

Zusammenfassung

Tanghiferin erwies sich als isomorphe Mischung (evtl. molekulare Verbindung) von ungefähr gleichen Teilen Tanghinin und eines weiteren Stoffes, der Neotanghiferin genannt wurde. Die Trennung gelang durch präparative Papierchromatographie. Neotanghiferin und Desacetyl-tanghiferin zeigten an der Katze und am Frosch keine digitalisartige Wirkung. Tanghiferigenin, das Aglykon des Neotanghiferins, enthält nur eine (wahrscheinlich sekundäre) HO-Gruppe und vermutlich eine hexacyclische Ketogruppe. Zwei weitere Sauerstoffatome dürften in einem Butenolidring enthalten sein, dessen Doppelbindung aber vermutlich keinen weiteren Substituenten trägt. Die bisherigen, allerdings nur vorläufigen Resultate sprechen dafür, dass Tanghiferigenin nicht das normale Cardenolid-Gerüst enthält.

Laboratoire de Chimie
du Muséum d'Histoire Naturelle, Paris,
Organisch-chemische Anstalt
der Universität Basel.

226. Die Glykoside der Samen von *Strophanthus Ledienii Stein*

2. Mitteilung¹⁾²⁾

Glykoside und Aglykone, 166. Mitteilung³⁾

von H. Lichti, Ch. Tamm und T. Reichstein.

(26. IX. 56.)

Vor einiger Zeit wurde über eine orientierende chemische Analyse der Samen von *Strophanthus Ledienii Stein* berichtet¹⁾, die aus der Gegend von Matadi (südwestl. Teil des Congo belge), dem *locus classicus* dieser seltenen Art stammten. Damals standen nur einzelne Samen zur Verfügung. Die daraus nach Fermentierung bereiteten Extrakte konnten daher nur papierchromatographisch untersucht werden. In dieser Weise konnte die Anwesenheit von Periplocymarin, Cymarin, Cymarol und Emicymarin als Hauptglykoside sehr wahrscheinlich gemacht werden. Im Papierchromatogramm war ferner ein weiterer, sehr langsam wandernder Fleck sichtbar, der nicht identifiziert werden konnte.

¹⁾ Erste Mitt.: H. Hess, P. Speiser, O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 1854 (1951).

²⁾ Auszug aus Dissertation H. Lichti, Basel (1956).

³⁾ 165. Mitteilung: W. Nagata, Ch. Tamm & T. Reichstein, Festschrift für Prof. A. Stoll, Basel (1957).

Inzwischen erhielten wir von Herrn *René Letouzey*, inspecteur principal des Eaux et Forêts d'Outre-Mer, Yaounda (Cameroun français), 265 g reife Samen von *S. Ledienii*, die er im September 1950 bei Kasenga in der Nähe von Elisabethville (Congo belge) gesammelt hat. Er sandte uns auch zugehörige Herbarproben mit Blüten. Diese wurden von Herrn Dr. *H. Hess* in Zürich sowie Herrn *J. Monachino* in New York geprüft. Beide Herren kamen nach genauem Vergleich mit authentischem Material zur Ansicht, dass es sich eindeutig um *S. Ledienii Stein* handelt. Das Verbreitungsgebiet dieser Art muss also doch erheblich grösser sein, als nach den bisher publizierten Funden vermutet werden könnte¹).

Wir berichten hier über die genaue Untersuchung dieser Samen auf präparativem Wege. Es wurde wie in anderen Fällen auf die Untersuchung der genuinen Polyglykoside verzichtet und den in den Samen enthaltenen Fermenten absichtlich Gelegenheit gegeben, die Monoglykoside daraus freizusetzen. Aus 150 g Samen wurden prinzipiell nach dem früher beschriebenen Verfahren⁴)⁵) die folgenden Mengen an Extrakten erhalten:

56,24 g (entspr. 37,5 %)	Petrolätherextrakt (fettes Öl, verworfen),
1,02 g (entspr. 0,68%)	gereinigter Ätherextrakt,
2,02 g (entspr. 1,35%)	Chloroformextrakt,
1,81 g (entspr. 1,21%)	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die wässrige Phase zeigte keinen bitteren Geschmack mehr, gab mit *Raymond*-Reagens keine Färbung und wurde verworfen.

