. Glykoside zu isolieren, die sie als Corchorosid A und Corchorosid B bezeichneten. Letzteres besass die Bruttoformel $C_{29}H_{44}O_8$. Es wurde nur in sehr kleiner Menge erhalten und nicht genauer untersucht. Corchorosid A zeigte äusserst starke digitalisartige Wirkung, besass die Zusammensetzung $C_{29}H_{42}O_9$ und liess sich mit sehr verdünnter Säure äusserst leicht in Strophanthidin und einen Zucker spalten, der nicht identifiziert wurde.

Von Herrn Prof. *S. Rangaswami*⁶⁾ erhielten wir am 19. Juli 1954 1,1 kg reife Samen von *C. capsularis* aus der Ernte des Jahres 1953. Die damit durchgeführte Untersuchung wurde begonnen, bevor uns die Arbeiten von *Frèrejacque & Durgeat* bekannt geworden waren. Sie führte aber zu übereinstimmenden Resultaten, so dass hier nur ergänzende Befunde mitgeteilt werden.

¹⁾ Auszug aus Diss. *W. Kreis*, Basel 1957.

²⁾ 174. Mitt. *N. K. Sen, J. K. Chakrabarti, W. Kreis, Ch. Tamm & T. Reichstein*, Helv. **40**, 588 (1957).

³⁾ Literatur vgl. *Sen* und Mitarb.⁴⁾

⁴⁾ *N. K. Sen, J. K. Chakrabarti, W. Kreis, Ch. Tamm & T. Reichstein*, Helv. **40**, 588 (1957).

⁵⁾ *M. Frèrejacque & M. Durgeat*, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **238**, 507 (1954).

⁶⁾ Wir möchten Herrn Prof. *S. Rangaswami*, Andhra-University, Waltair, India, auch hier unseren besten Dank für dieses Material und für seine Bemühungen zur Erwirkung der Exporterlaubnis aussprechen. Er erhielt diese Samen vom Director of Research des Indian Jute Mills Association Research Institute. Sie wurden vom Indian Central Jute Committee geliefert. Auch diesen beiden Stellen sei der verbindlichste Dank ausgesprochen.

Extraktion der Samen und Prüfung der rohen Extrakte⁷⁾. Die Samen wurden zunächst gemahlen und mit Petroläther bei 30° entfettet. Sie gaben dabei 14% Pe-Extr. (= fettes Öl, nicht untersucht). Dann wurde zum Vergleich je eine Probe mit und ohne Fermentierung extrahiert⁸⁾.

a) Probeextraktion ohne Fermentierung. 41 g entfettetes Samenpulver wurden mit Alkohol und anschließend mit wässrigem Alkohol bei 45° erschöpfend extrahiert, die Extrakte mit Pb(OH)₂ gereinigt und nach Entfernung des Alkohols aus wässriger Phase fraktioniert ausgeschüttelt.

b) Probeextraktion mit Fermentierung. Eine zweite Probe (41 g) entfettetes Pulver wurde zuerst mit Wasser angeschlëmmt, 5 Tage bei 37° fermentieren gelassen und dann weiter wie oben extrahiert.

Über das Ergebnis der beiden Vorproben orientiert Tab. 1.

Tabelle 1⁷⁾.

Vergleich der Rohextrakte aus fermentierter und nichtfermentierter Samenprobe. Je 41 g entfettetes Samenpulver (entspr. 50 g ursprüngliche Samen) gaben:

a) Versuch ohne Fermentierung				
Extrakt	Ausbeute		Kedde-Reaktion	Flecke im Papierchromatogramm
	in mg	in %		
Ae-Extrakt	42,2	0,08	±	(A) (B ?)
Chf-Extrakt	52,4	0,11	+	(A) (B)
Chf-Alk-(9:1)-Extrakt .	71,7	0,14	+++	D (E ?)
Chf-Alk-(4:1)-Extrakt .	252,8	0,51	+++	D (E ?)
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt .	318,6	0,64	+++	D+(E ?)
Chf-Alk-(3:2)-Extrakt .	52,7	0,11	++	E
Total	790,4	1,59		
b) Versuch mit Fermentierung				
Ae-Extrakt	549,3	1,10	++	C
Chf-Extrakt				
Chf-Alk-(9:1)-Extrakt .	84,5	0,17	+++	C
Chf-Alk-(4:1)-Extrakt .	69,8	0,14	++	C (D)
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt .	112,3	0,22	+	(C), D
Chf-Alk-(3:2)-Extrakt ⁹⁾	658,1	1,32	-	kein Fleck
Total	1474,0	2,95		

⁷⁾ Über die hier und im folgenden benützten Abkürzungen zur Bezeichnung der Lösungsmittel und Extrakte usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil. Die Buchstaben in Klammern bedeuten schwache, diejenigen mit zusätzlichen ? sehr schwache oder unsichere Flecke.

⁸⁾ Methode vgl. *J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 1921 (1951); *J. A. Moore, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 755 (1954).

⁹⁾ In diesem Versuch wurde bei der Gewinnung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts die wässrige Phase viel stärker eingeeengt und öfters ausgeschüttelt. Das Gewicht dieses Extrakts ist daher viel höher. Trotzdem enthält dieser Extrakt praktisch gar keine digitalen Lactone, sondern nur andere Stoffe.

Über die Prüfung im Papierchromatogramm orientieren Tab. 1 und die Fig. 1 bis 4.

Beispiele für die Kontrolle im Papierchromatogramm.

