

presses the activities. Nevertheless an ethyl group (But⁸-oxytocin) and even a methyl group (Ala⁸-oxytocin) are sufficient to confer to the molecule a high degree of activity.

Laboratoires de chimie pharmaceutique
SANDOZ S.A., Bâle

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R. A. BOISSONNAS, ST. GUTTMANN, B. BERDE & H. KONZETT, *Experientia* **17**, 377 (1961).
- [2] B. BERDE & R. A. BOISSONNAS, dans: *Pituitary Gland* **3**, p. 624 (Ed.: G. W. HARRIS, Butterworths, London 1965).
- [3] P.-A. JAQUENOUD & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **44**, 113 (1961).
- [4] R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, résultats non publiés cités dans [2].
- [5] M. BODANSZKY & C. A. BIRKHIMER, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 1258 (1962).
- [6] P. G. KATSOYANNIS & V. DU VIGNEAUD, *J. biol. Chemistry* **233**, 1352 (1958); R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1629 (1962); B. BERDE, R. L. HUGUENIN & E. STÜRMER, *Experientia* **18**, 444 (1962).
- [7] R. A. BOISSONNAS & R. L. HUGUENIN, *Helv.* **43**, 182 (1960); R. D. KIMBROUGH & V. DU VIGNEAUD, *J. biol. Chemistry* **236**, 778 (1961); R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1629, note 8 (1962).
- [8] R. L. HUGUENIN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **46**, 1669 (1963); B. BERDE, R. A. BOISSONNAS, R. L. HUGUENIN & E. STÜRMER, *Experientia* **20**, 42 (1964).
- [9] P.-A., JAQUENOUD & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **45**, 1462 (1962).
- [10] I. PHOTAKI & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 908 (1965).
- [11] J. PLESS & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **46**, 1609 (1963).
- [12] C. H. SCHNEIDER & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 3005 (1962).
- [13] TH. WIELAND & G. PFLEIDERER, *Angew. Chem.* **67**, 257 (1955).
- [14] ST. GUTTMANN & R. A. BOISSONNAS, *Helv.* **43**, 200 (1960).
- [15] M. A. ONDETTI, *J. med. Chemistry* **6**, 10 (1963).
- [16] R. L. HUGUENIN, *Helv.* **47**, 1934 (1964).
- [17] O. H. LOWRY, N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR & R. J. RANDALL, *J. biol. Chemistry* **193**, 265 (1951).
- [18] M. BODANSZKY & V. DU VIGNEAUD, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5688 (1959).
- [19] K. HEYNS & G. LEGLER, *Z. physiol. Chem.* **321**, 161 (1961).
- [20] S. G. WALEY, *Biochem. J.* **68**, 189 (1958); K. HOFMANN, J. ROSENTHALER, R. D. WELLS & H. YAJIMA, *J. Amer. chem. Soc.* **86**, 4991 (1964); V. DU VIGNEAUD, G. S. DENNING, S. DRABAREK & W. Y. CHAN, *J. biol. Chemistry* **239**, 472 (1964).
- [21] H. B. F. DIXON, *Biochim. biophysica Acta* **34**, 251 (1959).

204. Sennosid C, ein neues Glucosid aus *Cassia angustifolia* (Senna)

9. Mitteilung über Anthraglykoside [1] [2]

von **W. Schmid** und **E. Angliker**

(2. X. 65)

1. Einleitung. Die Hauptwirkstoffe der Sennesblätter und -schoten (*Cassia angustifolia* VAHL und *Cassia acutifolia* DELILE), die Sennoside A und B, sind von STOLL und Mitarbeitern [2–4] aufgefunden und aufgeklärt worden. In einem Vortrag von B. BECKER, gehalten an der Tagung der deutschen Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung in Münster [2], sind die Ergebnisse der Senna-Forschung bis 1958 zusammengefasst. Darin wurden auch die neueren Arbeiten von FAIRBAIRN diskutiert.

FAIRBAIRN & SALEH berichteten bereits 1951 [5] über ein drittes Glykosid, ein Nicht-Rheinglykosid, in Sennesblättern und -schoten. Da schon TUTIN 1913 [6] in hydrolysierten Senna-Extrakten Aloe-emodin nachgewiesen hatte, wurde die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass es sich beim dritten Glykosid um ein Aloe-emodin-Derivat handeln könnte. Nähere Angaben sind unseres Wissens über dieses dritte Glykosid bis heute nicht gemacht worden. In einer neuen Arbeit geben FAIRBAIRN und Mitarbeiter [7] die Isolierung eines Aloe-emodin-glucosides neben Rhein-mono-glucosid [8], Rhein-diglucosid und Rhein-anthron-glucosid bekannt. Dieses Aloe-emodin-glucosid, über das nichts weiteres erwähnt wird, dürfte mit dem früher beschriebenen dritten Glykosid nicht identisch sein. Chrysophanol-glucosid und auch Rhein-glucosid haben KHORANA & SANGHAVI aus Senna [9] isoliert.

Sehr interessant ist die Arbeit von FAIRBAIRN und Mitarbeitern [10] über die Isolierung eines neuen, sehr wirksamen zuckerreichen Glykosides aus Senna. Durch milde Hydrolyse soll es sich unter Abspaltung von Zuckern in Sennosid (ob A oder B ist leider nicht angegeben) überführen lassen. Unseres Wissens ist bis heute von diesem neuen zuckerreichen Glykosid, dem sog. Primärglykosid, keine genaue chemisch-physikalische Charakterisierung erfolgt, obwohl FAIRBAIRN und Mitarbeiter [7] [11] seither noch weitere, zuckerreichere Primärglykoside beschrieben haben. Aus dem von BORKOWSKI und Mitarbeitern [12] veröffentlichten Papierchromatogramm des Primärglykosids (P) von FAIRBAIRN muss geschlossen werden, dass dieses noch mit recht grossen Mengen Sennosid B verunreinigt war.

Kürzlich berichtete LEMLI [13] [14] über die Isolierung eines neuen Aglucons aus einem neuen Glucosid aus *Cassia acutifolia*, das er Sennosid C (bzw. Sennidin C) nannte. Nach der Behandlung des Aglucons Sennidin C mit FeCl_3 konnte er papierchromatographisch Rhein und Aloe-emodin nachweisen. Damit war die Struktur des Sennidin C weitgehend aufgeklärt. Eine genaue chemische Charakterisierung dieser neuen Substanzen ist unseres Wissens bisher nicht erfolgt.

