

Zusammenfassung.

1. Es werden rechnerische Ansätze zur Beschreibung der Konzentrationsverteilung für elektrophoretische Trennverfahren auf porösem Träger hergeleitet.

2. Durch Diskussion der Differentialgleichung wird das Auftreten von Kometen mit scharfen Vorderfronten im Falle der diskontinuierlichen Ionophorese einer teilweise adsorbierten Substanz erklärt.

3. Für die kontinuierliche Ionophorese auf Trägern werden für den planen und für den räumlichen Fall explizite Lösungen gegeben.

4. Es wird theoretisch gezeigt, dass bei kontinuierlichen Verfahren Adsorption die Trennung nicht beeinträchtigt.

Wissenschaftliches Laboratorium (Leiter: Prof. Dr. med. *F. Georgi*)
der psychiatrischen Universitätsklinik „Friedmatt“, Basel.

56. „Odorosid E“, Odorosid H, Odorosid-K-acetat und „Kristallinat J“¹⁾.

Die Glykoside von *Nerium odorum Sol.* 4. Mitteilung²⁾³⁾.

Glykoside und Aglykone, 107. Mitteilung⁴⁾

von **W. Rittel**, **A. Hunger** und **T. Reichstein**.

(26. I. 53.)

Die Stamm- und Zweigrinde von *Nerium odorum Sol.* enthält ein kompliziertes Gemisch herzaktiver Glykoside. Neben anderen Stoffen sind daraus 7 krist. Glykoside isoliert und als Odoroside A, B, C, D, E, F und Odorotriosid G bezeichnet worden^{m) n)}. Die Konstitution der Odoroside A⁵⁾, B⁵⁾, D⁶⁾, F⁶⁾ und Odorotriosid Gⁿ⁾ ist inzwischen aufgeklärt worden. Die vorliegende Arbeit hatte als hauptsächlichstes Ziel, das als Odorosid E⁷⁾ bezeichnete Produkt, das in relativ grosser Menge in der Rinde vorkommt, zu untersuchen. Nach den Eigenschaften dieses Materials, insbesondere aus dem UV-Absorptionsspektrum sowie dem Resultat der Acetylierung, wurde bereits früher^{m)} vermutet, dass es sich um ein schwer trennbares Gemisch handeln könnte. Diese Vermutung hat sich bestätigt.

¹⁾ Auszug aus Diss. *W. Rittel*, Basel 1952.

²⁾ 3. Mitteilung: *A. Rheiner*, *A. Hunger* & *T. Reichstein*, *Helv.* **35**, 687 (1952).

³⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Seite 438.

⁴⁾ 106. Mitteilung: *O. Schindler* & *T. Reichstein*, *Helv.* **36**, 370 (1953).

⁵⁾ *S. Rangaswami* & *T. Reichstein*, *Helv.* **32**, 939 (1949).

⁶⁾ *W. Rittel* & *T. Reichstein*, *Helv.* **36**, (1953) im Druck.

⁷⁾ Das früher als Odorosid E bezeichnete, gut kristallisierende Präparat wird im folgenden als „Odorosid E“ bezeichnet, was bedeuten soll, dass es sich um ein Mischkristallinat handelt.

Zur Gewinnung des nötigen „Odorosids E“ wurde eine grössere Menge Rinde erneut extrahiert. „Odorosid E“ wurde aus geeigneten Fraktionen in Form seines Acetats (ebenfalls ein Gemisch) isoliert, das viel besser kristallisiert als das Gemisch der freien Glykoside. Bei den hierzu erforderlichen Trennungen wurden noch eine Reihe von Stoffen oder Stoffgemischen isoliert, die teilweise bereits früher^{m)} in kleinen Mengen als Nebenprodukte erhalten worden waren. Bei einigen gelang inzwischen die Identifizierung oder Konstitutionsermittlung. Es handelt sich um folgende Produkte, die hier ebenfalls beschrieben werden: Scopoletin (XX), Scopolin (als Tetracetat XXI isoliert), Odorosid H (XV), Odorosid-K-acetat (XXV, Konstitutionsaufklärung siehe spätere Mitteilung) und ein Kristallgemisch, das als „Kristallisat J“ bezeichnet wird, aus dem sich zwei wahrscheinlich reine Acetate isolieren liessen, die wir als Odorosid-L-acetat (XXII) und als Odorosid-M-acetat (XXIII) bezeichnen. Die Isolierung geschah wie folgt:

Als Ausgangsmaterial dienten 8 kg Stamm- und Zweigrinde, die uns von der *Andhra*-Universität, Waltair, Südindien und Herrn Prof. *S. Rangaswami* freundlichst zur Verfügung gestellt worden waren¹⁾. Extraktion und Vortrennung dieses Materials ist bereits früher beschrieben wordenⁿ⁾; sie hatte die folgende glykosidhaltigen Perkolate und Extrakte ergeben:

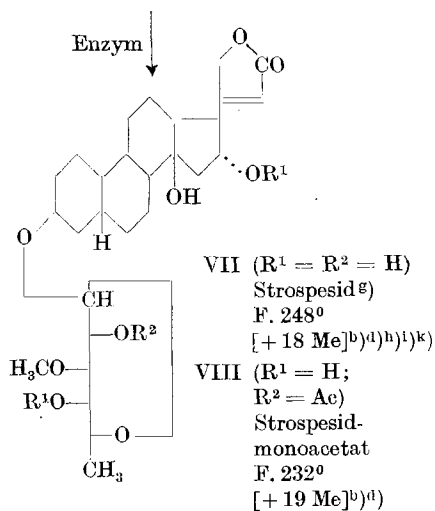
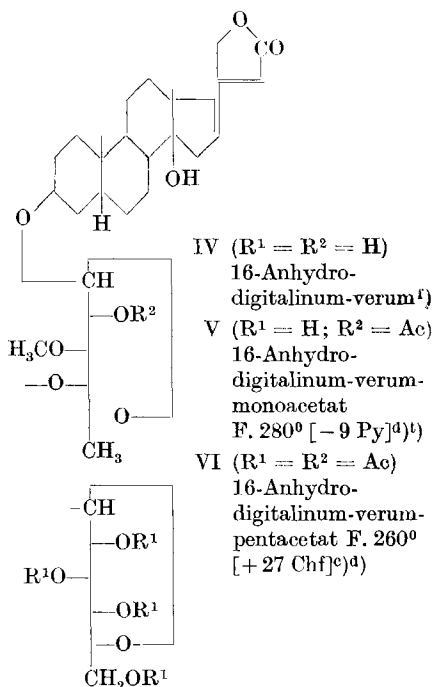
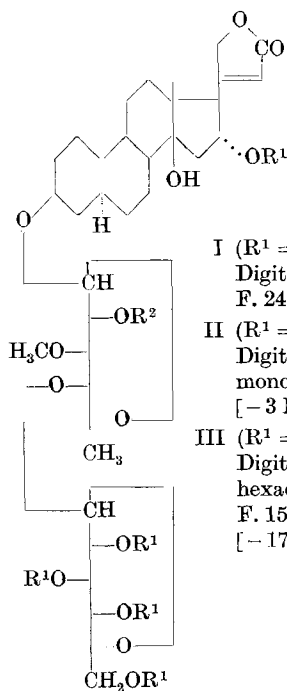
- 385 g Ätherperkolat (Trennung siehe unten);
- 95,5 g Chloroformextrakt aus den Methanolperkolaten A und B;
- 33,8 g Chloroform-Alkohol-(9:1)²⁾-Extrakt aus Methanolperkolat A;
- 101,6 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt aus Methanolperkolat B;
- 194,0 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt aus Methanolperkolat A und B.

Der letztgenannte Extrakt diente besonders zur Gewinnung von Odorotriosid-G-octacetat; seine Verarbeitung ist bereits früherⁿ⁾ beschrieben worden.

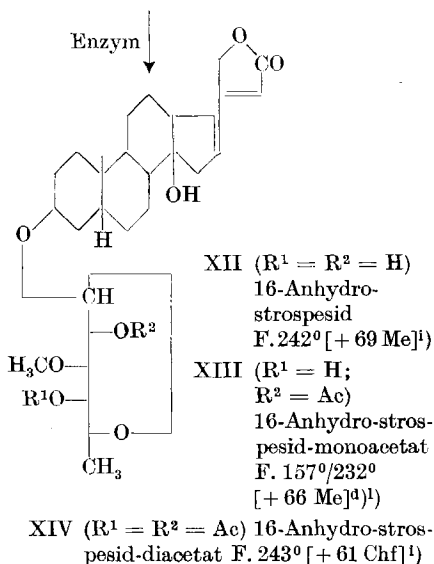
Isolierung von Scopoletin und Scopolin. Bei der Gewinnung dieser Extrakte sowie bei der Trennung des Ätherperkolats (siehe unten) wurden die entsprechenden Lösungen mit Sodalösung gewaschen. Dabei ging eine merkliche Menge einer schwach sauren, mit Alkali blau fluoreszierenden Substanz in die Sodalösung. Sie wurde daraus nach Ansäuern kristallin erhalten. Wir sandten eine Probe davon an Herrn Prof. *H. Schmid*, Zürich, der sie als Scopoletin (7-Oxy-6-methoxy-cumarin (XX)) identifizierte. Weitere Mengen Scopoletin blieben in den „neutralen“ Extrakten und wurden daraus bei der Chromatographie erhalten.

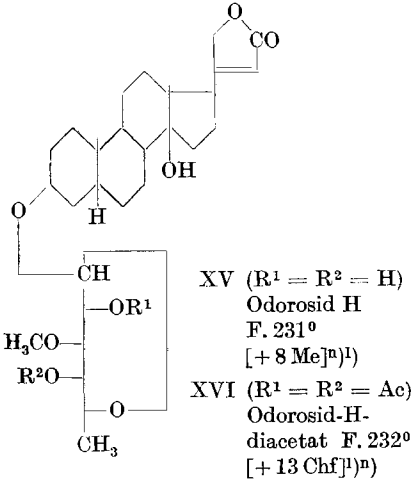
1) Wir möchten den Genannten für die Beschaffung dieses Materials auch hier nochmals unseren besten Dank aussprechen.

2) Verhältnis der Volumteile; dies gilt für alle späteren analogen Angaben.

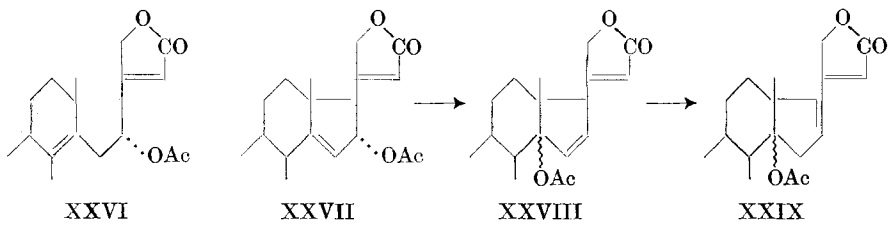
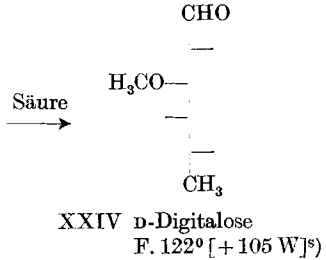
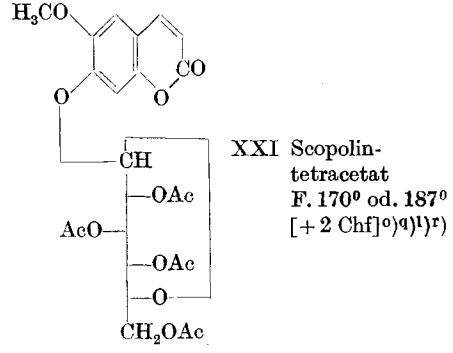
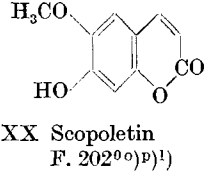


- IX ($R^1 = R^2 = Ac$) Strospesid-
triacetat F. 147⁰ [- 5 Chf]^{d)}
- X ($R^1 = R^2 = Bz$) Strospesid-
tribenzoat F. 230⁰ [+ 61 Chf]^{l)}
- XI ($R^1 = Bz$; $R_2 = Ac$) Strospesid-
monoacetat-dibenzoat F. 227⁰
[+ 34 Chf]^{l)}





- XVII ($R^1 = R^2 = Bz$) Odorosid-H-
 dibenzoat F. 303° [+ 61 Chf]¹)
- XVIII ($R^1 = Ac$; $R^2 = H$) Odorosid-H-
 monoacetat F. 228° [+ 10 Chf]ⁿ)
- XIX ($R^1 = Ac$; $R^2 = Bz$) Odorosid-
 H-acetat-benzoat
 F. 256° [+ 35 Chf]¹)
- XXII Odorosid-L-acetat $C_{34}H_{48}O_{10}$ (?)
 F. 178° [+ 74 Chf]¹)
- XXIII Odorosid-M-acetat $C_{34}H_{48}O_{10}$ (?)
 F. 219° [+ 31 Chf]¹)
- XXV Odorosid-K-acetat $C_{55}H_{80}O_{24}$
 F. 178° [- 35 Chf]¹)



Ac = CH_3CO- , Bz = C_6H_5CO- . Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform, Me = Methanol, Py = Pyridin, W = Wasser. Die Bindung der D-Glucose an C-4 des Digitaloseanteils in I-VI ist nicht bewiesen, sie könnte auch an C-2 haften; die Acetylgruppe in II und V befände sich dann an C-4 des Digitaloseanteils. Ebenso ist der Sitz der Acetylgruppe in den Monoacetaten VIII, XI, XIII, XVIII und XIX nicht sicher bewiesen, sie kann auch an C-4 des Zuckers gebunden sein.

Ausser freiem Scopoletin war in der Rinde auch Scopolin, das β -D-Glucosid des Scopoletins enthalten. Es fand sich besonders im Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt und wurde daraus in Form seines krist. Tetracetats XXI aus den Mutterlaugen des Odorotriosid-G-octacetats gewonnen. Die Identifizierung geschah durch Vergleich mit authentischem Material¹⁾.