Untersuchung des Ätherextrakts. In diesem Material liessen sich durch Papierchromatographie 6 digitaloide Lactone nachweisen. Drei davon zeigten Laufstrecken, die mit Periplocymarin, Cymarin und Emicymarin (dieser Fleck war sehr schwach) übereinstimmten. Die drei weiteren konnten nicht mit bekannten Stoffen identifiziert werden; sie werden als Glykoside A, C und D bezeichnet⁶).

Nach Chromatographie an Al_2O_3 konnten Periplocymarin, Cymarin, eine Spur Emicymarin sowie kleine Mengen der Glykoside A und C in Kristallen erhalten werden, die nach Papierchromatogramm einheitlich waren. Ein Teil der verbleibenden Gemische wurde durch Verteilungschromatographie getrennt (siehe unten).

Untersuchung des Chloroformextrakts. Dieser Extrakt gab im Papierchromatogramm 8 Flecke. Ihre Laufstrecken entsprechen den folgenden Substanzen: Cymarin, Cymarol, Emicymarin, Glykosid C, Glykosid D, sowie drei weiteren, möglicherweise neuen Stoffen, die wir zunächst als Substanz E, Glykosid F und Substanz G bezeichnen. Von diesen zeigte G im Papierchromatogramm (vgl. Tab. 3 und Fig. 2–5) dieselbe Laufstrecke wie Subst. A aus *Strophanthus*

⁴) *J. v. Eeuw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein*, Helv. **34**, 1821 (1951).

⁵) Kleinere Abweichungen siehe exper. Teil.

⁶) In einem Vorversuch wurde noch ein B-Fleck erhalten, der später nicht mehr beobachtet wurde. Möglicherweise handelte es sich um ein Artefakt.

mirabilis⁷⁾) und dürfte damit identisch sein. F entspricht dem schwachen fünften Fleck der ersten Mitteilung¹⁾.

Nach Chromatographie an Al_2O_3 liessen sich aus diesem Extrakt Cymarín, Cymarol, Emicymarín und Glykosid F in Kristallen isolieren, von denen die zwei letzteren auch nach Papierchromatographie einheitlich waren. Glykosid F ist ein neuer Stoff, der als Ledienosid bezeichnet werden soll. Unter den zahlreichen daneben erhaltenen Mischkristallisaten konnten auch solche gefasst werden, die nach Papierchromatographie nur D und E enthielten; doch gelang es bisher nicht, diese Stoffe rein zu isolieren.

Die Gemische aus Äther- und Chloroformextrakt, die vorwiegend Periplocymarín, Cymarín und Cymarol enthielten, wurden anschliessend durch Verteilungschromatographie getrennt, wobei diese drei Stoffe rein erhalten wurden. Papierchromatographisch liess sich ausserdem in einzelnen Fraktionen eine Spur einer rasch wandernden Komponente nachweisen, die als Subst. α bezeichnet wird.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts⁸⁾. Dieser Teil gab im Papierchromatogramm (Nr. 4 in Fig. 2-5) 5 Flecke, die mit V, W, X, Y und Z bezeichnet wurden. Von diesen zeigte V dieselbe Laufstrecke wie Ledienosid (F) und dürfte mit diesem identisch sein. Weiter wurde dieser Extrakt bisher nicht geprüft⁹⁾.