1964 gaben LEMLI und Mitarbeiter [15] die Isolierung von 2 neuen Agluconen, Rheidin A (Rhein-anthron/Emodin-anthron) und Aloe-emodin-dianthron (Aloe-emodin-anthron/Aloe-emodin-anthron) bekannt.

Auf der Suche nach den Primärglykosiden isolierten wir aus *Cassia angustifolia* ein Glucosid, dessen Aglykon mit Sennidin C identisch ist. In dieser Arbeit wird die Isolierung, Charakterisierung und Konstitutionsermittlung dieses neuen Glucosides, Sennosid C, beschrieben. Ferner wird gezeigt, dass die Primärglykoside von FAIRBAIRN vermutlich Glykosidgemische darstellen und nicht zuckerreichere Vorstufen der bekannten Sennoside A und B sind.

2. *Isolierung und Eigenschaften von Sennosid C (I)*. Durch wiederholte Trennung von über eine Calciumsalz-Fällung gereinigten Senna-Extrakten an mit Pufferlösungen gesättigten Silicagelsäulen konnten Fraktionen mit reinem Sennosid C (I) erhalten werden. Diese ergaben nach dem Aufnehmen in verdünntem Aceton und Versetzen mit wenig Essigsäure eine schleimige, gelbliche Fällung. Daraus liessen sich durch Umkristallisieren aus Aceton-Wasser gelbe viereckige Plättchen gewinnen, die bei 214–216° (Zers.) schmolzen.

Sennosid C (I) ist praktisch unlöslich in Benzol, Äther, Chloroform, wenig löslich in Methanol und Eisessig. In wasserhaltigen Lösungsmitteln wie 70-proz. Aceton oder 70-proz. Methanol sowie in Alkalien ist es gut löslich. Sennosid C (I) hat also ähnliche

Lösungseigenschaften wie Sennosid A. Sennosid C (I) ist stark linksdrehend: $[\alpha]_D^{24} = -123^\circ$ in 70-proz. Aceton; -72° in 70-proz. Dioxan. Die Elementaranalyse stimmt auf die Formel $C_{42}H_{40}O_{19}$. Die UV.-Absorption von Sennosid C (I) ist aus Fig. 1 und sein Verhalten im Papierchromatogramm aus Fig. 2 ersichtlich.

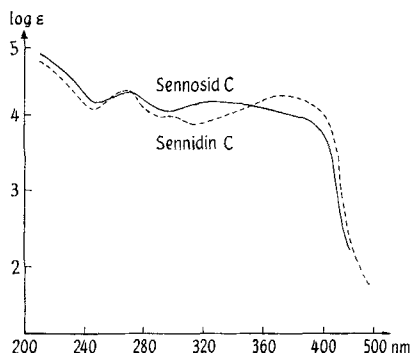


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektren

Sennosid C in Methanol-Wasser-(7:3): Max. bei 268 nm ($\log \epsilon = 4,29$) und 333 nm ($\log \epsilon = 4,17$)
Sennidin C in Methanol (vgl. J. Lemli und Mitarbeiter [15]): Max. bei 260 nm ($\log \epsilon = 4,31$) und 369 nm ($\log \epsilon = 4,26$)

Nach Acetylierung in Acetanhydrid-Pyridin konnte Undeca-O-acetyl-sennosid C (II) erhalten werden. Dieses kristallisierte aus Methanol in feinen blassgelben Nadeln, Smp. $171-174^\circ$, $[\alpha]_D^{22} = +7^\circ$ in 70-proz. Dioxan. Die Elementaranalyse stimmte auf die Formel $C_{64}H_{62}O_{30}$.

Der daraus durch Veresterung mit Diazomethan erhaltene Methylester $C_{65}H_{64}O_{30}$ (III) kristallisierte aus Aceton-Methanol in blassgelben Doppelpyramiden, Smp. $168-169^\circ$, $[\alpha]_D^{24} = -43^\circ$ in 70-proz. Dioxan. Ein Papierchromatogramm dieser beiden Verbindungen ist in Fig. 2 wiedergegeben. Durch Verseifen mit verdünntem Alkali konnten sie, wie aus Fig. 2 ersichtlich ist, in Sennosid C (I) zurückgeführt werden.