Trennung des Ätherperkolats²⁾. Das Ätherperkolat (385 g) aus 8 kg Rinde wurde zur Vortrennung zunächst zwischen Petroläther und wässrigem Methanol verteilt, wobei 310 g Petrolätherextrakt (schwarzgrünes Öl) resultierten (verworfen). Die wässrig-methanolischen Phasen gaben, nach Entfernung des Methanols, durch Ausschütteln mit Chloroform-Alkohol-(2:1) 37 g neutrale Anteile. Aus den zum Waschen verwendeten Sodalösungen liess sich Scopoletin gewinnen.

Die 37 g neutralen Anteile wurden zur weiteren Vorreinigung aus wässriger Na_2SO_4 -Lösung zunächst mit Chloroform, dann mit Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Erhalten wurden 33,8 g Chloroformextrakt aus Ätherperkolat und 1,8 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt aus Ätherperkolat. Letzterer wurde noch nicht untersucht. Die 33,8 g Chloroformextrakt wurden an Al_2O_3 chromatographiert und gaben 2,067 g Odorosid A, 3,840 g Odorosid B, 0,312 g Odorosid H (XV) und 0,553 g Scopoletin (XX).

Trennung des Chloroformextrakts aus den Methanolperkolaten A und B. Ein Teil (56,1 g) des Chloroformextrakts

^{a)} *H. Kiliari*, Arch. Pharm. **230**, 250 (1892); **252**, 26 (1914).

^{b)} *W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **35**, 434 (1952).

^{c)} *K. Mohr & T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **24**, 246 (1949).

^{d)} *A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **33**, 76 (1950).

^{e)} *A. Windaus & E. Haack*, B. **62**, 475 (1929).

^{f)} Das freie, nicht acetylierte 16-Anhydro-digitalinum-verum (IV) ist bisher noch nicht beschrieben worden.

^{g)} Strosipesid (VII) wurde früher^{d)} fälschlicherweise als Desgluco-digitalinum-verum-monoacetat beschrieben, vgl. ^{b)}.

^{h)} *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 666 (1950).

ⁱ⁾ *A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **33**, 1993 (1950).

^{k)} *O. Schindler & T. Reichstein*, Helv. **35**, 442 (1952).

^{l)} Exper. Teil dieser Arbeit.

^{m)} *S. Rangaswami & T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **24**, 159 (1949).

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

^{o)} *Eykman*, Phytochem. Notizen über Japan. Pflanzen, Tokio 1883, zitiert nach ^{p)}.

^{p)} *H. Henschke*, Arch. Pharm. **226**, 203 (1888).

^{q)} *K. W. Merz*, Arch. Pharm. **270**, 476 (1932).

^{r)} *D. N. Chaudhury, R. A. Holland & A. Robertson*, Soc. **1948**, 1671.

^{s)} *J. D. Lamb & S. Smith*, Soc. **1936**, 442.

^{t)} Dort^{d)} als freies 16-Anhydro-digitalinum-verum beschrieben, vgl. ^{f)}.

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. *A. Robertson* auch hier für die Überlassung einer Probe von synthetischem Scopolin-tetracetat (XXI).

²⁾ Ausgeführt von Herrn *K. Mohr*.

wurde direkt an Al_2O_3 chromatographiert, ein anderer (29,2 g) zunächst durch Verteilung (vgl. exp. Teil) vorgetrennt und anschliessend an Silikatgemisch¹⁾²⁾ chromatographiert. Beide Methoden gaben aber ein ähnliches Resultat. Insgesamt wurden aus beiden Versuchen erhalten: 6,12 g Odorosid A, 5,53 g Kristallgemisch³⁾ von Odorosid A und Odorosid B, 1,11 g Odorosid B, 0,90 g „Kristallinat J“, 3,23 g Odorosid H (XV) und 0,20 g Scopoletin (XX). Die von *Rangaswami*^{m)} isolierte, nicht herzwirksame „Substanz 1“ konnte aus diesem Extrakt nicht erhalten werden.

Trennung der Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakte aus Methanolperkolat A und B. Diese Extrakte enthielten vorwiegend Diglykoside und somit auch die Hauptmenge des „Odorosids E“⁴⁾.

Eine Probe Extrakt aus Methanolperkolat A wurde an Al_2O_3 chromatographiert, gab aber nur spurenweise Kristalle (gequollene Körner, wahrscheinlich unreines Digitalinum verum). Die Hauptmenge dieses Extrakts wurde noch nicht getrennt.

Eine Probe des Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakts aus Methanolperkolat B wurde analog an Al_2O_3 chromatographiert, gab aber keine Kristalle. Einzelne Fraktionen gaben aber nach Acetylierung reichliche Mengen von Kristallen, deren Eigenschaften weitgehend mit denen des früher beschriebenen „Odorosid-E-acetats“ übereinstimmen. Aus den relativ schwer eluierbaren Anteilen wurden nach Acetylierung Spuren eines weiteren Stoffes erhalten, der als Odorosid-K-acetat bezeichnet wird. Über diesen wird später berichtet.

Da es sich inzwischen gezeigt hatte, dass „Odorosid-E-acetat“ ein Gemisch darstellt, das Oleandrigenin-glykoside enthält, und da diese an Al_2O_3 leicht in 16-Anhydro-gitoxigenin-Derivate übergehen⁵⁾⁴⁾, wurde die Hauptmenge (58 g) des Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakts an Silikatgemisch⁶⁾ chromatographiert⁷⁾. Die geeigne-

¹⁾ Gereinigtes^{b)} Gemisch von 2 Gew.-Teilen Mg-Silikat und 1 Gew.-Teil Kieselgur (Celite 545); vgl. *K. Dobriner, S. Lieberman & C. P. Rhoads, J. Biol. Chem.* **172**, 241 (1948).

²⁾ Es wurde vermutet, dass die se Extrakte Oleandrigenin-Glykoside enthalten. Diese gehen an Al_2O_3 leicht unter Abspaltung von Essigsäure in 16-Anhydro-gitoxigeninderivate über, (vgl. *K. Meyer, Helv.* **29**, 718 (1946), sowie auch ^{d)}), während sie sich an Silikatgemisch unzersetzt chromatographieren lassen, (vgl. *A. Aebi & T. Reichstein, Helv.* **33**, 1013 (1950)).

³⁾ Dieses lässt sich durch nochmalige Chromatographie leicht trennen.

⁴⁾ „Odorosid E“ wurde früher aus dem Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt durch Chromatographie gewonnen, während der Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt nur Spuren von Odorosid C geliefert hatte. Bei der Gewinnung der hier beschriebenen Extrakte war öfters mit Chloroform-Alkohol-(9:1)-Gemisch ausgeschüttelt worden, so dass sich „Odorosid E“ schon in diesem Auszug angereichert hatte.

⁵⁾ *K. Meyer, Helv.* **29**, 718 (1946).

⁶⁾ In 16-Stellung nicht acetylierte Gitoxigeninderivate werden von *Nerium odorum* enthaltenen Gitoxigeninderivate in 16-Stellung eine freie oder eine acetylierte HO-Gruppe tragen.

⁷⁾ Dieses Material ist somit nie mit Al_2O_3 in Berührung gekommen.

ten Fraktionen wurden acetyliert. Chromatographische Reinigung des Acetats gab 6,21 g krist. „Odorosid-E-acetat“, dessen Trennung im folgenden beschrieben wird.

„Odorosid-E-acetat.“ Dieses Kristallisat (Nadeln, Smp. ca. 153—156°) erwies sich als Gemisch, obgleich die Analyse gut auf die Formel $C_{48}H_{68}O_{20}$ (wie sie III entspricht) passte. Das UV.-Absorptionsspektrum (Fig. I, Kurve E) war sehr ähnlich wie das früher^{a)} für „Odorosid E“ gefundene. Es zeigte zwei Maxima, die dafür sprechen, dass das Präparat ein Gemisch von ca. 70% eines normalen digitaloiden Glykosids mit ca. 30% 16-Anhydro-gitoxigenin-Derivat darstellte. Eine direkte Auftrennung dieses Kristallisats in einheitliche Acetate gelang nicht. Hingegen konnten nach milder Verseifung mit $KHCO_3$ in wässrigem Methanol und anschließender Chromatographie in schlechter Ausbeute zwei einheitliche Stoffe gefasst werden, die als Digitalinum-verum-monoacetat (II) und 16-Anhydro-digitalinum-verum-monoacetat (V) identifiziert wurden. Zur Charakterisierung wurden beide noch acetyliert, wobei Digitalinum-verum-hexacetat (III) und 16-Anhydro-digitalinum-verum-pentacetat (VI) in reiner Form erhalten wurden. Das Monoacetat V ist bereits früher^{d)} beschrieben, aber noch als freies 16-Anhydro-digitalinum-verum bezeichnet worden. Unser Präparat von „Odorosid-E-acetat“ dürfte somit vor allem die Acetate III und VI enthalten haben. Wegen der schlechten Ausbeute an reinen Monoacetaten wurden die Mutterlaugen von II und V noch der Einwirkung von einem Enzympräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum* Kl.¹⁾ unterworfen, welches von allen bekannten Fermenten sowohl freies Digitalinum verum (I) wie sein Monoacetat (II) ebenso wie die entsprechenden 16-Anhydro-Derivate IV und V am leichtesten zu den entsprechenden Monoglykosiden abzubauen vermag. Nach diesem fermentativen Abbau liess sich in der Tat noch eine merkliche Menge Strosposid-monoacetat (VIII) und etwas 16-Anhydro-strosposid-monoacetat (XIII) isolieren. Es sind dies die zwei Monoglykoside, die durch fermentative Abspaltung von D-Glucose aus II und V entstehen.

Wie kürzlich^{b)} gezeigt wurde, sind II und VIII mit Sicherheit Monoacetate. Damals wurde versucht, durch Benzoylierung von Strosposid (VII) und Strosposid-monoacetat (VIII) zu Derivaten mit charakteristischen, eindeutig verschiedenen Eigenschaften zu gelangen. Beide Benzoate (X und XI) blieben aber zunächst amorph. Sie konnten nun kristallisiert erhalten werden. Strosposid-tribenzoat (X) und Strosposid-acetat-dibenzoat (XI) schmelzen zwar sehr ähnlich und geben bei der Mischprobe auch keine deutliche Depression, lassen sich aber durch die spez. Drehung und die Analysenwerte leicht voneinander unterscheiden. XIII ist früher^{d)} bei einem ähnlichen enzymatischen Abbau eines Digitalinum-verum-Präparats, das noch Monoacetat V enthielt, erhalten, aber nur mit Vorbehalt als 16-Anhydro-

strosposid-monoacetat bezeichnet worden. Es wurde jetzt durch Acetylierung ins Diacetat XIV übergeführt und mit authentischem Diacetat XIV¹⁾ identifiziert. Bei V stützt sich die Formulierung als Monoacetat bisher nur auf das Resultat der Acetylbestimmung¹⁾. Da

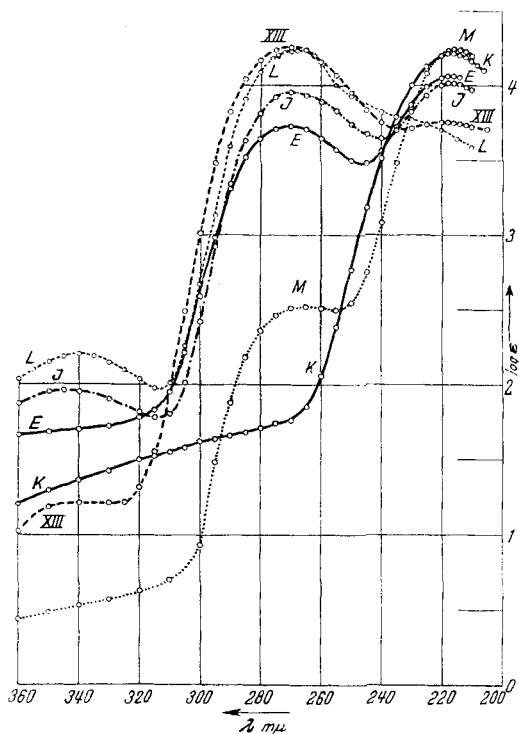


Fig. I.

Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol²⁾.

- Kurve E: „Odorosid-E-acetat“ (Gemisch, Smp. 153—156°); Maxima bei 217 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,06$) und 270 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,72$) berechnet auf $C_{46}H_{66}O_{18}$ (906,99).
- Kurve J: „Kristallinat J“ (Gemisch, Smp. 238—243°); Maxima bei 217 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,02$), 270 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,95$) und 345 $m\mu$ ($\log \epsilon = 1,96$) berechnet auf $C_{30}H_{44}O_8$ (532,63).
- Kurve K: Odorosid-K-acetat (XXV); Maximum bei 217 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,21$) berechnet auf $C_{56}H_{80}O_{24}$ (1137,20).
- Kurve L: Odorosid-L-acetat (XXII); Maxima bei 268 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,23$) und 340 $m\mu$ ($\log \epsilon = 2,20$) berechnet auf $C_{34}H_{48}O_{10}$ (616,72).
- Kurve M: Odorosid-M-acetat (XXIII); Maxima bei 215 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,24$) und 265 $m\mu$ ($\log \epsilon = 2,52$) berechnet auf $C_{34}H_{48}O_{10}$ (616,72).
- Kurve XIII: 16-Anhydro-strosposid-monoacetat (XIII). Maxima bei 219 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,75$) und 270 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,26$) berechnet auf $C_{32}H_{46}O_9$ (574,69).

¹⁾ Freies 16-Anhydro-digitalinum-verum (IV) ist bisher noch unbekannt, so dass ein Vergleich nicht möglich war.

²⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Beckman-Quarz-Spektrophotometer, Modell DU, an der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel.

in allen entsprechend gebauten Glykosiden die Acetoxygruppe im Digitaloseanteil mit KHCO_3 in wässrigem Methanol nicht verseift wird¹⁾), dürfte auch V eine solche enthalten.

Die verwendete Isolierungsmethode über die Acetate erlaubt keine Aussage darüber, ob I und IV in der untersuchten Rinde frei oder in partiell acetylierter Form vorkommen. Das Ergebnis des folgenden enzymatischen Abbaus von freiem „Odorosid E“ (Originalpräparat von *Rangaswami*, das nie acetyliert wurde), mit Nachweis der Spaltstücke durch Papierchromatographie, spricht dafür, dass in diesem Präparat nicht freies Digitalinum verum (I), sondern sein 16-Acetylderivat enthalten war. Für diesen Versuch wurde eine Probe „Odorosid E“ zunächst mit dem Enzympräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum* zu den Monoglykosiden abgebaut und diese auf Papier chromatographiert (vgl. Fig. IIa). Das Material gab zwei Flecken, deren Wanderungsgeschwindigkeiten überraschenderweise denjenigen von 16-Anhydro-strospesid (XII) und Odorosid H (XV) entsprachen. In diesem Originalpräparat von „Odorosid E“ war somit neben einem Diglykosid von XII (wahrscheinlich IV) offenbar noch ein Diglykosid von XV (wahrscheinlich Gracilosid = Odorosid F) enthalten. Auffallend war das Fehlen eines Flecks, der dem Strospesid (VII) entsprach. Ein solcher hätte auftreten müssen, wenn „Odorosid E“ freies Digitalinum verum (I) enthalten hätte. Falls jedoch nicht dieses, sondern sein 16-Monoacetat darin enthalten gewesen wäre, so müsste nach fermentativem Abbau nicht freies Strospesid, sondern sein 16-Monoacetat resultieren. Dieses dürfte im Papierchromatogramm eine sehr ähnliche Laufgeschwindigkeit besitzen wie 16-Anhydro-strospesid (XII)²⁾. Strospesid-16-monoacetat ist bisher nicht bekannt, sollte sich aber mit KHCO_3 in wässrigem Methanol leicht zu freiem Strospesid (VII) verseifen lassen³⁾. Daher wurde eine weitere Probe der enzymatisch aus „Odorosid E“ gewonnenen Monoglykoside zunächst mit KHCO_3 verseift⁴⁾ und anschliessend auf Papier chromatographiert (vgl. Fig. IIb). Jetzt wurden 3 deutliche Flecken erhalten, deren Laufstrecken genau denjenigen von Odorosid H (XV), 16-Anhydro-strospesid (XII) und Strospesid (VII) entsprachen.

Diese Versuche machen es äusserst wahrscheinlich, dass das Originalpräparat von „Odorosid E“ ein Gemisch von mindestens drei Diglykosiden darstellte, wobei es sich vor allem um die folgenden handeln dürfte: Digitalinum-verum-16-monoacetat (nicht sicher be-

¹⁾ A. Aebi & T. Reichstein, Helv. **34**, 1277 (1951).

²⁾ Auf Grund von Erfahrungen mit ähnlichen Stoffpaaren, vgl. ⁴⁾ sowie A. Aebi & T. Reichstein, Helv. **33**, 1013 (1950).

³⁾ Die 16-ständige Acetoxygruppe in Oleandrigenin-Derivaten ist unter diesen Bedingungen leicht verseifbar, vgl. ⁴⁾.

⁴⁾ Unacetyliertes Strospesid (VII) besitzt eine Hydroxylgruppe mehr als 16-Anhydro-strospesid (XII); die beiden Stoffe lassen sich deshalb durch Chromatographie leicht voneinander trennen.

kannt¹⁾), 16-Anhydro-digitalinum-verum (IV) (in freier Form nicht bekannt) und Gracilosid (= Odorosid F). – Die Resultate der präparativen Trennung von „Odorosid-E-acetat“ sind damit gut verträglich, obgleich dabei insgesamt nur 20% der Gitoxigeninglykoside II und VIII und 2,5% der 16-Anhydroderivate V und XIII in reiner Form isoliert werden konnten.

Papierchromatographische Untersuchung²⁾ des Gemisches der Monoglykoside aus dem Originalpräparat von „Odorosid E“ von *Ranguswami*^{m)}.

a) Nach fermentativem Abbau von „Odorosid E“

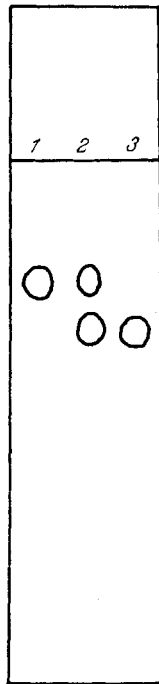


Fig. IIa.

- 1 = 30 γ 16-Anhydro-strospesid (XII)
 2 = 60 γ Monoglykosidgemisch aus „Odorosid E“ nach Enzymabbau
 3 = 30 γ Odorosid H (XV)

b) Nach fermentativem Abbau und anschließender Verseifung des Monoglykosidgemisches mit KHCO_3

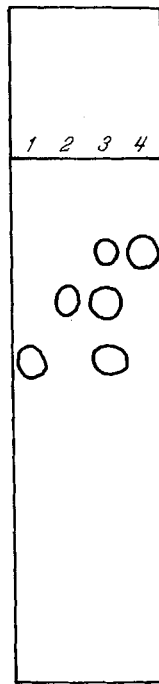


Fig. IIb.

- 1 = 30 γ Odorosid H (XV)
 2 = 30 γ 16-Anhydrostrospesid (XII)
 3 = 100 γ Monoglykosidgemisch aus „Odorosid“ E nach enzym. Spaltung und anschließender Verseifung mit KHCO_3
 4 = 50 γ Strospesid (VII)

¹⁾ C. Mannich, P. Mohs & W. Mauss, Arch. Pharm. **268**, 453 (1930), haben aus *Digitalis lanata* ein Monoacetat von Digitalinum verum isoliert, bei dem es sich möglicherweise um das 16-Acetat gehandelt hat. Vgl. auch P. Mohs, Arch. Pharm. **271**, 393 (1933).

²⁾ Chromatographie an Filterpapier, das nach A. Zaffaroni, R. B. Burton & E. H. Keutmann, J. Biol. Chem. **177**, 109 (1949), mit Formamid imprägniert war. Ausführung nach O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951). Mobile Phase Benzol-Chloroform (5:7), Versuchsdauer 14 Std. (vgl. exp. Teil).

Odorosid-K-acetat (XXV). Dieser Stoff wurde bisher nur in Spuren isoliert. Die Analyse passte auf die Formel $C_{56}H_{80}O_{24}$ mit einer Methoxylgruppe. Auch die Höhe des Maximums bei $217\text{ m}\mu$ (Fig. I, Kurve K) wäre damit verträglich. Es ist daher möglich, dass es sich um das Acetat eines Triglykosids handelt, das sich von Odorosid A oder B ableitet.

Odorosid H (XV). Kleine Mengen rohes Odorosid H wurden bereits von *Rangaswami*^{m)} isoliert¹⁾. Dieses Material war nach Reinigung mit Odorosid H identisch. Die Konstitution des Glykosids ist früherⁿ⁾ ermittelt worden. Es liefert ein krist. Diacetat (XVI) und ein krist. Dibenzoat (XVII). Verseifung des Diacetats mit $KHCO_3$ in wässrigem Methanol führt zum früherⁿ⁾ beschriebenen Monoacetat XVIII. Letzteres gab bei Benzoylierung das krist. Acetat-Benzoat XIX. Durch die Benzoylierung ist freies Odorosid H vom Monoacetat XVIII am besten zu unterscheiden. An der Katze zeigte Odorosid H beträchtliche Wirksamkeit. Das geometrische Mittel der letalen Dosis bei intravenöser Infusion betrug nach *Chen*²⁾ an 10 Tieren: $0,2000 \pm 0,0102\text{ mg/kg}$.

„Kristallisat J.“ Die von *Rangaswami*^{m)} früher in Spuren isolierten und als „Nebenprodukte II und III“ bezeichneten Stoffe gaben bei der Acetylierung praktisch gleiche Resultate wie „Kristallisat J.“; es dürfte sich daher um ähnliche Gemische gehandelt haben. „Kristallisat J.“ enthielt nach dem UV.-Absorptionsspektrum (Fig. I, Kurve J) etwa 60% einer 16-Anhydroverbindung und nur ca. 40% normales Glykosid. Ein schwaches Maximum bei ca. $340\text{ m}\mu$ könnte durch Anwesenheit von ca. 1% einer 14,16-Dianhydro-Verbindung³⁾⁴⁾ bedingt sein. Eine direkte Auftrennung des Kristallisats gelang nicht. Nach Acetylierung liessen sich jedoch teils durch direkte Kristallisation, teils nach Chromatographie zwei Stoffe isolieren. Der in grösserer Menge erhaltene dürfte in nahezu reiner Form vorgelegen haben, wir nennen ihn Odorosid-L-acetat (XXII). Der zweite wurde nur in geringer Menge erhalten und war nicht ganz rein, er wird als Odorosid-M-acetat (XXIII) bezeichnet.

Odorosid-L-acetat (XXII). Zwei an verschiedenen Orten ausgeführte Analysen passten gut auf die Formel $C_{34}H_{48}O_{10}$, doch lässt sich $C_{36}H_{50}O_{11}$ dadurch nicht ganz ausschliessen. Der Stoff enthielt eine Methoxylgruppe und liess sich mit $KHCO_3$ in wässrigem Methanol nicht verseifen, wie dies bei Digitalosiden gelegentlich beobachtet wird. Nach Verseifung mit KOH in Methanol und an-

¹⁾ Dort^{m)} als „Nebenprodukt IV“ bezeichnet. Damit identisch waren auch die 40 mg Kristalle vom Smp. $225\text{--}240^\circ$ aus den Fraktionen 13–15, vgl. S. 171, dritt- und viertletzte Zeile der zitierten Arbeit.

²⁾ Wir danken Herrn Dr. K. K. *Chen* auch hier bestens für die Übermittlung seiner Resultate.

³⁾ *R. T'schesche*, B. **70**, 1554 (1937).

⁴⁾ *K. Meyer*, Helv. **32**, 1993 (1949).

schliessender energischer saurer Hydrolyse¹⁾ wurde unter Verzicht auf Isolierung des Aglykons der Zucker isoliert. Er liess sich nach Impfen mit D-Digitalose kristallisieren und mit dieser identifizieren. — Odorosid-L-acetat zeigte im UV.-Absorptionsspektrum (siehe Fig. I, Kurve L) ein Maximum, wie es einer nahezu reinen 16-Anhydroverbindung entspricht; das Maximum bei 340 μ deutet auf eine Verunreinigung mit 1–2% einer 14,16-Dianhydroverbindung. Falls Formel $C_{34}H_{48}O_{10}$ richtig ist, so wäre Odorosid-L-acetat isomer mit 16-Anhydrostrospezid-diacetat (XIV). Diese zwei Stoffe zeigen nicht nur gleiches Spektrum, sondern auch sehr ähnliche Drehung. Sie unterscheiden sich aber sehr stark in der Laufgeschwindigkeit im Papierchromatogramm, wobei Odorosid-L-acetat viel rascher wandert. Bemerkenswerterweise fehlt im IR.-Spektrum des Odorosid-L-acetats (vgl. Fig. III, Kurve L) die für eine freie HO-Gruppe charakteristische Bande bei 3610 cm^{-1} . Will man auf Grund dieser Resultate für Odorosid-L-acetat spekulative Formeln aufstellen, und den Stoff als Abkömmling des Strospezids (VII) auffassen, so ergeben sich die folgenden Möglichkeiten. Entweder sind die Resultate beider Analysen falsch und der Stoff besitzt die Zusammensetzung $C_{34}H_{46}O_9$, wobei er 8:14,16-Dianhydrostrospezid-diacetat darstellen könnte, oder es liegt ein Triacetat XXIX $C_{36}H_{50}O_{11}$ vor.

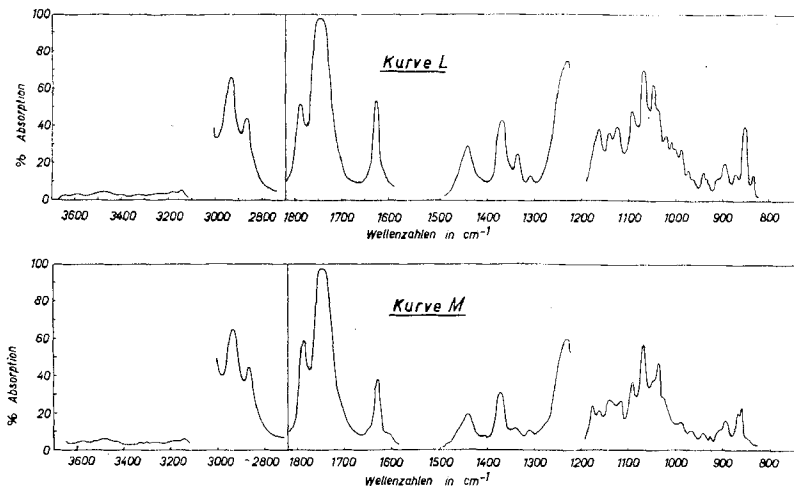


Fig. III.

Infrarot-Absorptionsspektren in Chloroform²⁾.

Kurve L = Odorosid-L-acetat (XXII) aus „Kristalliat J“. 6 mg/cm³.

Kurve M = Odorosid-M-acetat (XXIII) aus „Kristalliat J“. 6 mg/cm³.

Schichtdicke: 1,0 und 0,1 mm. NaCl-Prisma.

¹⁾ Mit dem von H. Kiliani, B. 63, 2866 (1930), für ähnliche Zwecke empfohlenen Gemisch von 3,5 Teilen Eisessig, 5,5 Teilen Wasser und 1,0 Teilen konz. HCl.