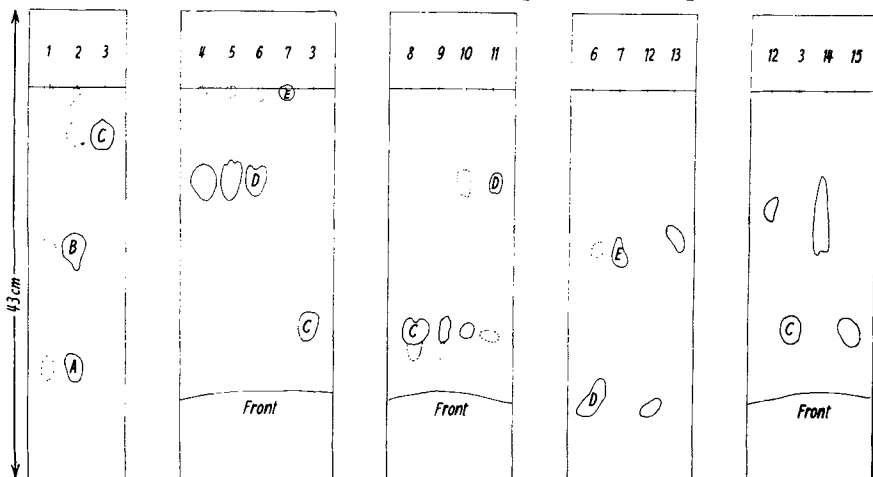


Fig. 1
Chf: Fmd-An-(1:3)
20°; 5 Std.

Fig. 2
To-Bu-(1:1): W
20°; 4,5 Std.

Fig. 3
To-Bu-(1:1): W
20°; 4,5 Std.

Fig. 4
Bu: W;
20°; 20 Std.

Fig. 5
To-Bu-(1:1): W;
20°; 4,5 Std.

- | | |
|--------------|--|
| 1 = 0,5 mg | Ae-Extrakt aus nicht fermentierter Vorprobe |
| 2 = 0,5 mg | Chf-Extrakt aus nicht fermentierter Vorprobe |
| 3 = 0,1 mg | Corchorosid A |
| 4 = 0,5 mg | Chf-Alk-(9:1)-Extrakt aus nicht fermentierter Vorprobe |
| 5 = 0,5 mg | Chf-Alk-(4:1)-Extrakt aus nicht fermentierter Vorprobe |
| 6 = 0,5 mg | Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus nicht fermentierter Vorprobe |
| 7 = 0,5 mg | Chf-Alk-(3:2)-Extrakt aus nicht fermentierter Vorprobe |
| 8 = 0,2 mg | Chf-Extrakt aus fermentierter Vorprobe |
| 9 = 0,2 mg | Chf-Alk-(9:1)-Extrakt aus fermentierter Vorprobe |
| 10 = 0,5 mg | Chf-Alk-(4:1)-Extrakt aus fermentierter Vorprobe |
| 11 = 0,5 mg | Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus fermentierter Vorprobe |
| 12 = 0,1 mg | k-Strophanthin- β |
| 13 = 0,1 mg | Ouabain |
| 14 = 0,05 mg | Convallatoxin |
| 15 = 0,1 mg | Helveticosid |

Nach diesen Vorversuchen enthalten die nicht fermentierten Samen vorwiegend zwei stark wasserlösliche Glykoside (entspr. den Flecken D und E), die bei der Fermentierung weitgehend abgebaut werden. Dabei entsteht ein neues (Chf-lösliches) Glykosid, das den C-Fleck verursacht. Denselben Fleck liefert auch das krist. Corchorosid A. Eine Probe (300 mg) des Chf-Extr. aus Versuch b) wurde hierauf an Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich 20 mg Corchorosid A in Kristallen isolieren liessen. Andere Kristalle wurden nicht erhalten.

Hauptversuch. Für den Hauptversuch wurden 500 g Samen entfettet und wie bei Vorversuch a) ohne Fermentierung extrahiert¹⁰⁾. Sie gaben die in Tab. 2 genannten Ausbeuten.

¹⁰⁾ Statt Äthanol wurde hier Methanol verwendet.

Tabelle 2.
Extrakte aus 500 g Samen ohne Fermentierung

Extrakte	Ausbeuten		Kedde-Reaktion	Flecke im Papierchromatogramm	Biologische Prüfung ¹¹⁾	
	in mg	in %			Am isolierten Froschherz im Vergleich zu Ouabain	Hatcher-Test in Katzen Einheiten pro mg
Pe-Extrakt	64000,0	12,8	—	—		
Ae-Extrakt	416,2	0,083	±	kein Fleck		
Chf-Extrakt	50,0	0,01	±	kein Fleck		
Chf-Alk-(9:1)-Extr.	346,0	0,07	+	(B)+(D)		
Chf-Alk-(4:1)-Extr.	1818,4	0,36	++	D	1	8,2
Chf-Alk-(2:1)-Extr.	2311,2	0,46	+++	D+(E)	1	4,9
Chf-Alk-(3:2)-Extr.	3290,1	0,66	++	E	½	3,0
Total	8231,9	1,64				

Ae-, Chf- und Chf-Alk-(9:1)-Extrakte aus diesem Versuch wurden nicht weiter untersucht. Die drei anderen wurden biologisch geprüft und zeigten sowohl am isolierten Froschherz wie im *Hatcher*-Test an der Katze starke digitalisartige Wirkung (vgl. Tab. 2)¹¹⁾.