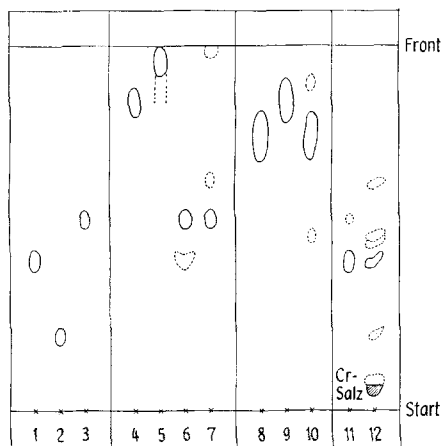
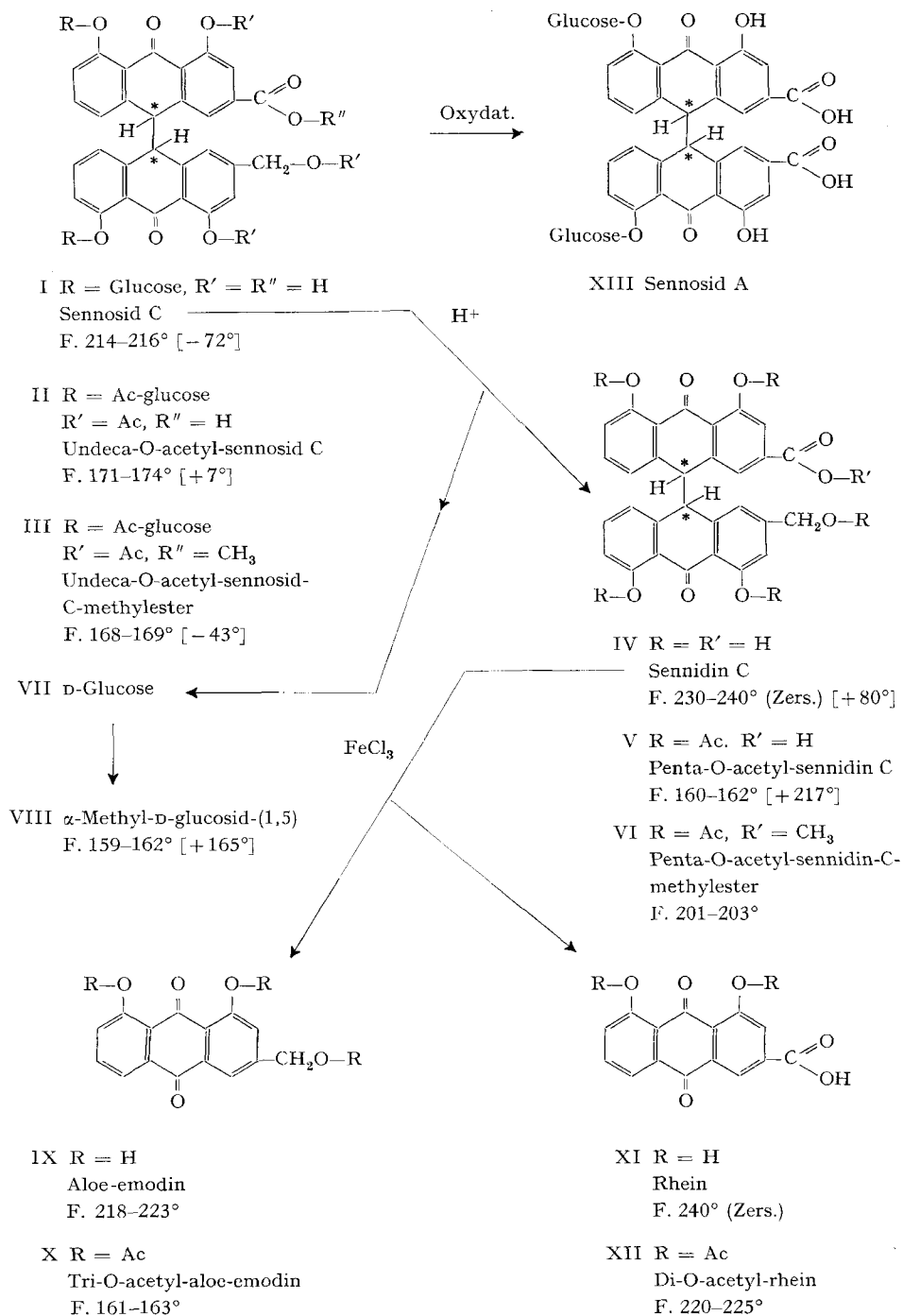


Fig. 2. Papierchromatogramme

- 1 = Sennosid A (XIII)
- 2 = Sennosid B
- 3 = Sennosid C (I)
- 4 = Undeca-O-acetyl-sennosid C (II)
- 5 = Undeca-O-acetyl-sennosid-C-methylester (III)
- 6 = Verseifungsprodukt von 4
- 7 = Verseifungsprodukt von 5
- 8 = Penta-O-acetyl-sennidin C (V)
- 9 = Penta-O-acetyl-sennidin-C-methylester (VI)
- 10 = Sennidin C (IV)
- 11 = Oxydationsprodukt von Sennosid C mit $KMnO_4$
- 12 = Oxydationsprodukt von Sennosid C mit CrO_3

Formelschema



Die saure Hydrolyse von 1 Mol Sennosid C (I) lieferte 1 Mol Aglucon IV und 2 Mol Glucose (VII).

Das Aglucon, Sennidin C (IV), ist in Chloroform schwer, in Alkalien dagegen gut löslich. Aus Aceton-Chloroform kristallisiert es in feinen länglichen Plättchen der Formel $C_{30}H_{20}O_9$, Smp. 230–240° (Zers.). Die UV.-Absorptionskurve ist in Fig. 1 wiedergegeben. $[\alpha]_D^{22} = +80^\circ$ in 70-proz. Dioxan. Die Drehung nimmt beim Stehenlassen der Lösung rasch ab. Dieses Verhalten wird auch bei Sennidin A beobachtet [1].

Durch Acetylierung mit Acetanhydrid-Schwefelsäure ergab Sennidin C (IV) ein Penta-acetat $C_{40}H_{30}O_{14}$ (V), das aus Methylenchlorid-Methanol kristallisierte. Smp. 160–162°; $[\alpha]_D^{24} = +217^\circ$ in 70-proz. Dioxan.

Sein Methylester (VI) kristallisierte aus Methylenchlorid-Methanol und schmolz bei 201–203° (Papierchromatogramm vgl. Fig. 2).

Die Glucose wurde neben dem papier- und dünn-schichtchromatographischen Nachweis durch Überführung in α -Methyl-D-glucosid-(1,5) (VIII) identifiziert. Dieses kristallisierte nach Chromatographie an Silicagel und war nach Smp., Misch-Smp., Drehung und Dünn-schichtchromatogramm identisch mit authentischem Material.

Sennidin C (IV) liess sich mit $FeCl_3$ [4] [13] [16] oxydativ zu Aloe-emodin (IX) und Rhein (XI) spalten. Durch Verteilen zwischen Äther und Hydrogencarbonatlösung konnten diese getrennt werden. Pro Mol Sennidin C (IV) wurde je 1 Mol Aloe-emodin (IX) und Rhein (XI) erhalten. Die Laufstrecken im Papierchromatogramm sowie die IR.-Spektren und Smp. dieser beiden Spaltprodukte stimmten mit denjenigen der entsprechenden authentischen Substanzen Aloe-emodin [16] und Rhein (erhalten durch Spaltung von Sennidin A mit $FeCl_3$ oder Oxydation von Aloe-emodin) überein. Zur weiteren Charakterisierung wurden die Acetate X und XII dieser beiden Verbindungen (IX und XI) hergestellt. Die Elementaranalysen entsprachen den Formeln $C_{21}H_{16}O_8$ (X) bzw. $C_{19}H_{12}O_8$ (XII). Smp., Rf-Werte und IR.-Absorption stimmten ebenfalls mit denjenigen der entsprechenden authentischen Substanzen überein.

Damit ist gezeigt, dass Sennosid C ein Diglucosid des Rhein-aloe-emodin-dianthrone darstellt und ihm aus Analogie zu den Sennosiden die Formel I zukommen dürfte, wie dies von LEMLI [13] angeführt worden ist.