²⁾ Wir danken Herrn Dr. R. N. Jones, National Research Council, Ottawa, auch hier bestens für die Aufnahme und Interpretation dieser Spektren.

Die 14-ständige HO-Gruppe ist unter den angewandten Bedingungen nicht acetylierbar. XXIX könnte aber aus Strosposid-triacetat (IX) über die Anhydroverbindungen XXVII und XXVIII (Allylumlagerung) und zuletzt Verschiebung der Doppelbindung entstanden sein. Die Analysen wären mit der Formel $C_{36}H_{50}O_{11}$ viel besser verträglich als mit $C_{34}H_{46}O_9$. Das Resultat der Mikrohydrierung mit Platin in Eisessig spricht aber eher für die Anwesenheit einer weiteren isolierten Doppelbindung; XXII nahm 3 Mole H_2 auf, während 16-Anhydro-strosposid-diacetat (XIV) unter gleichen Hydrierungsbedingungen nur 2 Mole H_2 verbrauchte.

Odosid-M-acetat (XXIII). Dieser Stoff wurde nur in sehr geringer Menge erhalten und das Präparat war nicht ganz rein. Das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. I, Kurve M) zeigt ein hohes Maximum bei 217 $m\mu$ wie es einem normalen Butenolidring zukommt. Das Nebenmaximum bei 270 $m\mu$ deutet auf eine Beimischung von ca. 5% 16-Anhydroverbindung. Die Analyse dieses Präparates passte am besten auf die Formel $C_{34}H_{50}O_{10}$ mit einer Methoxylgruppe. Nach dem IR.-Spektrum (siehe Fig. III, Kurve M) besitzt auch dieser Stoff keine freie HO-Gruppe. Er konnte noch nicht weiter untersucht werden. Analysen und Spektren waren am besten mit der Formel eines Anhydro-strosposid-triacetats (Ber. $C_{36}H_{50}O_{11}$) mit isolierter Doppelbindung vereinbar, wofür beispielsweise die Formeln XXVI, XXVII oder XXVIII in Frage kämen.

Für die Ausführung dieser Arbeit standen uns Mittel aus den *Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes* zur Verfügung, wofür auch hier bestens gedankt sei.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 80° getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes erwähnt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 mit Einwage im Schweinechen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform (oder Äther), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der *Legal*-Reaktion¹⁾²⁾, der *Keller-Kiliani*-Reaktion³⁾ und der Zuckerprüfung⁴⁾ nach früheren Angaben. Al_2O_3 zur Chromatographie wurde nach früheren Angaben⁵⁾ ohne Säurezusatz von Alkali befreit, aber bei 180–190° reaktiviert. „Silikatemisch“ zur Chromatographie wurde wie kürzlich beschrieben⁶⁾ bereitet. Die Acetylbestimmungen von *A. P.* wurden nach *Kuhn-Roth*⁶⁾ unter 3ständiger Verseifung mit 1-n. methanolischer NaOH, diejenigen von *S. W.* nach *Freudenberg & Weber*⁷⁾ in Ausführungsform von *Wiesenerger*⁸⁾ durch Umestern mit alkoholischer p-Toluolsulfosäure ausgeführt.

¹⁾ *W. A. Jacobs & A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **67**, 333 (1926).

²⁾ *K. Reyle & T. Reichstein*, Helv. **35**, 105 (1952).

³⁾ *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **31**, 883 (1948).

⁴⁾ *F. Reber & T. Reichstein*, vgl. *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, Helv. **34**, 1750 (1951).

⁵⁾ *J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein*, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944).

⁶⁾ *R. Kuhn & M. Roth*, B. **66**, 1274 (1933).

⁷⁾ *K. Freudenberg & E. Weber*, Z. angew. Ch. **38**, 280 (1925).

⁸⁾ *E. Wiesenerger*, Mikrochemie **30**, 241 (1942).

Trennung des Ätherperkolats¹⁾ (Isolierung der Odoroside A, B und H sowie von Scopoletin). Die 385 g Ätherperkolat wurden mit 1 l 70-proz. Methanol und 2 l Petroläther energisch geschüttelt. Nach Trennung wurde die Petrolätherschicht noch dreimal mit je 1 l 70-proz. Methanol ausgeschüttelt (der letzte Auszug war nicht mehr bitter). Die Methanolauszüge passierten der Reihe nach 2 weitere Scheidetrichter mit je 1 l Petroläther, wo sie erneut gut geschüttelt wurden. Die Petrolätherauszüge gaben nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen 310 g Petrolätherextrakt als schwarzes Öl; verworfen.

Die vereinigten wässrig-methanolischen Phasen wurden im Vakuum bei 40° auf 400 cm³ eingengt und die verbleibende Suspension dreimal mit je 500 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt (reines Chloroform gab Emulsionen). Die verbleibende wässrige Phase war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die mit 50 cm³ Wasser, viermal mit je 50 cm³ 2-n. Sodalösung und noch einmal mit 50 cm³ Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrockneten Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakte gaben beim Eindampfen im Vakuum 37 g neutralen Rückstand.

Die beim Waschen erhaltenen Sodalösungen (braun mit blauer Fluoreszenz) wurden mit HCl angesäuert und mit Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben nach Eindampfen 1,26 g braunen Rückstand. Aus Chloroform-Äther, dann aus Aceton-Äther 0,3 g rohes Scopoletin, Nadeln, Smp. 206—207° (Umwandlung in Würfel von 168° an).

Die 37 g neutrales Material (Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt) wurden in 200 cm³ reinem Chloroform gelöst und mit 200 cm³ Wasser geschüttelt. Die entstehende Emulsion konnte durch Zusatz von 20 cm³ gesättigter Na_2SO_4 -Lösung gebrochen werden. Die wässrige Phase wurde dreimal mit je 200 cm³ Chloroform, dann dreimal mit je 200 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden zweimal mit je 50 und 30 cm³ gesättigter Na_2SO_4 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es resultierten 33,8 g „Chloroformextrakt aus Ätherperkolat“ und 1,8 g „Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt aus Ätherperkolat“. Letzterer wurde nicht weiter getrennt.

Die 33,8 g „Chloroformextrakt aus Ätherperkolat“ wurden in 2 Portionen an je 400 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 1,7 l Lösungsmittel. Im folgenden wird die Chromatographie einer Portion (16,9 g) beschrieben.

Die Fraktionen 1—2 (eluiert mit Benzol-Chloroform-(9:1) und (3:1)) gaben nur wenig Öl.

Die Fraktionen 3—6 (total 3,665 g, eluiert mit Benzol-Chloroform-(3:1)) gaben aus Aceton-Äther Odorosid A.

Die Fraktionen 7—10 (total 2,219 g, eluiert mit Benzol-Chloroform-(3:1) und (1:1)) gaben aus Aceton-Äther Odorosid B.

Die Fraktionen 11—14 (total 3,279 g, eluiert mit Benzol-Chloroform-(1:1) und reinem Chloroform) gaben aus Aceton-Äther Odorosid H.

Fraktion 15 (215 mg, eluiert mit reinem Chloroform) gab bisher keine Kristalle.

Die Fraktionen 16—22 (total 4,333 g, eluiert mit Chloroform sowie Chloroform-Methanolgemischen von 1—10% Methanolgehalt) gaben aus Aceton Scopoletin.

Die Fraktionen 23—24 (ca. 1,18 g, eluiert mit Chloroform-Methanol-(4:1)) gaben aus Methanol eine Spur Kristalle, Smp. 200—207°.

Die Fraktionen 25—26 (ca. 2 g schwarzes Harz, eluiert mit Chloroform-Methanol-Äthylacetat-(1:1:1)) gaben aus Aceton eine Spur Kristalle, Smp. 274—310°.

Insgesamt wurden aus beiden Chromatogrammen erhalten: 2,067 g Odorosid A, 3,846 g Odorosid B, 0,272 g Odorosid H und 0,533 g Scopoletin.

Die vereinigten Mutterlaugen des Scopoletins (7,8 g) wurden in 200 cm³ Chloroform-Äther-(1:3) gelöst, dreimal mit je 20 cm³ und dreimal mit je 10 cm³ 2-n. Sodalösung ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene Chloroform-Äther-Phase hinterliess beim Eindampfen 5,9 g amorphen, neutralen Rückstand. Die Sodalösungen lieferten nach Ansäuern noch etwas Scopoletin. Weitere Mengen desselben Stoffes wurden aus den zum

¹⁾ Ausgeführt von Herrn K. Mohr.

Waschen der Chloroform- und Chloroform-Alkohol-Extrakte verwendeten Sodalösungen erhalten sowie aus der Chromatographie des Chloroform-Extrakts.

Trennung des Chloroform-Extraktes (aus Methanolperkolaten A + B), Isolierung der Odoroside A, B und H, von Scopoletin sowie von „Kristallisat J“. Versuch a. 20 g des grünen, stark bitter schmeckenden Schaums wurden an 580 g Al_2O_3 nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Zum Nachwaschen der einzelnen Fraktionen dienten je 1 l der in der folgenden Tab. genannten Lösungsmittel.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Habitus oder Smp. der Kristalle ¹⁾
1	Benzol-Chloroform-(4:1)	—	—
2	Benzol-Chloroform-(4:1)	0,14	grünes Öl
3	Benzol-Chloroform-(4:1)	0,03	grünes Öl
4	Benzol-Chloroform-(3:2)	0,02	grünes Öl
5	Benzol-Chloroform-(3:2)	0,23	grünes Öl
6	Benzol-Chloroform-(3:2)	0,11	grünes Öl
7	Benzol-Chloroform-(2:3)	0,12	grünes Öl
8	Benzol-Chloroform-(2:3)	1,94	150—200°
9	Benzol-Chloroform-(2:3)	1,84	158—200°
10	Benzol-Chloroform-(2:3)	0,88	155—175°
11	Benzol-Chloroform-(2:3)	0,34	140—180°
12	Benzol-Chloroform-(2:3)	0,21	140—155°
13	Benzol-Chloroform-(2:3)	0,47	145—200°
14	Benzol-Chloroform-(1:4)	0,45	140/150/200°
15	Chloroform	1,27	148/155/200°
16	Chloroform	1,01	150—158°
17	Chloroform	0,56	185—200°
18	Chloroform	0,31	205—220°
19	Chloroform	0,24	185—200°
20	Chloroform-Methanol-(98:2)	2,46	180—230°
21	Chloroform-Methanol-(98:2)	1,63	180—200°
22	Chloroform-Methanol-(9:1)	0,69	199—204°
23	Chloroform-Methanol-(9:1)	0,44	194—200°
24	Chloroform-Methanol-(1:1)	1,02	amorph
25	Methanol	0,58	275—312°
26	Methanol-Eisessig (99:1)	0,40	amorph
27	Methanol-Eisessig (98:2)	1,35	amorph

Die Fraktionen 2—7 gaben nur grünes Öl von terpenartigem Geruch (verworfen).

Die Fraktionen 8—16 gaben aus Aceton-Äther Kristalle der Odoroside A und B (teilweise als Mischkristallisate): *Keller-Kiliani*-Reaktion: positiv (blau), Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : braunoliv (0'—30'), hell bräunlichgrau (60'). Sie wurden nicht weiter getrennt.

Aus der Mutterlauge der Fraktion 16 kristallisierten nach längerem Stehen in Aceton-Äther 176 mg „Kristallisat J“, Smp. 236—240°.

Die Fraktionen 17—20 gaben aus Aceton-Äther 790 mg rohes Odorosid H (XV), Smp. 226—236°.

¹⁾ Aus Aceton-Äther.

Die Fraktionen 21—23 gaben aus Aceton 195 mg rohes Scopoletin (XX) vom Doppel-Smp. 180°/202—204°.

Fraktion 24 gab bis jetzt keine Kristalle.

Fraktion 25 gab aus Methanol nach monatelangem Stehen 70 mg Kristalle, Smp. 275—312°: *Legal*-Reaktion: negativ; mit 84-proz. H₂SO₄ keine Färbung. Sie wurden nicht weiter untersucht.

Die Fraktionen 26 und 27 blieben amorph.

Versuch b. Weitere 36,1 g Chloroform-Extrakt wurden genau gleich chromatographiert und lieferten entsprechende Mengen der oben angegebenen Kristalle (mit Ausnahme der hochschmelzenden Kristalle aus Fraktion 25).

Versuch c. In einem dritten Ansatz wurden 29,2 g Chloroformextrakt in 660 cm³ 75-proz. Methanol gelöst und dreimal mit je 1 l Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherauszüge wurden der Reihe nach noch einmal mit 260 cm³ 75-proz. Methanol gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Es verblieben 2,08 g grünes Öl, das nicht bitter schmeckte (verworfen). Die Methanol-Auszüge wurden unter allmählichem Zusatz von 600 cm³ Wasser im Vakuum vollständig vom Methanol befreit und die erhaltene Suspension zweimal mit je 2 l und viermal mit je 1 l Äther ausgeschüttelt¹⁾. Die dreimal mit je 200 cm³ Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Ätherlösungen gaben beim Eindampfen 20,3 g hellgrünen, äusserst bitteren Ätherextrakt (diente zur Chromatographie an „Silikatgemisch“, siehe unten). Die verbleibende wässrige Phase wurde im Vakuum auf 800 cm³ eingengt und achtmal mit je 500 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 7,5 g bitteren, gelben Chloroform-Extrakt (bisher nicht untersucht).

Die 20,3 g Ätherextrakt wurden an 500 g „Silikatgemisch“ chromatographiert. Es wurden 544 mg rohes Odorosid A, 2,73 g rohes krist. Gemisch der Odorose A und B, 52 mg „Kristallinat J“²⁾ und 1,51 g rohes Odorosid H erhalten.

Trennung des Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakts aus Methanolperkolat B. Isolierung von „Odorosid-E-acetat“ und von Odorosid-K-acetat. a) *Vorversuch. Chromatographie einer Probe des Extrakts an Al₂O₃.* 4,96 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt (aus Methanolperkolat B) (gelbes, stark bitteres Harz) wurde an 150 g Al₂O₃ chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 500 cm³ der in folgender Tab. (Seite 450) genannten Lösungsmittel.

