

161. Die Cardenolide von *Erysimum perofskianum* FISCH. et MEY.

2. Mitteilung¹⁾²⁾

Glykoside und Aglykone, 217. Mitteilung³⁾

von Z. KOWALEWSKI, O. SCHINDLER, HERB. JÄGER und T. REICHSTEIN

(30. V. 60)

Aus den Samen der Crucifere *Erysimum perofskianum* FISCHER et MEYER (= *E. compactum aureum* HORT.) konnten sieben einheitliche Cardenolidglykoside (A, B, C, D, E, E' und F) isoliert werden¹⁾. Fünf davon (A, B, E, E' und F) wurden in Kristallen, die zwei weiteren (C und D) in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form erhalten. Von den kristallisierten Stoffen waren A, B und E identisch mit Helveticosid (VII)⁴⁾⁵⁾, Corchorosid A (XI)⁶⁾ und Erysimosid (XIII)⁷⁾. Letzteres war auch identisch mit dem Strophanthidin-digitoxosidoglucosid, das KAISER & Mitarb.⁵⁾ aus den Samen von *Strophanthus kombé* OLIV. sowie *Erysimum crepidifolium* REICHENB.⁸⁾ erhalten hatten. Hier wird über die Konstitutionsermittlung von C, D, E, E' und F berichtet.

Alle diese Glykoside zeigten positive Xanthydrol-Reaktion⁹⁾ und waren dementsprechend unter sehr milden Bedingungen¹⁰⁾ hydrolyzierbar. Die KELLER-KILIANI-Reaktion¹¹⁾ war nur bei C und D positiv, die sich somit als Monoglykoside erwiesen. – Für die Konstitutionsermittlung wurde überall zunächst die milde saure Hydrolyse durchgeführt. Alle 5 Stoffe lieferten dabei Strophanthidin (IV) (nur bei D präparativ isoliert, sonst papierchromatographisch identifiziert), sie unterscheiden sich somit nur durch den Zuckerteil. Die drei Diglykoside E, E' und F ließen sich ferner mit Pilzamylase¹²⁾ zu Monoglykosiden abbauen. Zusätzliche Reaktionen werden bei den einzelnen Stoffen erwähnt. Über die papierchromatographische Trennung der Cardenolide vgl. die 216. Mitteilung³⁾.

¹⁾ 1. Mitteilung: Z. KOWALEWSKI, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 957 (1960).

²⁾ Auszug aus Diss. Z. KOWALEWSKI, Poznán, Polen, 1960.

³⁾ 216. Mitteilung: siehe 1).

⁴⁾ W. NAGATA, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Festschrift für Prof. A. STOLL, Basel 1957, p. 715; *idem*, Helv. 40, 41 (1957), und frühere Lit. daselbst.

⁵⁾ F. KAISER, E. HAACK, M. GÜBE, U. DÖLBERG & H. SPINGLER, Naturwiss. 46, 670 (1959).

⁶⁾ M. FRÈREJACQUE & M. DURGEAT, C. r. hebdo. Séances Acad. Sci. 238, 507 (1954); W. KREIS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 593 (1957).

⁷⁾ W. A. MASLENNIKOWA, F. S. CHRISTULAS & N. K. ABUBAKIROW, Doklady Akad. Nauk. UdSSR 124, 822 (1959); Chem. Abstr. 53, 16204e (1959).

⁸⁾ Briefliche Mitteilung von Herrn Dr. F. KAISER, für die auch hier bestens gedankt sei.

⁹⁾ V. ARREQUINE & P. E. PASQUALIS, Rev. Univ. nac. Cordoba 32, 439 (1945); P. BELLET, Ann. pharmac. franç. 8, 471 (1950).

¹⁰⁾ S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. 32, 939 (1949).

¹¹⁾ Ausführungsform nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948). Diglykoside, die am Desoxyzucker noch Glucose gebunden enthalten, geben dabei keine Färbung.

¹²⁾ Es handelt sich um ein Fermentpräparat aus *Aspergillus oryzae*, für das wir der SCHWEIZERISCHEN FERMENT A.G., BASEL, auch hier danken möchten. Es enthält stark aktive α - und β -Glucosidasen.

matographische Differenzierung der vier theoretisch möglichen Paare von 2-Desoxy-aldohexosen mit gerader C-Kette vgl. vorstehende Mitteilung¹³).

Kabulosid (C). Dieser Stoff lag nur in sehr geringer Menge vor. Die milde, saure Hydrolyse im Mikromästab lieferte neben Strophanthidin (IV) einen Zucker, der nach Papierchromatogramm eine 2-Desoxyhexose darstellte und der papierchromatographisch mit *xylo*-2-Desoxy-hexose (2-Desoxy-gulose) (I) identisch war¹⁴.

Da wegen Substanzmangel weder von Kabulosid noch von dem daraus erhaltenen Zucker eine Drehung bestimmt werden konnte, ist es unsicher, ob die D- oder L-Form vorliegt. Aus Analogiegründen ist die D-Form wahrscheinlicher. Für Kabulosid (C) ergäbe sich dann Formel III.

Perofskosit (D). Auch dieser Stoff war amorph und stellte ein Monoglykosid dar. Milde saure Hydrolyse lieferte krist. Strophanthidin (IV) (als O-Acetyl derivat V charakterisiert) sowie einen Zucker, der nach Chromatographie an Kohle¹⁵ kristallisierte und mit D-*arabo*-2-Desoxy-aldohexose (= 2-Desoxy-D-glucose) (II)¹⁶ identifiziert werden konnte. Er wurde weiter durch sein krist. β -Naphthylhydrazon und die krist. p-Toluidinverbindung charakterisiert. Auf Grund der Drehung muss der Zucker in Perofskosit β -glucosidisch gebunden sein¹⁷), wodurch sich Formel VI ergibt.

*Erysimosid (E)*²⁰. Der Stoff geht beim fermentativen Abbau^{7) 5) 21)} unter Abspaltung von D-Glucose²²⁾ in Helveticosid (VII) über. Auf Grund der Drehung (Vergleich mit Helveticosid) muss die D-Glucose β -glucosidisch gebunden sein. Die ausschliessliche Bildung eines Disaccharids bei der milden sauren Hydrolyse (siehe

¹³⁾ Z. KOWALEWSKI, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 1214 (1960).