Untersuchung des Chf-Alk-(4:1)-Extrakts. Der Chf-Alk-(4:1)-Extrakt enthielt nach Papierchromatogramm den Stoff, der dem D-Fleck entspricht, stark angereichert. Durch Verteilungschromatographie (Probe mit 500 mg) konnten amorphe, vermutlich relativ reine Präparate erhalten werden¹²⁾. Eine Kristallisation gelang aber nicht. Eine weitere Probe (200 mg) des Chf-Alk-(4:1)-Extrakts wurde einer milden sauren Hydrolyse unterworfen, wobei in guter Ausbeute (97,3 mg rohes bzw. 35 mg krist.) Strophanthidin erhalten wurde. Der dabei frei werdende Zucker wurde nicht untersucht. Eine letzte Probe (140 mg) Chf-Alk-(4:1)-Extrakt wurde noch mit Schneckenferment behandelt, worauf sich nach Chromatographie an Al_2O_3 17,9 mg krist. Corchorosid A isolieren liessen.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes. Dieser Extrakt enthielt nach Papierchromatogramm vorwiegend den Stoff D und etwas Stoff E. Eine Probe (1,0 g) wurde wieder einer Verteilungschromatographie unterworfen. Dabei liessen sich 260 mg eines relativ reinen amorphen Präparats gewinnen, das nur den D-Fleck gab. Im

¹¹⁾ Wir danken der *CIBA Aktiengesellschaft* Basel auch hier bestens für die Ausföhrung dieser Prüfung.

¹²⁾ Sowohl Corchorosid A als auch die zwei stark polaren Glykoside D und E werden beim Stehen in methanolischer Lösung allmählich verändert (Oxydation). Dies zeigt sich besonders im Papierchromatogramm. Präparate, die nur einen Fleck gaben, liefern daneben allmählich einen zweiten mit kürzerer Laufstrecke, der nach längerem Stehen immer stärker wird, so dass nach genügender Zeit der ursprüngliche Fleck gar nicht mehr sichtbar ist. Auch Strophanthidin sowie andere Strophanthidinglycoside zeigen gelegentlich diese Erscheinung. Vgl. auch *R. Mauli, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv.* **40**, 284 (1957).

System Bu: W zeigt D praktisch die gleiche Laufstrecke wie k-Strophanthin- β (vgl. Fig. 4). Daneben wurden auch kleinere Fraktionen erhalten, die die Flecke A, B, D, E und auch noch andere zeigten. Keine davon lieferte Kristalle.

Eine zweite Probe (1051 mg) wurde mit Strophanthobiase behandelt und gab 788 mg (70,1%) rohes Glykosidgemisch, aus dem sich nach Chromatographie an Al_2O_3 326 mg krist. Corchorosid A isolieren liessen.

Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts. Dieses Material zeigte vorwiegend den E-Fleck. Im System Bu: W läuft E etwa gleich schnell wie Ouabain (vgl. Fig. 4).

Milde saure Hydrolyse einer Probe (300 mg) gab wieder krist. Strophanthidin (56 mg Rohprodukt bzw. 36 mg Kristalle) sowie 126 mg (= 42%) rohen Zuckersirup.

Eine zweite Probe (300 mg) wurde mit Strophanthobiase behandelt, eine dritte (300 mg) mit Schneckenferment. Über das Resultat orientiert Tab. 3 (Anfarbeitung durch Ausfällung der Proteine und anschliessendes fraktioniertes Ausschütteln¹³).

Tabelle 3.

Behandlung von je 300 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt mit Strophanthobiase und Schneckenferment¹⁴.

Erhaltene Auszüge	Strophanthobiase			Schneckenferment		
	Ausbeuten		Flecke im Papierchromatogramm	Ausbeuten		Flecke im Papierchromatogramm
	in mg	in %		in mg	in %	
Chf-Auszug	101,8	33,9	C, D	70,8	23,6	C
Chf-Alk-(4:1)-Auszug	24,2	8,1	C, D	43,5	14,5	C, D
Chf-Alk-(2:1)-Auszug	16,2	5,3	E	12,3	4,1	C, (D), E
Chf-Alk-(3:2)-Auszug	11,8	3,9	E	8,4	2,8	E
Total Glykoside . . .	154,0	51,2		135,0	45,0	
Zuckersirup	98,5	32,8		139,0	46,3	
Summe	252,5	84,0		274,0	91,3	

74 mg Chf-Auszug der Strophanthobiase-Spaltung wurden an Al_2O_3 chromatographiert und gaben 30 mg krist. Corchorosid A. 105 mg Chf- sowie Chf-Alk-(4:1)-Auszug der Schneckenferment-spaltung wurden zusammen analog chromatographiert und gaben 35 mg krist. Corchorosid A. Andere Kristalle wurden nicht erhalten.

¹³) Die durch enzymatischen Abbau entstandenen weniger polaren Stoffe sind im Chf-Auszug sowie im Chf-Alk-(4:1)-Auszug enthalten. Die nicht abgebauten Anteile finden sich vorwiegend im Chf-Alk-(3:2)-Auszug sowie im Chf-Alk-(2:1)-Auszug.