Insgesamt wurden aus dem Ae- und dem Chf-Extrakt aus 150 g Samen an kristallisierbaren Stoffen¹⁰⁾ erhalten: 160 mg (entspr. 0,107%) Periplocymarín, 128 mg (entspr. 0,085%) Cymarín, 126 mg (entspr. 0,084%) Cymarol, 500 mg (entspr. 0,334%) Emicymarín, 80 mg (entspr. 0,053%) Ledienosid (F), 20 mg (entspr. 0,013%) Glykosid A und 32 mg (entspr. 0,021%) Glykosid C. Von den vier nur in Papierchromatogrammen nachgewiesenen weiteren Stoffen waren darin schätzungsweise die folgenden Mengen enthalten: ca. 1 mg (entspr. 0,0005%) Subst. α , 115 mg (entspr. 0,077%) Glykosid D, 55 mg (entspr. 0,037%) Subst. E und ca. 5 mg (entspr. 0,003%) Subst. G.

In Übereinstimmung mit dem früheren Befund enthalten die Samen von *Strophanthus Ledienii* als Hauptglykoside somit die folgenden 4 Stoffe: Periplocymarín, Cymarín, Cymarol und Emicymarín. Dieselben vier Hauptglykoside wurden in *S. Eminii* und *S. mirabilis* gefunden. Nach *J. Monachino* steht *S. Ledienii* auch systematisch dem *S. Eminii* besonders nahe. – Die genannten 4 Hauptglykoside wurden durch Smp., Mischprobe, Drehung, Analyse, Farbreaktionen und Papierchromatogramme mit authentischem Material identifiziert.

⁷⁾ *E. Primo & Ch. Tamm*, Helv. **37**, 141 (1954).

⁸⁾ Abkürzungen siehe Einleitung zum exper. Teil.

⁹⁾ W zeigte im System Wasser: To-Bu-(1:1) ungefähr dieselbe Laufstrecke wie G; in den andern To-Bu-Systemen lief es aber deutlich langsamer als G.

¹⁰⁾ Menge teilweise geschätzt.

Die weiteren in amorpher aber annähernd reiner oder in krist. reiner Form isolierten Glykoside A, C, D und F (Ledienosid) zeigten die folgenden Eigenschaften (Verhalten im Papierchromatogramm und Farbreaktionen siehe Tab. 2, 3, 4 und Fig. 2–9):

Glykosid A. Aus Me-Ae kurze flache Nadeln, die zwischen 130⁰ und 200⁰ opak wurden, Smp. 206–209⁰, $[\alpha]_D^{23} = + 31,9^0 \pm 2^0$ (c = 1,075 in Me), *Keller-Kiliani*-Reaktion: positiv. Da bei einem Reinigungsversuch die Hauptmenge verloren ging, konnte keine Verbrennungsanalyse durchgeführt werden.

Glykosid C. Aus Me-Ae zugespitzte Nadeln, Smp. 145–156⁰ oder Doppel-Smp. 148–150⁰ / 205–210⁰, $[\alpha]_D^{26} = + 27,2^0 \pm 3^0$ (c = 0,68 in Chf)¹¹⁾, *Keller-Kiliani*-Reaktion: positiv. Wegen Materialmangel konnte keine Analyse und kein UV.-Spektrum ausgeführt werden. Hingegen wurde mit 1,5 mg eine milde hydrolytische Spaltung¹²⁾ durchgeführt. Der dabei erhaltene Genin-Anteil gab im Papierchromatogramm (Nr. 2 in Fig. 6 u. 8) einen starken Fleck mit einer Laufstrecke wie Periplogenin. Daneben war ein schwacher Fleck mit einer Laufstrecke wie Strophanthidin sichtbar. Der Zucker gab im Papierchromatogramm (Nr. 2 in Fig. 10 u. 11) nur einen Fleck, dessen Laufstrecke der Digitoxose entsprach. – Im verwendeten System zeigen von den 3 isomeren 2-Desoxy-hexamethylösen Boivinose und 2-Desoxy-L-rhamnose eine praktisch gleiche Laufstrecke, während 2-Desoxy-L-fucose merklich langsamer läuft. In Glykosiden sind Fucodesose und Rhamnodesose bisher nicht aufgefunden worden. Die Drehung von Glykosid C passt auch besser zur Annahme, dass ein β -D-Digitoxosid des Periplogenins vorliegt (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1.