¹⁴⁾ Eine sichere Identifizierung ist auf papierchromatographischem Wege allein natürlich unmöglich. Die Identifizierung ist nur eindeutig, wenn der Zucker eine gerade C-Kette enthält.

¹⁵⁾ R. L. WHISTLER & D. F. DURSO, *J. Amer. chem. Soc.* 72, 677 (1950); ausgeführt nach W. J. WHELAN & P. J. P. ROBERTS, *J. chem. Soc.* 1953, 1298.

¹⁶⁾ M. BERGMANN, H. SCHOTTE & W. LECHINSKY, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 55, 158 (1922); 56, 1052 (1923).

¹⁷⁾ Die molekulare Drehung von Perofskosit (VI) beträgt +142° (in Me). Für Strophanthidin- β -D-glucosid¹⁸⁾ wurde +97° (in Me) gefunden. Demgegenüber fanden SHAFIZADEH & STACEY¹⁹⁾ [M]_D bei 2-Desoxy- α -D-glucopyranosiden ca. 49–86° tiefer als bei α -D-Glucopyranosiden.

¹⁸⁾ F. C. UHLE & R. C. ELDERFIELD, *J. org. Chemistry* 8, 162 (1943); R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 284 (1957).

¹⁹⁾ F. SHAFIZADEH & M. STACEY, *J. chem. Soc.* 1957, 4612.

²⁰⁾ Der Abbau unseres Präparates wurde durchgeführt, bevor uns die Publikationen von MASLENNIKOWA *et al.*⁷⁾ sowie KAISER *et al.*⁵⁾ bekannt wurden. Der fermentative Abbau ist auch die beste Methode, um Erysimosid von Olitorisid (durch Papierchromatographie der Bruchstücke) voneinander zu unterscheiden, da Erysimosid und Olitorisid in den bisher geprüften Systemen genau dieselben Laufstrecken zeigten¹⁾. Dies fand zuerst ABUBAKIROW (briefl. Mitteilung).

²¹⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

²²⁾ Dass es sich um Glucose handelt, wurde durch energische saure Hydrolyse einer Probe des Glykosids mit KILIANI-Mischung²³⁾ und Prüfung des entstandenen Zuckers (der Digitoxose-Anteil wird dabei zerstört) im Papierchromatogramm bewiesen. Der Nachweis der Glucose beim fermentativen Abbau ist weniger sicher, weil wir rohe Fermentpräparate verwenden mussten, die Spuren von Zucker enthalten.

²³⁾ Gemisch von 3,5 ml AcOH, 5,5 ml HOH und 1 ml conc. HCl, nach H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 63, 2866 (1930).

unten) spricht stark dafür, dass sie als Glucopyranosid vorliegt. Für Erysimosid kommt daher in erster Linie Formel XIII in Frage oder eine analoge, bei der die Glucose in 3-Stellung des Digitoxoserestes gebunden wäre²⁴⁾. Diesem Bau entsprechend zerfällt Erysimosid bei milder saurer Hydrolyse²¹⁾ in Strophanthidin (IV) und eine Birose, die nach Reinigung an Kohle¹⁵⁾ kristallisierte und die nach Mischprobe und Papierchromatogramm (Fig. 1) mit Digilanidobiose²⁵⁾ identisch war²⁶⁾. Der Bau der letzteren ist nicht sicher bekannt. Es kommen in erster Linie Formel XV sowie eine analoge mit dem β -D-Glucosidorest an C-3 der Digitoxose in Frage. Da Digilanidobiose (als Erysimosid) in derselben Pflanze (*Strophanthus kombé Oliv.*)⁵⁾²⁷⁾ vorkommt²⁸⁾ wie Strophanthobiose³⁰⁾ (als κ -Strophanthosid- β) und weil sie praktisch dieselbe Drehung zeigt³¹⁾ wie diese, vermuten wir, dass die zwei Zucker denselben Bau besitzen. Strophanthobiose leitet sich aber von der Cymarose ab, die Stellung der O-Methylgruppe an C-3 ist bewiesen, Strophanthobiose muss somit Formel XVI besitzen. Wir bevorzugen daher für Digilanidobiose Formel XV³²⁾

²⁴⁾ In der Arbeit von MASLENNIKOWA *et al.*⁷⁾ ist vermutlich durch ein Versehen das Erysimosid mit einem Boivinoserest formuliert. Die Autoren nehmen aber auch β -D-glucopyranosidische Bindung an C-4 des Desoxyzuckers an.

²⁵⁾ A. STOLL & W. KREIS, Helv. 16, 1049 (1933).

²⁶⁾ ABUBAKIROW *et al.* haben nach brieflicher Mitteilung die Digilanidobiose aus Erysimosid inzwischen auch präparativ bereitet und in krist. Form erhalten.

²⁷⁾ R. ZELNIK, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 593 (1960).

²⁸⁾ Das ist natürlich kein Beweis²⁹⁾, nur eine gewisse Stütze für Formel XV.

²⁹⁾ Wie A. OKANO, Chem. pharmac. Bull. (Japan) 6, 178 (1958), zeigte, unterscheiden sich die aus *Digitalis purpurea* isolierten Triglykoside Gitostin (aus Blättern) und Neogitostin (aus Samen) lediglich durch die Stellung des letzten Glucoserestes. Gitostin ist ein 4-Cellobiosido-strosespisid und Neogitostin ein 4-Gentiotiosido-strosespisid. Zwei Diglykoside, die sich wahrscheinlich ebenfalls nur durch die Bindungsart des letzten Glucoserestes voneinander unterscheiden, sind Odorobiosid G und Gracilosid; vgl. W. RITTEL & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 554 (1953); J. P. ROSSELET & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 787 (1953), und frühere Lit. daselbst. Es ist aber bisher nicht bewiesen, dass beide in derselben Pflanze vorkommen.

³⁰⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, J. biol. Chemistry 67, 609 (1926); 79, 519 (1928). A. STOLL & J. RENZ, Helv. 22, 1193 (1939); vgl. A. STOLL, J. RENZ & W. KREIS, Helv. 20, 1484 (1937). M. BARBIER & O. SCHINDLER, Helv. 42, 1065 (1959).

³¹⁾ Die molekulare Drehung eines Zuckers wird durch Methylierung einer 3-ständigen HO-Gruppe erfahrungsgemäss nur sehr wenig verändert.