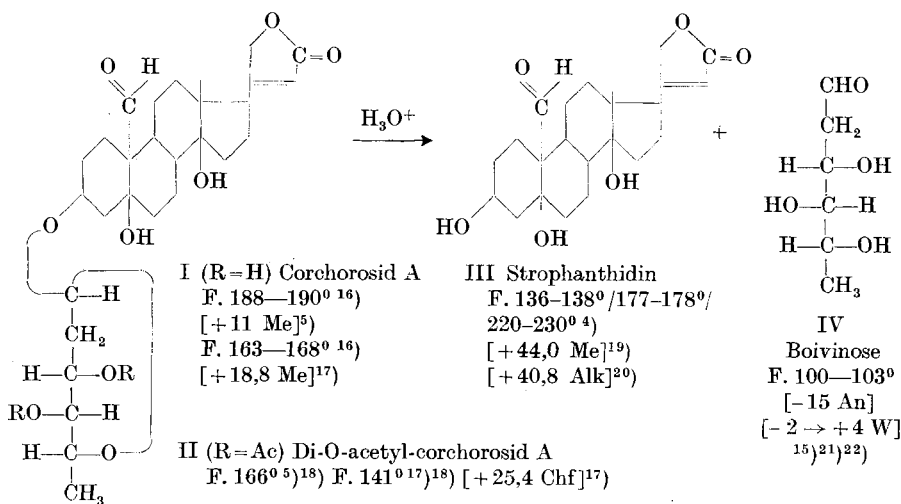
¹⁴) Trockenpräparat, bereitet nach H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 46 (1951).

Die anderen Extrakte aus beiden Ansätzen wurden vereinigt und nochmals mit Strophanthobiase behandelt, worauf sich noch etwas krist. Corchorosid A isolieren liess.

Der Zuckersirup aus dem Versuch mit Schneckenferment gab im Papierchromatogramm einen starken und 3 schwache Flecke. Der Hauptfleck zeigte gleiche Laufstrecke wie D-Glucose.

Diskussion der Ergebnisse.

Aus den bisherigen Versuchen ergibt sich, dass die Samen vorwiegend zwei wasserlösliche Glykoside enthalten, die den Flecken D und E entsprechen. Beim fermentativen Abbau mit den in den Samen selbst enthaltenen Fermenten sowie mit Strophanthobiase oder Schneckenferment werden diese beiden Glykoside (vermutlich unter Abspaltung von Glucose) zu Corchorosid A abgebaut. Aus dem Verhalten im Papierchromatogramm lässt sich vermuten, dass Glykosid D ein Diglykosid aus Corchorosid A mit einem zusätzlichen Mol D-Glucose darstellt. Das noch stärker polare Glykosid E dürfte ein analoges Triglykosid mit zwei Mol D-Glucose sein. Diese Resultate stehen in bester Übereinstimmung mit den Befunden von *Frèrejague & Durgeat*⁵⁾.



¹⁵⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **35**, 730 (1952).

¹⁶⁾ Auf Kofler-Block geprüft, schmolzen beide Präparate genau gleich bei 163—168°.

¹⁷⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

¹⁸⁾ Auf Kofler-Block geprüft, schmolzen beide Präparate genau gleich bei 141—145°.

¹⁹⁾ A. Windaus & L. Hermanns, Ber. deutsch. chem. Ges. **48**, 979 (1915).

²⁰⁾ T. Reichstein & H. Rosenmund, Pharmac. Acta Helv. **15**, 150 (1947).

²¹⁾ H. R. Bolliger & T. Reichstein, Helv. **36**, 302 (1953).

²²⁾ Der Smp. der Boivinoso ist merklich von der Vorbehandlung abhängig und auch etwas vom Feuchtigkeitsgehalt der umgebenden Luft, wenn keine besonderen Vorsichtsmassnahmen getroffen werden.

Konstitution von Corchorosid A. Corchorosid A wird nach *Frèrejacque & Durgeat*⁵⁾ mit verdünnten Säuren äusserst leicht in Strophanthidin (III) und einen 2-Desoxyzucker gespalten, den die genannten Autoren nicht untersucht haben.

Bei der Wiederholung des Versuches erhielten wir ebenfalls Strophanthidin und konnten auch den Zucker in Kristallen fassen. Nach Smp., Mischprobe, Drehung und Papierchromatogramm handelt es sich um D-Boivinose (IV). Dieser Zucker zeigt in Wasser nur eine sehr geringe Drehung. Zur Unterscheidung von D- und L-Form ist eine Lösung in Aceton besser geeignet¹⁵⁾. Corchorosid A besitzt demnach die Konstitution I. Die β -glykosidische Bindung entspricht der Regel von *Klyne*²³⁾ und ergibt sich aus dem Vergleich der molekularen Drehungen (Tab. 4). Im Glykosid D dürfte einer der Reste R in Formel I einen Glucosido-Rest darstellen, in Glykosid E vielleicht einen Gentiobiosido-Rest.

Tabelle 4.

Vergleich der molekularen Drehungen $[M]_D$.

Stoff	$[M]_D$ in Me
Corchorosid A ⁵⁾	+ 58,7° \pm 11°
Strophanthidin	+167° \pm 8°
Drehungsbeitrag des Zuckeranteils	- 108,3° \pm 19°
α -Methyl-D-boivinosid- $\langle 1,5 \rangle$ ²¹⁾ , gefunden	+175°
β -Methyl-D-boivinosid- $\langle 1,5 \rangle$ ²¹⁾ , geschätzt ²⁴⁾	-125°

Es wurde noch versucht Boivinose durch ein krist. Derivat zu charakterisieren, was bisher nicht gelang. Nach *Westphal* und Mitarb.²⁵⁾ geben p,p'-Nitro-biphenyl-sulfonyl-hydrazid und p-Nitrophenyl-sulfonyl-hydrazid mit Digitoxose gut kristallisierte Derivate. Wir konnten diese leicht erhalten²⁶⁾. Auch 2-Desoxy-L-Rhamnose gab mit p,p'-Nitro-biphenyl-sulfonsäure-hydrazid ein krist. Derivat. Aus Boivinose und 2-Desoxy-L-fucose konnten wir weder mit diesem noch mit einem anderen Hydrazinderivat bisher ein krist. Derivat erhalten.