Sennidin C (IV) weist, wie Formel IV zeigt, in 10- und 10'-Stellung je ein asymmetrisches C-Atom auf. Da die beiden Anthronhälften nicht identisch sind wie bei Sennosid A, sind 4 optisch aktive Isomere sowie 2 Racemate denkbar.

Ein Vergleich der molekularen Drehungen von Glucosid und Aglucon ergibt bei Sennosid A und Sennosid C einen Drehungsbeitrag der Glucose von gleicher Grössenordnung, während er in der Sennosid-B-Reihe nur ca. die Hälfte beträgt.

Tabelle 1. *Molekulare Drehungen von Sennosid A, B und C in 70-proz. Dioxan*

	Glucosid	Aglucon	Drehungsbeitrag der Glucose
Sennosid-A-Reihe	– 207°	ca. + 970°	– 1177°
Sennosid-B-Reihe	– 578°	0°	– 578°
Sennosid-C-Reihe	– 611°	+ 419°	– 1030°

Bei vorsichtiger Oxydation von Sennosid C mit CrO_3 wurde, nach dem Papierchromatogramm (Fig. 2) beurteilt, hauptsächlich Sennosid A neben wenig Sennosid B, Spuren einer unbekannten Substanz und Sennidin A gefunden. Mit KMnO_4 konnte die Oxydation so geleitet werden, dass ausschliesslich Sennosid A entstand (vgl. Fig. 2). Damit ist auch die Verknüpfung der Glucose mit dem Aglucon (IV) in Sennosid C (I) festgelegt. Sennosid A und Sennosid C dürften nach diesen Befunden (Drehung, Oxydation) in 10- und 10'-Stellung die gleiche Konfiguration besitzen. Sennosid C (I) ist somit das Glucosid des optisch aktiven rechtsdrehenden Sennidins C (IV). Wie bei Sennidin A konnte bisher auch bei Sennidin C (IV) die optisch aktive linksdrehende Form nicht gefunden werden. Auch die andern beiden möglichen optisch aktiven Formen haben wir bisher noch nicht nachweisen können.

3. *Papierchromatographische Prüfung von Senna-Produkten*¹⁾. Papierchromatographisch können, wie aus Fig. 3 und Tabelle 2 hervorgeht, im wässrigen, wässrigen

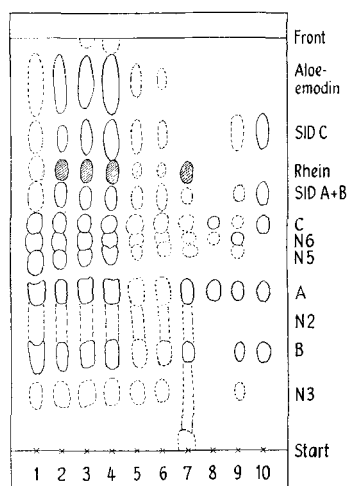


Fig. 3. *Papierchromatogramm*

- 1 = Wässriger Extrakt aus Sennesblättern
- 2 = 50-proz. methanolischer Extrakt
- 3 = 70-proz. methanolischer Extrakt
- 4 = Methanol-Extrakt
- 5 = Mit Na_2SO_4 gesättigter wässriger Extrakt
- 6 = Mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gesättigter wässriger Extrakt
- 7 = Calciumsalz aus Senna nach FAIRBAIRN
- 8 = Sennosid-A-Rohkristalliat
- 9 = Primärglykosid von FAIRBAIRN
- 10 = Test: Sennosid A, B, C, Sennidin A, B, C

Tabelle 2 (zu Fig. 3). *Bezeichnung, Rf-Werte und Entwicklungsfarbe der mit unserem Papierchromatogramm-System (PC) aufgefundenen Senna-Substanzen*

Bezeichnung im PC.	Substanz	Rf-Wert	Farbe im UV. mit Flavognost/Bradosol
N_3	unbekannt	0,08–0,10	orangegelb
B	Sennosid B	0,15–0,18	orangegelb
N_2	unbekannt	0,23–0,25	orangegelb
A	Sennosid A	0,30–0,32	orangegelb
N_5	unbekannt	0,35–0,37	braun-orangegelb
N_6	unbekannt	0,38–0,40	orangegelb
C	Sennosid C	0,42–0,44	orangegelb
SID A + B	Sennidin A + B	0,48–0,50	orangegelb
Rhein		0,56–0,58	violett
SID C	Sennidin C	0,66–0,68	gelbgrün
	Aloe-emodin	0,83–0,86	citronengelbgrün

¹⁾ Eine Arbeit über die quantitativ-papierchromatographische Trennung und Bestimmung von Senna-Inhaltsstoffen werden wir demnächst veröffentlichen.

mit Na_2SO_4 oder mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ gesättigten, verdünnt methanolischen und rein methanolischen Extrakt aus Blättern von *Cassia angustifolia* mit unserem Fließmittel (obere Phase eines Gemisches von Alkohol/*n*-Butanol/0,2M Citratpuffer-(2:4:4)) mindestens 11 Flecke nachgewiesen werden. Neben den Glucosiden Sennosid A, B und C, den Agluconen Sennidin A, B und C, Rhein und Aloe-emodin sind mindestens 4 unbekannte Substanzen, N_2 , N_3 , N_5 und N_6 , vorhanden.

Eine Calciumsalz-Fällung der Sennoside, hergestellt nach FAIRBAIRN, FRIEDMANN & RYAN [10], zeigte im Papierchromatogramm praktisch die gleichen Flecke wie der verdünnt methanolische Extrakt (Fig. 3). Die Sennoside A, B und C sind darin stark angereichert.

Das nach STOLL, BECKER & KUSSMAUL [4] hergestellte Rohkristallinat von Sennosid A weist, wie aus der Fig. 3 hervorgeht, ebenfalls beträchtliche Mengen von Sennosid C (I) auf, enthält aber die übrigen Senna-Substanzen, mit Ausnahme von N_6 , nicht mehr.