³²⁾ Diese Formel ist auch schon von anderen Autoren für Digilanidobiose benutzt worden; vgl. z. B. A. OKANO, K. HOJI, T. MIKI & A. SAKASHITA, Chem. pharmac. Bull. (Japan) 7, 226 (1959), sowie R. TSCHESCHE, B. NIYOMPORN & H. MACHELEIDT, Chem. Ber. 92, 2258 (1959). Nach Resultaten der Herren Dr. J. RENZ und Dr. A. v. WARTBURG, SANDOZ AG., Basel (briefliche Mitteilung vom 11. 3. und 4. 4. 1960, für die auch hier bestens gedankt sei), liefert Digilanidobiose bei der Oxydation ein amorphes Lacton, $[\alpha]_D^{20} = +32,0^\circ$ ($c = 0,74$ in Me), das im IR. (in Nujol) zwischen 1710 und 1725 cm^{-1} stark absorbiert und daher ein δ -Lacton darstellt. Permethylierung von Digilanidobiose gab ein krist. Hexa-O-methyl-Derivat, Smp. 74–75° (aus Ae-Pe), $[\alpha]_D^{20} = +34^\circ$ ($c = 0,515$ in Chf), bzw. +37° ($c = 0,47$ in Me).

$\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_9$ (394,45)	Ber. C 54,8	H 8,7	O 36,5	(6)-OCH ₃ 47,2%
	Gef. „	54,7	„ 8,7	„ 36,3 „ 46,4%

Saure Hydrolyse mit 1N HCl in Me (1 Std. 70°), dann Nachhydrolyse in W, gab ein Zuckergemisch. Fraktionierung an Cellulose lieferte einen Sirup (KELLER-KILIANI-Reaktion: positiv), der im Pchr dieselbe Laufstrecke zeigte wie Cymarose. Diese Versuche wurden 1956 ausgeführt. Danach ist die Formel XV gut begründet.

und für Erysidosid Formel XIII, ohne die Stellung des Glucoserestes als völlig gesichert zu betrachten³³⁾.

Eryperosid (E'). Auch dieses Glykosid lieferte beim fermentativen Abbau Heli-
veticosid (VII) und Glucose. Letztere wurde hier ebenfalls papierchromatographisch nach energischer saurer Hydrolyse von E' mit KILIANI-Mischung²³⁾ identifiziert. Dabei liessen sich insbesondere Mannose und Galaktose ausschliessen (vgl. Fig. 2). Wir sehen darin einen zusätzlichen Beweis dafür, dass E und E' isomer sind. Sie können sich nur durch die Bindungsart der Glucose voneinander unterscheiden. Die molekulare Drehung von E' ist um $190^\circ \pm 28^\circ$ stärker positiv als diejenige von E. Damit wird es aber sehr unwahrscheinlich, dass E' ein Stellungsisomeres von E mit einem β -D-Glucopyranosidrest an C-3 der Digitoxose darstellt³⁴⁾. Wir glauben eher, dass die Glucose α -glucosidisch entsprechend Formel XIX gebunden ist, obgleich für einen solchen Stoff noch eine etwas höhere Drehung zu erwarten wäre³⁵⁾. Auch E' lieferte bei milder saurer Hydrolyse neben Strophanthidin (IV) (nur papierchromatographisch identifiziert) einen Zucker, der nach dem Papierchromatogramm (Fig. 1) ein Disaccharid sein dürfte und der merklich rascher lief als Digilanidobiose.

Erycorchosid (F). Als wahrscheinlichste Formel für dieses Diglykosid möchten wir XXI vorschlagen, wobei aber die Bindungsart des Glucoserestes auch hier keinesfalls gesichert ist. Beim fermentativen Abbau von Erycorchosid wurde Corchorosid A (XI)⁶⁾ erhalten (nur papierchromatographisch identifiziert). Daneben dürfte D-Glucose abgespalten worden sein, auf deren Nachweis hier verzichtet werden musste.

Dieselben Spaltstücke liefert bei der enzymatischen Hydrolyse das von ABUBAKIROW *et al.*³⁷⁾ aus den Samen von *Corchorus olitorius* L. isolierte Olitorisid, dem diese Autoren die Formel XVII zuerteilten. Auch wir halten diese Formel für die wahrscheinlichste, obgleich die Stellung der Glucose nicht sicher bewiesen ist³⁸⁾. Erycorchosid zeigt eine um ca. 35° höhere spez. Drehung als Olitorisid (entspr. $\Delta[M]_D = +242^\circ$). Dieser Unterschied ist noch etwas grösser als derjenige zwischen E' und E und wäre mit der vorgeschlagenen α -glucosidischen Bindung in Formel XXI einigermassen vereinbar. Auf jeden Fall scheint sich Erycorchosid von Olitorisid in gleicher Weise zu unterscheiden wie E' von E.

³³⁾ Analoge Formeln wurden für Erysidosid auch von MASLENNIKOWA *et al.*⁷⁾ sowie von KAISER *et al.*⁸⁾ vorgeschlagen. Die erstere⁷⁾ enthält, wie erwähnt²⁴⁾, einen Druckfehler, da in der Formel (nicht im Text) als Zuckerbaustein Boivinose (statt Digitoxose) angegeben ist. Die Formel entspricht somit dem Olitorisid (unsere Formel XVII).