Substanz	$[M]_D^{13}$
Periplogenin	Gef. + 114 ⁰ \pm 6 ⁰ (Chf) ¹⁴⁾
Drehungsbeitrag des β -D-Digitoxose-Anteils.	Gef. – 20 ⁰ \pm 17 ⁰ (Chf) ¹⁵⁾
Periplogenin- β -D-digitoxosid	Ber. + 94 ⁰ \pm 23 ⁰ (Chf)
Glykosid C	Gef. + 143 ⁰ \pm 16 ⁰ (Chf)

Der Drehungsbeitrag des β -D-Boivinose-Anteils im Corchorosid A¹⁶⁾ beträgt – 74⁰ \pm 19⁰ (in Me) bzw. – 82⁰ \pm 17⁰ (in Chf), während

¹¹⁾ Von diesem Präparat lagen nur ca. 7 mg vor; es war noch leicht gelblich gefärbt und nicht völlig rein, aber papierchromatographisch einheitlich.

¹²⁾ S. Rangaswami & T. Reichstein, Helv. **32**, 939 (1949).

¹³⁾ $[M]_D = [\alpha]_D \cdot M/100$; M = Molekulargewicht.

¹⁴⁾ Gef. $[\alpha]_D^{17} = + 29,1^0 \pm 1,5^0$ (c = 1,417 in Chf); Helv. **33**, 639 (1950).

¹⁵⁾ Ber. aus der Differenz der mol. Drehungen von Helveticosid (vgl. W. Nagata, Ch. Tamm & T. Reichstein, Festschr. für Prof. A. Stoll, Basel 1957) und Strophanthidin. Letztere wurde in Chf neu bestimmt²¹⁾.

¹⁶⁾ Vgl. spätere Mitt. W. Kreis, Ch. Tamm & T. Reichstein.

er im Strobosid¹⁷⁾ – $234^{\circ} \pm 18^{\circ}$ (in Me) betrug. Strobosid ist aber ein 5α -Steroid und daher für den direkten Vergleich weniger geeignet. Auf jeden Fall ist das Vorliegen der Boivinose daher unwahrscheinlich.

Glykosid D. Dieser Stoff wurde nur in amorpher Form erhalten oder als krist. Gemisch, das D und E enthielt. Impfen der amorphen, papierchromatographisch einheitlichen Präparate mit solchen Kristallen war bisher erfolglos. Das reinste amorphe Präparat gab im Papierchromatogramm (Nr. 1 in Fig. 2–3 u. Nr. 6 in Fig. 6–8) nur einen Fleck und zeigte $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = + 9,6^{\circ} \pm 5^{\circ}$ ($c = 0,396$ in Chf). Aus Materialmangel verzichteten wir auf eine Analyse und Aufnahme eines UV.-Spektrums. Mit 1,5 mg papierchromatographisch reinem D wurde zuerst eine milde hydrolytische Spaltung¹²⁾ versucht. Die papierchromatographische Untersuchung der Reaktionsprodukte ergab, dass D unter diesen Bedingungen praktisch nicht gespalten wurde. Der Chf-lösliche Anteil zeigte drei Flecke (Nr. 5 in Fig. 6–8), von denen der weitaus stärkste dem unveränderten Glykosid, der zweitstärkste Strophanthidin und ein schwacher Begleitfleck Periplogenin entsprach. Die Zuckertlösung gab im Papierchromatogramm zwei ganz schwache Flecke (Nr. 5 in Fig. 11), von denen der eine dieselbe Laufstrecke wie Sarmantose resp. Cymarose zeigte. Der zweite, langsamere Fleck besass einen Rf-Wert, der keinem der bisher in der Natur gefundenen 2-Desoxyzucker entsprach, wohl aber der Digitalose.