Die Senna-Extraktion mit reinem Methanol und mit wässriger gesättigter Natrium- oder Ammoniumsulfatlösung ergab gegenüber der wässrigen Extraktion, wie aus Fig. 3 ersichtlich, keine neuen Flecke, die sehr zuckerreichen Glykosiden zugeschrieben werden könnten. Unter diesen Bedingungen kommen bei anderen Glykoside-enthaltenden Pflanzen-Drogen (z. B. *Digitalis*) die Glucose-abspaltenden Fermente nicht zur Wirkung. Wir glauben deshalb annehmen zu dürfen, dass auch in diesen Senna-Extrakten die ursprünglich in der Pflanze vorhanden gewesenen Wirkstoffe enthalten sind.

Ein Vergleich der Papierchromatogramme dieser auf verschiedenen Wegen erhaltenen Extrakte (Fig. 3) zeigt auch, dass keine grösseren Mengen von Primärglykosiden, wie sie FAIRBAIRN und Mitarbeiter aufführen [7] [10] [11], in den Sennes-Blättern vorhanden sein dürften. Nach unserer Ansicht könnten die unbekannten Flecke N_2 , N_3 , N_5 und N_6 im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 3) am ehesten solch zuckerreiche Glykoside darstellen.

Für das sehr gut wasserlösliche zuckerreiche Primärglykosid geben FAIRBAIRN, FRIEDMANN & RYAN [10] bei der Papierchromatographie mit 85-proz. Isopropanol als Fließmittel Rf-Werte von 0,9–1,0 an, während die Sennoside A + B am Start

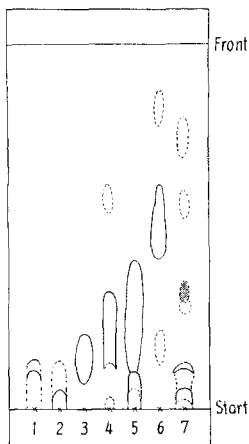


Fig. 4. Papierchromatogramm (Fließmittel 85-proz. Isopropanol)

- 1 = Sennosid A (XIII)
- 2 = Sennosid B
- 3 = Sennosid C (I)
- 4 = Sennidin A
- 5 = Sennidin B
- 6 = Sennidin C (IV)
- 7 = 70-proz. methanolischer Gesamt-Extrakt aus Senna

verbleiben sollen. Ein solcher Befund ist nach unserer Erfahrung kaum denkbar. In diesem System bleiben – nach unseren Beobachtungen – die polareren Substanzen (wie Sennosid A und B) praktisch am Start, die weniger polaren Substanzen (wie die Aglucone Sennidin A und B) wandern (vgl. Fig. 4). Ein R_f -Wert von 0,9–1,0 wird aber, wie ersichtlich, auch von den Sennidinen nicht erreicht.

Zur Abklärung dieser Fragen haben wir eine Probe von FAIRBAIRN's Primärglykosid aus Sennes-Früchten untersucht²⁾. Wie Fig. 3 zeigt, enthielt diese Primärglykosid-Probe als Hauptbestandteile die Sennoside A und B neben Sennosid C, N_3 , N_5 und N_6 und den Agluconen Sennidin A und B und wenig Sennidin C. Sie war also nichts anderes als ein rheinfreier Gesamtextrakt aus Senna. Zersetzungsprodukte dürften unseres Erachtens darin nicht in grösseren Mengen enthalten gewesen sein. So konnten wir in dieser Probe papierchromatographisch nur Spuren ($< 2\%$) von freier Glucose nachweisen, die ja bei der Spaltung von Glucose-reichen Glykosiden in grossen Mengen entstehen müsste. Da auch die von BORKOWSKI [12] untersuchte Probe eines FAIRBAIRN'schen Primärglykosides, wie bereits erwähnt, nicht einheitlich war, müssen wir annehmen, dass FAIRBAIRN und Mitarbeiter nie einheitliche Verbindungen, sondern Gemische verschiedener Senna-Substanzen in Händen hatten und diese als einheitliche Primärglykoside angesehen und beschrieben haben. Die leichte Wasserlöslichkeit und auch die erhöhte Wirksamkeit solcher Gemische liesse sich auch so erklären. Es ist ja bekannt, dass unreine Glykosidgemische oft eine höhere Wirksamkeit aufweisen, als der Summe der reinen Einzelkomponenten entsprechen würde.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Die Smp. wurden auf dem Monoskop³⁾ bestimmt und sind nicht korrigiert. Zur Messung der optischen Drehwerte wurden die Substanzen 4 Std. bei 80° im Hochvakuum getrocknet. Die UV.-Spektren wurden mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DKZ, die IR.-Spektren mit einem PERKIN-ELMER-IR.-Zweistrahlspektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Optik, aufgenommen.

Die *Papierchromatogramme*¹⁾ wurden, wenn nichts anderes angegeben, wie folgt ausgeführt: Papier: WHATMAN Nr. 3, imprägniert mit 0,2M Citratpuffer von pH 6,3. – Fließmittel: Obere Phase eines Gemisches von Alkohol/*n*-Butanol/0,2M Citratpuffer-(2:4:4). – Substanzmenge: 0,05–0,3 mg gelöst im Fließmittel. – Entwicklung: a) Aglykone und Glykoside: I. Papier durch 1-proz. Flavognost-Lösung⁴⁾ ziehen; II. beidseitig mit 1,5-proz. Bradosol-Lösung⁵⁾ besprühen, trocknen bei 100° , Flecke im UV.-Licht sichtbar. b) Acetylverbindungen: beidseitig mit 10-proz. KOH in 50-proz. Methanol besprühen und bei 100° trocknen, weinrote Flecke.

1. Isolierung von Sennosid C (I). – 500 g Silicagel [17] wurden mit 750 ml 0,2M Citratpuffer intensiv verrührt, das feuchte Pulver in Alkohol/*n*-Butanol/0,2M Citratpuffer-(1:4:2) aufgeschlämmt und auf eine Säule von 70–72 mm $\varnothing$ gegeben. Die Säule wurde mit 1 l von obigem Lösungsmittelgemisch nachgewaschen. 5 g Rohkristalliat (aus Senna hergestellt nach STOLL und Mitarbeiter [47]) gelöst in ca. 750 ml Aceton-Wasser-(3:2), wurden zu 100 g Silicagel (gesättigt mit 150 ml 0,2M Citratpuffer) hinzugefügt, vom Lösungsmittel befreit und auf die Säule gegeben. Eluiert wurde mit dem Gemisch Alkohol/*n*-Butanol/0,2M Citratpuffer-(1:4:2) in Fraktionen à 100 ml, papierchromatographisch geprüft und Fraktionen mit wenig oder verunreinigtem Sennosid C nochmals an einer Säule gereinigt. Die reinen Sennosid C (I) enthaltenden Fraktionen wurden

²⁾ Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. J. W. FAIRBAIRN für die Zusendung dieser Probe bestens danken.