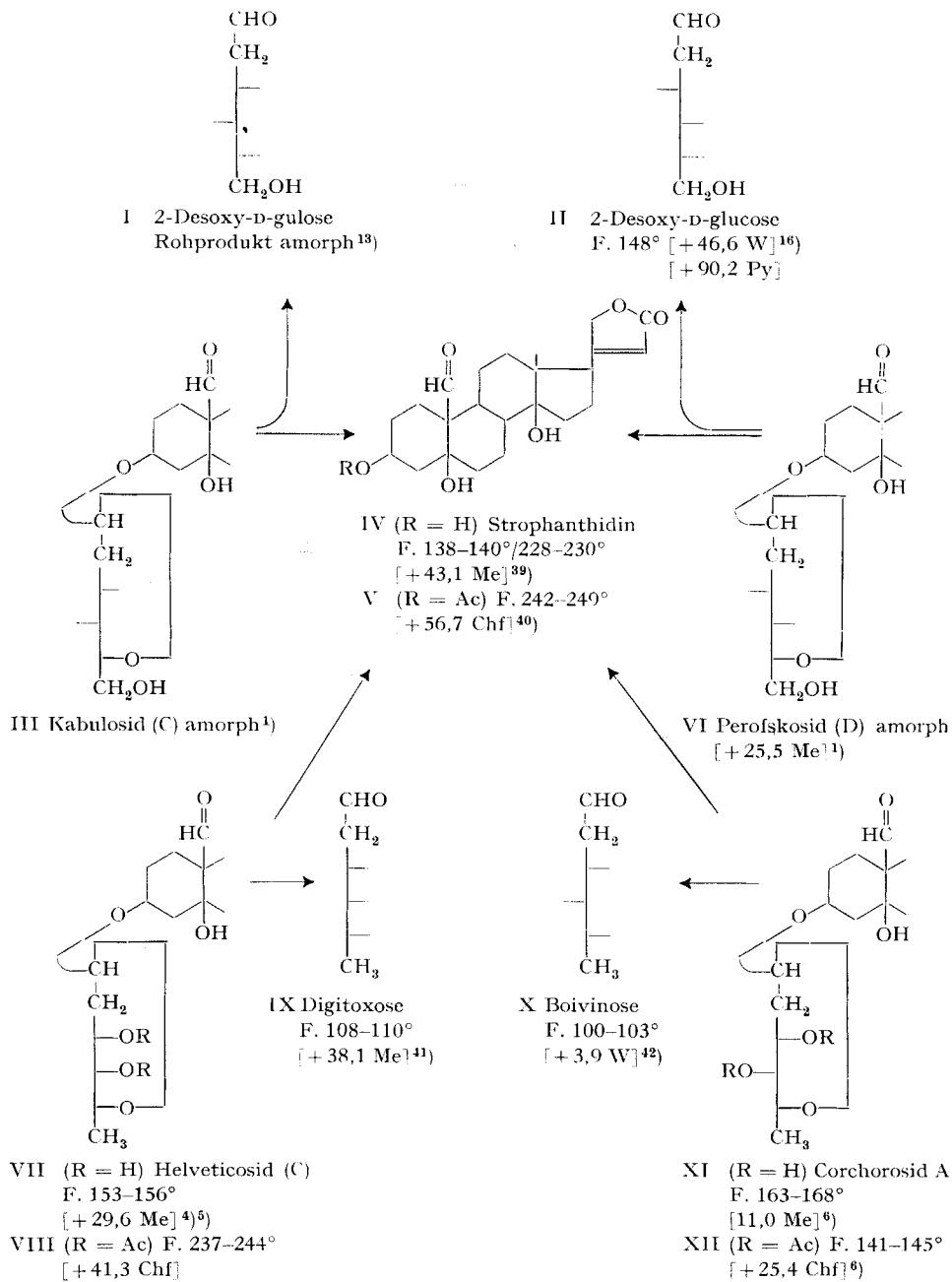
³⁴⁾ Solche Isomere besitzen ähnliche Drehungen. So zeigt Methyl- β -laminaribiosid- $\langle 1,5 \rangle$ nach P. BÄCHLI & E. G. V. PERCIVAL, J. chem. Soc. 1952, 1243, $[\alpha]_D = -28^\circ$ (in W) entsprechend $[M]_D = -99,7^\circ$. Methyl- β -cellobiosid- $\langle 1,5 \rangle$ zeigt nach B. HELFERICH, A. LÖWA, W. NIPPE & H. RIEDEL, Z. physiol. Chem. 128, 141 (1923), $[\alpha]_D^L = -19,1^\circ$ (in W) entsprechend $[M]_D = -68,0^\circ$.

³⁵⁾ Durchschnittlich ist die molekulare Drehung eines α -D-Glucopyranosids ca. 350° höher als diejenige des entsprechenden β -D-Glucopyranosids. So zeigt z. B. Methyl- β -maltosid- $\langle 1,5 \rangle$ $[\alpha]_D = +83,9^\circ$ (in W) entspr. $[M]_D = +298,7^\circ$ ³⁶⁾. Die Differenz der molekularen Drehung gegenüber dem analogen Cellobiosederivat³⁴⁾ beträgt somit $+366,7^\circ$.

³⁶⁾ J. C. IRVINE & I. M. A. BLACK, J. chem. Soc. 1926, 862.

³⁷⁾ N. K. ABUBAKIROW, W. A. MASLENNIKOWA & M. B. GOROWITZ, Ž. obsč. Chim. (J. f. allgem. Chem.) 28, 2279 (1958); 29, 1235 (1959); Chem. Abstr. 53, 2280i (1959).

³⁸⁾ Die Glucose könnte auch an C-3 des Boivinose-Anteils gebunden sein.

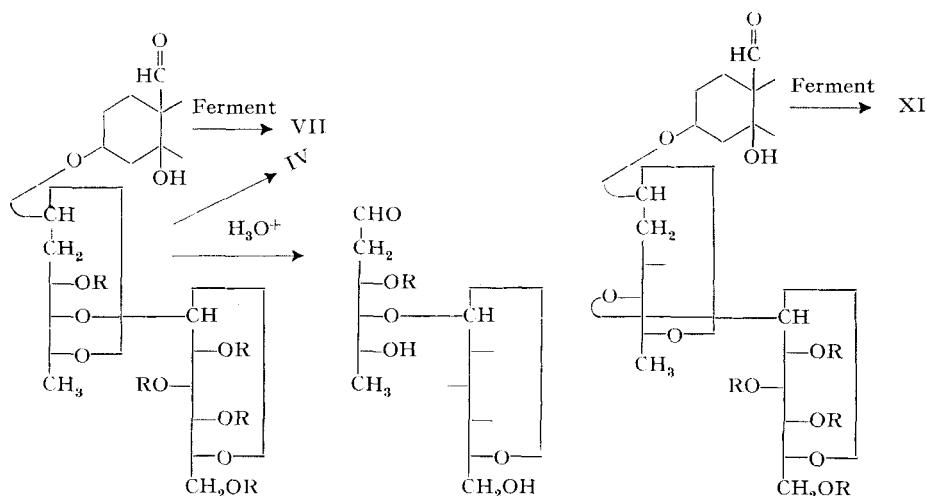


³⁹⁾ W. A. JACOBS & M. HEIDELBERGER, J. biol. Chemistry 54, 253 (1922).

⁴⁰⁾ T. REICHSTEIN & H. ROSENmund, Pharmac. Acta Helv. 15, 150 (1940).