Mit ca. 0,07 mg D, der ganzen noch vorhandenen Menge, wurde die milde Hydrolyse wiederholt. Der Chf-lösliche Anteil wurde mit dem nach der papierchromatographischen Untersuchung noch vorhandenen analogen Material der ersten Hydrolyse (ca. 0,2 mg) vereinigt und gemeinsam einer *Kilian*-Spaltung¹⁸⁾ 19) 20) unterworfen. Bei der Papierchromatographie des Zucker-Anteils liess sich jetzt ein deutlicher Fleck feststellen, der gleich schnell lief wie D-Digitalose (Nr. 11 in Fig. 14), ausserdem ein kaum nachweisbarer Fleck, dessen Rf-Wert der Sarmantose, resp. Cymarose entsprach. Der Genin-Anteil aus der *Kilian*-Spaltung wurde nicht untersucht, da unter den Bedingungen dieser Reaktion fast alle bekannten Genine weitgehend anhydriert und teilweise weiter verändert werden.

Wir glauben daher, dass es sich bei Glykosid D um das β -D-Digitalosid des Strophanthidins gehandelt hat. Dies steht im Einklang mit der dafür berechneten molekularen Drehung (siehe Tab. 2).

Substanz E. Dieser Stoff wurde bisher nur papierchromatographisch nachgewiesen. Er wurde nicht rein erhalten.

Ledienosid (F). Kristallisierte aus Me-Ae in kleinen vierkantigen Nadeln, Smp. 169 – 175° , $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = + 5,2^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ ($c = 1,13$ in Me).

¹⁷⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **35**, 673 (1952).

¹⁸⁾ Ausführung nach A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 687 (1952).

¹⁹⁾ H. Kiliani, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 2866 (1930).

²⁰⁾ P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1740 (1951).

Tabelle 2.

Substanz	$[M]_D^{13}$
Strophanthidin	Gef. + 160° ± 6° (Chf) ²¹⁾
Drehungsbeitrag des β -D-Digitalose-Anteils .	Gef. – 57° ± 17° (Chf) ²²⁾
Strophanthidin- β -D-digitalosid	Ber. + 103° ± 23° (Chf)
Glykosid D	Gef. + 54° ± 28° (Chf)

Die *Keller-Kiliani*-Reaktion war negativ, die Zuckerprüfung positiv. Die Analyse passte auf die Formel $C_{29}H_{44}O_9$. Der Stoff war methoxylfrei. Er zeigte die in Fig. 1 wiedergegebene UV.-Absorption. Eine Probe (1,6 mg) wurde im Mikro-Masstab der Spaltung mit HCl in Aceton¹⁸⁾ unterworfen. Das dabei erhaltene rohe Genin gab im Papierchromatogramm (Nr. 3 in Fig. 6) drei Flecke. Der Hauptfleck zeigte die gleiche Laufstrecke wie Periplogenin. Der Zucker gab im Papierchromatogramm (Nr. 7 in Fig. 12 u. 13) nur einen Fleck, dessen Laufstrecke genau der Fucose entsprach. Da Fucose im benützten System merklich langsamer läuft als alle anderen normalen Aldohexamethylosen²³⁾, spricht dieses Resultat sehr stark dafür, dass Ledienosid ein Fucosid des Periplogenins darstellt. Nach der Regel von *Klyne*²⁴⁾ sollte es sich dann entweder um das α -L- oder das β -D-Fucosid handeln. Für diese zwei Stoffe lassen sich die in Tab. 3 angegebenen molekularen Drehungen berechnen.

Tabelle 3.
Molekulare Drehungen.