³⁾ Monoskop der Firma HANS BOCK, Bad Oeynhausen i. W., Deutschland.

⁴⁾ Flavognost der Firma HEYL & CIE, Hildesheim; 10 g Flavognost in 150 ml Aceton lösen und mit Petroläther auf 1 l auffüllen.

⁵⁾ Bradosol der Firma CIBA, Basel; 15 g Bradosol in 1 l Wasser lösen.

vereinigt, im Vakuum zur Trockne gebracht, in 225 ml Aceton-Wasser-(3:2) und 5 ml 1-proz. Essigsäure gelöst und mit 100 ml Wasser versetzt.

Das schleimige hellgelbe Sennosid C wurde abfiltriert und mit wenig Wasser nachgewaschen. Zum Umkristallisieren wurde in Aceton-Wasser-(3:2) warm gelöst und mit Wasser versetzt bis zum Vol.-Verhältnis Aceton-Wasser 2:3. Beim Stehenlassen kristallisierte Sennosid C in gelben viereckigen Plättchen, Smp. 214–216° (Zers.). Zur Analyse wurde die Substanz im Hochvakuum 15 Std. bei 50° getrocknet.

$C_{42}H_{40}O_{19}$ (848,7) Ber. C 59,4 H 4,8 O 35,8% Gef. C 59,1 H 5,1 O 36,5%
 $[\alpha]_D^{24} = -123^\circ$ ($c = 0,1$ in 70-proz. Aceton); $[\alpha]_D^{21} = -72^\circ$ ($c = 0,1$ in 70-proz. Dioxan). UV.-Spektrum siehe Fig. 1; Papierchromatogramm siehe Fig. 2. Sennosid C ist praktisch unlöslich in Benzol, Äther, Chloroform, wenig löslich in Methanol und Eisessig. In wasserhaltigen Lösungsmitteln, wie 70-proz. Aceton oder 70-proz. Methanol, sowie in Alkalien ist es gut löslich.

Undeca-O-acetyl-Sennosid C (II). 428 mg Sennosid C (I) wurden in 4 ml trockenem Pyridin gelöst, mit 1,5 ml Essigsäureanhydrid versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach Zugabe von 30 ml Wasser in Portionen (ölige Fällung) wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde zwischen Chloroform und Wasser verteilt und die Chloroformlösung nach Behandeln mit wenig Tierkohle im Vakuum zur Trockne gebracht. Die Kristallisation aus Aceton-Methanol ergab 586 mg feine blassgelbe Nadeln. Zur Analyse wurde aus Methanol umkristallisiert: Nadeln, Smp. 171–174°, und bei 100° im Hochvakuum getrocknet. Papierchromatogramm vgl. Fig. 2. $[\alpha]_D^{22} = +7^\circ$ ($c = 1,1$ in 70-proz. Dioxan).

$C_{64}H_{62}O_{30}$ (1311,2) Ber. C 58,6 H 4,8 O 36,6% Gef. C 58,9 H 5,0 O 36,3%

Undeca-O-acetyl-sennosid-C-methylester (III). Eine Lösung von 216 mg Undeca-O-acetyl-sennosid C (II) in 16 ml Aceton wurde auf 0° abgekühlt und mit 13 ml ätherischer Diazomethanolösung (aus 2 g N-Nitroso-*p*-toluolsulfomethylamid und 30 ml Äther) versetzt. Nach 2 Std. wurde die Lösung zur Trockne gebracht, der Rückstand in Chloroform-Methanol aufgenommen, mit Hydrogencarbonatlösung gewaschen und aus Chloroform-Methanol kristallisiert: 199 mg blassgelbe Doppelpyramiden. Zur Analyse wurde aus Aceton-Methanol umkristallisiert: blassgelbe Doppelpyramiden, Smp. 168–169°, und bei 90° im Hochvakuum getrocknet. Papierchromatogramm vgl. Fig. 3. $[\alpha]_D^{24} = -43^\circ$ ($c = 0,1$ in 70-proz. Dioxan).

$C_{65}H_{64}O_{30}$ (1325,2) Ber. C 58,9 H 4,9 O 36,2% Gef. C 59,5 H 5,1 O 35,9%

Entacetylierung von Undeca-O-acetyl-sennosid C (II) und von dessen Methylester (III). Je 1 mg II und III wurde mit 3 Tropfen Aceton und 0,1 ml 0,1 N NaOH 1 Std. im Wasserbad von 40° erwärmt. Die Lösungen färbten sich dunkelgelb. Nach Zugabe von 0,2 ml Eisessig wurde eine Probe der nun hellgelben Lösung papierchromatographisch mit Sennosid C verglichen und gefunden, dass praktisch nur Sennosid C entstanden war (vgl. Fig. 2).

2. Saure Hydrolyse von Sennosid C (I). – 200 mg Sennosid C (I) wurden in 11 ml Wasser suspendiert, mit 3 ml 8 N Schwefelsäure versetzt und 2 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Die entstandene Fällung [a]) wurde durch eine Glassinternutsche filtriert und mit Wasser nachgewaschen [Filtrat: b)].

a) *Sennidin C (IV)*. Die grünlichgelbe Fällung des Hydrolyseansatzes wurde im Hochvakuum getrocknet: 132 mg entspr. 65,7% (ber. 61,8%). Zur Analyse wurde aus Aceton-Chloroform umkristallisiert: längliche gelbliche Plättchen, Smp. 230–240° (Zers.), und im Hochvakuum bei 100° getrocknet (vgl. Fig. 2). $[\alpha]_D^{22} = +80^\circ$ ($c = 0,09$ in 70-proz. Dioxan).