⁴¹⁾ H. R. BOLLIGER & P. ULRICH, Helv. 35, 93 (1952), und frühere Lit. daselbst.

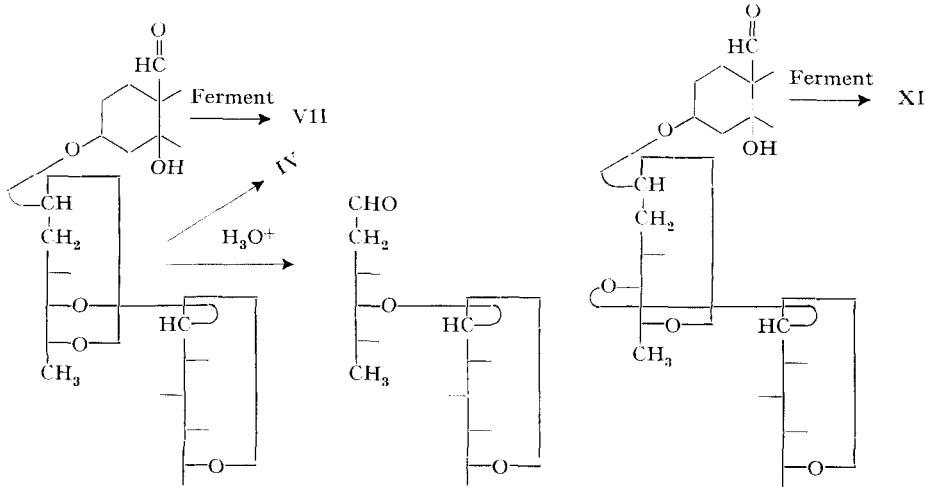
⁴²⁾ H. R. BOLLIGER & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 302 (1953).



XIII ($R = H$) Erysimosid (E)
F. 170–173°
[+ 20 Me]^{1) 5) 7)}
XIV ($R = Ac$)
F. 221–223°
[+ 33,9 Me]^{1) 5) 7)}

XV ($R = H$) Digilanidobiose
F. 227–230°
[+ 29,8 W]⁴³⁾
XVI ($R = CH_3$) Strophan-
thobiose F. 160–170°/205°
[+ 32,1 W]⁴⁴⁾

XVII ($R = H$) Olitorisid
F. 204–206°
[− 4,5 Me]³⁷⁾
XVIII ($R = Ac$)
F. 229° [+ 1,7 Me]³⁷⁾



XIX Eryperosid (E')
F. 178–180°
[+ 43,9 Me]

XX Eryperobiose nicht
rein isoliert

XXI Erycorchosid (F)
F. 238–240°
[+ 30,3 Me]¹⁾

Ac = CH_3CO . Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln⁴⁵⁾ an. Die Bindungsart der Glucose in den Formeln XIII–XXI ist nicht bewiesen.

⁴³⁾ A. STOLL & W. KREIS, Helv. 16, 1049 (1933).

⁴⁴⁾ M. BARBIER & O. SCHINDLER, Helv. 42, 1065 (1959), und frühere Lit. daselbst.

⁴⁵⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

Diskussion der Resultate. Soweit uns bekannt, sind Glykoside der 2-Desoxy-gulose (I) und der 2-Desoxy-D-glucose (II) bisher noch nie in der Natur aufgefunden worden. Kürzlich hat aber BARKER⁴⁶⁾ berichtet, dass verschiedene Pflanzen 2-Desoxy-D-glucose in Oligosaccharide einbauen, wenn sie ihnen dargeboten wird.

Papierchromatogramme von Zuckern

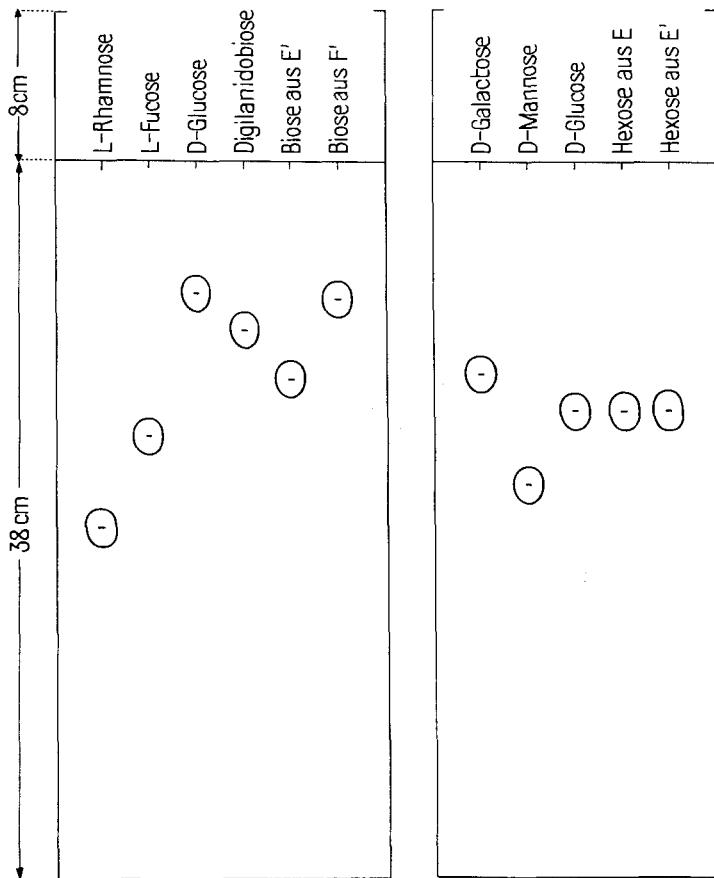


Fig. 1. Bu/W (35%) 48 Std.

Fig. 2. Bu/W (35%) 72 Std.

Ferner ist hervorzuheben, dass α -glucosidische Bindungen von D-Glucose in Cardenoliden bisher nie sicher beobachtet wurden⁴⁷⁾. Falls die Formeln XIX und XXI für Eryperosid und Erycorchosid zutreffen, so wären es vermutlich die ersten bisher bekannten Vertreter dieses Typus.

Fig. 1-2 sind Beispiele für Papierchromatogramme⁴⁵⁾, schematisiert aber massgetreu. Als Papier diente überall WHATMAN No. 1. Zum Beladen mit Wasser wurde durch Wasser-Aceton-(1:3) gezogen und nach Aufbringen der Substanzproben an

⁴⁶⁾ G. A. BARKER, J. Amer. chem. Soc. 81, 3722 (1959).