Substanz	$[M]_D^{13}$
Periplogenin	Gef. + 116° ± 8° (Me)
α -Methyl-L-fucosid	Gef. – 217° ± 3,5° (Alk) ²⁵⁾
β -Methyl-D-fucosid	Gef. – 25° ± 1° (Wasser) ²⁶⁾
Periplogenin- α -L-fucosid . . .	Ber. – 101° ± 11,5°
Periplogenin- β -D-fucosid . . .	Ber. + 91° ± 9°

Für Ledienosid wurde $[M]_D = + 28^\circ \pm 8^\circ$ (in Me) gefunden, was nur mit dem β -D-Fucosid verträglich wäre und auch befriedigend mit

²¹⁾ Gef. $[\alpha]_D^{25} = + 39,5^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,605$ in Chf), eigene Messung.

²²⁾ Ber. aus der Differenz der mol. Drehungen von Emicymarin (siehe folgende Mitt. über Strophanthus Vanderijstii) und Periplogenin¹⁴⁾.

²³⁾ *J. A. Moore, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. 37, 755 (1955)*, fanden in Bu-Py-W-(3:2:1,5) die folgenden Rf-Werte: D-Allomethylose = 0,50; D-Glucomethylose = 0,50; D-Gulomethylose = 0,52; L-Rhamnose = 0,51; D-Idomethylose = 0,61; D-Fucose = 0,44; D-Talomethylose = 0,58.

²⁴⁾ *W. Klyne, Biochem. J. 47, xli (1950)*.

²⁵⁾ *T. Tadakoro & Y. Nakamura, Chem. Zbl. 1924 I, 1507*, vgl. Ber. dtsh. chem. Ges. **60**, 1636 Anm. (1927).

²⁶⁾ *H. H. Schlubach & E. Wagenitz, Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 304 (1932)*.

dem dafür berechneten Wert übereinstimmt²⁷). Wir glauben daher, dass Ledenosid die Formel III besitzt. Es soll später versucht werden, dies zu beweisen. Nach Formel III würde es sich von Emicymarin lediglich durch das Fehlen der Methoxylgruppe an C-3 des Zuckeranteils unterscheiden. Dementsprechend zeigen beide Glykoside auch fast dieselbe Drehung. Herr Dr. *Chen*²⁸) hatte die Freundlichkeit, das Glykosid biologisch zu prüfen. Als geometrisches Mittel der letalen Dosis bei intravenöser Infusion an der Katze fand er an 10 Tieren den Wert $0,1410 \pm 0,0092$ mg/kg; der Stoff ist somit – wie erwartet – etwas stärker wirksam als Emicymarin, für das früher²⁹) $0,1517 \pm 0,0084$ mg/kg gefunden wurde.

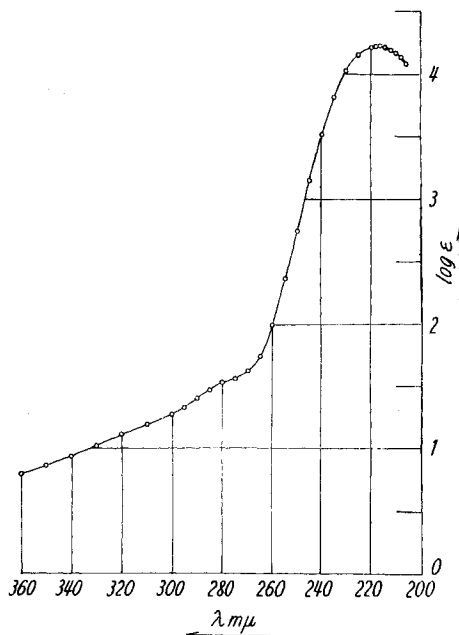


Fig. 1.

UV.-Absorptionsspektrum³⁰) von Ledenosid (Glykosid F) aus *Strophanthus Ledienii* Stein. In Alkohol Maximum bei 217 m μ , $\log \epsilon = 4,21$, ber. auf $C_{29}H_{44}O_9 + 3 H_2O$ (= 590,69).