Diese Arbeit wurde durch Beiträge des *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der Wissenschaften* sowie durch *Arbeitsbeschäftigungskredite des Bundes* unterstützt, wofür auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

²³⁾ *W. Klyne*, *Biochem. J.* **47**, xli (1950).

²⁴⁾ α - und β -Methyl-glykoside unterscheiden sich jeweils durchschnittlich um etwa 300°.

²⁵⁾ *O. Westphal, H. Feier, O. Lüderitz & I. Fromme*, *Biochem. Zeitschr.* **326**, 139 (1954).

²⁶⁾ Wir danken Herrn Prof. *O. Westphal*, Freiburg i. Br., auch hier bestens für die freundliche Überlassung der betreffenden Hydrazine.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze der benützten Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^{\circ}$, darüber ca. $\pm 3^{\circ}$. Ausführung der *Kedde*-Reaktion²⁷⁾, der Papierchromatographie²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾, *Keller-Kiliani*-Reaktion³¹⁾ und der Adsorptionschromatographie³²⁾ an alkalifreiem Al_2O_3 ³³⁾ und der Verteilungschromatographie²⁹⁾ nach früheren Angaben. Extraktion der Samen und Vortrennung der Extrakte genau wie früher⁸⁾ beschrieben. Es gelten die folgenden Abkürzungen: Ae = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = entsäuertes Formamid, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. Verhältniszahlen bedeuten das Verhältnis der Volumina.

Extraktion der Samen.

Vorversuch: 100 g Samen wurden im Turmix zerkleinert und mit Pe bei 30° entfettet. Es resultierten 14 g Pe-Extrakt.

1. Ohne Fermentierung: 41 g des obigen entfetteten Samenpulvers wurden mit Alk-W-Gemischen von absteigendem Alk-Gehalt bei 45° gründlich extrahiert. Die Alk-W-Extrakte gaben nach üblicher Reinigung mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ und fraktionierter Ausschüttelung mit Ae, Chf, Chf-Alk-(9:1), -(4:1), -(2:1) und -(3:2) (vgl.⁸⁾): 42,2 mg Ae-Extrakt, 52,4 mg Chf-Extrakt, 71,7 mg Chf-Alk-(9:1)-Extrakt, 252,8 mg Chf-Alk-(4:1)-Extrakt, 318,6 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt und 52,7 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt. Die verbliebene wässrige Phase war nicht mehr bitter (die *Kedde*-Reaktion war negativ) und wurde verworfen. Papierchromatogramme vgl. Fig. 1 und 2.

2. Mit Fermentierung: 41 g entfettetes Samenpulver wurden mit 100 cm³ destilliertem Wasser angeteigt, mit 1 cm³ To überschichtet und 5 Tage bei 37° stehengelassen und hernach wie oben mit Alk-W-Gemischen von steigendem Alk-Gehalt extrahiert und weiter behandelt, wobei wegen Bildung von Emulsionen auf die Ausschüttung mit Ae verzichtet wurde. Es resultierten: 549,3 mg Chf-Extrakt, 84,5 mg Chf-Alk-(9:1)-Extrakt, 69,5 mg Chf-Alk-(4:1)-Extrakt, 112,3 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt und 658,1 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt (*Kedde*-Reaktion negativ). Die verbliebene wässrige Phase zeigte ebenfalls negative *Kedde*-Reaktion und wurde verworfen. Papierchromatogramm vgl. Fig. 3.

Hauptversuch ohne Fermentierung: 500 g Samen wurden wie oben beschrieben entfettet (64 g Pe-Extrakt) und anschliessend mit Me überschichtet und 20 Min. zum Rückfluss auf dem Dampfbad erhitzt. Die weitere, wie oben beschriebene, aber mit Me anstatt Alk durchgeführte Aufarbeitung ergab 416,2 mg Ae-Extr., 50,0 mg Chf-Extr., 346,0 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr., 1818,4 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr., 2311,2 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. und 3290,1 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. Papierchromatogramme entsprechend Fig. 1 und 2.

Untersuchung der Rohextrakte.

Chf-Extrakt des Vorversuches mit Fermentierung. 300 mg dieses Extraktes wurden an 9 g Al_2O_3 chromatographiert, wobei aus 3 mit Chf-Me-(99:1) und Chf-Me-98:2 eluierten Fraktionen 20 mg rohes Corchorosid A vom Smp. 162—171° erhalten wurden. (Identifizierung siehe weiter unten). Die andern Fraktionen kristallisierten nicht.

Die andern Extrakte der Vorversuche wurden nicht weiter untersucht.

Chf-Alk-(9:1)-Extrakt (Hauptversuch): 310 mg dieses Extraktes wurden an 9,5 g Al_2O_3 chromatographiert. Keine der Fraktionen kristallisierte bisher.

²⁷⁾ I. E. Bush & D. A. H. Taylor, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).

²⁸⁾ O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 108 (1951).

²⁹⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, *Helv.* **36**, 357 (1953).

³⁰⁾ E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **37**, 680 (1954).

³¹⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, *Helv.* **31**, 883 (1948).

³²⁾ T. Reichstein & C. W. Shoppee, *Disc. Farad. Soc. No. 7*, 305 (1949).

³³⁾ Hergestellt nach J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, *Helv.* **27**, 1292 (1944), Fussnote 2, aber bei 180—190° aktiviert.

