

92. Die Glykoside der Goldlacksamen, *Cheiranthus Cheiri* L.3. Mitteilung¹⁾).Glykoside und Aglykone, 132. Mitteilung³⁾von **James A. Moore**⁴⁾, **Ch. Tamm** und **T. Reichstein**.

(8. III. 54.)

Aus den Samen des Goldlacks, *Cheiranthus Cheiri* L. (Cruciferae) sind zuerst sieben Stoffe in Form ihrer krist. Acetate (A–G) isoliert worden. Die aus den Acetaten durch milde Verseifung erhaltenen krist. Substanzen A und B haben sich als digitaloide Glykoside erwiesen und sind als Cheirosid A^{b)} und Cheirotoxin^{a)} bezeichnet worden. Bei einer Wiederholung der Isolierung^{b)} wurden von den genannten Stoffen nur noch Cheirosid A und Cheirotoxin erhalten, daneben aber noch ein weiteres Glykosid, das damals als neuer Stoff angesehen und Cheirosid H genannt wurde. Das biologisch stark wirksame Cheirotoxin war ein Diglykosid, das als Aglykon Strophanthidin enthielt^{a)}. Ein Zucker war D-Glucose^{b)}, der zweite eine Pentose oder Methylpentose. Das aus letzterem bereitete Osazon schien mit D-Xylosazon identisch zu sein. Auf Grund der Drehung des rohen Zuckers wurde vermutet, dass es sich um D-Lyxose handeln könnte^{b)}, obgleich Pentosen in digitaloiden Glykosiden bisher nie beobachtet wurden.

Cheirosid A^{b)} war ebenfalls ein Diglykosid. Es war biologisch schwächer wirksam und enthielt als Aglykon Uzarigenin (= Odorogenin B)⁵⁾. Der eine Zucker war vermutlich wieder D-Glucose, der zweite konnte als D-Fucose identifiziert werden. „Cheirosid H“^{b)} schien mit Cheirosid A isomer zu sein; es zeigte sehr ähnliche biologische Wirksamkeit wie dieses und enthielt als Aglykon ebenfalls Uzarigenin. Einer der beiden Zucker lieferte D-Glucosazon und war vergärbbar mit Hefe. Deshalb wurde vermutet, dass es sich wieder um D-Glucose handelt. Der zweite Zucker gab ein krist. p-Bromphenylhydrazon, das sich in ein krist. Pentacetat überführen liess. Beide Derivate erwiesen sich mit den entsprechenden Abkömmlingen der L-Rhamnose als identisch, so dass auf Anwesenheit von L-Rhamnose im „Cheirosid H“ geschlossen wurde^{b)}. (Über die mögliche Ursache für diesen Irrtum siehe unten.)

Da einige Resultate der genannten Arbeiten Lücken aufwiesen oder unsicher waren, wurde die Untersuchung der Goldlacksamen nochmals aufgenommen. Dafür diente 1 kg käuflicher Samen⁶⁾, die wie früher^{a)}^{b)} gemahlen und mit Petroläther entfettet wurden. Zur Orientierung über die beste Art der Extraktion wurde eine Probe dieses Samenpulvers direkt mit heissem Methanol extrahiert (ohne Fermentierung). Eine zweite Probe wurde zunächst 3 Tage mit Wasser bei 37° geweicht (fermentiert) und anschliessend mit Methanol extrahiert. Beide Extrakte wurden wie üblich mit Pb(OH)₂ gereinigt, dann die Glykoside mit Chloroform-Alkohol-Gemisch (2:1)⁷⁾ und (3:2)⁷⁾

¹⁾ 1. und 2. Mitteilung vgl. a)^{b)}.

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

³⁾ 131. Mitteilung: *R. E. Winkler & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 721 (1954).

⁴⁾ Derzeitige Adresse: *Parke, Davis & Co.*, Research Dep., Detroit 32, Mich. U.S.A.

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

⁶⁾ Es wurde die einfach blühende Gartenform verwendet, bezogen von *F. Haubensak Söhne AG.*, Basel.

⁷⁾ Verhältnis der Volumina; dies gilt für alle folgenden Verhältniszahlen.

ausgeschüttelt und im Papierchromatogramm (a und b in Fig. 1) geprüft¹⁾. Die nicht fermentierte Probe (b in Fig. 1) gab vier gut definierte Flecke, von denen zwei (A und B) gleiche Laufstrecken zeigten wie Cheirosid A und Cheirototoxin (i und h in Fig. 1); die zwei anderen

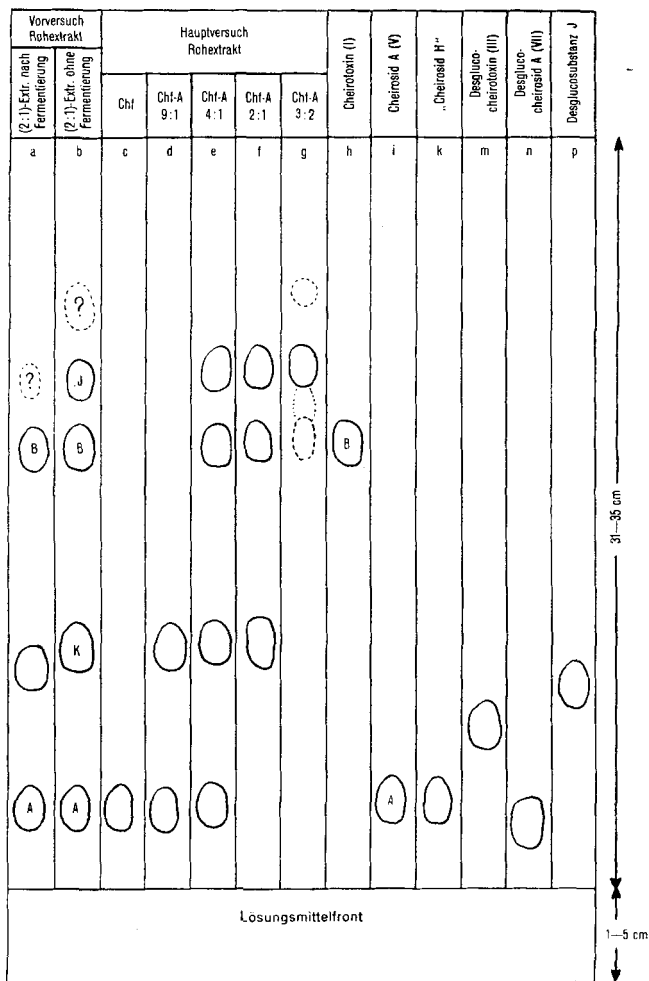


Fig. 1.

Papierchromatographie der Glykoside (schematisiert)²⁾. Stationäre Phase: Wasser; bewegliche Phase: n-Butanol-Toluol (9:1). Temp. 25°, Zeit 10—14 Std.

¹⁾ Es wird nur das Resultat des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts wiedergegeben; weiteres siehe exper. Teil.

²⁾ Ausführung nach *E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 37, 680 (1954)*. Die Proben sind nicht alle auf demselben Papierstreifen gelaufen. Die Laufstrecken wurden daher auf eine gemeinsame Frontlinie umgerechnet.

(J und K) wurden nicht identifiziert. Die fermentierte Probe (a in Fig. 1) gab nur drei starke Flecke, von denen zwei wieder Cheirosid A und Cheirotoxin entsprachen. Die am langsamsten wandernde Komponente (J) war verschwunden. Es ist aber unsicher, ob der starke mittlere Fleck der ursprünglichen Substanz K oder Desgluco-J (p in Fig. 1) entspricht. Desgluco-cheirosid A (n in Fig. 1) und Desgluco-cheirotoxin (m in Fig. 1) waren abwesend.