²⁷) Im Desglucocheirosid ergab sich für den β -D-Fucose-Rest ein Drehungsbeitrag von $-119^\circ \pm 22^\circ$ (in Me), *J. A. Moore, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 755 (1954). Dieser Wert ist ebenfalls merklich stärker negativ als der für β -Methyl-D-fucosid gefundene.

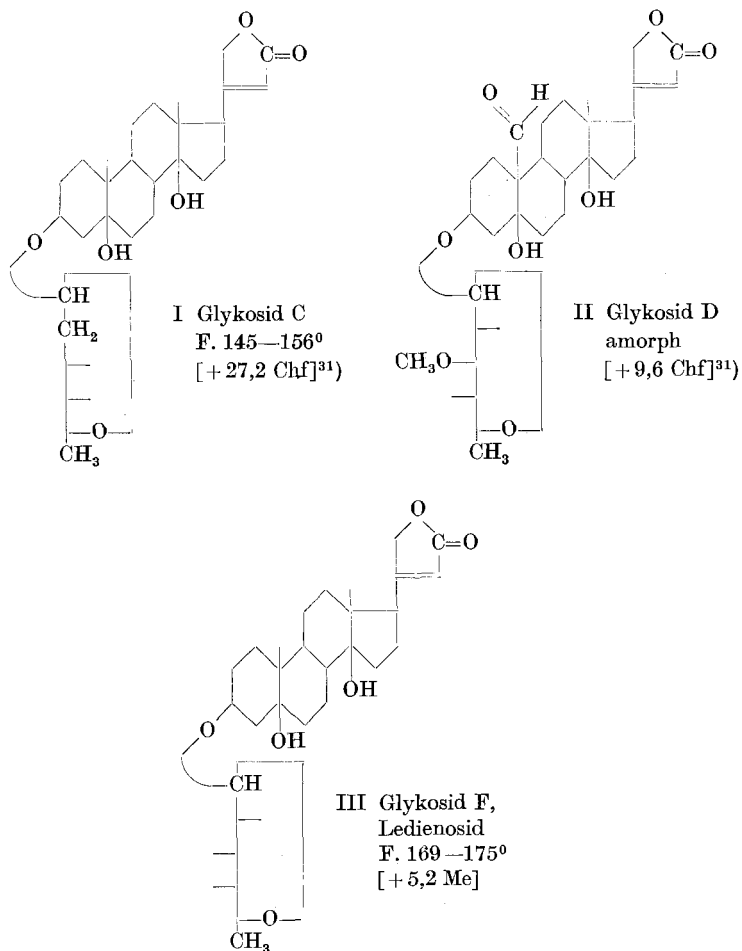
²⁸) Brief von Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis (USA), vom 2. Dez. 1955. Wir danken Herrn Dr. *Chen* auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate.

²⁹) *K. K. Chen, R. C. Anderson & E. B. Robbins*, *J. Amer. pharmac. Ass.* **26**, 214 (1937); *K. K. Chen*, *Ann. Rev. of Physiol.* **7**, 677 (1945).

³⁰) Aufgenommen von Herrn Dr. *P. Zoller* in einem Unicam SP 500 Spectrophotometer.

Glykosid G. Dieser Stoff wurde nur papierchromatographisch nachgewiesen. Auf Grund der Laufstrecken (vgl. Tab. 5 und Nr. 2 in Fig. 2–5) ist er identisch mit Subst. A aus *S. mirabilis*⁷⁾.

In Tab. 4 und 5 ist das papierchromatographische Verhalten der isolierten bzw. nachgewiesenen Stoffe zusammengestellt, in Tab. 6 die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄.



Vermutliche Formeln der drei Nebenglykoside C, D und Lediensid.
Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform, Me = Methanol.
Diese 3 Formeln sind nicht völlig gesichert.

³¹⁾ Nicht ganz rein erhalten.

Tabelle 4.

Relative Laufstrecken³²⁾ im Papierchromatogramm mit entsäuertem Formamid als ruhender Phase³³⁾).