Chf-Alk-(4:1)-Extrakt (Hauptversuch). 1. Verteilungschromatographie: 500 mg Chf-Alk-(4:1)-Extrakt wurde unter Verwendung von Säule Nr. 1 und 200 g Kieselgur-W-Gemisch-(1:1) verteilt²⁹). Durchlaufgeschwindigkeit ca. 4 cm³ pro Std. Die Fraktionen wurden alle 12 Stunden gewechselt (ca. 48–50 cm³ enthaltend). Über das Resultat orientiert Tabelle 5.

Tabelle 5.
Verteilungschromatographie des Chf-Alk-(4:1)-Extrakts.

Fraktionen	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		rohe Menge in mg	Kedde-Reaktion	Flecke im Papierchromatogramm
1–12	Be-Bu-(9:1)	44,0	–	–
13–25	Be-Bu-(9:1) bis –(7:3)	28,1	(+)	–
26–30	Be-Bu-(7:3)	94,3	+	A
31–39	Be-Bu-(7:3)	32,0	+	B
40–65	Be-Bu-(7:3) bis –(6:4)	227,1	+	D
66–71	Be-Bu-(6:4)	3,3	+	D, (E)
72–84	Be-Bu-(6:4) bis –(2:8)	27,0	+	E (?)
	Total	455,8		

Keine der Fraktionen kristallisierte bisher.

2. Milde saure Hydrolyse: 200 mg des nicht fermentierten Chf-Alk-(4:1)-Extrakts wurden mit 10 cm³ Me und 10 cm³ 0,1-n. H₂SO₄ 30 Min. zum Rückfluss erhitzt. Die weitere, nach Angaben der Lit.³⁴) durchgeführte Aufarbeitung ergab 51,6 mg Kristalle vom Smp. 133–141⁰ und 45,7 mg Chf-Extrakt, der aus Me-Ae 22,8 mg Kristalle lieferte. Nach zweimaligem Umkristallisieren der vereinigten Kristalle aus Me-Ae 34,8 mg Strophanthidin vom Smp. 136–140⁰, $[\alpha]_D^{25} = +43,5^0 \pm 2^0$ (c = 1,4848 in Me). Der Misch-Smp. mit authentischem Strophanthidin war gleich. Die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ und die Laufstrecke im Papierchromatogramm waren ebenfalls gleich.

Die verbleibende saure, wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden wie üblich mit BaCO₃ neutralisiert, filtriert und mit wenig Kohle gereinigt und eingedampft. Es resultierten 72,8 mg roher Zuckersirup (Fehling-Reaktion positiv). Er wurde nicht weiter untersucht.

3. Spaltung mit Schneckenferment: (Zur Ausführung vgl. ³⁵)³⁶)³⁷) 140 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr. wurden in 50 cm³ H₂O gelöst, mit Eisessig auf pH 5 eingestellt und 280 mg fein zerriebenes trockenes Schneckenfermentpräparat zugegeben. Die so hergestellte Suspension wurde mit 2 cm³ To überschichtet und 5 Tage bei 35⁰ stengelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 35⁰ auf 10 cm³ eingedampft, mit 50 cm³ Alk versetzt und durch eine Schicht von 1,5 cm Kieselgur (Celite 535) filtriert. Das klare Filtrat wurde im Vakuum vom Alkohol befreit, auf ca. 14 cm³ eingengt und je fünfmal mit je 10 cm³ Chf, Chf-Alk-(9:1), -(4:1), -(2:1) und -(3:2) ausgeschüttelt. Es resultierten: 45,3 mg Chf-Extr., 8,5 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr., 5,0 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr., 4,2 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr., 27,5 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr., total 90,5 mg. Die verbleibende wässrige Phase wurde nicht aufgearbeitet.

³⁴) S. Rangaswami & T. Reichstein, Helv. **32**, 939 (1949).

³⁵) H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein, Helv. **34**, 46 (1951).

³⁶) H. Helfenberger & T. Reichstein, Helv. **31**, 1470, 2097 (1948).

³⁷) A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 687 (1952).

45 mg des Chf.-Auszuges dieser Spaltung wurden an 1,35 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Chf-Me-(99:1) bis Chf-Me-(95:5) eluierten Fraktionen lieferten 17,9 mg rohes Corchorosid A vom Smp. 160—167° (Identifizierung siehe unten).

Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (Hauptmenge). 1. Verteilungschromatographie: 1 g des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes wurde unter Verwendung von Säule Nr. 2 und 850 g Kieselgur-W-(1:1)-Gemisch wie oben beschrieben verteilt. Über das Resultat orientiert Tab. 6.

Tabelle 6.
Verteilungschromatographie des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts.

Fraktionen	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Rohe Menge in mg	Kedde-Reaktion	Flecke im Papierchromatogramm
1—19	Be-Bu-(9:1)	150,7	—	—
20—23	Be-Bu-(9:1) bis (7:3)	63,3	(+)	(A)
24—32	Be-Bu-(7:3)	127,1	+	B
33—36	Be-Bu-(7:3)	123,3	+	(B), D
37—48	Be-Bu-(6:4) bis (4:6)	259,5	+	D
49—50	Be-Bu-(4:6)	11,3	+	(D)
51—57	Be-Bu-(4:6)	65,3	+	—
	Total	800,7		

Keine der Fraktionen kristallisierte bisher.

2. Spaltung mit Strophanthobiase: 1,051 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt in 300 cm³ W mit 2,1 g Strophanthobiase³⁸) und 5 cm³ To wurden, nachdem das pH auf 5 eingestellt war, 5 Tage bei 33° stehengelassen. Die wie beim Versuch mit Schneckenferment durchgeführte Aufarbeitung ergab 639 mg Chf-Extr., 49 mg Chf-Alk-(9:1)-Extrakt, 24 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr. und 26 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr.