Da eine Fermentierung hier offenbar keine Vorteile bot, wurde der Hauptversuch ohne Fermentierung durchgeführt. Nach Reinigung mit $Pb(OH)_2$ wurde das Gemisch der Glykoside diesmal aus wässriger Lösung fraktioniert mit Chloroform sowie mit den vier verschiedenen Chloroform-Alkohol-Gemischen (9:1), (4:1), (2:1) und (3:2) ausgeschüttelt. Die so erhaltenen 5 Extrakte wurden im Papierchromatogramm (c–g in Fig. 1) geprüft. Dabei zeigte es sich, dass eine weitgehende Trennung erreicht war. Dementsprechend war es möglich, aus dem Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt einen grossen Teil des Cheirosids A direkt, also ohne vorherige Acetylierung, in Kristallen zu gewinnen. Weitere Anteile wurden aus dem (4:1)-Extrakt nach Verteilungschromatographie erhalten. Cheirotoxin wurde wieder nach Acetylierung und Chromatographie an Al_2O_3 isoliert. Insgesamt wurden 680 mg Cheirosid A und 560 mg Cheirotoxin-acetat gewonnen. – Die zwei anderen im Papierchromatogramm (b in Fig. 1) nachweisbaren Stoffe (J und K) konnten nicht in Kristallen erhalten werden. Die am stärksten polare Substanz J wurde durch Verteilungschromatographie frei von anderen *Raymond*-positiven Stoffen erhalten. Nach Behandlung dieses Präparats mit dem Ferment aus den Samen von *Adenium multiflorum* Kl.¹⁾ trat offenbar Spaltung ein (vgl. Papierchromatogramm p in Fig. 1), doch liess sich das entstandene Desgluco-Derivat bisher nicht in Kristallen fassen. Auch Substanz K liess sich bisher nicht genau charakterisieren. Fraktionen, die diesen Stoff angereichert enthielten, wurden acetyliert, doch liessen sich auch nach Chromatographie an Al_2O_3 keine Kristalle gewinnen.

Über die Konstitution der isolierten krist. Stoffe ergaben sich folgende Resultate.

Cheirosid A. Frühere Versuche^{b)}, Cheirosid A (V) mit Strophanthobiase abzubauen, führten nicht zum Ziel, denn das Glykosid blieb dabei unverändert. Die Spaltung gelang jetzt mit der Glucosidase aus den Samen von *Adenium multiflorum*¹⁾. Neben D-Glucose, die in Kristallen, aber nicht ganz rein erhalten wurde, gewannen wir das gut krist. Desgluco-cheirosid A (VII), das durch sein gut kristallisierendes Triacetat (VIII) charakterisiert wurde. Energische Hydrolyse mit HCl in wässriger Essigsäure²⁾ lieferte in Bestätigung

¹⁾ A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **33**, 1993 (1950).

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

früherer Befunde^{b)} D-Fucose, die diesmal in Kristallen erhalten werden konnte. Sie zeigte im Papierchromatogramm (d in Fig. 2) den richtigen R_F -Wert und gab bei der Mischprobe mit L-Fucose eine charakteristische Smp.-Erhöhung¹⁾. Zur weiteren Charakterisierung wurde das krist. Phenylhydrazon²⁾ bereitet. Aus den molekularen Drehungen (vgl. Tab. 1) folgt, dass der Zucker mit dem Aglykon β -glykosidisch verknüpft ist, in Übereinstimmung mit der von *Klyne*³⁾ aufgefundenen Regel, wonach fast alle natürlichen digitaloiden Glykoside von D-Zuckern die β -Form darstellen. Dasselbe trifft für die Bindung der Glucose zu; lediglich der Angriffspunkt dieser Bindung ist unsicher. Aus Analogiegründen formulieren wir diese Bindung willkürlich an C-4 des Fucoseanteils. Für Cheirosid A ergibt sich daraus Formel V, in der, wie erwähnt, lediglich die Verknüpfungsstelle der Glucose willkürlich formuliert ist. Desglucocheirosid A besitzt entsprechend Formel VII.

Cheirotoxin. Dieses Glykosid wurde schon früher mit Strophanthobiase fermentativ abgebaut^{b)}. Mit Hilfe der Glucosidase aus den Samen von *Adenium multiflorum* verlief die Spaltung analog; die Ausbeute war aber besser. Neben dem schon früher^{b)} beschriebenen Desglucocheirotoxin wurde die ebenfalls früher identifizierte^{b)} D-Glucose diesmal in Kristallen, aber nicht ganz rein erhalten. Zur Identifizierung des zweiten Zuckers wurde Desglucocheirotoxin wieder mit HCl in wässriger Essigsäure energisch hydrolysiert und der erhaltene Zuckersirup im Papierchromatogramm⁴⁾⁵⁾ geprüft (i in Fig. 2). Dabei zeigte es sich sofort, dass dieser Zucker mit keiner normalen Pentose (insbesondere auch nicht mit D-Lyxose) identisch sein kann. Von den zum Vergleich geprüften sieben Methylpentosen zeigten nur Rhamnose, Allomethylose und Gulomethylose gleiche und Glucomethylose eine nur wenig kürzere Laufstrecke. Eine Differenzierung wäre mit anderen Systemen wohl möglich gewesen. Von den drei in erster Linie in Frage kommenden Zuckern war die leicht kristallisierende Allomethylose aber unwahrscheinlich, ebenso die L-Rhamnose, da Convallatoxin, das α -L-Rhamnosid des Strophanthidins, von Desglucocheirotoxin stark verschieden war. Auf Grund der Drehung war D-Gulomethylose am wahrscheinlichsten. Dieser Zucker war als Baustein des α -Antiarins bereits in der Natur aufgefunden worden⁶⁾. Wir haben daher krist. D-Gulomethylose nach *Levene & Compton*^{a)} bereitet.

¹⁾ DL-Fucose schmilzt nach *E. Votoček*, B. 37, 3861 (1904), höher als die opt. aktiven Formen.

²⁾ *E. Votoček*, Zeitschr. f. Zucker-Ind. in Böhmen 24, 248 (1900); C. 1900, I, 803.

³⁾ *W. Klyne*, Proc. Biochem. Soc., Biochem. J. 47, xli (1950).

⁴⁾ *S. Partridge*, Biochem. J. 42, 238 (1948).

⁵⁾ *M. A. Jermyn & F. A. Isherwood*, Biochem. J. 44, 402 (1949); *F. A. Isherwood & M. A. Jermyn*, Biochem. J. 48, 515 (1951).

⁶⁾ *K. Doebel, E. Schlittler & T. Reichstein*, Helv. 31, 688 (1948).

Die Kristallisation dieses schwer kristallisierenden Zuckers¹⁾ gelang, weil ein Präparat aus α -Antiarin²⁾ nach fünfjährigem Liegen einige Kristallkeime gebildet hatte. Impfen des Zuckersirups aus Cheirotoxin gab hierauf sehr rasch schöne Kristalle, die sich nach Smp., Drehung, Mischprobe und Papierchromatogramm als D-Gulomethylose erwiesen. Zur weiteren Charakterisierung wurde noch das krist. p-Bromphenylhydrazon³⁾ bereitet. Aus den Drehungen (vgl. Tab. 1) folgt, dass dieser Zucker im Desgluco-cheirotoxin β -glucosidisch gebunden ist, in Übereinstimmung mit der erwähnten Regel von *Klyne*. Desgluco-cheirotoxin dürfte demnach die Strukturformel III besitzen. Cheirotoxin selbst enthält ein Mol D-Glucose mehr. Nach der Drehung muss diese ebenfalls β -glucosidisch gebunden sein. Für diese Bindung kommen in erster Linie eine der drei HO-Gruppen des D-Gulomethylose-Anteils in Frage. Eine begründete Entscheidung ist bisher nicht möglich. Die in Formel I angegebene Bindung an C-4 ist somit wieder willkürlich.

Tabelle 1.
Vergleich der molekularen Drehungen.