Fraktionen 9—35 schmeckten intensiv bitter; aus keiner Fraktion liessen sich aber Kristalle erhalten. Es wurden deshalb Proben der Fraktionen 10, 18, 21, 25 und 30 acetyliert (siehe unten).

Acetylierung einzelner Fraktionen der ersten Chromatographie. Frakt. 10. 75 mg wurden in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 0,75 cm³ Acetanhydrid versetzt und 48 Std. bei 18° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 98 mg Rohacetat, das an Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform-(4:1) eluierten Fraktionen gaben aus Benzol-Äther 34 mg „Odorosid-E-acetat“ in Nadeldrusen, Smp. 148—156°.

Frakt. 18. 80 mg wie oben acetyliert gaben 99 mg Rohacetat. Nach Chromatographie an Al₂O₃ 25 mg „Odorosid-E-acetat“ in Nadeldrusen vom Smp. 140—160°.

Frakt. 21. 169 mg wie oben acetyliert, gaben 224 mg Rohacetat. Chromatographie an Al₂O₃ gab 15 mg Nadeln vom Smp. 140—180°. Vermutlich handelte es sich um ein Gemisch von Odorosid-K-acetat, mit wenig „Odorosid-E-acetat“ (?).

Frakt. 25. 92 mg wie oben acetyliert, gaben 114 mg Rohacetat, welches aus Aceton-Äther 9 mg rohes Odorosid-K-acetat vom Smp. 170—174° (Nadeln) lieferte.

Frakt. 30. 91 mg wie oben acetyliert, gaben 116 mg Rohacetat. Aus Aceton-Äther 10 mg rohes Odorosid-K-acetat in Nadeldrusen vom Smp. 176—184°.

¹⁾ Emulsionen wurden durch Zusatz von wenig ges. Na₂SO₄-Lösung gebrochen.

²⁾ Das hier erhaltene „Kristallinat J“ zeigte gleiche Eigenschaften wie das Präparat aus Versuch a) und b), obwohl es nie mit Al₂O₃ in Berührung kam. Das darin enthaltene 16-Anhydro-gitoxigeninderivat ist somit wahrscheinlich kein Kunstprodukt.

Erstes Chromatogramm.

Fraktionsnummer	Eluierungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus
1	Chloroform-Methanol (99:1)	36	amorph
2	Chloroform-Methanol (99:1)	26	amorph
3	Chloroform-Methanol (99:1)	6	amorph
4	Chloroform-Methanol (49:1)	9	amorph
5	Chloroform-Methanol (49:1)	34	amorph
6	Chloroform-Methanol (19:1)	17	amorph
7	Chloroform-Methanol (19:1)	10	amorph
8	Chloroform-Methanol (19:1)	10	amorph
9	Chloroform-Methanol (9:1)	48	amorph
10	Chloroform-Methanol (9:1)	79	amorph
11	Chloroform-Methanol (9:1)	85	amorph
12	Chloroform-Methanol (17:3)	179	amorph
13	Chloroform-Methanol (17:3)	174	amorph
14	Chloroform-Methanol (17:3)	122	amorph
15	Chloroform-Methanol (17:3)	83	amorph
16	Chloroform-Methanol (17:3)	60	amorph
17	Chloroform-Methanol (4:1)	109	amorph
18	Chloroform-Methanol (4:1)	94	amorph
19	Chloroform-Methanol (4:1)	85	amorph
20	Chloroform-Methanol (1:1)	184	amorph
21	Chloroform-Methanol (1:1)	233	amorph
22	Chloroform-Methanol (1:1)	200	amorph
23	Chloroform-Methanol (1:1)	155	amorph
24	Methanol	343	amorph
25	Methanol	264	amorph
26	Methanol	113	amorph
27	Methanol	91	amorph
28	Methanol	110	amorph
29	Methanol	97	amorph
30	Methanol-Eisessig (99:1)	716	amorph
31	Methanol-Eisessig (99:1)	603	amorph
32	Methanol-Eisessig (99:1)	96	amorph
33—35	Methanol-Eisessig (99:1)	249	amorph

b) *Hauptversuch. Chromatographie der Hauptmenge an „Silikatgemisch“*. 29 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt wurden an 600 g „Silikatgemisch“ grob chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 1 l der in folgender Tab. (Zweites Chromatogramm) genannten Lösungsmittel.

Vorläufig wurden nur die Fraktionen 2—5 weiter untersucht.

Die Fraktionen 2—5 wurden vereinigt (12,35 g), mit 90 cm³ abs. Pyridin und 60 cm³ Acetanhydrid 3 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 17,25 g rohes Acetat, das an 520 g „Silikatgemisch“ chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen der einzelnen Fraktionen dienten je 1 l der in folgender Tab. (Drittes Chromatogramm) genannten Lösungsmittel.

Die relativ geringen Mengen der Kristalle aus den Fraktionen 4—17 wurden bisher nicht untersucht.

Zweites Chromatogramm.

Fraktionsnummer	Eluierungsmittel	Menge des Eindampfrückstandes
1	Chloroform-Methanol (19:1)	0,02 g
2	Chloroform-Methanol (19:1)	2,80 g
3	Chloroform-Methanol (19:1)	5,00 g
4	Chloroform-Methanol (19:1)	3,52 g
5	Chloroform-Methanol (19:1)	1,10 g
6	Chloroform-Methanol (19:1)	1,55 g
7	Chloroform-Methanol (19:1)	1,47 g
8	Chloroform-Methanol (9:1)	0,73 g
9	Chloroform-Methanol (9:1)	7,00 g
10	Chloroform-Methanol (4:1)	2,61 g
11	Chloroform-Methanol (1:1)	1,02 g
12	Chloroform-Methanol (1:1)	1,21 g
13	Methanol	0,50 g

Drittes Chromatogramm. Trennung der Acetate an „Silikatgemisch“.

Fraktionsnummer	Eluierungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Habitus oder Smp. der Rohkristalle ¹⁾
1	Benzol	—	—
2	Benzol	4,24	grünes Öl
3	Benzol	2,49	amorph
4	Benzol	0,69	Nadeln, 200—225°
5	Benzol	0,42	Nadeln, 150°/220°
6	Benzol-Chloroform (9:1)	0,27	Nadeln, 156°/220°
7	Benzol-Chloroform (9:1)	0,26	Nadeln, 220—230°
8	Benzol-Chloroform (9:1)	0,23	Nadeln, 150°/225°
9	Benzol-Chloroform (9:1)	0,22	Nadeln, 148°/226°
10	Benzol-Chloroform (4:1)	0,57	Nadeln, 150°/224°
11	Benzol-Chloroform (4:1)	0,25	Nadeln, 150°/230°
12	Benzol-Chloroform (4:1)	0,08	Nadeln, 149°/200°
13	Benzol-Chloroform (3:2)	0,19	Nadeln, 140—150°
14	Benzol-Chloroform (3:2)	0,69	Nadeln, 146°/226°
15	Benzol-Chloroform (3:2)	0,24	Nadeln, 140—144°
16	Benzol-Chloroform (2:3)	0,16	Nadeln, 140°/220°/245°
17	Benzol-Chloroform (2:3)	0,35	Nadeln, 146—230°
18	Chloroform	1,32	Nadeln, 148—152°
19	Chloroform	3,50	Nadeln, 153—156°
20	Chloroform	0,21	Nadeln, 146—157°
21	Chloroform	0,06	Nadeln, 149—153°
22	Chloroform-Methanol (20:1)	—	—

¹⁾ Aus Methanol-Äther oder Benzol-Äther.

Die Fraktionen 18—21 gaben aus Benzol-Äther 3,55 g „Odorosid-E-acetat“ vom Smp. 152—158°.

Ein zweiter Teil (29 g) Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt gab nach analoger Behandlung noch 2,66 g der gleichen Kristalle. Insgesamt wurden aus 58 g Extrakt 6,21 g rohes „Odorosid-E-acetat“ erhalten.

Ein dritter Teil (33 g) des Extrakts wurde vorerst an Al_2O_3 chromatographiert und entsprechende Mengen acetyliert, das an Al_2O_3 chromatographierte Rohacetat aber nicht weiter verarbeitet.

Isolierung von Scopolin-acetat (XXI)¹⁾. 36,6 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (aus 1 kg Rinde) wurden an 720 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Chloroform-Methanol-(1:1) und reinem Methanol eluierten Fraktionen (total 23,5 g) wurden, wie bei „Odorosid-E-acetat“ beschrieben, acetyliert. Das rohe Acetatgemisch (29,2 g) gab zu nächst aus Aceton-Äther 9,5 g rohes Odorotriosid-G-acetat vom Smp. ca. 226—236°. Die Mutterlaugen (16,4 g) enthielten neben weiterem Odorotriosid-G-acetat Scopolinacetat und wurden mit ähnlichem Material vereinigt, welches wie folgt gewonnen worden war:

Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (11,4 g) aus weitem 1 kg Rinde wurde direkt acetyliert. Das rohe Acetatgemisch (15,7 g) gab aus Aceton-Äther 5,32 g rohes Odorotriosid-G-acetat vom Smp. 228—231°. Die Mutterlaugen (10,1 g) wurden mit den 16,4 g aus obiger Verarbeitung vereinigt (total 26 g). Dieses Material wurde an 490 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert.

Die mit Benzol-Äther-(9:1)- und (4:1)-Gemischen eluierten Fraktionen (4,72 g) gaben aus Aceton-Äther insgesamt 840 mg rohes Scopolinacetat (XXI) vom Smp. 171—172° (Prismen).

Die mit Äther-Chloroform-(1:1) eluierten Anteile gaben aus Aceton-Äther noch weitere Mengen Odorotriosid-G-acetat.

„Odorosid-E-acetat.“ Eine Probe des Präparats, das nie mit Al_2O_3 in Berührung gekommen war, wurde aus Benzol-Äther, dann aus Methanol-Äther kristallisiert. Feine, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 153—156°; $[\alpha]_D^{21} = -0,4^0 \pm 3^0$ ($c = 0,777$ in Chloroform).

7,870 mg Subst. zu 1,013 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = -0,003^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse Trocknung 3 Std.

4,691 mg Subst. gaben 10,268 mg CO_2 und 3,027 mg H_2O (OAB)

$\text{C}_{38}\text{H}_{68}\text{O}_{20}$ (965,02) Ber. C 59,73 H 7,10% Gef. C 59,73 H 7,22%

Legal-Reaktion: positiv (hellrot), Tetranitromethan-Probe: negativ. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : gelb (0'), rötlichgelb (5'—30'), helles rötlich-gelb (60'). UV.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil (Fig. I, Kurve E). Das Gemisch enthielt danach ca. 30% 16-Anhydro-gitoxigeninderivate (vor allem VI). Da die direkte Trennung auf grosse Schwierigkeiten stiess, wurde es mit KHCO_3 verseift.

Verseifung von „Odorosid-E-acetat“ und Trennung der Verseifungsprodukte. 5,71 g rohes, stark gelb gefärbtes „Odorosid-E-acetat“ vom Smp. 150—160° wurde in 1000 cm^3 Methanol gelöst, mit der Lösung von 5,71 g KHCO_3 in 200 cm^3 Wasser versetzt und 12 Tage bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum bei 20° Badtemperatur auf ca. 180 cm^3 eingeengt und fünfmal mit je 500 cm^3 Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit 50 cm^3 Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet. Sie hinterliessen beim Eindampfen 4,28 g Rückstand, der an 130 g Silikatgemisch chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen der einzelnen Fraktionen dienten je 400 cm^3 der in folgender Tab. genannten Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1 und 2 gaben keine Kristalle und wurden nicht weiter untersucht.

Fraktion 3 gab aus Methanol-Äther 11 mg gallertige Kugeln, Smp. 200—230°. Nach der Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 dürfte es sich dabei um unreines V gehandelt haben.

Die Fraktionen 4 und 5 gaben aus Methanol-Äther zusammen 105 mg reines 16-Anhydro-digitalinum-verum-monoacetat (V).

¹⁾ Ausgeführt von Herrn Prof. S. Rangaswami.

Viertes Chromatogramm.

Fraktionsnummer	Eluierungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Habitus bzw. Smp. der Kristalle ¹⁾
1	Chloroform-Methanol (19:1)	0,02	amorph
2	Chloroform-Methanol (19:1)	0,27	amorph
3	Chloroform-Methanol (19:1)	0,96	gallertige Kugeln 200—230°
4	Chloroform-Methanol (19:1)	0,43	grobe Nadeln 266—284°
5	Chloroform-Methanol (19:1)	0,19	grobe Nadeln 274—284°
6	Chloroform-Methanol (19:1)	0,19	gallertige Kugeln 180—240°
7	Chloroform-Methanol (19:1)	0,15	gallertige Kugeln 180—240°
8	Chloroform-Methanol (19:1)	0,14	gallertige Kugeln 180—240°
9	Chloroform-Methanol (19:1)	0,10	gallertige Kugeln 180—240°
10	Chloroform-Methanol (19:1)	0,11	gallertige Kugeln 180—240°
11	Chloroform-Methanol (19:1)	0,10	gallertige Kugeln 180—240°
12	Chloroform-Methanol (19:1)	0,17	gallertige Kugeln 180—240°
13	Chloroform-Methanol (19:1)	0,19	gallertige Kugeln 180—240°
14	Chloroform-Methanol (19:1)	0,16	gallertige Kugeln 180—240°
15	Chloroform-Methanol (19:1)	0,14	Kugeldrusen 260—270°
16	Chloroform-Methanol (19:1)	0,15	Nadeldrusen 255—260°
17	Chloroform-Methanol (19:1)	0,13	Nadeldrusen 250—254°
18	Chloroform-Methanol (19:1)	0,05	Nadeldrusen 250—254°
19	Chloroform-Methanol (19:1)	0,04	amorph
20	Chloroform-Methanol (19:1)	0,05	amorph
21	Chloroform-Methanol (19:1)	0,03	amorph
22	Chloroform-Methanol (19:1)	0,04	amorph
23	Chloroform-Methanol (19:1)	0,03	amorph
24	Chloroform-Methanol (19:1)	0,02	amorph
25	Methanol	0,01	amorph
26	Methanol	0,02	amorph

Die Fraktionen 6—14 gaben aus Methanol-Äther gallertige Kugeln, Smp. sehr un-scharf, ca. 160—250°. Es handelte sich vermutlich um Gemische von II und V.

