

Über das Vorkommen von Cucurbitacin E und I in *Iberis amara* L. (*Cruciferae*) und die Identität von "Ibamarin" mit Cucurbitacin I

J. B. SON BREDEBERG

Department of Chemistry, Indiana University,
Bloomington, Indiana, U.S.A.,

R. G. MELIN

Biochemische Abteilung, Chemie Grüenthal
G.m.b.H., Stolberg/Rheinland

Die Cucurbitacine sind in der Familie *Cucurbitaceae* weit verbreitet. Nach den bis heute geltenden chemotaxonomischen Erfahrungen schienen sie — wie auch der Name ausdrückt — auf diese Familie beschränkt zu sein ^{1,2}.

Wir haben nun gefunden, dass die Cucurbitacine E und I auch in *Iberis amara* L. (*Cruciferae*) vorkommen und deren stark bitteren Geschmack verursachen.

Ein Bitterstoff "Ibamarin", aus den Samen von *Iberis amara* isoliert, wurde erstmals von Schultz und Gmelin 1954 erwähnt ³. Pourrat und Decors ⁴ beschrieben kürzlich eine Verbindung aus dem gleichen Pflanzenmaterial, die sie ebenfalls "Ibamarin" benannten und die offensichtlich identisch mit dem früher beschriebenen Bitterstoff gleichen Namens ist ⁵. Die chemischen Eigenschaften von "Ibamarin" wurden inzwischen näher studiert ⁶, und eine Bruttoformel $C_{30}H_{48}O_8$ wurde dafür vorgeschlagen ^{4,5}.

Nachdem unsere Versuche, das Molekulargewicht nach der Methode von Rast zu bestimmen, falsche Resultate ergeben hatten, und auch eine massenspektroskopische Molekulargewichtsbestimmung wegen der zu geringen Flüchtigkeit der Substanz erfolglos war, ergab ein Kernresonanzspektrum, dass "Ibamarin" mehr Wasserstoff enthielt als in dem ursprünglichen Formelvorschlag angegeben war.

Auf eine auffallende Ähnlichkeit zwischen den chemischen Eigenschaften von "Ibamarin" und den Cucurbitacinen war schon früher hingewiesen ⁵. Wir haben nun gefunden, dass die physikalischen Eigenschaften von "Ibamarin" in sehr guter Übereinstimmung mit denen von Cucurbitacin I (Elatericin B) sind ⁶⁻⁹. Beim Vergleich mit authentischem Material, das uns freundlicherweise durch Prof. Lavie,

Rehovoth, Israel, zur Verfügung gestellt worden war, erwies sich "Ibamarin" tatsächlich als identisch mit Cucurbitacin I. Der Name "Ibamarin" ist also zu streichen und durch Cucurbitacin I zu ersetzen. Bei einer erneuten Aufarbeitung der Samen von *Iberis amara* nach einem modifizierten Verfahren erhielten wir eine zweite Substanz, $C_{32}H_{44}O_8$, Fp. 234–237°. Diese Substanz wurde als Cucurbitacin E (α -Elaterin) ⁹⁻¹² identifiziert, welches auch in verschiedenen *Cucurbitaceae*-Arten als Begleiter von Cucurbitacin I vorkommt ¹.

Das nunmehr sicher bewiesene Vorkommen von zwei Cucurbitacinen in einer *Cruciferae*-Art zeigt, dass diese Naturstoff-Klasse sauerstoffreicherer Triterpene in Pflanzenreich weiter verbreitet ist als ursprünglich angenommen worden war.

Vorläufige Untersuchungen, bei denen wir zur Identifizierung von Cucurbitacin E und I die Dünnschichtchromatographie heranzogen, ergaben, dass die Gattung *Iberis* hinsichtlich des Vorkommens dieser Bitterstoffe nicht einheitlich ist. Während in den Samen von *Iberis amara* L. und *Ib. umbellata* L. die beiden Bitterstoffe sich nachweisen ließen, enthielt *Iberis sempervirens* L., die sich auch sonst phytochemisch deutlich von den anderen Arten unterscheidet, keine Bitterstoffe. Systematische Untersuchungen mit weiteren *Iberis*-Arten sind im Gange.

Versuchssteil. 230 g Samen von *Iberis amara* L. (var. "White Rocket") (Harry E. Saier, Dimondale, Michigan) wurden gemahlen und im Soxhlet mit Hexan entfettet. Der nur schwach bittere, gelbliche Ölrückstand (25 g) wurde verworfen. Die Samen wurden anschließend in gleicher Weise mit Aceton extrahiert, wonach ein nur noch schwach bitter schmeckendes Samenpulver zurückblieb. Der Aceton-Auszug wurde eingeeengt, und der Trockenrückstand wurde mit 100 ml $CHCl_3$ ausgekocht. Die filtrierte Chloroformlösung wurde auf 100 g neutrales Al_2O_3 (Woelm, Aktivitätsstufe 3) gebracht. Die Entwicklung erfolgte durchlaufend mit Chloroform, Chloroform-Äthanol (1:1) und Äthanol. Der Bitterstoff erschien in den Chloroform-Äthanol-Fractionen. Das Rohprodukt (1,6 g) wurde in 5 ml Benzol gelöst. Beim Stehen über Nacht im Kühlschrank schieden sich 154 mg einer Substanz aus (Fp. 229–232°). Weitere 38 mg der gleichen Substanz wurden nach Eindampfen der Mutterlauge, Auflösen des Rückstands in 5 ml Aceton und mehrstündigem Stehen bei -10° erhalten. Der Rückstand der Mutterlauge ergab aus Benzol, dem etwas Wasser zugesetzt war,

940 mg (0,4 %) kristallines "Ibamarin", das mit unserem früheren Vergleichsmaterial identisch war. Die vereinten Mutterlaugen gaben nach erneuter Chromatographie weitere 50 mg der Verbindung mit Fp. 229–232°, deren Gesamtausbeute somit 0,1 % betrug.