Substanz	$[M]_D$
Cheirotoxin (I) $[-17,2 \pm 1,5 \text{ Me}]^a$ ($C_{35}H_{52}O_{15} = 712,77$)	$-123^0 \pm 11^0$
Desgluco-cheirotoxin (III) $[-8,7 \pm 1,5 \text{ Me}]^c$ ($C_{29}H_{42}O_{10} = 550,63$)	$-48^0 \pm 8^0$
Strophanthidin $[+43 \pm 2 \text{ Me}]^4$ ($C_{23}H_{32}O_6 = 404,49$)	$+174^0 \pm 8^0$
Drehungsbeitrag des D-Glucose-Anteils	$-75^0 \pm 19^0$
Drehungsbeitrag des D-Gulomethylose-Anteils	$-222^0 \pm 16^0$
Cheirosid A (V) $[-24,9 \pm 2 \text{ Py}]^c$ ($C_{35}H_{54}O_{13} = 682,78$)	$-170^0 \pm 13^0$
Desgluco-cheirosid A (VII) $[-12,9 \pm 2 \text{ Me}]^c$ ($C_{29}H_{44}O_8 = 520,64$)	$-67^0 \pm 11^0$
Uzarigenin $[+14,0 \pm 3 \text{ A}]^b$ ($C_{23}H_{34}O_4 = 374,50$)	$+52^0 \pm 11^0$
Drehungsbeitrag des D-Glucose-Anteils	$-103^0 \pm ?^b$
Drehungsbeitrag des D-Fucose-Anteils	$-119^0 \pm 22^0$
α -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ $[+158,9 \text{ W}]^7$ (194,18)	$+308^0 \pm ?$
β -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ $[-34,2 \text{ W}]^7$ (194,18)	$-67^0 \pm ?$
α -Methyl-D-fucosid- $\langle 1,5 \rangle$ $[+189,9 \text{ W}]^8$ (178,18)	$+340^0 \pm ?$
β -Methyl-D-fucosid- $\langle 1,5 \rangle$ $[-14,0 \text{ W}]^9$ (178,18)	$-14^0 \pm ?$

¹⁾ H. Müller & T. Reichstein, *Helv.* **21**, 251 (1938).

²⁾ K. Doebel, E. Schlittler & T. Reichstein, *Helv.* **31**, 688 (1948).

³⁾ P. A. Levene & J. Compton, *J. Biol. Chem.* **111**, 325 (1935); K. Doebel, E. Schlittler & T. Reichstein, *Helv.* **31**, 688 (1948).

⁴⁾ F. Feist, *B.* **31**, 534 (1898); W. A. Jacobs & M. Heidelberger, *J. Biol. Chem.* **54**, 253 (1922).

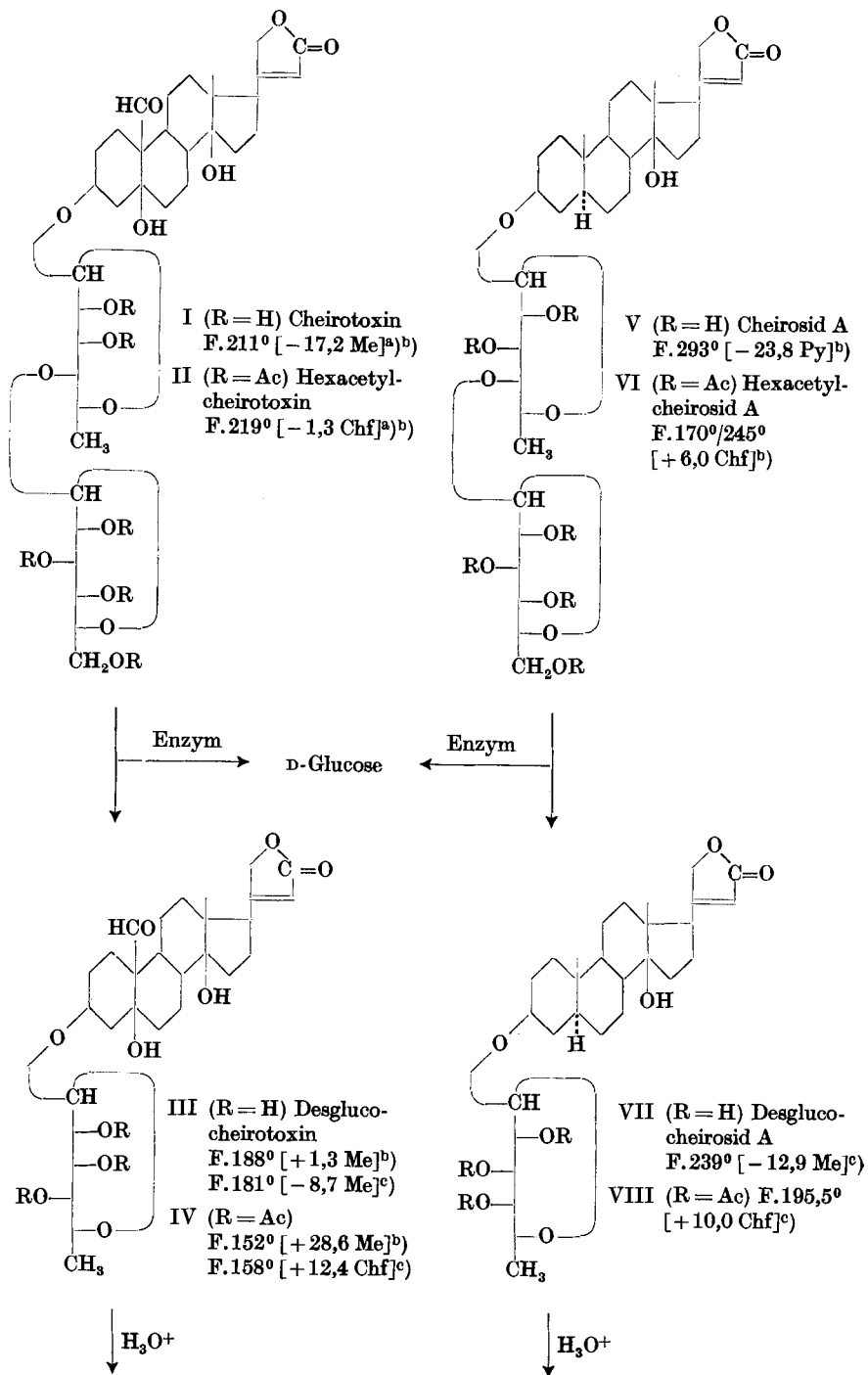
⁵⁾ S. Rangaswami & T. Reichstein, *Helv.* **32**, 939 (1949).

⁶⁾ Die Fehlergrenze ist unbestimmt, da V nur in Pyridin gemessen wurde.

⁷⁾ C. Rüber, *B.* **57**, 1797 (1924).

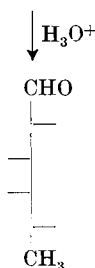
⁸⁾ E. Votoček & F. Valentin, *Coll. Trav. Chim. Tchecoslovaquie* **2**, 36 (1930); *C.* **1930**, I, 2543.

⁹⁾ H. Schlubach & E. Wagenitz, *B.* **65**, 304 (1932).





IX D-Gulomethylose
F. 130° [– 38° W]^{d)1)}



X D-Fucose
F. 140° [+ 76,3 W]^{e)1)}

In den Formeln I, II, V und VI ist die Verknüpfungsstelle des Glucoserestes an C-4 des ersten Zuckers willkürlich formuliert, sie kann sich auch an C-2 oder C-3 befinden.

Ac = CH₃CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform, Me = Methanol, Py = Pyridin, W = Wasser.