Die Fraktionen 15—18 gaben aus Methanol-Äther 186 mg reines Digitalinum-verum-monoacetat (II).

Aus den Fraktionen 19—26 konnten keine Kristalle erhalten werden.

Fraktion 3 wurde zusammen mit den Mutterlaugen der Fraktionen 4 und 6, wie unten beschrieben, enzymatisch gespalten. Die Fraktionen 6—14 und 19—21 wurden zusammen mit den Mutterlaugen aus den Fraktionen 15—18 ebenso enzymatisch gespalten (siehe unten). Die Fraktionen 22—26 wurden nicht weiter untersucht.

Enzymatische Spaltung der Fraktionen 3—5 des vierten Chromatogrammes. Fraktion 3 sowie die Mutterlaugen der Fraktionen 4 und 5 (zusammen 1,64 g) wurden in wenig Methanol gelöst, mit 400 cm³ Wasser versetzt und vom Methanol im Vakuum vollständig befreit. Die klare Lösung wurde mit der Suspension von 3 g frisch aus den Samen von *Adenium multiflorum* Kl. bereitetem, rohem Enzympräparat¹⁾ in 150 cm³ Wasser versetzt und nach Zugabe von 5 cm³ Toluol 4 Tage bei 35° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf 50 cm³ eingengt, das Enzym mit 250 cm³ Alkohol ausgefällt, durch eine Schicht gewaschene Kieselgur (Hyflo Super Cel) abgenutscht und mit Alkohol

¹⁾ Nach einmaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther.

Die Mischprobe mit dem aus 16-Anhydrostrospezid (XII) bereiteten Präparat¹⁾ gab keine Depression; die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Strospezid-monoacetat (VIII) (aus „Odosozid-E-acetat“ nach Verseifung und fermentativem Abbau). Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Methanol-Äther und Aceton-Äther typische, übereinandergeschobene Blättchen, Smp. 226—233°; $[\alpha]_D^{18} = +18,4^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,585$ in Methanol).

16,050 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,292^\circ \pm 0,02^\circ$

3,356 mg Subst. gaben 7,99 mg CO₂ und 2,49 mg H₂O (S. W.)

3,297 mg Subst. verbr. 1,789 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

6,454 mg Subst. verbr. 1,36 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (S. W.)

4,911 mg Subst. verbr. 0,80 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (S. W.)

C₃₂H₄₈O₁₀ Ber. C 64,85 H 8,16 —OCH₃ 5,24 —COCH₃ 7,26%
(592,70) Gef. „ 64,97 „ 8,31 „ 5,61 „ 9,07; 7,01%

Legal-Reaktion: positiv (orange-rot), Keller-Kiliani-Reaktion: negativ. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 wie V. Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte nur ein Maximum bei 217 μ und $\log \epsilon = 4,23$ (wie Kurve K, Fig. I). Mischprobe mit authentischem VIII^b) gab keine Smp.-Erniedrigung.

Strospezid-triacetat (IX) aus obigem Präparat. 28 mg Strospezid-monoacetat (VIII) vom Smp. 226—233° wurden mit 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 18° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 38 mg Rohprodukt. Aus wenig Methanol-Äther 18 mg watteartig verfilzte Nadelchen, Smp. 148—154°; diese niedrig schmelzende Form liess sich durch Impfen in die stabile, hochschmelzende Form (farblose Nadeln aus Aceton-Äther), die einmal zufällig erhalten wurde, überführen. Smp. (der hochschmelzenden Form) 227—230°; $[\alpha]_D^{19} = -5,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,196$ in Chloroform).

12,111 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,063^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse 10 Std. bei 45°.

3,638 mg Subst. gaben 8,465 mg CO₂ und 2,457 mg H₂O (OAB)

C₃₆H₅₂O₁₂ (676,78) Ber. C 63,89 H 7,75% Gef. C 63,50 H 7,56%

Authentisches Material^d) sowie die Mischprobe schmolzen gleich.

Strospezid-tribenzoat (X) aus Strospezid (VII). 28 mg Strospezid¹⁾ (VII) vom Smp. 248—255° wurden wie bei XVII beschrieben (s. S. 459) benzozyliert. Der nach dem Trocknen im Hochvakuum verbleibende Rückstand (53 mg) wurde an 1,5 g Silikatgemisch chromatographiert. Die Hauptmenge des Materials (35 mg) wurde mit Benzol-Chloroform-Gemischen von 40—60% Chloroformgehalt eluiert; zunächst konnten aus diesen Fraktionen aber keine Kristalle erhalten werden. Sie wurden vereinigt und mit einer Spur Methanol stehengelassen, worauf sich nach einigen Monaten Kristalle bildeten. Zur Analyse wurden die 25 mg Rohkristalle noch zweimal aus Methanol umgelöst. Farblose rechteckige Blätter, Smp. 230—233°; $[\alpha]_D^{18} = +60,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,944$ in Chloroform).

9,570 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,573^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse 10 Std. bei 45° getrocknet.

5,056 mg Subst. gaben 13,147 mg CO₂ und 3,041 mg H₂O (A. P.)

C₅₁H₅₈O₁₂ (862,97) Ber. C 70,98 H 6,77% Gef. C 70,96 H 6,73%

Strospezid-monoacetat-dibenzoat (XI) aus Strospezid-monoacetat (VIII). 25 mg Strospezid-monoacetat (VIII) vom Smp. 232—236° wurden wie bei XVII beschrieben (s. S. 459) benzozyliert. Der nach Trocknen im Hochvakuum verbleibende Rückstand (55 mg) wurde an 1,70 g Silikatgemisch chromatographiert. Die mit Benzol-

¹⁾ Erhalten bei der früher^b) beschriebenen enzymatischen Desacetylierung von Strospezid-monoacetat (VIII) aus *Nerium odoratum* mit dem Fermentgemisch aus dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*).

Rohprodukt. Aus Aceton-Äther und Benzol-Äther 20 mg lange, verzifzte Nadeln, Smp. 254—259° (Zers.); $[\alpha]_D^{17} = +26,4^0 \pm 2^0$ ($c = 0,816$ in Chloroform).

8,208 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,217^0 \pm 0,02^0$

3,337 mg Subst. gaben 7,49 mg CO₂ und 2,14 mg H₂O (*S. W.*)

C₄₆H₆₄O₁₈ (904,97) Ber. C 61,05 H 7,13% Gef. C 61,25 H 7,17%

Die Mischprobe mit dem früher ^{d)} beschriebenen Präparat gab keine Depression.

Digitalinum-verum-monoacetat (II) aus „Odorosid-E-acetat“. Zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab farblose, feine, zu Drusen und Sternen vereinigte Blättchen, Smp. 254—259° (Zers.); $[\alpha]_D^{17} = +1,1^0 \pm 2^0$ ($c = 0,909$ in Methanol).

9,221 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,010^0 \pm 0,02^0$

Trocknung zur Analyse 8 Std. Gewichtsverlust 3,58%.

2,905 mg Subst. gaben 6,46 mg CO₂ und 2,09 mg H₂O (*S. W.*)

3,314 mg Subst. verbr. 0,93 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (*S. W.*)

4,849 mg Subst. verbr. 0,73 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (*S. W.*)

4,564 mg Subst. verbr. 0,63 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (*S. W.*)

C₃₈H₅₈O₁₅ Ber. C 60,46 H 7,75 —OCH₃ 4,13 —COCH₃ 5,70%
(754,84) Gef. „ 60,72 „ 8,07 „ 2,91 „ 6,48; 5,94%

Legal-Reaktion: positiv (hellrot). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte nur ein Maximum bei 217 μ , $\log \epsilon = 4,16$ (wie Kurve K, Fig. I). Die Mischprobe mit authentischem II^{b)} vom Smp. 257—262° schmolz bei 255—265°, die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ war bei beiden Präparaten gleich.

Digitalinum-verum-hexacetat (III) aus obigem Präparat. 22 mg Monoacetat II vom Smp. 254—259° wurden mit 0,7 cm³ abs. Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 37 mg Rohprodukt. Aus Benzol-Äther, dann aus Aceton-Benzol 23 mg farblose Nadeln mit Doppel-Smp. 176—180°/220—230°; $[\alpha]_D^{17} = -15,5^0 \pm 2^0$ ($c = 0,906$ in Chloroform).

9,187 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,141^0 \pm 0,02^0$

3,196 mg Subst. gaben 7,01 mg CO₂ und 2,04 mg H₂O (*S. W.*)

C₄₈H₆₈O₂₀ (965,02) Ber. C 59,75 H 7,10% Gef. C 59,86 H 7,16%

Die Mischprobe mit einem authentischen Präparat ^{d)} gab keine Depression, die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ war gleich wie bei II und authentischem III.

16-Anhydro-strosposid-monoacetat (XIII) (aus „Odorosid-E-acetat“ nach Verseifung und fermentativer Spaltung). Aus Aceton-Äther farblose, feine Nadelchen mit Doppel-Smp. 166—175°/220—230°; $[\alpha]_D^{17} = +62,7^0 \pm 4^0$ ($c = 0,578$ in Methanol).

5,863 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,363^0 \pm 0,02^0$

3,405 mg Subst. gaben 8,33 mg CO₂ und 2,39 mg H₂O (*S. W.*)

4,876 mg Subst. verbr. 1,06 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (*S. W.*)

C₃₂H₄₆O₉ Ber. C 66,87 H 8,07 —COCH₃ 7,49%

(574,69) Gef. „ 66,76 „ 7,85 „ 9,40%

Legal-Reaktion: positiv (hellrot), *Keller-Kiliani*-Reaktion: negativ (farblos). Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ wie V. Das UV.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil (Fig. I, Kurve XIII). Authentisches XIII aus Adenium Honghel^{d)} sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren gleich.

Diacetat XIV aus obigem Präparat. 18 mg XIII wurden mit 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 21 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 13 mg rechteckige, farblose, stark glänzende Blättchen, Smp. 240—246°; $[\alpha]_D^{16} = +55,0^0 \pm 3^0$ ($c = 0,696$ in Chloroform).

7,056 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,383^0 \pm 0,02^0$

3,542 mg Subst. gaben 8,570 mg CO₂ und 2,550 mg H₂O (OAB)

8,018 mg Subst. verbr. 0,682 cm³ H₂ (23,2°; 722 Torr) (Platin-Eisessig) (*A. P.*)

C₃₄H₄₈O₁₀ Ber. C 66,21 H 7,85% D.Z. 2

(616,72) Gef. „ 66,03 „ 8,06% D.Z. 2,05

Die Mischprobe mit dem aus 16-Anhydrostrospezid (XII) bereiteten Präparat¹⁾ gab keine Depression; die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Strospezid-monoacetat (VIII) (aus „Odorosid-E-acetat“ nach Verseifung und fermentativem Abbau). Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Methanol-Äther und Aceton-Äther typische, übereinandergeschobene Blättchen, Smp. 226—233°; $[\alpha]_D^{18} = +18,4^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,585$ in Methanol).

16,050 mg Subst. zu 1,013 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,292^\circ \pm 0,02^\circ$

3,356 mg Subst. gaben 7,99 mg CO_2 und 2,49 mg H_2O (S. W.)

3,297 mg Subst. verbr. 1,789 cm^3 0,02-n. $Na_2S_2O_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

6,454 mg Subst. verbr. 1,36 cm^3 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (S. W.)

4,911 mg Subst. verbr. 0,80 cm^3 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (S. W.)

$C_{32}H_{48}O_{10}$ Ber. C 64,85 H 8,16 — OCH_3 5,24 — $COCH_3$ 7,26%
(592,70) Gef. „ 64,97 „ 8,31 „ 5,61 „ 9,07; 7,01%

Legal-Reaktion: positiv (orange-rot), Keller-Kiliani-Reaktion: negativ. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 wie V. Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte nur ein Maximum bei 217 $m\mu$ und $\log \epsilon = 4,23$ (wie Kurve K, Fig. I). Mischprobe mit authentischem VIII^b) gab keine Smp.-Erniedrigung.

Strospezid-triacetat (IX) aus obigem Präparat. 28 mg Strospezid-monoacetat (VIII) vom Smp. 226—233° wurden mit 0,5 cm^3 abs. Pyridin und 0,3 cm^3 Acetanhydrid 2 Tage bei 18° stengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 38 mg Rohprodukt. Aus wenig Methanol-Äther 18 mg watteartig verfilzte Nadelchen, Smp. 148—154°; diese niedrig schmelzende Form liess sich durch Impfen in die stabile, hochschmelzende Form (farblose Nadeln aus Aceton-Äther), die einmal zufällig erhalten wurde, überführen. Smp. (der hochschmelzenden Form) 227—230°; $[\alpha]_D^{19} = -5,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,196$ in Chloroform).

12,111 mg Subst. zu 1,013 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,063^\circ \pm 0,02^\circ$

Trocknung zur Analyse 10 Std. bei 45°.

3,638 mg Subst. gaben 8,465 mg CO_2 und 2,457 mg H_2O (OAB)

$C_{36}H_{52}O_{12}$ (676,78) Ber. C 63,89 H 7,75% Gef. C 63,50 H 7,56%

Authentisches Material^d) sowie die Mischprobe schmolzen gleich.