Untersuchung des Chf-Extr.: 630 mg Chf-Extr. wurden an 19 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fraktionen 1—3 (eluiert mit Chf und Chf-Alk-(99,5:0,5)) gaben 46,6 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 4—9 (388 mg, eluiert mit Chf-Me-(99:1) und -(98:2)) ergaben aus Me-Ae 326 mg Kristalle vom Smp. 162—168°. Nach Umkristallisieren aus Alk-Ae 250 mg rohes Corchorosid A in prismatischen Kristallen vom Smp. 166—171° (Identifizierung siehe unten).

Die Fraktionen 10—15 (eluiert mit Chf-Me-(95:5) bis -(60:40)) ergaben 12,5 mg amorphes Material.

Chf-Alk-(3:2)-Extrakt (Hauptmenge). 1. Saure Hydrolyse: 300 mg Rohextrakt wurden auf die übliche Weise³⁴) mit 0,05-n. methanolisch-wässriger H_2SO_4 hydrolysiert. Es resultierten 56 mg Chf-Extr., 9 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr., 8 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Der Chf-Extr. zeigte im Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck und ergab aus Me-Ae 36 mg Kristalle vom Smp. 132—140°. Nach Umkristallisieren aus Me-Ae 30,4 mg Strophanthidin vom Smp. 139—142°, $[\alpha]_D^{25} = +42,1^\circ \pm 2^\circ$ (in Me). Misch-Smp., Farb-reaktion mit 84-proz. H_2SO_4 , spezifische Drehung und Laufstrecke im Papierchromatogramm stimmten mit authentischem Strophanthidin überein. Der rohe Zuckersirup von 126 mg (42%) wurde nicht weiter untersucht.

2. Spaltung mit Strophanthobiase: 300 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. wurden wie oben beschrieben mit Strophanthobiase behandelt. Es resultierten 101,8 mg Chf-Extr., 24,2 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr., 16,2 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. und 11,8 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. 74 mg des Chf-Extr., welcher im Papierchromatogramm hauptsächlich den C-Fleck

³⁸) J. Schmutz & T. Reichstein, *Pharmac. Acta Helv.* **22**, 359 (1947), insbes. S. 370.

zeigte, wurden an 2,5 g Al_2O_3 chromatographiert und lieferten in 4 Fraktionen mit den Lösungsmittelgemischen Chf-Me-(98:2) bis Chf-Me-(9:1) ca. 30 mg rohes Corchorosid A vom Smp. 147–166°. Der Zuckersirup von 98,5 mg zeigte im Papierchromatogramm (System: Bu-Py-W-(3:2:1,5)³⁹) einen wie Glucose wandernden Fleck sowie 3 weitere schwächere Flecke, von denen der eine rascher, die 2 andern langsamer wanderten. Er wurde nicht weiter untersucht.

3. Spaltung mit Schneckenferment: 300 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. wurden in 120 cm³ dest. H_2O gelöst, das pH auf 5 eingestellt und mit 700 mg trockenem Präparat von Schneckenferment 5 Tage bei 32° stehengelassen. Es resultierten: 70,8 mg Chf-Extr., 43,5 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr., 12,3 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. und 8,4 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. Der Chf-Extrakt und Chf-Alk-(4:1)-Extrakt wurden vereinigt (105 mg) und an 3,2 g Al_2O_3 chromatographiert. Aus den mit Chf-Me-(99:1) und -(98:2) eluierten Fraktionen wurden 35,4 mg krist. Corchorosid A vom Smp. 168–171° erhalten (Identifizierung siehe unten). Aus der wässrigen Phase wurden 139 mg Zuckersirup erhalten. Er zeigte im Papierchromatogramm (System Bu-Py-W-(3:2:1,5)³⁹) drei schwache und einen starken Fleck; letzterer zeigte die gleiche Laufstrecke wie D-Glucose.

Corchorosid A (I). 1. Identifizierung mit dem Präparat von *Frèrejacque & Durgeat*⁶): Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alk-Ae-Prismen vom Smp. 163–168° (manchmal vom Tripel-Smp. 163–168° \rightarrow 175° \rightarrow 190–218°); $[\alpha]_D^{25} = +19,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,393$ in Me) und $+18,4^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,764$ in Me). *Frèrejacque & Durgeat*⁶) fanden den Smp. 188–190° und $[\alpha]_D = +11^\circ$ (in Me). Das Präparat dieser Autoren schmolz auf dem *Kofler*-Block bei 163–167°. Misch-Smp. 163–168°.

Zur Analyse 3 Std. bei 110° über P_2O_5 getrocknet (Schweinchen). Gewichtsverlust 6,3 bzw. 6,10% (Ber. für 2 H_2O : 6,72%).

$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_9$ (534,63) Ber. C 65,15 H 7,92% Gef. C 65,34; 65,09 H 8,00; 7,98%

Laufstrecke im Papierchromatogramm vgl. Fig. 1, 2 und 5.

Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 : gelbbraun (0'–15'), hellgrünlich (35'), grau-grün (2 Std.), blassgrau (12 Std.). Dar Originalpräparat von *Frèrejacque & Durgeat*⁶) zeigte genau gleiche Färbungen.