„Cheirosid H“. Bei der Kontrolle zeigte es sich, dass „Cheirosid H“ und Cheirosid A (V) höchst wahrscheinlich nicht isomer, sondern identisch sind. Die grosse Ähnlichkeit der zwei Präparate sowie aller daraus erhaltenen Derivate und Abbauprodukte ist schon früher aufgefallen^{b)}. Ein beträchtlicher Unterschied bestand nur im Smp. der Acetate. Ein altes Originalpräparat von Cheirosid-H-acetat^{b)} war aber noch vorhanden und hatte sich inzwischen von selbst in die hochschmelzende Form umgelagert. „Cheirosid H“ und Cheirosid A zeigten auch im Papierchromatogramm genau gleiche Laufstrecken (i und k in Fig. 1), und auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren genau gleich. Schwer verständlich bleibt lediglich die Tatsache, dass aus „Cheirosid H“ L-Rhamnose in Form der zwei oben genannten krist. Derivate isoliert worden ist^{b)}. Die einzig mögliche Erklärung dafür ist, dass es sich um eine unliebsame Verwechslung gehandelt haben muss²⁾. Jedenfalls sollte der Name „Cheirosid H“ aus der Literatur gestrichen werden.

Die Drehungen von α- und β-Methyl-gulomethylosid-⟨1,5⟩ sind nicht bekannt. Ein negativer Beitrag bei einem D-Zucker spricht aber eindeutig für β-glykosidische Bindung in III.

a) H. Schwarz, A. Katz & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **21**, 250 (1946).

b) N. Shah, K. Meyer & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **24**, 113 (1949).

c) Exper. Teil dieser Arbeit.

d) P. A. Levene & J. Compton, J. Biol. Chem. **111**, 335 (1935).

e) E. Votoček & F. Valentin, Coll. Trav. Chim. Tchécoslovaquie **2**, 36 (1930); C. **1930**, I, 2543.

1) Konstanter Endwert.

2) Es wurden damals eine Reihe verschiedener p-Bromphenylhydrazone, darunter auch dasjenige der L-Rhamnose, zum Vergleich hergestellt. Es besteht daher die Möglichkeit, dass das Glas mit dem Zucker aus Cheirosid mit einem solchen Vergleichspräparat verwechselt worden war.

Herr Dr. *K. K. Chen*¹⁾ hatte die Freundlichkeit, die Toxizität von Desgluco-cheirosid A (VII) an der Katze zu prüfen. Das Ergebnis ist aus Tab. 2 ersichtlich; es sind dort auch die früher^{b)} von ihm bestimmten Werte für Cheirosid A (V), Cheirotxin (I) und Desgluco-cheirotxin (III) zum Vergleich nochmals angegeben.

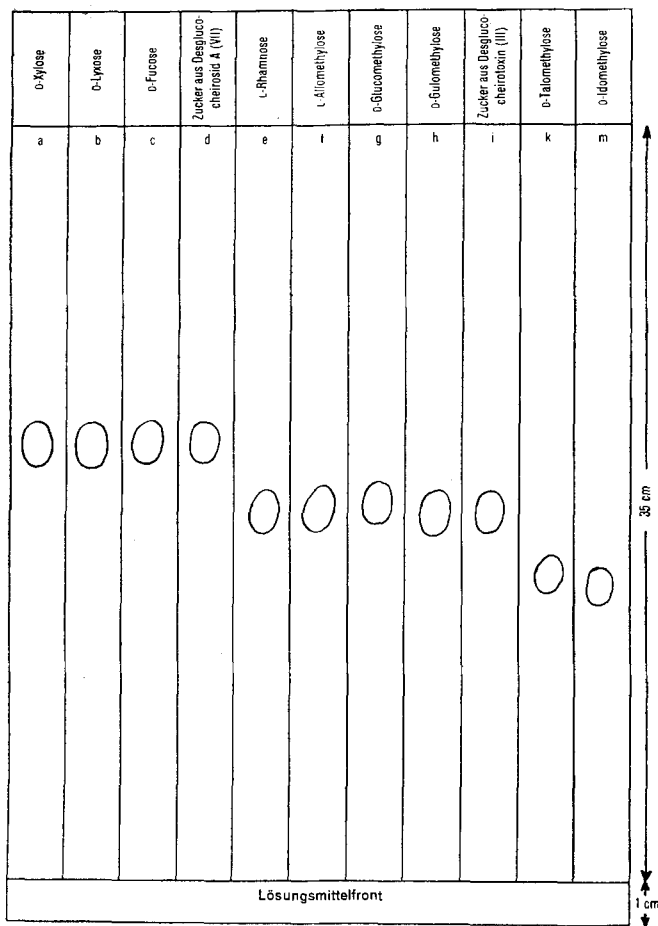


Fig. 2.

Papierchromatographie der Zucker²⁾ in n-Butanol-Pyridin-Wasser (3:2:1,5)³⁻⁵⁾. Temperatur 25°, Zeit 17 Std.

¹⁾ Wir danken Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate.

²⁾ *S. Partridge*, *Biochem. J.* **42**, 238 (1948).

³⁾ *A. Jeanes, C. S. Wise & R. J. Dimler*, *Anal. Chem.* **23**, 415 (1951).

⁴⁾ Vgl. auch *O. Lüderitz & O. Westphal*, *Z. f. Naturforsch.* **7b**, 548 (1952).

⁵⁾ Entwicklung mit Silbernitrat und NaOH und Fixierung mit NH₃ nach *W. E. Trevelyan, D. P. Procter & J. S. Harnson*, *Nature* **166**, 444 (1950); vgl. auch *R. E. Winkler & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 721 (1954).

Tabelle 2.
Toxizitäten bei intravenöser Infusion (Katze).

Substanz	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg
Cheirosid A (V)	10	0,6833 ± 0,0525 ^{b)}
„Cheirosid H“ identisch mit V	12	0,7866 ± 0,0773 ^{b)}
Desgluco-cheirosid A (VII)	10	1,332 ± 0,1198
Cheirotoxin (I).	—	0,1185 ± 0,0036 ^{a)}
Desgluco-cheirotoxin (III)	10	0,0964 ± 0,0063 ^{b)}

Es ist auffallend, dass Cheirosid A (V) für die Katze merklich toxischer war als Desgluco-cheirosid A (VII).

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. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführung bis 200^o etwa ± 2^o, darüber etwa ± 3^o. Substanzproben zur Drehung wurden, wo nichts anderes erwähnt, 1 Std. bei 0,01 Torr und 70^o getrocknet (Zuckerproben analog bei 40^o), zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100^o über P₂O₅ mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform, Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Die Tüpfelprobe mit *Raymond*-Reagens wurde nach früherer Angabe²⁾ ausgeführt, ebenso Bereitung von alkalifreiem Al₂O₃³⁾ und „Silikatgemisch“⁴⁾ zur Chromatographie. Die Papierchromatographie der Glykoside im System Wasser: n-Butanol-Toluol (9:1) geschah in der kürzlich beschriebenen Ausführungsform⁵⁾.

Entfettung des Samenpulvers. 1 kg Samen wurde wie früher^{a) b)} gemahlen und mit Petroläther bei 20^o entfettet. Erhalten wurden 242 g Petrolätherextrakt (gelbes Öl, verworfen) und 749 g entfettetes Samenpulver.

Vorversuche. a) *Ohne Fermentierung*. 10 g entfettetes Samenpulver wurden zuerst 15 Min. mit 100 cm³ Methanol ausgekocht. Das abgenutzte Pulver wurde dann bei 20^o noch zweimal mit je 50 cm³ Methanol und zweimal mit je 50 cm³ 60-proz. Methanol extrahiert. Das verbliebene Pulver (Trockengewicht 6,78 g) war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum auf 100 cm³ eingeeengt, wie üblich⁶⁾ mit Pb(OH)₂ gereinigt und das Filtrat bei pH = 6 im Vakuum auf 15 cm³ eingeeengt. Die Suspension wurde achtmal mit je 50 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. (Behandlung der wässrigen Phase siehe unten). Die im Gegenstrom der Reihe nach mit 8 cm³ Wasser, 8 cm³ 2-n. Sodalösung und 8 cm³ Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben 160,2 mg Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (Papier-

¹⁾ K. K. Chen & R. C. Anderson, J. Pharmacol. and Exper. Therap. **90**, 271 (1947).

²⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951). Die Lösung des m-Dinitrobenzols wurde aber nicht aufgespritzt, sondern das Papier wurde durch eine 5-proz. Lösung von m-Dinitrobenzol in Benzol gezogen, getrocknet und anschliessend mit NaOH in Methanol gespritzt.

³⁾ J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944), aber nur bei 180–190^o reaktiviert.

⁴⁾ W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 434 (1952).

⁵⁾ E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 680 (1954).

⁶⁾ J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein, Helv. **34**, 1821 (1951).

chromatogramm vgl. b in Fig. 1). Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden mit Na_2SO_4 halb gesättigt⁵⁾ und dreimal mit je 50 cm³ Chloroform-Alkohol-(3:2) ausgeschüttelt. Die wie früher beschrieben⁵⁾, gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 49 mg Rückstand. Dieser enthielt nach Papierchromatogramm nur eine kleine Menge der am langsamsten wandernden Komponente, die im (2:1)-Extrakt enthalten war.

b) *Mit Fermentierung.* 10 g entfettetes Samenpulver wurde mit 35 cm³ Wasser angerührt, mit 1 cm³ Toluol gedeckt und 3 Tage verschlossen bei 37° stehengelassen. Dann wurde mit 60 cm³ Methanol versetzt, abgenutscht und der Rückstand mit je 50 cm³ der folgenden Lösungsmittel extrahiert, wobei jeweils mehrere Std. bei 20° stehengelassen wurde: 40-proz., 50-proz., 60-proz., 80-proz. und 100-proz. Methanol. Das verbleibende Samenpulver (Trockengewicht 5,5 g) war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die vereinigten Filtrate wurden auf 180 cm³ eingengt, mit Petroläther ausgeschüttelt und dieser wieder mit 50-proz. Methanol gewaschen. Die methanolisch-wässrigen Phasen wurden wie bei a) mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ gereinigt und ausgeschüttelt. Es wurden erhalten: 367 mg Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (Papierchromatogramm vgl. a in Fig. 1) sowie 200 mg Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt. Letzterer gab bei der *Raymond*-Reaktion nur einen schwach grünlichen Fleck und wurde nicht weiter untersucht.

Präparative Extraktion. 730 g entfettetes Samenpulver wurden zunächst mit 2 l Methanol, dann mit 1,5 l 80-proz. Methanol heiss extrahiert. Anschliessend wurde noch je zweimal mit je 1,5 l 70-proz. und 50-proz. Methanol je mehrere Std. bei 20° extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum auf 4,5 l eingengt und die trübe rote Lösung fünfmal mit je 250 cm³ Petroläther ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom zweimal mit je 20 cm³ 50-proz. Methanol gewaschen. Sie wurden über Na_2SO_4 getrocknet und gaben beim Eindampfen 12 g Petrolätherextrakt (grünes Öl, verworfen). Die vereinigten methanolisch-wässrigen Phasen wurden wie üblich⁵⁾ mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ (aus 750 g *Pb*-Diacetat-trihydrat) gereinigt und die Filtrate bei pH = 5,5–6,5 im Vakuum auf 200 cm³ eingengt. Dieses Konzentrat wurde viermal mit je 500 cm³ Äther, dann je zehnmal mit je 250 cm³ Chloroform, Chloroform-Alkohol-(9:1), (4:1) und (2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom dreimal mit je 25 cm³ Wasser, einmal mit 25 cm³ 8-proz. Sodalösung und noch je zweimal mit 20 cm³ Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Die verbliebene wässrige Phase und die ersten drei Waschwasser wurden vereint, im Vakuum auf 125 cm³ eingengt und die visköse Lösung mit Na_2SO_4 gesättigt. Dann wurde sechsmal mit je 150 cm³ Chloroform-Alkohol (3:2) ausgeschüttelt. Über die erhaltenen Extrakte orientiert Tab. 3.

Tabelle 3.

Extrakt	Gewicht in g	Glykosidgehalt und Papierchromatogramm
Äther	0,60	<i>Raymond</i> -Reaktion: negativ, verworfen
Chloroform	0,45	Etwas Cheirosid A (c in Fig. 1)
Chloroform-Alkohol (9:1) .	1,94	Cheirosid A und Subst. K (d in Fig. 1)
Chloroform-Alkohol (4:1) .	3,07	Cheirosid A, Subst. K, Cheirotoxin und Subst. J (e in Fig. 1)
Chloroform-Alkohol (2:1) .	3,74	Cheirotoxin und Subst. J (f in Fig. 1)
Chloroform-Alkohol (3:2) .	3,58	Subst. J und vielleicht noch stärker polarer Stoff (g in Fig. 1)
Total	13,38	

Verarbeitung des *Chloroformextrakts* siehe bei Chf-Alk-(9:1)-Extrakt.

Der *Chf-Alk-(9:1)-Extrakt* gab durch direkte Kristallisation aus Methanol 430 mg Cheirosid A (V), Smp. 270–278°. Die Mutterlauge wurde mit dem Chloroformextrakt vereinigt (1,96 g) und einer groben Verteilungschromatographie in der früher beschriebenen Ausführungsform¹⁾ unter Benützung von Säule Nr. 2 unterworfen. Mit Benzol, Benzol-Chloroform, Chloroform und Chloroform-*n*-Butanol bis zu 4% Butanolgehalt wurden insgesamt 320 mg dunkles amorphes Material eluiert. Die mit Chloroform-*n*-Butanol (95:5) eluierten Anteile (290 mg) gaben aus Methanol 50 mg unreines Cheirosid A.

Die 3,0 g *Chf-Alk-(4:1)-Extrakt* wurden einer analogen, aber sorgfältigeren Verteilungschromatographie mit Säule Nr. 3 unterworfen. Es wurden Fraktionen von je 800 cm³ pro 24 Std. aufgefangen. In Fälln, wo diese mehr als 100 mg Rückstand geliefert hatten, wurden zwei Fraktionen zu 400 cm³ abgetrennt.

Die Fraktionen 1–26 (eluiert mit total 16,85 l Chloroform sowie Chloroform mit 1–10% Butanol) gaben total 0,13 g braunes Öl, verworfen (Fr. 1–11 waren *Raymond*-negativ).

Die Fraktionen 27–35 (0,697 g, eluiert mit total 4,45 l Chloroform-Butanol (90:10)) gaben aus Methanol 288 mg krist. Cheirosid A, Smp. 275–295°. Nach Papierchromatogramm waren keine anderen Glykoside anwesend.

Die Fraktionen 36–40 (0,143 g, eluiert mit total 4,17 l Chloroform-Butanol (90:10)) gaben keine Kristalle. Nach Papierchromatogramm war nur Cheirosid A anwesend.

Die Fraktionen 41–47 (0,960 g, eluiert mit total 3,96 l Chloroform-Butanol (80:20)) gaben keine Kristalle. Nach Papierchromatogramm war noch Cheirosid A, die Hauptmenge von Substanz K und in den Fraktionen 46–47 bereits eine Spur Cheirotoxin anwesend.

Die Fraktionen 48–52 (0,211 g, eluiert mit total 4 l Chloroform-Butanol (80:20)) gaben keine Kristalle. Nach Papierchromatographie enthielten sie die letzte Spur von Subst. K sowie etwas Cheirotoxin. Sie wurden nicht untersucht.

Die Fraktionen 53–67 (0,500 g, eluiert mit total 11,47 l Chloroform-Butanol (75:25) und (70:30)) gaben keine Kristalle. Nach Papierchromatogramm enthielten sie alle Cheirotoxin und Subst. J. Sie wurden acetyliert und das rohe Acetat wie früher^{a)b)} an Al₂O₃ chromatographiert, worauf sich 180 mg reines Hexacetyl-cheirotoxin (II) in Kristallen, Smp. 219–221° isolieren liessen.

Fraktion 68 (0,038 g, eluiert mit Chloroform-Butanol (70:30)) enthielt nach Papierchromatogramm die letzten Spuren Cheirotoxin (verworfen).