Strospezid-tribenzoat (X) aus Strospezid (VII). 28 mg Strospezid¹⁾ (VII) vom Smp. 248—255° wurden wie bei XVII beschrieben (s. S. 459) benzoilyliert. Der nach dem Trocknen im Hochvakuum verbleibende Rückstand (53 mg) wurde an 1,5 g Silikatgemisch chromatographiert. Die Hauptmenge des Materials (35 mg) wurde mit Benzol-Chloroform-Gemischen von 40—60% Chloroformgehalt eluiert; zunächst konnten aus diesen Fraktionen aber keine Kristalle erhalten werden. Sie wurden vereinigt und mit einer Spur Methanol stengelassen, worauf sich nach einigen Monaten Kristalle bildeten. Zur Analyse wurden die 25 mg Rohkristalle noch zweimal aus Methanol umgelöst. Farblose rechteckige Blätter, Smp. 230—233°; $[\alpha]_D^{18} = +60,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,944$ in Chloroform).

9,570 mg Subst. zu 1,013 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,573^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse 10 Std. bei 45° getrocknet.

5,056 mg Subst. gaben 13,147 mg CO_2 und 3,041 mg H_2O (A. P.)

$C_{51}H_{58}O_{12}$ (862,97) Ber. C 70,98 H 6,77% Gef. C 70,96 H 6,73%

Strospezid-monoacetat-dibenzoat (XI) aus Strospezid-monoacetat (VIII). 25 mg Strospezid-monoacetat (VIII) vom Smp. 232—236° wurden wie bei XVII beschrieben (s. S. 459) benzoilyliert. Der nach Trocknen im Hochvakuum verbleibende Rückstand (55 mg) wurde an 1,70 g Silikatgemisch chromatographiert. Die mit Benzol-

¹⁾ Erhalten bei der früher^b) beschriebenen enzymatischen Desacetylierung von Strospezid-monoacetat (VIII) aus *Nerium odorum* mit dem Fermentgemisch aus dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*).

Chloroform-(4:1)-Gemisch eluierten Fraktionen (29 mg) kristallisierten erst nach zwei-jährigem Stehen. Aus Benzol-Äther, Aceton-Äther und Äther-Petroläther zu Rosetten vereinigte Stäbchen, Smp. 227—236°; $[\alpha]_D^{29} = +34,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,015$ in Chloroform).

10,29 mg Subst. zu $1,013 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{29} = +0,348^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse 10 Std. bei 45° und 0,01 Torr über P_2O_5 getrocknet.

4,302 mg Subst. gaben 10,870 mg CO_2 und 2,717 mg H_2O (A. P.)

$\text{C}_{46}\text{H}_{56}\text{O}_{12}$ (800,91) Ber. C 68,98 H 7,05% Gef. C 68,95 H 7,07%

Die Mischprobe mit Strosposid-tribenzoat (X) vom Smp. 230—233° schmolz bei 225—235°, gab also keine eindeutige Depression.

Papierchromatographische Untersuchung des Monoglykosidteils aus der enzymatischen Spaltung von „Odorosid E“¹. a) *Enzymatische Spaltung mit Enzym aus den Samen von Adenium multiflorum*. 7 mg „Odorosid E“¹ wurden wie bei den oben beschriebenen Enzymspaltungen mit 10 mg Enzympräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum* Kl. behandelt. Der wie dort erhaltene Chloroformextrakt (4,5 mg) enthielt die Monoglykoside. Eine Probe wurde an mit Formamid getränktem Filterpapier (*Whatman* Nr. 1) chromatographiert²). Als mobile Phase diente Benzol-Chloroform-(5:7), die Versuchsdauer betrug 14 Std. Zum Vergleich wurden Odorosid H (XV) und 16-Anhydrostrosposid (XII) mitchromatographiert. Über das Ergebnis orientiert Fig. IIa (vgl. theoret. Teil).

b) Verseifung des Monoglykosidteils aus obiger Enzymspaltung mit KHCO_3 . 4 mg des aus obiger Enzymspaltung gewonnenen Chloroform-Extrakts wurden, wie bei „Odorosid-E-acetat“ beschrieben, mit 4 mg KHCO_3 in wässrigem Methanol verseift. Übliche Aufarbeitung ergab 3 mg Chloroformextrakt, der zur erneuten papierchromatographischen Untersuchung diente (Ausführung genau wie oben beschrieben). Neben XII und XV wurde zum Vergleich noch Strosposid VII mitchromatographiert. Über das Ergebnis orientiert Fig. IIb (vgl. theoret. Teil).

Scopoletin (XX) aus *Nerium odorum*. Zur Reinigung wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr und 90—110° Badtemperatur sublimiert. Aus Aceton-Äther farblose Nadeln, die sich beim Erwärmen von ca. 168° an in Würfeln umwandeln, Smp. 202—204°.

4,229 mg Subst. gaben 9,670 mg CO_2 und 1,560 mg H_2O (OAB)

1,525 mg Subst. verbr. $2,357 \text{ cm}^3$ 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (*Zeisel-Vieböck*) (OAB)

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$ Ber. C 62,50 H 4,20 — OCH_3 16,15%
(192,16) Gef. „ 62,40 „ 4,13 „ 15,99%

Nach Bericht von Herrn Prof. H. Schmid in Zürich zeigte authentisches Scopoletin von Herrn Prof. F. Wessely, Wien, den gleichen Smp. und Misch-Smp. Der Stoff fluoresziert in wässriger Soda- oder NaOH-Lösung stark blaugrün.

Scopolin-tetracetat (XXI) aus *Nerium odorum*. Das Rohprodukt war in Aceton, Chloroform und Methanol leicht-, in Äther schwerlöslich. Es wurde aus Aceton-Äther und Methanol-Äther umkristallisiert. Zur Analyse wurde eine Probe im Molekularkolben bei 0,04 Torr und 170° Badtemperatur destilliert. Aus Aceton-Äther Nadelrosetten, Smp. 170—171°; $[\alpha]_D^{16} = +2,0^{\circ} \pm 1^{\circ}$ ($c = 2,528$ in Chloroform).

25,610 mg Subst. zu $1,013 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{16} = +0,052^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse 3 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 getrocknet.

3,909 mg Subst. gaben 7,900 mg CO_2 und 1,720 mg H_2O (OAB)

4,216 mg Subst. verbr. $2,426 \text{ cm}^3$ 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (*Zeisel-Vieböck*) (OAB)

$\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$ Ber. C 55,17 H 5,02 — OCH_3 5,94%
(522,45) Gef. „ 55,15 „ 4,92 „ 5,95%

¹) Es wurde das von *Rangaswami*^m) bereitete Originalpräparat von „Odorosid E“ verwendet.

²) Vgl. O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 108 (1951).

Legal-Probe: negativ. Mit 84-proz. H_2SO_4 keine Färbung. Zuckerprüfung: positiv. Der bei der Zuckerprüfung erhaltene Chloroformextrakt gab aus Aceton wenig kristallisiertes Scopoletin. Smp. 179°/204°, Mischprobe ebenso.

Eine Probe authentisches, synthetisches Scopolin-tetracetat^r), die uns Herr Prof. A. Robertson freundlichst zur Verfügung stellte, zeigte Smp. 187—188° (Blättchen aus Aceton-Äther); $[\alpha]_D^{16} = +2,5^0 \pm 2^0$ ($c = 1,243$ in Chloroform).

12,606 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,031^0 \pm 0,02^0$

Animpfen unseres Präparats mit dieser hochschmelzenden Form gab ebenfalls sechsseitige Blättchen, Smp. 188—189°; die Mischprobe schmolz gleich.

Odosorid H (XV) (direkt aus der Rinde isoliert). Das Rohprodukt wurde zunächst in kugeligen Drusen erhalten. Wiederholtes Unkristallisieren aus Aceton-Äther, Methanol-Wasser, dann aus Methanol-Äther gab farblose, zu Rosetten vereinigte flache Stäbchen oder Blättchen, Smp. 231—238°; $[\alpha]_D^{21} = +7,8^0 \pm 3^0$ ($c = 0,841$ in Methanol).

8,508 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,066^0 \pm 0,02^0$

Das lufttrockene Präparat gab bei der Trocknung 4,62% Gewichtsverlust.

3,118 mg Subst. gaben 7,67 mg CO₂ und 2,44 mg H₂O (*S. W.*)

4,854 mg Subst. verbr. 2,757 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (*A. P.*)

8,067 mg Subst. verbr. 0,042 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (*A. P.*)

C ₃₀ H ₄₆ O ₈	Ber. C 67,40	H 8,67	—OCH ₃ 5,80	—COCH ₃ 0%
(534,67)	Gef. „ 67,13	„ 8,76	„ 5,87	„ 0,22%

Keller-Kiliani-Reaktion: negativ (farblos), *Legal*-Probe: positiv (weinrot), Farb-reaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : ganz schwach grünlich-gelblich (0'), gelblich-grünlich (5', 10'), gelblich-beige (30'), farblos (60'). Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte nur ein Maximum bei 217 m μ und $\log \epsilon = 4,22$ (wie Kurve K, Fig. I). Die Kristalle waren in Methanol, Aceton und Chloroform leicht, in Äther und Wasser schwer löslich. Das inzwischen durch enzymatischen Abbau aus Odorotriosid-G-monoacetat erhaltene Präparatⁿ) sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Identifizierung des von *Rangaswami*^m) isolierten „Nebenprodukts IV“ mit Odosorid H (XV). Das früher^m) aus der Chromatographie des Chloroformextrakts isolierte und als Nebenprodukt IV bezeichnete Material vom Smp. 229—240° (Hauptmenge bis 233°) wurde nochmals aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Äther unkristallisiert. Stäbchen, Smp. 228—236°; $[\alpha]_D^{15} = +6,3^0 \pm 2^0$ ($c = 1,55$ in Methanol).

15,69 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = +0,097^0 \pm 0,02^0$

Die Substanz zeigte jetzt mit 84-proz. H_2SO_4 die gleiche Färbung wie Odosorid H. Die Mischprobe gab keine Depression.

Odosorid-H-diacetat (XVI) aus „Nebenprodukt IV“. 93 mg „Nebenprodukt IV“ (= Odosorid H) wurden mit 1 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 21° acetyliert. Übliche Aufarbeitung ergab 110 mg rohes Acetat; aus Äther-Petroläther 98 mg XVI in Blättchendrusen; aus Methanol-Äther, dann aus Aceton-Äther feine Blättchen, Smp. 240—255°; $[\alpha]_D^{20} = +10,7^0 \pm 2^0$ ($c = 1,33$ in Chloroform).

13,51 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,143^0 \pm 0,02^0$

Die Mischprobe mit authentischem Odosorid-H-diacetat vom Smp. 232—244° schmolz bei 235—250°, gab also keine Depression. Die Farbreaktionen beider Präparate mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Odosorid-H-diacetat (XVI) aus XV. 42 mg Odosorid H (XV) vom Smp. 226—236° wurden in 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 18° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 52 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther, dann aus Benzol-Äther farblose, flache Nadeln oder langgestreckte Plättchen, Smp. 232—244° (der

Smp. blieb auch nach Chromatographie unscharf); $[\alpha]_D^{21} = +12,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,027$ in Chloroform).

10,412 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,132^\circ \pm 0,02^\circ$

4,463 mg Subst. gaben 10,782 mg CO₂ und 3,140 mg H₂O (OAB)

C₃₄H₅₀O₁₀ (618,74) Ber. C 66,00 H 8,15% Gef. C 65,93 H 7,87%

Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ wie Odorosid H. Die Mischprobe mit einem durch Abbau von Odorotriosid-G-monoacetat gewonnenen Präparat^{a)} gab keine Smp.-Erniedrigung, auch die Farbreaktion mit H₂SO₄ war gleich, ebenso das IR.-Spektrum^{a)}. UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol $\lambda_{\max} = 217$ m μ , $\log \epsilon = 4,20$ (wie Kurve K, Fig. I).

Odorosid-H-monoacetat (XVIII) aus XVI. 109 mg Odorosid-H-diacetat (XVI) vom Smp. 232—244^o wurden in 20 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 100 mg KHCO₃ in 4 cm³ Wasser versetzt und 10 Tage bei 20^o stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf 3 cm³ eingengt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 95 mg Rückstand, der an 3 g alkalifreiem Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform-(3:2) eluierten Anteile (68 mg) gaben aus Aceton-Äther 58 mg Ausgangsmaterial in feinen Blättchen vom Smp. 238—250^o.

Die mit Chloroform-Methanol-Gemischen von 2—10% Methanolgehalt eluierten Anteile (21 mg) gaben aus Aceton-Äther-Petroläther 11 mg Monoacetat XVIII vom Smp. 225—228^o. Authentisches Odorosid-H-monoacetat (VXIII)^{a)} sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Dagegen gaben die Mischproben mit XV und XVI deutliche Smp.-Erniedrigungen.

Freies Odorosid H konnte bei dieser Verseifung nicht erhalten werden.

Odorosid-H-dibenzoat (XVII). 50 mg Odorosid H vom Smp. 231—238^o (1 Std. bei 0,01 Torr und 50^o getrocknet) wurden in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst, bei 0^o mit 0,13 cm³ reinem Benzoylchlorid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss 1 Std. bei 0^o, dann noch 20 Std. bei 18^o stengelassen. Hierauf wurden 0,2 cm³ Methanol zugegeben und nochmals 2 Std. stengelassen. Übliche Aufarbeitung gab öliges Rohprodukt, das zur Entfernung von Methylbenzoat 1 Std. bei 0,01 Torr auf 50^o erwärmt wurde. Der Rückstand (70 mg) wurde an 2,1 g Al₂O₃ chromatographiert.

Die mit Benzol-Chloroform (4:1) bis (2:3) eluierten Anteile (68 mg) gaben aus Aceton-Äther 59 mg krist. Benzoat XVII. Zur Analyse wurde noch zweimal analog umkristallisiert. Farblose, scharfkantige Körner, Smp. 303—315^o (Zers.); $[\alpha]_D^{19} = +61,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,095$ in Chloroform).

11,092 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,614^\circ \pm 0,02^\circ$

5,555 mg Subst. gaben 14,490 mg CO₂ und 3,675 mg H₂O (A. P.)