⁴⁷⁾ Eine Ausnahme dieser Regel bildet Altosid, dessen Konstitution aber noch nicht sicher abgeklärt ist; vgl. H. LICHTI, A. VON WARTBURG & J. RENZ, Planta medica 7, 3722 (1959).

der Luft hängen gelassen, bis das Gewicht des verbliebenen Wassers genau 35% des ursprünglichen Papiergegewichtes betrug. Entwicklung mit Anilinium-hydrogenphtalat⁴⁸). Für die Biosen mit 2-Desoxyzucker am reduzierenden Ende ist dieses Reagens wenig empfindlich (im Pchr sind ca. 0,1 mg Zucker nötig). Diese lassen sich besser (bereits mit 0,005 mg) mit Vanillin-HClO₄⁴⁹) sichtbar machen. Gewöhnliche Zucker werden dabei aber kaum angefärbt. Vergleicht man gewöhnliche Zucker und 2-Desoxyzucker auf demselben Papier, so ist es daher am besten, das Papier vor dem Spritzen zu zerschneiden und die gewöhnlichen Zucker mit Anilinium-hydrogenphtalat, die 2-Desoxyzucker mit Vanillin-HClO₄ zu spritzen.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit. Der eine von uns (Z. K.) dankt dem polnischen Gesundheitsministerium sowie der HACO A.G., Gümligen, für Stipendien, die ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichten.

Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben vgl. vorhergehende Mitteilung¹). -- Es werden die folgenden Abkürzungen benutzt: AcOH = Eisessig, (Ac)₂O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid, Ipr = Isopropanol, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser. Ferner: ML = eingedampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramm und Papierchromatographie. Verhältniszahlen geben das Verhältnis der Volumteile an.

Milde saure Hydrolysen erfolgten nach früherer Vorschrift¹⁰). Zur Ausführung im Mikromassstab wurde wie folgt verfahren: 2-5 mg Glykosid wurden mit 1 ml Me und 1 ml 0,1N H₂SO₄ 25 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 1 ml W versetzt, das Me im Vakuum völlig entfernt und die Lösung noch 30 Min. auf 60° erwärmt. Nach Erkalten wurde 4mal mit je 2 ml Chf ausgeschüttelt. Die mit wenig W, KHCO₃-Lösg. und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen das rohe Genin. Die wässrige Phase und das erste Wasch-W wurden im Vakuum von Chf-Resten befreit, mit frisch aus Ba(OH)₂ und CO₂ bereitetem und gut gewaschenem BaCO₃ neutralisiert, durch ein mit wenig BaCO₃ gedichtetes Filter abgenutscht und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (Zucker) diente zur Pchr.

Enzymatische Hydrolysen im Mikromassstab. 5 mg Glykosid wurden in 0,5 ml W gelöst, mit der Lösung von 20 mg Enzympräparat in 2 ml W, dann mit 0,2 ml To versetzt und 4 Tage verschlossen bei 35° stehengelassen. Dann wurde mit 15 ml abs. Alk versetzt, kurz auf 60° erwärmt und falls nötig noch mit etwas Aceton nachgefällt. Dann wurde durch ein mit wenig gewaschener Kieselgur gedichtetes Filter genutscht und mit Alk nachgewaschen. Das Filtrat wurde bei pH = 6 im Vakuum völlig von Alk befreit, mit 2 ml W versetzt und 5mal mit je 5 ml Chf, dann 5mal mit je 5 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit W, 10-proz. KHCO₃-Lösung und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Die Rückstände der Chf- sowie der Chf-Alk-(2:1)-Extrakte dienten zur Pchr.

Hydrolyse von Kabulosid (C). - 2,4 mg Subst. C (amorph)⁵⁰) wurden mild hydrolysiert. Das Genin gab im Pchr (Systeme Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd und Chf/Fmd) nur einen Fleck mit Laufstrecke wie Strophanthidin. Der Zucker gab in den zwei Systemen der vorstehenden Mitteilung¹³) nur einen starken Hauptfleck (Entwicklung mit Vanillin-HClO₄) entsprechend 2-Desoxy-D-gulose (I). Daneben wurden drei ganz schwache Flecke erhalten, von denen einer der 2-Desoxy-D-glucose (II) (aus Spuren D stammend) entsprach, die zwei weiteren rasch laufenden schwachen Flecke wurden nicht identifiziert.

Milde Hydrolyse von Perofskosid (D). - 20 mg Perofskosid (amorph) wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Das rohe Genin (8,1 mg) gab aus Me-Ae 4 mg farblose Nadeln, Smp. 136-144°/226-235°. Authentisches Strophanthidin und die Mischprobe schmolzen gleich. Die

⁴⁸) S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).

⁴⁹) A. P. MACLENNAN, H. M. RANDALL & D. W. SMITH, Analyt. Chemistry 31, 2020 (1959).

⁵⁰) Es musste hierfür ein Präparat verwendet werden, das noch Spuren von D enthielt.

Laufstrecken im Pchr (Systeme wie bei Genin aus C) waren gleich, ebenso die Farbreaktionen mit H_2SO_4 .

O-Acetyl-strophanthidin. 5 mg Kristalle von obigem Genin wurden in 100 mg $(Ac)_2O$ und 150 mg abs. Py 48 Std. bei 23° stehengelassen. Das neutrale Reaktionsprodukt gab aus Me-Ae 3,7 mg farblose Nadeln, Smp. $241-248^\circ$, $[\alpha]_D^{28} = +54,3^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,36$ in Chf). Misch-Smp. mit authentischem O-Acetylstrophanthidin ohne Depression, und die Farbreaktionen waren gleich.

Zucker aus D. 1 g Aktivkohle *Merck, pro analysi* wurde so lange mit Alk gewaschen, bis eine eingedampfte Probe des Filtrats keinen Rückstand mehr hinterliess. 1 g Kieselgur (Celite 535)⁵¹⁾ wurde ebenso gewaschen. Die zwei gewaschenen Präparate wurden zusammen in W vermischt und durch Schütteln homogenisiert, dann in ein Chromatographierohr ($1,9 \times 16$ cm) eingefüllt und mit 50 ml W nachgewaschen. Dann wurde der aus D erhaltene Zuckersirup (8,6 mg) in 1 ml W gelöst, aufgetragen und entsprechend nachstehender Tabelle eluiert.