$C_{30}H_{20}O_9$ (524,5) Ber. C 68,7 H 3,8 O 27,5% Gef. C 68,1 H 3,9 O 27,4%

Penta-O-acetyl-sennidin C (V). 136 mg Sennidin C (IV) wurden in 5 ml Essigsäureanhydrid warm gelöst, mit 1 Tropfen konz. H_2SO_4 versetzt und über Nacht stehengelassen. Unter Eiskühlung wurde mit 10 ml Wasser versetzt. Es bildete sich eine ölige Fällung. Die Lösung wurde auf 1 ml konzentriert, mit Wasser verdünnt und mit Chloroform-Isopropylalkohol-(3:2) extrahiert. Die org. Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, eingeengt und im Hochvakuum zu einem gelben Schaum getrocknet. Aus Methylenchlorid-Methanol kristallisierten 104 mg hellgelbe Nadeln. Aus der Mutterlauge konnten weitere 21 mg erhalten werden. Aus Methylenchlorid-Methanol hellgelbe Nadeln, Smp. 160–162°. Zur Analyse wurde aus Methanol umkristallisiert und im Hochvakuum bei 80° getrocknet (vgl. Fig. 2). $[\alpha]_D^{24} = +217^\circ$ ($c = 0,09$ in 70-proz. Dioxan).

$C_{40}H_{30}O_{14}$ (734,7) Gef. C 65,4 H 4,1 O 30,5% Ber. C 65,8 H 4,1 O 30,7%

Penta-O-acetyl-sennidin-C-methylester (VI). 55 mg Acetat V wurden in 5 ml Dioxan gelöst, auf 0° gekühlt und mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach 1 Std. wurde die Lösung zur Trockne gebracht. Aus Methylenchlorid-Methanol wurden 31 mg gelbe Nadeln erhalten; umkristallisiert schmolz der Methylester bei 201–203° (vgl. Fig. 2).

b) *Glucose* (VII). Das nach der sauren Hydrolyse vom Aglykon getrennte Filtrat wurde mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Die Lösung drehte im 1-dm-Rohr +0,087°, entsprechend einem Gehalt von 82,5 mg D-Glucose ($[\alpha]_D^{20} = +52,5^\circ$) entspr. 41,3% (ber. 2 Mol. Glucose auf 1 Sennidin C: 42,4%).

α -*Methyl-D-glucosid*-(1,5) (VIII). Das saure Filtrat von 2 Hydrolyse-Ansätzen wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert, der Bariumsulfat-Niederschlag abfiltriert, das Filtrat zur Trockne gebracht und der Rückstand in einer Ampulle im Hochvakuum über Phosphorpentoxid getrocknet. Nach Zugabe von 3 ml 0,5N abs. methanol. Chlorwasserstoff wurde die Ampulle zugeschmolzen und über Nacht auf 60° erwärmt. Nach Neutralisieren mit frisch gefälltem Silbercarbonat und Abtrennen der Silbersalze wurde das Filtrat eingedampft. Der verbleibende gelbgefärbte Sirup war dünn-schichtchromatographisch [Kieselgelplatte, Chloroform-Methanol-(10:4)] einheitlich, kristallisierte aber nicht. Das Material wurde an Kieselgel chromatographiert. Als Eluiermittel dienten Chloroform; Chloroform + 2% Methanol; Chloroform + 5% Methanol; Chloroform + 10% Methanol. Die Fraktionen mit 10% Methanol ergaben farblosen Sirup, der aus Methanol-Aceton kristallisierte. Zur Analyse wurde aus Methanol-Aceton umkristallisiert: 43 mg stäbchenförmige Kristalle, Smp. 159–162° (Misch-Smp. mit authent. Substanz ohne Depression), und bei 80° im Hochvakuum getrocknet. $[\alpha]_D^{20} = +165^\circ$ ($c = 0,5$ in Methanol).

$C_7H_{14}O_6$ (194,2) Ber. C 43,3 H 7,3 O 49,4% Gef. C 43,5 H 7,4 O 49,3%

3. Oxydation von Sennidin C (IV) mit Eisen(III)-chlorid. – 500 mg Sennidin C (IV) wurden mit 3 g Eisen(III)-chlorid in 8 ml Wasser 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Erkalten wurde der schwarzbraune Rückstand abfiltriert, mit Wasser gewaschen und hierauf 7mal mit 25 ml Toluol heiss extrahiert. Der Toluolextrakt, gewaschen mit Wasser und zur Trockne gebracht, ergab 237 mg orangefarbenes Pulver (1). Der Rückstand wurde hierauf 7mal mit 25 ml Aceton heiss extrahiert. Die Acetonextrakte wurden auf 30 ml eingengt, mit 100 ml Wasser versetzt und 3mal mit 50 ml Toluol extrahiert. Die mit Wasser nachgewaschenen Toluolextrakte ergaben 248 mg Trockenrückstand (2). Aus den Waschwässern wurden durch Extraktion mit Äther noch 38 mg (3) erhalten.

Die 523 mg Trockenrückstände (1–3) wurden in 1,5 l Äther-Chloroform-(4:1) gelöst [a)] und mit je 20 ml 1N Hydrogencarbonatlösung extrahiert, bis die wässrige Phase [b)] farblos war.

a) *Aloe-emodin* (IX). Die organ. Phase obiger Ausschüttelung wurde über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne gebracht: 195 mg Aloe-emodin (IX) entsprechend 36,8% (ber. 48,7%). Aus Alkohol kristallisiert wurde ein Smp. von 218–223° erhalten.

Tri-O-acetyl-aloe-emodin (X). 100 mg Aloe-emodin wurden in 4 ml Essigsäureanhydrid aufgeschlämmt und mit 1 Tropfen konz. Schwefelsäure versetzt. Das rote Aloe-emodin löste sich rasch auf, und wenig gelbe Fällung entstand. Nach 8 Std. wurden unter Kühlen 30 ml Wasser in Portionen zugegeben. Es wurden 63 mg filzige gelbe Nadeln erhalten. Aus der wässrigen Phase konnten durch Extraktion mit Chloroform weitere 46 mg erhalten werden. Zur Analyse wurde aus Alkohol umkristallisiert: gelbe filzige Nadeln, Smp. 161–163° (Misch-Smp. mit authentischem Tri-O-acetyl-aloe-emodin ohne Depression), und bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{21}H_{16}O_8$ (396,4) Ber. C 63,6 H 4,1 O 32,3% Gef. C 63,2 H 4,1 O 32,7%

b) *Rhein* (XI). Die tiefroten Hydrogencarbonatauszüge der Sennidin-C-Oxydation wurden vereinigt, mit 15 ml 50-proz. Schwefelsäure angesäuert, mit Äther in Portionen von 200 ml extrahiert, bis der Äther farblos war. Die Ätherlösungen wurden mit 400 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne gebracht: 230 mg Rhein (XI) entsprechend 43,4% (ber. 51,3%).