"Ibamarin". "Ibamarin" wurde aus Benzol mit einem Zusatz von etwas Wasser umkristallisiert und analysenrein erhalten, Fp. 148–150°. Mischschmelzpunkt mit Cucurbitacin I (Fp. 148–150°) ergab keine Depression. Die IR-Spektren in Nujol und Chloroform waren identisch.

Substanz Fp. 234–237°. Der kristalline Stoff, Fp. 229–232°, wurde aus Benzol umkristallisiert, wobei farblose Blättchen, Fp. 234–237°, erhalten wurden, $[\alpha]_D^{22} - 60^\circ$ (CHCl₃, c 1 %). (Gefunden: C 68,99; H 7,77; O 22,87. Berechnet für C₃₂H₄₄O₈: C 69,04; H 7,95; O 22,99). Der Mischschmelzpunkt mit Cucurbitacin E (Fp. 235–237°) gab keine Depression. Die IR-Spektren in Nujol und Chloroform waren identisch.

Dünnschicht-Chromatographie. (a) Cucurbitacin E, (b) Cucurbitacin I, (c) "Ibamarin", (d) "Acetyl-Ibamarin", und (e) Substanz Fp. 234–237°, wurden in 5–20 µg-Mengen auf Glasplatten mit Kieselgel G-Merck in üblicher Weise dünnschichtchromatographisch entwickelt. Als Fließmittel diente Chloroform mit 5 % Äthanol-Zusatz. Die Flecken wurden durch Besprühen mit äthanolischer FeCl₃-Lösung (rotbraune Flecken) oder mit einem Gemisch aus 2 Teilen konz. H₃PO₄ und 8 Teilen Äthanol (graubraune Flecken nach Erhitzen auf 140°, mattgelbe Fluoreszenz unter UV-Licht) sichtbar gemacht. R_F-Werte: (a) und (e) 0,41, (b) und (c) 0,23, (d) 0,37.

Wir danken Dr. R. W. King für die Aufnahme der NMR-Spektren.

1. Rehm, S., Enslin, P. R., Meeuse, A. D. J. und Wessels, J. H. *J. Sci. Food Agr.* **8** (1957) 679; *Chem. Abstr.* **52** (1958) 4931.
2. Eisenhut, W. O. und Noller, C. R. *J. Org. Chem.* **23** (1958) 1984.
3. Schultz, O. E. und Gmelin, R. *Arch. Pharm.* **59** (1954) 404.
4. Pourrat, H. und Decorps, P. *Bull. soc. chim. France* **1961** 670.
5. Bredenberg, J. B. und Gmelin, R. *Acta Chem. Scand.* **16** (1962) 649.
6. Enslin, P. R., Rehm, S. und Rivett, D. E. A. *J. Sci. Food Agr.* **8** (1957) 673; *Chem. Abstr.* **52** (1958) 4931.
7. Lavie, D. und Willner, D. *J. Am. Chem. Soc.* **80** (1958) 710.
8. Lavie, D. und Shvo, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **82** (1960) 966.

9. Lavie, D., Shvo, Y., Gottlieb, O. R. und Glotter, E. *Tetrahedron Letters* **1961** 615.
10. Lavie, D. und Szinai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **80** (1958) 707.
11. Gilbert, J.N.T. und Mathieson, D. W. *Tetrahedron* **4** (1958) 302.
12. deKoch, W. T., Enslin, P. R., Norton, K. B., Barton, D. H. R., Sklarz, B. und Bothner-By, A. A. *Tetrahedron Letters* **1962** 309.

Received July 17, 1962.

Production of some Amino Acids and B-Vitamins by the Corn Smut Fungus *U. maydis* (DC) Cda.

W. G. KURZ and L. E. ERICSON

Division of Food Chemistry, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden

During recent years we have studied some of the factors influencing the biosynthesis of lysine and threonine by *U. maydis* (DC) Cda. as well as the ability of this organism to utilize various sources of carbon and nitrogen for growth and amino acid production.^{1,2} As a sideline to this work, we have also made a limited number of observations on the ability of *U. maydis* (DC) Cda. to produce valine and glutamic acid as well as a few B-vitamins when cultivated on different media in 10-litre fermentation vessels. It should be emphasized that this investigation was of an exploratory nature only and that no attempt was made to obtain maximal yields for the different substances studied.

A culture of *Ustilago maydis* (DC) Cda. was purchased from the Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Holland. This culture is identical with *U. maydis* ATCC 11427, P.R.L. 119 and N.R.R.L. 2321. It was maintained on agar slants, prepared by adding 1.5 % agar to the medium suggested by Dulaney.³

Four different media were used. Medium I was a synthetic medium and had the composition given in Table V, Ref.² Maltose (100 g/l) and a mixture of ammonium sulphate (6.0 g/l) and urea (1.8 g/l) were used as sources of carbon and nitrogen. It also contained all the mineral constituents that were found to be necessary for the growth of *U. maydis* (DC) Cda. Medium II was made up entirely from unhopped lager wort, which was diluted 1:1 with distilled