Chromatographie des Zuckers aus D an Kohle

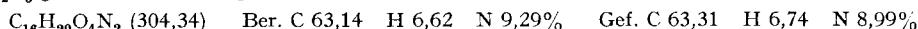
Fraktions-Nr.	Eindampfrückstand			
	Menge in mg	Xant-hydrol-Probe ⁵²⁾	KEDDE-Reaktion ⁵²⁾	Habitus
1-8 W	5,1	—	—	amorph
9-11 W	1,2	(±)	(±)	amorph
12-19 W	2,3	(±)	(±)	amorph
20-24 W-Me-(99:1) . .	8,3	+	—	Krist.
25-28 W-Me-(99:1) . .	2,7	—	—	amorph

Fr. 20-24 gaben aus An-Ae 2,3 mg farblose Kristalle, Smp. $143-146^\circ$, $[\alpha]_D^{22} = +17,8^\circ \pm 8^\circ$ ($c = 0,2$ in W, nach 5 Min. und 60 Min. konstant). Nach Mischprobe und Pchr (zwei Systeme¹⁸⁾) identisch mit 2-Desoxy-D-glucose.

β-Naphthylhydrazon. 1 mg ML der obigen Kristalle (Zucker aus D) und 1 mg frisch sublimiertes *β*-Naphthylhydrazin wurden in 0,1 ml Me 5 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Me durch Abdestillieren mit Ae verdrängt. Beim Abkühlen schieden sich farblose Nadeln ab, die mit Ae gewaschen wurden. Smp. $138-140^\circ$. Misch-Smp. mit authentischem Material (siehe unten) ohne Depression. — Die Laufstrecken im Dünnschichtchromatogramm auf Glasplatte mit Kieselgel-G⁵³⁾ (System Äthylacetat-Bu-(9:1), Lokalisierung durch blaue Fluoreszenz im UV.) sowie im Pchr (System To-Bu-(9:1)/W, 6 Std., Lokalisierung durch blaue Fluoreszenz im UV. sowie Entwicklung mit $KMnO_4-NaJO_4$ ⁵⁴⁾) waren gleich.

p-Toluidinverbindung. 1 mg krist. Zucker aus D wurde in wenig Me gelöst, mit 1 mg frisch sublimiertem p-Toluidin versetzt und 30 Min. auf 100° erhitzt. Dann wurden im Molekularkolben bei 0,05 Torr und 80° alle flüchtigen Anteile (p-Toluidin) entfernt. Der Rückstand gab aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. $187-197^\circ$. Misch-Smp. mit authentischem Material (siehe unten) ohne Depression. Die Laufstrecken im Pchr (Systeme To-Bu-(9:1)/W, 10 Std., und To-Bu-(1:1)/W, 12 Std., Entwicklung mit $KMnO_4-NaJO_4$ ⁵⁴⁾) waren gleich.

2-Desoxy-D-glucose-β-naphthylhydrazon (authentisch). 20 mg krist. 2-Desoxy-D-glucose (II) und 20 mg frisch im Vakuum sublimiertes *β*-Naphthylhydrazin wurden in 0,5 ml Me 5 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Stehen bei 0° schieden sich Nadeln ab, die abgenutzt und mit W, To und Ae gewaschen wurden. Ausbeute 37 mg. Umkristallisieren aus Me gab Nadeln, Smp. $142-143^\circ$, $[\alpha]_D^{28} = +22,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8$ in Me). Zur Analyse wurde 12 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P_2O_5 getrocknet; Einwaage im Schweinchen. Gewichtsverlust 1,14%.



⁵¹⁾ Produkt der Firma JOHNS-MANVILLE, New York, bezogen von SCHNEIDER & Co., Winterthur.

⁵²⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946, Ausführungsform nach J. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1956).

⁵³⁾ Nach E. STAHL, Chemiker-Ztg. 82, 323 (1958), bezogen von Fa. E. MERCK, Darmstadt.

⁵⁴⁾ M. L. WOLFROM & J. B. MÜLLER, Analyt. Chemistry 28, 1037 (1956).

Der Stoff zersetzt sich an der Luft in wenigen Tagen unter Gelbfärbung.

2-Desoxy-D-glucose-p-toluidid (authentisch). 50 mg 2-Desoxy-D-glucose (II) wurden mit 130 mg frisch sublimiertem p-Toluidin in 5 ml Me 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde eingedampft und der Rückstand im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 80° von flüchtigen Anteilen befreit. Der Rückstand gab aus Me-Ae 73 mg farblose Nadeln, Smp. 198–200°, $[\alpha]_D^{25} = -98,0 \pm 2^\circ$ ($c = 1,3$ in Py).

$C_{13}H_{19}O_4N$ (253,29) Ber. C 61,64 H 7,56 N 5,53% Gef. C 61,93 H 7,60 N 5,80%

Abbau von Erysimosid (E'). – *Enzymatische Hydrolyse.* 5 mg krist. Erysimosid aus *Erysimum perofskianum* wurden mit 20 mg Pilzamylase¹²⁾ nach Vorschrift behandelt. Es resultierten 4 mg Chf-Extrakt und 1 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Ersterer gab im Pchr (Systeme Chf/Fmd und Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd) nur *einen* Fleck, mit Laufstrecke wie Helveticosid (VII). Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt war nur relativ schwach KEDDE-positiv. Im Pchr waren die Flecke von Helveticosid und E sichtbar (Systeme wie oben).

Milde saure Hydrolyse. 50 mg krist. Erysimosid aus *Erysimum perofskianum* wurden nach Vorschrift hydrolysiert und gaben 21,6 mg rohes Genin und 27,8 mg rohen Zuckersirup. Das Genin gab im Pchr (System Chf/Fmd) nur *einen* Fleck, entspr. Strophanthidin (IV). Kristallisation aus An-Ae lieferte 11,8 mg kurze Nadeln; Smp. 140–145°/230–234°, Mischprobe mit authentischem Strophanthidin (IV) ebenso.