Die Fraktionen 69–77 (0,410 g, eluiert mit Chloroform-Butanol (60:40)) gaben keine Kristalle. Nach Papierchromatogramm enthielten sie alle nur Subst. J. Sie dienten zum enzymatischen Abbau (siehe unten).

Die 3,7 g *Chf-Alk-(2:1)-Extrakt* wurden an 120 g „Silikatgemisch“ chromatographiert. Nachwaschen mit je 350 cm³ Chloroform-Methanol von steigendem Methanolgehalt gab 19 Fraktionen. Nach Papierchromatogramm enthielt jede Fraktion sowohl Cheirotoxin wie Subst. J; keine gab Kristalle. Die vereinigten Fraktionen (2,80 g) wurden acetyliert, worauf sich teilweise nach direkter Kristallisation, teilweise nach Chromatographie an Al₂O₃ insgesamt 380 mg Hexacetyl-cheirotoxin (II), Smp. 212–218°; $[\alpha]_D^{26} = -4,1^0 \pm 2^0$ ($c = 1,273$ in Chloroform) isolieren liessen. Andere Kristalle wurden nicht erhalten.

Nach Verarbeitung der Mutterlaugen wurden aus den 1 kg Samen insgesamt 560 mg Hexacetyl-cheirotoxin (II) vom Smp. 211° oder darüber und 678 mg Cheirosid A (V) vom Smp. 288° oder höher erhalten.

Substanz J. Dieser Stoff war stärker polar als Cheirotoxin, er fand sich nach Papierchromatogramm in den *Chf-Alk*-(4:1), (2:1)- und (3:2)-Extrakten. Frei von anderen *Raymond*-positiven Stoffen fand er sich in den Fraktionen 69–77 der Verteilungschromatographie des *Chf-Alk*-(4:1)-Extrakts. Da bisher keine Kristalle daraus erhalten werden konnten, wurden 335 mg dieses Materials in 80 cm³ Wasser mit 330 mg Enzympräparat

¹⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 357 (1953).

aus den Samen von *Adenium multiflorum* und etwas Toluol versetzt und 4 Tage verschlossen bei 37° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf 10 cm³ eingeeengt, mit der fünffachen Menge Alkohol versetzt und die flockige Fällung abfiltriert. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, in Alkohol aufgenommen, erneut filtriert und das klare Filtrat wieder im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, wobei eine rötliche amorphe Fällung entstand, die abfiltriert wurde (ca. 40 mg). Das Filtrat wurde wie üblich mit Chloroform, dann mit Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Extrakte wurden eingedampft. Es resultierten 55 mg Chloroformextrakt und 67 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Letztere wurden vereinigt und an 3 g Al₂O₃ chromatographiert, doch liessen sich keine Kristalle erhalten. Beide Extrakte gaben bei der Papierchromatographie nur einen Fleck (p in Fig. 1) mit viel grösserer Laufgeschwindigkeit als Subst. J, so dass offenbar enzymatischer Abbau eingetreten ist. Sie wurden vereinigt und an 3 g Al₂O₃ chromatographiert, doch konnten keine Kristalle erhalten werden.

Substanz K. Dieser Stoff war vor allem im Chf-Alk-(4:1)-Extrakt enthalten. Die Fraktionen 41—47 der Verteilungschromatographie dieses Extraktes enthielten Substanz K als Hauptkomponente neben Spuren von Cheirosid A und Cheirotoxin. Dieses Material (0,96 g) wurde mit 3 cm³ Acetanhydrid und 5 cm³ abs. Pyridin zwei Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 1,1 g rohes Acetatgemisch, das an 33 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Es liessen sich bisher keine Kristalle erhalten.

Desgluco-cheirotoxin (III). 387 mg Cheirotoxin (Rohprodukt aus Verseifung^b) von 530 mg Hexacetyl-cheirotoxin vom Smp. 212—217°) wurden in 150 cm³ Wasser gelöst, mit 400 mg trockenem Enzympräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum* und etwas Toluol versetzt und 4 Tage verschlossen bei 37° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf 15 cm³ eingeeengt, mit 75 cm³ Alkohol versetzt und die flockige Fällung abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum auf 5 cm³ eingeeengt, worauf Kristalle ausfielen, die abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden (182 mg rohes III, Smp. 180—183°). Das Filtrat und die Waschwässer wurden wie üblich mit Chloroform-Alkohol (4:1) und (2:1) ausgeschüttelt. (Verarbeitung der wässrigen Phase siehe unten.) Der Chf-Alk-(4:1)-Extrakt (72 mg) gab aus wenig Methanol-Wasser noch 36 mg krist. III, Smp. 177—181°. Eine Probe wurde aus Methanol-Äther umkristallisiert und gab farblose Kristalle, Smp. 181—184°; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -8,7^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ (c = 1,726 in Methanol¹).

17,26 mg Subst. zu 1,000 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{23} = -0,150^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Triacetyl-desgluco-cheirotoxin (IV). 36 mg rohes Desgluco-cheirotoxin wurden wie üblich acetyliert. Das Rohprodukt (43 mg) wurde an 1,2 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (1:1) eluierten Anteile (37,5 mg) gaben aus Methanol-Äther 20 mg farblose Nadeln, Smp. 158—160°; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +12,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,129 in Chloroform²).

11,29 mg Subst. zu 1,000 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{23} = +0,141^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

4,264 mg Subst. gaben 9,652 mg CO₂ und 2,766 mg H₂O (A. P.)

C₃₅H₄₈O₁₃ (676,73) Ber. C 62,11 H 7,15% Gef. C 61,77 H 7,26%

Isolierung der D-Glucose aus enzymatischer Spaltung von Cheirotoxin.

Die mit Chloroform-Alkohol ausgeschüttelte wässrige Phase wurde im Vakuum bei 40° eingedampft, der Rückstand in Methanol aufgenommen und die filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft. Der trockene Rückstand wurde wieder in Methanol aufgenommen, die leicht trübe Lösung erneut filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Wasser aufgenommen, die leicht trübe Lösung mit etwas gewaschener Kohle geklärt und das Filtrat wieder im Vakuum eingedampft. Erhalten

1) Früher^b) wurde gefunden: Smp. 188—189°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +1,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (in Methanol).

2) Früher^b) wurde gefunden: Smp. 152—154°; $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = +28,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (in Methanol).

wurden 25 mg farbloser Sirup, der aus wenig Methanol nach mehrtägigem Stehen (Impfen) ca. 8 mg farblose Kristalle lieferte, die mit Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet wurden. Smp. 134–138°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +69^{\circ}$ (5 Min.) $\rightarrow +37,4^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (18 Std.) ($c = 0,534$ in Wasser¹). Die Mischprobe mit authentischer D-Glucose schmolz gleich.

Desgluco-cheirosid A (VII). 300 mg Cheirosid A (V) wurden in 250 cm³ 50-proz. Methanol heiss gelöst, mit 200 cm³ heissem Wasser versetzt und diese Lösung im Vakuum auf 250 cm³ eingengt. Dann wurden 300 mg trockenes Enzympräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum* sowie 3 cm³ Toluol zugegeben und verschlossen 5 Tage bei 36° stehengelassen, wobei reichlich Kristalle ausfielen. Dann wurde im Vakuum fast vollständig zur Trockne eingedampft und der Rückstand dreimal mit je 50 cm³ Alkohol ausgekocht. Die durch wenig gewaschene Kieselgur (Celite Nr. 535) filtrierten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit etwas Wasser verdünnt, worauf 199 mg (88%) rohe Kristalle von VII, Smp. 205–235° erhalten wurden. Die Mutterlauge wurde mit Äther-Chloroform (5:4), dann mit Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. (Die verbleibende wässrige Phase diente zur Isolierung der D-Glucose, siehe unten). Die zwei genannten Extrakte gaben nach üblichem Waschen und Trocknen nur 11 mg und 13 mg Rückstand, die nicht weiter untersucht wurden.