2. Acetylierung zu Di-O-acetyl-corchorosid A (II): 20 mg Corchorosid A (I) vom Smp. 163–168° wurden mit 0,4 cm³ Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 24 Std. bei 40° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 25 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 19 mg Kristalle vom Smp. 141–144°. Nach Umkristallisieren aus An-Ae-Prismen vom Smp. 141–145°, $[\alpha]_D^{25} = +25,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,170$ in Chf). *Frèrejacque & Durgeat*⁶) fanden den Smp. 166°; sie gaben keine spez. Drehung an. Auf unserem *Kofler*-Block schmolz das Präparat dieser Autoren bei 141–146°, die Mischprobe bei 141–145°.

3. Saure Hydrolyse von Corchorosid A (I): Strophanthidin (III) und D-Boivinoso (IV): 200 mg Corchorosid A (I) vom Smp. 163–168° wurden mit 10 cm³ 0,1-n. H_2SO_4 und 10 cm³ Me wie üblich hydrolysiert und aufgearbeitet. Es resultierten 120 mg rohes krist. Strophanthidin. Nach zweimal. Umkristallisieren aus Me-Ae 93,5 mg Kristalle vom Smp. 139–141°; $[\alpha]_D^{25} = +44,3^\circ \pm 2^\circ$ (in Me). Misch-Smp., Laufstrecke im Papierchromatogramm und Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren genau gleich wie bei authent. Strophanthidin. Aus den wasserlöslichen Anteilen resultieren 51,2 mg roher Zuckersirup, der aus An spontan in quadratischen Tafeln vom Smp. 72–80° kristallisierte. Nach Umkristallisieren aus An-Ae Smp. 76–81°; $[\alpha]_D^{25} = -10,4^\circ \rightarrow +1,9^\circ \pm 2^\circ$ (Endwert, $c = 1,807$ in Me) und $[\alpha]_D^{25} = -0,5^\circ \rightarrow +1,0^\circ \pm 2^\circ$ (Endwert, $c = 1,368$ in W). Misch-Smp. mit authent. Boivinoso¹⁵)²¹) (vom Smp. 77–82°) bei 76–82°. Die Laufstrecke im Papierchromatogramm im System Bu-Py-W (3:2:1,5)⁴⁰) stimmte ebenfalls mit derjenigen von authent. D-Boivinoso überein.

Die Analysen wurden unter der Leitung von Herrn *E. Thommen* im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

³⁹) *E. Chargaff, C. Levine & C. Green*, J. biol. Chemistry **175**, 67 (1948); *A. Jeanes, C. S. Wise & R. J. Dimler*, Anal. Chemistry **23**, 415 (1951).

⁴⁰) Vgl. *O. Renkonen & O. Schindler*, Helv. **39**, 1490 (1956).

Zusammenfassung.

Die Samen von *Corchorus capsularis* L. enthalten nach papierchromatographischen Versuchen vorwiegend zwei stark wasserlösliche Glykoside (D und E), die bisher nicht kristallisierten. Vermutlich handelt es sich um ein Di- und ein Triglykosid, bestehend aus Corchorosid A mit einem bzw. zwei Mol D-Glucose. Corchorosid A ist ein β -D-Boivinosid des Strophanthidins.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

79. Gemischte Anhydride aus Carbobenzoxy-Aminosäuren und Chlorameisensäure zur Veresterung von aromatischen und aliphatischen Hydroxyl-Verbindungen

von M. Brenner, J. P. Zimmermann, P. Quitt, W. Schneider und A. Hartmann.

(11. III. 57.)

Im Rahmen unserer Untersuchungen über Umlagerungsreaktionen¹⁾ bei aminoacylierten Salicylsäure-Derivaten und Aminosäureestern von aliphatischen β -Hydroxysäuren suchten wir nach einer bequemen Methode zur Einführung des Cbzo-Aminoacyl-Restes in phenolische und alkoholische Hydroxylgruppen. Die Verwendung der Cbzo-Aminosäure-chloride ist hierbei in vielen Fällen wegen ihren bekannten, unangenehmen Eigenschaften unbefriedigend. Symmetrische Anhydride²⁾ von Cbzo-Aminosäuren sind insofern unvorteilhaft, als – bezogen auf die Säure – eine maximale Ausbeute von nur 50% zu erwarten ist. *Nicolaides, Westland & Little*³⁾ haben Cbzo-Glycin nach *Vaughan*⁴⁾ mit Isovaleriansäurechlorid in das gemischte Anhydrid übergeführt und dasselbe zur Einführung des Cbzo-Glycylrestes in die OH-Gruppe des Cbzo-Serins verwendet. Bei solchen Anhydriden muss man jedoch immer mit einer parallel laufenden Bildung von Isovaleriansäure-ester rechnen⁴⁾. Die einfacher zu handhabenden gemischten Anhydride mit Alkylkohlenensäuren²⁾⁵⁾⁶⁾ sind mit Erfolg zur Herstellung von Estern des Benzylpenicillins herangezogen wor-

¹⁾ M. Brenner, J. P. Zimmermann, J. Wehrmüller, P. Quitt & I. Photaki, *Experientia* **11**, 397 (1955).

²⁾ Th. Wieland & H. Bernhard, *Liebigs Ann. Chem.* **572**, 190 (1951).

³⁾ E. D. Nicolaides, R. D. Westland & E. L. Little, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 2887 (1954).

⁴⁾ J. R. Vaughan jr. & R. L. Osato, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 5553 (1951); vgl. auch F. Weygand & M. Reiher, *Chem. Ber.* **88**, 26 (1955).

⁵⁾ R. A. Boissonas, *Helv.* **34**, 844 (1951).

⁶⁾ J. R. Vaughan jr., *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3547 (1951).