Der Zucker wurde an 3 g Kohle-Kieselgur-(1:1)-Gemisch (Säule bereitet wie bei Zucker aus Perofskosid beschrieben) chromatographiert. Die ersten 14 mit W eluierten Fraktionen (je 10 ml) gaben bei der Xanthydrol-Reaktion keine Färbung. Die folgenden ebenfalls mit W eluierten Fr. 15–17 zeigten positive Xanthydrol-Reaktion. Von diesen gaben die Fr. 16–17 aus Alk-Ae 1,3 mg farblose Nadeln, Smp. 227–230°. Authentische Digitanidobiose sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Laufstrecken im Pchr (Fig. 1) waren dieselben.

Energische saure Hydrolyse. 5 mg krist. Erysimosid aus *E. perofskianum* wurden mit 1 ml KILIANI-Mischung²³⁾ 1 Std. auf 100° erhitzt. Dann wurde im Vakuum bei 40° fast zur Trockne gedampft, mit 1 ml W versetzt und 3mal mit Chf ausgeschüttelt. Die im Vakuum von Chf-Resten befreite wässrige Phase wurde mit BaCO₃ neutralisiert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand diente direkt zur Prüfung im Pchr. Es wurde nur *ein* Fleck erhalten, mit Laufstrecke wie Glucose.

Abbau von Eryperosid (E'). – *Enzymatische Hydrolyse.* 10 mg krist. Eryperosid wurden wie oben mit 40 mg Pilzamylase abgebaut. Der Chf-Extrakt zeigte im Pchr (Systeme Chf/Fmd und Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd) nur *einen* Fleck mit Laufstrecke wie Helveticosid. Er wurde mild hydrolysiert, worauf ein rohes Genin und ein roher Zucker resultierten. Ersteres zeigte im Pchr nur den Fleck des Strophanthidins (Systeme Chf/Fmd und Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd). Der Zucker gab im Pchr (System Bu/W) nur den Fleck der Digitoxose.

Milde saure Hydrolyse. 5 mg krist. Eryperosid wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Das Genin gab im Pchr (Systeme Chf/Fmd und Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd) nur *einen* Fleck mit Laufstrecke wie Strophanthidin. Der Zucker zeigte das in Fig. 1 ersichtliche Verhalten.

Energische saure Hydrolyse. 5 mg Eryperosid wurden wie bei Erysimosid mit KILIANI-Mischung²³⁾ erhitzt. Der erhaltene Zucker gab im Pchr (Fig. 2) nur *einen* Fleck entsprechend Glucose.

Abbau von Erycorchosid (F) mit Pilzamylase. – 5 mg krist. Erycorchosid vom Smp. 238–240° wurden mit 20 mg Pilzamylase nach Vorschrift behandelt. Der Chf-Extrakt gab im Pchr (Systeme Chf/Fmd und Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd) nur *einen* Fleck mit Laufstrecke wie Corchorosid A (XI).

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Struktur von 4 neuen Glykosiden aus den Samen von *Erysimum perofskianum* wird bis auf wenige Einzelheiten abgeklärt. Der Abbau des bekannten Erysimosids wird beschrieben. Die genannten Glykoside enthalten alle dasselbe Genin (Strophanthidin) und unterscheiden sich nur im Zuckeranteil wie folgt:

Kabulosid (C) enthält vermutlich 2-Desoxy- α -gulose.

Perojskosit (D) enthält 2-Desoxy- α -glucose.

Erysimosid (E) enthält in Übereinstimmung mit Befunden von ABUBAKIROV *et al.* Digilanidobiose. Letztere ist vermutlich eine 4-(β - α -Glucopyranosido)- α -digitoxose.

Eryperosid (E') wird wie Erysimosid enzymatisch zu Helveticosid gespalten; es enthält als Zucker einen mit Digilanidobiose isomeren Zucker, der aus denselben Bausteinen besteht. Es könnte eine 3- oder 4-(α - α -Glucopyranosido)- α -digitoxose vorliegen.

Erycorchosid (F) wird wie Olitorisid enzymatisch in Corchorosid A und vermutlich α -Glucose gespalten. Als Zucker enthält es vermutlich 3- oder 4-(α - α -Glucopyranosido)- α -bovinose.

Die in C, D, E' und F enthaltenen Zucker sind unseres Wissens bisher noch in keinem Naturprodukt aufgefunden worden.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

162. Ergebnisse der Tieftemperaturforschung

XXXI. Die Schmelzkurven von Kohlendioxyd und Distickstoffoxyd bis 250 Atm. und ihr Volumensprung am Schmelzpunkt¹⁾

von Klaus Clusius, Ulrich Piesbergen und Eva Varde

(2. VI. 60)

Kohlendioxyd und Distickstoffoxyd gelten als Musterbeispiele für die Erscheinung der Isosterie. Nach LANGMUIR tritt Isosterie bei Molekülen gleicher Elektronenzahlen- und Kernladungs-Summen auf²⁾. Isostere Moleküle zeichnen sich durch eine auffallende Ähnlichkeit verschiedener physikalischer Größen aus. Gewöhnlich beschränkt man sich auf den Vergleich thermischer Eigenschaften, wie der Schmelz- und Siedepunkte und der kritischen Daten. Es ist aber gerade bei dem hier untersuchten Gaspaar durchaus möglich, auch calorische Größen wie die abnorm grossen Schmelzentropien zum Vergleich heranzuziehen. Weiter lässt sich anführen, dass bei beiden Gasen eine Polymorphie im festen Aggregatzustand fehlt und der Verlauf der Molwärmen bis 10° K hinab bis in die Einzelheiten ähnlich ist³⁾.

Kohlendioxyd schmilzt unter ungewöhnlich grosser Volumenzunahme. Als Ursache darf man bei der linearen Beschaffenheit der Molekül O=C=O vermuten, dass ein relativ grosser Platzbedarf auftritt, wenn der feste Aggregatzustand, in dem die Moleküle nur Schwingungsbewegungen ausführen, in den flüssigen übergeht, in dem noch die Rotationsfreiheitsgrade angeregt sind. Kohlendioxyd kri-

¹⁾ Tieftemperaturforschung XXX. Dampfdruckdifferenz von $^{12}\text{CH}_4$ und $^{13}\text{CH}_4$ zwischen Schmelz- und Siedepunkt. *Helv.* 43, 1267 (1960).

²⁾ Siehe z. B. JOHN EGGERT, Lehrbuch d. physik. Chemie, 8. Aufl. 1960, S. 259.

³⁾ K. CLUSIUS, K. HILLER & J. V. VAUGHAN, *Z. physikal. Chem. B* 8, 432 (1930).