Eine Probe Desgluco-cheirosid A wurde dreimal aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Farblose Nadeln Smp. 239–244° (Sintern ab 225°); $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = -12,9 \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,104$ in Methanol).

10,97 mg Subst. zu 0,9935 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{23} = -0,143^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Trocknung zur Analyse (5 Std., 110°) gab 7,79; 7,40% Gewichtsverlust.

3,799 mg Subst. gaben 9,322 mg CO₂ und 2,926 mg H₂O (A. P.)

4,218 mg Subst. gaben 10,369 mg CO₂ und 3,258 mg H₂O (OAB)

C ₂₉ H ₄₄ O ₈ (520,64)	Ber. C 66,90	H 8,52%
	Gef. „ 66,96; 67,09	„ 8,62; 8,64%

Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: orangerot (0'), dunkelbraunrot (10'), rot mit Violettstich (40'), tief violett (60'), blaugrau (90'). Das Glykosid kristallisierte nur gut aus Methanol-Wasser. Andere Lösungsmittel gaben entweder schlecht ausgebildete Kristalle oder Gallerten. Biologische Prüfung siehe theoret. Teil.

Triacetyl-desgluco-cheirosid A (VIII). Bereitung wie üblich. Aus Spur Methanol mit Äther-Petroläther farblose Nadeln Smp. 195,5–197°; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +10,0^{\circ} \pm 2,5^{\circ}$ ($c = 0,895$ in Chloroform).

8,89 mg Subst. zu 0,9935 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{23} = +0,09^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

4,549 mg Subst. gaben 10,844 mg CO₂ und 3,150 mg H₂O (OAB)

C ₃₅ H ₅₀ O ₁₁ (646,75)	Ber. C 65,00	H 7,79%	Gef. C 65,05	H 7,75%
--	--------------	---------	--------------	---------

Identifizierung der D-Glucose aus Cheirosid A. Die wässrige Phase der enzymatischen Spaltung wurde wie bei Glucose aus Cheirotoxin aufgearbeitet. Der gereinigte farblose Zuckersirup wog 40,5 mg. Aus wenig Methanol (Impfen mit α -D-Glucose) gab 12 mg Kristalle, Smp. 134–139°; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +83^{\circ}$ (6 Min.) $\rightarrow +44^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (18 Std.) ($c = 0,563$ in Wasser). Authentische, aus Methanol umkristallisierte D-Glucose schmolz bei 138–141°, die Mischprobe bei 137–140°.

Die Kristallmutterlauge (25 mg) wurde genau wie früher beschrieben²) in das p-Brombenzhydrazon³) übergeführt. Erhalten wurden 15 mg rohe Kristalle. Aus Methanol 2 mg reine Kristalle, Smp. 197–200° (Zers.), Misch-Smp. mit authentischem Vergleichsmaterial ebenso.

¹) Authentische α -D-Glucose zeigt Smp. 146°; $[\alpha]_{\text{D}} = +52,5^{\circ}$ (Endwert in Wasser), vgl. B. Tollens, B. 17, 2234 (1884).

²) J. P. Rosselet & T. Reichstein, Helv. 36, 787 (1953).

³) R. Kahl, Z. Ver. Rübenzucker-Ind. 1904, 1091; C. 1904, II, 1493.

Isolierung von D-Gulomethylose (IX) aus Desgluco-cheirotoxin (III).

100 mg Desgluco-cheirotoxin (III) wurden mit 3 cm³ *Kilian*-Mischung¹⁾ 50 Min. auf 100° erhitzt, wobei sich die Lösung violett färbte und ein grünes Öl abschied. Dann wurde im Vakuum bei 30° ganz eingedampft, der Rückstand mit 5 cm³ Wasser versetzt und dieses erneut im Vakuum bei 30° eingedampft. Der Rückstand wurde mit 5 cm³ Wasser versetzt und fünfmal mit je 5 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach zweimal mit je 2 cm³ Wasser gewaschen und dann verworfen. Die vereinigten wässerigen Phasen wurden im Vakuum von Chloroformresten befreit, dann kurz mit reinstem Ag₂CO₃ geschüttelt und durch ein mit Ag₂CO₃ gedichtetes Filter genutscht. Das Filtrat (es war frei von Cl-Ionen, aber noch deutlich sauer), wurde bei 0° kurz mit H₂S behandelt, mit wenig gut gewaschener Kohle versetzt und dann durch ein mit sehr wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Methanol aufgenommen und durch Filtrieren von wenig Flocken befreit. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und bei 0,02 Torr und 20° getrocknet. Der farblose Sirup (27 mg), $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -12,6^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,634$ in Wasser) wurde mit einer Spur abs. Äthanol verflüssigt und mit 2 cm³ frisch dest. Aceton versetzt. Die entstandene Fällung wurde abfiltriert und erneut aus einer Spur abs. Äthanol mit Aceton gefällt. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum eingedampft, der trockene Rückstand mit ca. 15 mg abs. Äthanol verflüssigt, mit ca. 0,1 cm³ Aceton versetzt und nach Impfen mit einer Spur krist. D-Gulomethylose gut verschlossen stengelassen. Es trat sehr rasch Kristallisation ein, die durch 12-stündiges Stehen und vorsichtigen Acetonzusatz möglichst vervollständig wurde. Die farblosen, mit Aceton gewaschenen Kristalle zeigten Smp. 123–125,5°. Sie wurden nochmals analog umkristallisiert. Ausbeute 8 mg. Smp. 123–126,5°; $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = -49,2^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (6 Min.) $\rightarrow -42,4^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (3 Std.) ($c = 0,550$ in Wasser).

5,50 mg Subst. zu 1,000 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{19} = -0,27^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ (6 Min.)
 $\rightarrow -0,233^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ (3 Std.).

Synthetische D-Gulomethylose schmolz bei 123–125,5°, die Mischprobe ebenso. Die Laufstrecken im Papierchromatogramm (h und i in Fig. 2) waren gleich.

p-Bromphenylhydrazon. Die vereinigten Mutterlaugen der krist. Gulomethylose wurden mit 12 mg frisch bei 0,01 Torr sublimiertem p-Bromphenylhydrazin in wenig abs. Alkohol 30 Min. auf 100° erhitzt. Der erhaltene Sirup gab aus einer Spur Äthanol mit Äther Kristalle, die gut mit Äther gewaschen wurden. Aus wenig Methanol zirka 2 mg farblose Nadeln, Smp. 130–134°. Authentisches D-Gulomethylose-p-bromphenylhydrazon schmolz bei 133–135°, die Mischprobe bei 130–133°.

Isolierung von D-Fucose (X) aus Desgluco-cheirosid A (VII).

150 mg Desgluco-cheirosid A (VII) wurden mit 4,5 cm³ „*Kilian*-Mischung“ 1 Std. auf 100° erhitzt. Das Glykosid löste sich dabei nach ca. einer Min., und wenig später begann die Abscheidung des krist. Anhydrogenins. Die Aufarbeitung geschah wie bei IX aus III und gab 42 mg rohen Zuckersirup, der wie dort gereinigt wurde. Aus Spur abs. Alkohol mit Aceton nach Impfen mit D-Fucose 8 mg Kristalle, Smp. 135–138°; $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +121^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (8 Min.) $\rightarrow +68,1^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (18 Std.) ($c = 0,446$ in Wasser).

4,46 mg Subst. zu 1,000 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{21} = +0,54^{\circ}$ (8 Min.)
 $+0,304^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$ (18 Std.).

Authentische D-Fucose sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Die Mischprobe mit möglichst genau gleicher Menge L-Fucose schmolz bei 147–153°. Eine analoge Mischprobe von authentischer L- und D-Fucose schmolz bei 149–155°. Nach *Votoček*²⁾ zeigt reine DL-Fucose den Smp. 161°. Der Zucker aus Cheirosid A und authentische D-Fucose zeigten im Papierchromatogramm (c und d in Fig. 2) genau gleiche Laufstrecken.

¹⁾ 35% Eisessig, 55% Wasser und 10% konz. HCl. *H. Kiliani*, B. **63**, 2866 (1930).