Di-O-acetyl-rhein (XII). 200 mg Rhein aus der oxydat. Spaltung von Sennidin C wurden in 4 ml Essigsäureanhydrid aufgeschlämmt und durch Zugabe von 1 Tropfen konz. Schwefelsäure in Lösung gebracht. Die Kristallisation setzte nach kurzer Zeit ein. Nach Stehenlassen über Nacht wurde mit 10 ml Eiswasser versetzt, nach 1 Std. abgenutscht, die Kristalle mit Wasser gewaschen und getrocknet: 162 mg. Aus der wässrigen Lösung konnten durch Extraktion mit Chloroform weitere 110 mg erhalten werden. Zur Analyse wurde aus Alkohol umkristallisiert: gelbe Nadeln,

Smp. 220–225° (Misch-Smp. mit authentischem Diacetylrhein ohne Depression), und bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{19}H_{12}O_8$ (368,3) Ber. C 62,0 H 3,3 O 34,7% Gef. C 62,2 H 3,5 O 33,8%

4. Oxydation von Sennosid C (I) zu Sennosid A (XIII). – a) Mit CrO_3 : 1 mg Sennosid C wurde in 0,5 ml Aceton-Wasser-(3:2) gelöst, mit 25 μ l KILIANI-Mischung [18] versetzt und 16 Std. stehengelassen. 10 μ l der rötlichen Lösung wurden auf das Papierchromatogramm aufgetragen (vgl. Fig. 2): hauptsächlich Sennosid A neben wenig Sennosid B, Spuren von N_6 (?) und Sennidin A waren entstanden.

b) Mit $KMnO_4$: 1 mg Sennosid C wurde in 0,5 ml Aceton-Wasser-(3:2) gelöst, mit 0,1 ml 0,1N Kaliumpermanganat-Lösung versetzt und ca. 48 Std. stehengelassen. 10 μ l der braunen Lösung wurden auf das Papierchromatogramm aufgetragen (vgl. Fig. 2): Ausschliesslich Sennosid A war entstanden.

5. Herstellung der Senna-Extrakte. – 2 g der gemahlenen Sennesblätter wurden 4mal mit 50 ml 50-proz. Methanol (bzw. Wasser; gesättigter wässriger Na_2SO_4 - oder $(NH_4)_2SO_4$ -Lösung; Methanol) unter Rühren $\frac{1}{2}$ Std. extrahiert. Die Extrakte wurden abgenutscht bzw. zentrifugiert, die klaren Filtrate vereinigt, im Vakuum bei 40° Badtemperatur konzentriert und zur Trockne gebracht. Die Sulfat enthaltenden Rückstände wurden durch Umfällen gereinigt. Je 0,1 mg wurde im Papierchromatogramm aufgetragen (vgl. Fig. 3).

SUMMARY

From the leaves of *Cassia angustifolia* VAHL a new glycoside, sennoside C, has been isolated in crystalline form and shown by chemical means to be the 8,8'-diglucoside of rhein-aloe-emodin-dianthrone. This confirms the tentative formula of sennoside C by LEMLI, who deduced it by paper chromatography of the breakdown products of the aglycone. Sennoside C has the same stereochemical configuration as sennoside A.

Pharmazeutisch-chemische Laboratorien
SANDOZ AG., Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 6. Mitt.: A. STOLL, B. BECKER & A. HELFENSTEIN, *Helv.* **33**, 313 (1950); 7. Mitt.: A. STOLL & B. BECKER, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe* **7**, 248 (1950).
- [2] 8. Mitt.: B. BECKER, *Planta Medica* **7**, 390 (1959).
- [3] A. STOLL, W. KUSSMAUL & B. BECKER, *Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. Basel* **1941**, 235.
- [4] A. STOLL, B. BECKER & W. KUSSMAUL, *Helv.* **32**, 1892 (1949).
- [5] J. W. FAIRBAIRN & M. R. I. SALEH, *Nature* **167**, 988 (1951); *J. Pharm. Pharmacol.* **3**, 918 (1951).
- [6] F. TUTIN, *J. chem. Soc.* **103**, 2006 (1913).
- [7] J. K. CRELLIN, J. W. FAIRBAIRN, C. A. FRIEDMANN & H. A. RYAN, *J. Pharm. Pharmacol.* **13**, 639 (1961).
- [8] Vgl. auch C. VICKERS, *J. Pharm. Pharmacol.* **13**, 509 (1961).
- [9] M. L. KHORANA & M. M. SANGHAVI, *J. pharmac. Sci.* **53**, 110 (1964).
- [10] J. W. FAIRBAIRN, C. A. FRIEDMANN & H. A. RYAN, *J. Pharm. Pharmacol.* **10**, 186T (1958).
- [11] *Chemist and Druggist* **1963**, 399; *Pharmac. J.* **190**, 266, 271 (1963).
- [12] B. BORKOWSKI, M. HENNEBERG & I. URSZULAK, *Planta Medica* **9**, 251 (1961).
- [13] J. LEMLI, *Pharm. Tijdschr. Belg.* **39**, 67 (1962).
- [14] J. LEMLI, *Pharm. Tijdschr. Belg.* **40**, 149 (1963); *idem*, *Verh. Koninkl. Vlaam. Acad. Geneesk. Belg.* **25**, 458 (1963).
- [15] J. LEMLI, R. DEQUEKER & J. CUVEELE, *Pharmac. Weekblad* **99**, 589, 613 (1964).
- [16] R. S. CAHN, *J. chem. Soc.* **1932**, 2573.
- [17] A. STOLL, E. ANGLIKER, F. BARFUSS, W. KUSSMAUL & J. RENZ, *Helv.* **34**, 1460 (1951).
- [18] R. G. CURTIS, Sir I. HEILBRON, E. R. H. JONES & G. F. WOODS, *J. chem. Soc.* **1953**, 457; vgl. auch H. HEUSSER, M. ROTH, O. ROHR und R. ANLIKER, *Helv.* **38**, 1178 (1955); J. POLONIA, A. KURITZKES, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 1437 (1959).