C₄₄H₅₄O₁₀ (742,87) Ber. C 71,14 H 7,33% Gef. C 71,18 H 7,40%

Die Kristalle sind in Chloroform und Aceton leicht, in Äther und Methanol schwerer und in Petroläther sehr schwer löslich.

Odorosid-H-acetat-benzoat (XIX). 50 mg Odorosid-H-monoacetat (XVIII) vom Smp. 227—229^{o1)} wurden wie oben benzyliert. Das im Hochvakuum bei 50^o getrocknete Rohprodukt (64 mg) gab aus Aceton-Äther, dann aus Aceton-Methanol 51 mg farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 256—262^o; $[\alpha]_D^{18} = +35,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1207$ in Chloroform).

11,353 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,397^\circ \pm 0,02^\circ$

4,350 mg Subst. gaben 10,960 mg CO₂ und 3,055 mg H₂O (A. P.)

C₃₉H₅₂O₁₀ (680,81) Ber. C 68,80 H 7,70% Gef. C 68,76 H 7,86%

1) Für diesen Versuch wurde ein aus dem Abbau von Odorotriosid-G-monoacetat gewonnenes Präparat^{a)} benutzt.

Odorosid-K-acetat (XXV). Die Rohkristalle wurden zweimal aus Aceton-Äther umkristallisiert. Feine, zu Sternen vereinigte Nadeln, Smp. 178—188°; $[\alpha]_D^{18} = -35,4^0 \pm 2^0$ ($c = 1,001$ in Chloroform).

10,164 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,355^0 \pm 0,02^0$

4,456 mg Subst. gaben 9,628 mg CO₂ und 2,880 mg H₂O (OAB)

2,465 mg Subst. verbr. 0,680 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

C ₃₆ H ₃₀ O ₂₄	Ber. C 59,14	H 7,09	—OCH ₃ 2,73%
(1137,20)	Gef. „ 58,97	„ 7,23	„ 2,85%

Legal-Probe: positiv (schwach orange-rot). Zuckerprobe: positiv. Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: bräunlich-rot (0'), violett-rötlich (5'), violett + graublau (10'), graubraun (30'), bräunlich-grau (60'). UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil, Fig. I, Kurve K. Die Kristalle sind in Chloroform, Aceton, Methanol und Benzol leicht, in Äther schwer löslich.

„Kristallinat J⁴“. Aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Äther rechteckige Platten und Stäbe, Smp. 238—243°; $[\alpha]_D^{16} = +51^0 \pm 3^0$ ($c = 0,6999$ in Methanol).

7,090 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,355^0 \pm 0,02^0$

3,389 mg Subst. gaben 8,45 mg CO₂ und 2,55 mg H₂O (S. W.)

2,193 mg Subst. verbr. 1,365 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

4,494 mg Subst. verbr. 0,03 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.) (A. P.)

C ₃₀ H ₄₄ O ₈	Ber. C 67,64	H 8,33	—OCH ₃ 5,83	—COCH ₃ 0,00%
(532,65)	Gef. „ 68,04	„ 8,44	„ 5,73	„ 0,28%

Legal-Reaktion: positiv (hellrot), Keller-Kiliani-Reaktion: negativ (farblos), Tetranitromethanprobe: schwach positiv (hellgelb). Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: intensiv orangerot (0'), intensiv orange gelb (5'—30'), rotstichiges gelborange (60'—120'). UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil, Fig. I, Kurve J.

Acetylierung von „Kristallinat J⁴“ und Trennung des Acetatgemisches. 721 mg rohes „Kristallinat J⁴“ vom Smp. 230—240° wurden in 10 cm³ abs. Pyridin und 8,0 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 18° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung ergab 788 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 435 mg rohes Odorosid-L-acetat (XXII) vom Smp. 155—170° (Blättchen). Die Mutterlauge gab aus Äther-Petroläther 130 mg Odorosid-M-acetat (XXIII) in Nadeln vom Smp. 214—223°. Chromatographie der Mutterlauge (202 mg) an Al₂O₃ gab noch 50 mg XXII (Smp. 168—175°) und 34 mg XXIII (Smp. 216—222°).

Odorosid-L-acetat (XXII). Aus Aceton-Äther, dann aus Methanol-Äther sechsseitige Blättchen mit starkem Glanz, Smp. 178—183°; $[\alpha]_D^{19} = +74,0^0 \pm 2^0$ ($c = 1,045$ in Chloroform).

10,576 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,76^0 \pm 0,02^0$

3,976 mg Subst. gaben 9,632 mg CO₂ und 2,730 mg H₂O (OAB)

4,822 mg Subst. gaben 11,694 mg CO₂ und 3,288 mg H₂O (A. P.)

4,085 mg Subst. verbr. 2,036 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

4,160 mg Subst. verbr. 0,539 cm³ H₂ (23,4°; 723 Torr) (Platin-Eisessig) (A. P.)

C ₃₄ H ₄₆ O ₉ (598,71)	Ber. C 68,20	H 7,75	—OCH ₃ 5,18%	D. Z. 3
C ₃₄ H ₄₈ O ₁₀ (616,72)	Ber. „ 66,21	„ 7,85	„ 5,03%	„ 2
C ₃₆ H ₅₀ O ₁₁ (658,76)	Ber. „ 65,63	„ 7,65	„ 4,71%	„ 2
	Gef. „ 66,11; 66,18	„ 7,68; 7,63	„ 5,16%	„ 3,03 ¹⁾

Legal-Reaktion: positiv (hell orange-rot), Keller-Kiliani-Reaktion: negativ (gelb), Zuckerprobe: positiv, Tetranitromethanprobe: positiv (hellgelb). Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ wie „Kristallinat J⁴“. UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil, Fig. I, Kurve L. IR.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil, Fig. III, Kurve L. Die Mischprobe mit 16-Anhydro-strospesid-diacetat (XIV) (Smp. 236—241°) schmolz bei 175—220°, zeigte also keine eindeutige Depression. XIV und XXII sind aber nach Papier-

¹⁾ Berechnet auf M = 598,71.

chromatogramm¹) eindeutig verschieden. Unter gleichen Bedingungen zeigte Odorosid-L-acetat (XXII) eine Laufstrecke von 26 ± 3 cm, 16-Anhydro-strospesid-diacetat (XIV) eine solche von 13 ± 1 cm.

Verseifungsversuch mit KHCO_3 . 50 mg Odorosid-L-acetat (XXII) vom Smp. 178–183° wurden, wie bei „Odorosid-E-acetat“ beschrieben, zur Verseifung angesetzt. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 44 mg Ausgangsmaterial vom Smp. 170–178° zurückerhalten.

Isolierung von D-Digitalose (XXIV) aus Odorosid-L-acetat (XXII). 200 mg Odorosid-L-acetat (XXII) vom Smp. 178–183° wurden mit einer Lösung von 180 mg KOH in 4,5 cm³ Methanol 30 Min. unter Rückfluss leicht gekocht. Dann wurde mit HCl bis zur eben kongossauren Reaktion versetzt, das Methanol im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Chloroformlösung hinterliess 179 mg amorphen Rückstand. Dieser wurde mit 5,5 cm³ der von *Kiliani*²) empfohlenen Mischung³) eine Std. auf 100° erwärmt. Dann wurden 4 cm³ Wasser zugegeben, im Vakuum bei 30° auf ca. 5 cm³ eingengt und sechsmal mit je 30 cm³ Chloroform ausgeschüttelt (Verarbeitung der wässrigen Phase siehe unten). Die mit Wasser, verd. Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 86 mg amorphen, gelben Neutralteil (nicht untersucht). Aus der Sodalösung wurde nach Ansäuern und Ausziehen mit Chloroform noch 26 mg saures Material erhalten (nicht untersucht).

Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden vereinigt, mit frisch gefälltem Ag₂CO₃ neutralisiert, das Filtrat bei 0° kurz mit H₂S behandelt, durch ein mit wenig ausgekochter Tierkohle gedichtetes Filter genutscht und das klare, farblose Filtrat im Vakuum bei 30° völlig eingedampft. Der farblose, trübe Sirup wurde mit wenig abs. Alkohol verflüssigt und mit viel abs. Aceton versetzt, wobei eine flockige Fällung entstand, von der abfiltriert wurde. Diese Operation wurde noch zweimal wiederholt. Der beim Eindampfen erhaltene acetonlösliche Sirup wurde bei 0,01 Torr und 30° getrocknet, in 1 cm³ abs. Aceton aufgenommen und mit 4 cm³ abs. Äther versetzt, wobei eine flockige Verunreinigung ausfiel. Eindampfen des Filtrats und Versetzen mit Wasser gab nochmals eine Trübung, die durch Filtration mit einer Spur gewaschener Kohle entfernt wurde. Eindampfen gab 25 mg farblosen, klaren Sirup; $[\alpha]_D^{17} = +102 \pm 3^\circ$ ($c = 0,628$ in Wasser).

6,373 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,640^\circ \pm 0,02^\circ$

Der trockene Zuckersirup wurde mit einer Spur abs. Aceton verflüssigt, mit abs. Äther bis zur beginnenden Trübung versetzt und mit krist. D-Digitalose⁴) angeimpft, wobei er sofort kristallisierte. Die 12 mg Nadeldrusen vom Smp. 108–120° wurden nochmals aus abs. Aceton/abs. Äther umkristallisiert. Farblose Stäbchen. Nach Waschen mit Aceton-Äther (1:10), dann mit abs. Äther und Trocknen über CaCl₂ zeigten sie Smp. 124–132°; die Mischprobe mit authentischer D-Digitalose (Smp. 122–126°⁴) gab keine Depression.

Odorosid-M-acetat (XXIII). Aus Aceton-Äther, dann aus Äther-Petroläther flache Nadeln oder feine Blättchen vom Doppel-Smp. 219–224°/230–240°; $[\alpha]_D^{20} = +31,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,665$ in Chloroform).

6,749 mg Subst. zu 1,013 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,222^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 10 Std. bei 50° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet.

4,737 mg Subst. gaben 11,470 mg CO₂ und 3,420 mg H₂O (A. P.)

4,918 mg Subst. gaben 11,876 mg CO₂ und 3,422 mg H₂O (A. P.)

5,565 mg Subst. verbr. 2,745 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (A. P.)

C₃₆H₅₀O₁₁ (658,76) Ber. C 65,63 H 7,65 —OCH₃ 4,71%

C₃₄H₄₈O₁₀ (616,72) Ber. „ 66,21 „ 7,85 „ 5,03%

Gef. C 66,08; 65,90 „ 8,08; 7,79 „ 5,10%

¹) Ausgeführt nach *O. Schindler & T. Reichstein*, Helv. **34**, 108 (1951), auf mit Formamid getränktem *Whatman*-Papier (No. 1), mobile Phase: Benzol, Laufzeit 5½ Std.

²) *H. Kiliani*, B. **63**, 2866 (1930).

³) 3,5 Teile Eisessig, 5,5 Teile Wasser, 1 Teil konz. HCl.

⁴) Aus Odorosid H bereitet³).

Legal-Probe: positiv (hellrot), *Keller-Kiliani-Probe*: negativ, *Zuckerprobe*: positiv, *Tetranitromethanprobe*: schwach positiv. UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil, Fig. I, Kurve M; die Substanz enthielt demnach noch ca. 5% *Odorosid-L-acetat* (XXII). Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 wie XXII, aber weniger intensiv. IR.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil, Fig. III, Kurve M.

Die Mikroanalysen wurden in folgenden Laboratorien ausgeführt: Mikrolabor der Organ.-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB.), bei Herrn *A. Peisker*, Brugg (A.P.) und bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberg*, Graz (S.W.).

Zusammenfassung.

Die Isolierung von *Odorosid H*, „*Odorosid-E-acetat*“, *Odorosid-K-acetat*, „*Kristalliat J*“, *Scopoletin* und *Scopolin-tetracetat* aus der Rinde von *Nerium odorum* wird beschrieben.

„*Odorosid-E-acetat*“ erwies sich als schwer trennbares Gemisch. Nach milder alkalischer Verseifung liessen sich *Digitalinum-verum-monoacetat* (II) und *16-Anhydro-digitalinum-verum-monoacetat* (V) daraus isolieren. Das Originalpräparat von „*Odorosid E*“ erwies sich als Gemisch von mindestens drei Stoffen. Nach enzymatischem Abbau lieferte es ein Gemisch von Monoglykosiden, das bei der Papierchromatographie 2 Flecken gab, deren Wanderungsgeschwindigkeiten denjenigen von *Odorosid H* (XV) und *16-Anhydro-strospesid* (XII) entsprachen. Nach milder alkalischer Hydrolyse des Monoglykosidgemisches gab das erhaltene Material bei der Papierchromatographie drei Flecken. Zwei davon entsprachen wieder *Odorosid H* (XV) und *16-Anhydro-strospesid* (XII), während der dritte *Strospesid* (VII) entsprach. Die Resultate lassen sich am besten deuten, wenn man annimmt, dass „*Odorosid E*“ ein Gemisch von *Gracilosid* (= *Odorosid F*), *Digitalinum-verum-16-monoacetat* und *16-Anhydro-digitalinum-verum* darstellte.

Odorosid-K-acetat wurde nur in kleinen Mengen erhalten und noch nicht genauer untersucht.

„*Kristalliat J*“ erwies sich als schwer trennbares Gemisch. Nach Acetylierung liess sich daraus *Odorosid-L-acetat* und *Odorosid-M-acetat* isolieren, die vielleicht isomer sind, sich aber im Spektrum voneinander unterscheiden. *Odorosid-L-acetat* zeigte ein Maximum bei $270\ m\mu$, dürfte demnach ein *16-Anhydro-gitoxigenin-derivat* darstellen; es enthielt als Zuckerkomponente *D-Digitalose*. *Odorosid-M-acetat* zeigte ein Maximum bei $217\ m\mu$. Beide Acetate enthalten nach dem IR.-Absorptionsspektrum keine freie HO-Gruppe.

Pharmazeutische Anstalt und
Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.