²⁾ *E. Votoček*, B. **37**, 3861 (1904).

Phenylhydrazon¹⁾. Die Mutterlauge der Zuckerkristalle wurden mit der Lösung von 30 mg Phenylhydrazin in 0,5 cm³ Wasser und einem Tröpfchen Eisessig vermischt, worauf bald farblose Kristalle ausfielen. Sie wurden abgenutscht und mit Wasser und Äther gewaschen. Umkristallisieren aus wenig Äthanol gab 7,7 mg farblose Kristalle, Smp. 164–166°; $[\alpha]_D^{21} = 0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,768$ in Methanol).

Authentisches D-Fucose-phenylhydrazon zeigte aus Wasser Smp. 167–169° und aus Äthanol Smp. 173–175°; $[\alpha]_D^{21} = 0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,888$ in Methanol). Die Mischprobe schmolz bei 163–166°, aber ohne Depression.

Kristallisation von D-Gulomethylose („Antiarose“) aus α -Antiarin:

Ein altes Präparat (270 mg) D-Gulomethylose aus α -Antiarin²⁾ hatte nach fünfjährigem Liegen bei Zimmertemperatur (im Dunkeln) einige Kristallkeime gebildet. Ein solcher wurde für Impfzwecke mechanisch herauspräpariert. Das übrige Material wurde mit 0,5 cm³ abs. Alkohol verflüssigt, dann mit 10 cm³ Aceton versetzt, die entstandene Fällung abfiltriert und erneut aus wenig abs. Alkohol mit Aceton gefällt. — Die vereinigten Lösungen wurden im Vakuum eingedampft und der Sirup bei 0,01 Torr und 30° getrocknet. Dann wurde mit sehr wenig abs. Alkohol verflüssigt, mit Aceton nicht ganz bis zur Trübung versetzt und mit einem Fragment des genannten Kristallkeims geimpft. Die Kristallisation setzte rasch ein. Es wurde gut verschlossen 24 Std. stehengelassen und allmählich mehr Aceton zugesetzt. Es wurden 120 mg Kristalle erhalten, Smp. 125–126,5°. Mischprobe mit synthetischem Material ebenso.

Synthetische D-Gulomethylose. 2,0 g D-Gulomethylonsäure-lacton³⁾ wurden nach früherer Vorschrift⁴⁾ reduziert und gaben 1,27 g D-Gulomethylose-p-bromphenylhydrazon vom Smp. 123–127°. Nach Umkristallisieren aus Methanol Smp. 133–135°. Ein Teil des reinen Derivats wurde mit Benzaldehyd gespalten. Der rohe trockene Zuckersirup wurde mit wenig abs. Äthanol verflüssigt, mit 10 cm³ Aceton versetzt und die geringe Fällung abfiltriert. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und bei 0,02 Torr und 30° gut getrocknet. Der Rückstand (315 mg) gab aus wenig abs. Äthanol mit Aceton nach Impfen wie oben rasch Kristalle. — Diese wurden nochmals analog umkristallisiert. In drei Fraktionen wurden insgesamt 230 mg Kristalle und 85 mg Mutterlauge erhalten. Die Hauptfraktion zeigte Smp. 124–126°. *Levene & Compton*³⁾ fanden für ihr Präparat Smp. 130–131°; $[\alpha]_D^{29} = -42,3^\circ \rightarrow -38,03^\circ$ (konstanter Endwert nach 30 Min. in Wasser).

Die Mikroanalysen wurden teils im Mikrolabor unseres Instituts (Leitung *E. Thommen* (OAB)), teils bei Herrn *A. Peisker*, Brugg (A.P.), ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die Isolierung von Cheirosid A (V) und Cheirotoxin (I) aus den Samen von *Cheiranthus Cheiri* L. wurde wiederholt. Durch papierchromatographische Kontrolle liessen sich ausser diesen zwei Glykosiden noch zwei weitere Stoffe (Subst. J und K) nachweisen, die mit *Raymond*-Reagens positiv reagierten, die aber bisher nicht kristallisiert werden konnten.

Der fermentative Abbau von Cheirosid A gelang mit der Glucosidase aus Samen von *Adenium multiflorum* Kl.; ausser D-Glucose wurde dabei das gut krist. Desgluco-cheirosid A (VII) erhalten, das

¹⁾ Dieses Derivat ist für Fucose recht charakteristisch, da nur wenige Zucker (z. B. Mannose) krist. Phenylhydrazone liefern, die in Wasser schwer löslich sind.

²⁾ *K. Doebel, E. Schlittler & T. Reichstein*, *Helv.* **31**, 688 (1948).

³⁾ *P. A. Levene & J. Compton*, *J. Biol. Chem.* **111**, 335 (1935).

⁴⁾ *H. Müller & T. Reichstein*, *Helv.* **21**, 251 (1938).

als krist. Triacetat charakterisiert wurde. Nach energischer saurer Hydrolyse von Desgluco-cheirosid A (VII) liess sich D-Fucose (X) in Kristallen fassen und als krist. Phenylhydrazon weiter charakterisieren. Die früher^{b)} für Cheirosid A vorgeschlagene Konstitution wird damit gesichert, lediglich der Bindungsort der Glucose bleibt unbestimmt.

Cheirotoxin (I) liess sich mit der Glucosidase aus den Samen von *Adenium multiflorum* glatt spalten. Energische saure Hydrolyse des bereits früher^{b)} beschriebenen Desgluco-cheirotoxins (III) lieferte einen Zucker, dessen Kristallisation gelang, und der sich als D-Gulomethylose (IX) erwies. Die frühere Annahme, dass es sich um D-Lyxose handelt, ist somit unrichtig. Für Cheirosid ergibt sich Formel I, in der lediglich wiederum der Bindungsort der Glucose unbestimmt ist.

„Cheirosid H“ ist mit Cheirosid A identisch; der Name ist somit aus der Literatur zu streichen. Das früher beschriebene „Cheirosid-H-acetat“ war die tiefschmelzende Form des Hexacetyl-cheirosid A.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

93. Über die Konstitution der Digalakturonsäure

von H. Altermatt und H. Deuel.

(8. III. 54.)

Aus enzymatisch gewonnenen Partialhydrolysaten von Pektinsäure (Polygalakturonsäure) konnten wiederholt Di-, Tri- und Tetragalakturonsäure in reiner Form isoliert werden¹⁾. Einzig Trigalakturonsäure ist bisher näher untersucht worden. Sie wurde mit Natriumborhydrid zu Trigalaktose reduziert und anschliessend methyliert. Nach saurer Hydrolyse konnten etwa zu gleichen Teilen die Bruchstücke 2,3,4,6-Tetra-, 2,3,6-Tri- und 2,6-Dimethylgalaktose identifiziert werden²⁾. — In der vorliegenden Arbeit wird die Konstitution der Digalakturonsäure studiert.

Digalakturonsäure wurde durch Behandlung mit Salzsäure-Methanol bei Raumtemperatur in den Methyl-digalakturonosido-dimethylester übergeführt, anschliessend achtmal mit Silberoxyd und Methyljodid methyliert und dreimal mit Diazomethan verestert. Der Pentamethyl-methyl-digalakturonosido-dimethylester konnte durch Hochvakuumdestillation abgetrennt werden. Nach Hydrolyse der methylierten Digalakturonsäure konnten mit Hilfe chromatographischer Trennung 2,3-Dimethylgalakturonsäure und 2,3,4-Trimethylgalakturonsäure im Verhältnis 0,9:1 isoliert werden. Danach liegt in der Diuronsäure der eine Galakturonsäurebaustein als Pyranose vor. Wegen der Säurestabilität der Di- (und auch der Poly-)galakturonsäure

¹⁾ Vgl. R. Derungs & H. Deuel, *Helv.* **37**, 657 (1954).

²⁾ J. K. N. Jones & W. W. Reid, *Chem. and Ind.* **1953**, 303.