Substanz	Bewegliche Phase			
	Be-Chf-(9:1)	Be-Chf-(7:5)	Be-Chf-(3:7)	Chf
	R _{Cym}	R _{Cyl}	R _{Cyl}	R _{Em}
Periplocyamarin . . .	4,05	5,5—6	—	—
Subst. α	2,4	—	—	ca. 3,2—4,0 keine Auf- trennung 1,75 1,39 1,0 0,71 0,53 0,28 0,17
Cymarol	1,0	1,63	1,34	
Glykosid A	—	1,36	1,15	
Cymarol	0,47	1,0	1,0	
Subst. B (?)	—	0,6	—	
Glykosid C	—	0,5	—	
Emicymarin	0,23	0,36	0,31	
Glykosid D	—	—	—	
Subst. E	—	—	—	
Glykosid F	—	—	—	
Subst. G	—	—	—	

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie³⁴⁾8).
Gestrichelte Linie = Front. Wo keine Front eingezeichnet ist, wurde das Lösungsmittel abtropfen gelassen.

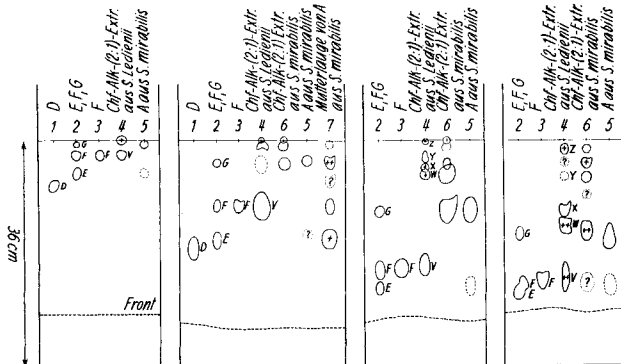


Fig. 2. Wasser: To-Bu-(9:1). 3 Std.
Fig. 3. Wasser: To-Bu-(4:1). 3 Std.
Fig. 4. Wasser: To-Bu-(2:1). 3,5 Std.
Fig. 5. Wasser: To-Bu-(1:1). 4 Std.

- 1 = 0,05 mg Glykosid D (amorph)
- 2 = 0,1 mg Gemisch der Glykoside E, F u. G
- 3 = 0,05 mg Ledenosid (= Glykosid F)
- 4 = 0,75 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus *S. Ledienii*
- 5 = 0,05 mg Subst. A aus *S. mirabilis*
- 6 = 0,75 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus *S. mirabilis*
- 7 = 0,1 mg Mutterlauge von Subst. A aus *S. mirabilis*

³²⁾ Es bedeuten: R_{Cym} = relative Laufstrecke in bezug auf Cymarol = 1, R_{Cyl} für Cymarol = 1, R_{Em} für Emicymarin = 1. Fehlergrenze 5—10%, dagegen können die Absolutwerte je nach Beladung des Papiers etc. stark variieren.

³³⁾ Ausführung nach O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951).

³⁴⁾ Ausführung nach E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 680 (1954).

Tabelle 5.

Rf-Werte³⁵⁾ der stark polaren Glykoside aus den Samen von *S. Ledienii* sowie Subst. A aus *S. mirabilis* mit Wasser als ruhender Phase³⁴⁾.

Substanz	Bewegliche Phase			
	To-Bu-(9:1)	To-Bu-(4:1)	To-Bu-(2:1)	To-Bu-(1:1)
Emicymarin	—	—	—	0,880
Glykosid D	0,265	0,606	—	—
Subst. E	0,193	0,545	0,824	ca. 0,83
Glykosid F = V	0,082	0,366	0,709	0,817
Subst. G	0,021	0,124	0,353	0,549
Subst. W	—	0,033	0,168	0,516
Subst. X	—	—	0,152	0,433
Subst. Y	—	—	0,085	0,221
Subst. Z	—	—	0,007	0,058
Subst. A aus <i>S. mirabilis</i> ⁷⁾				
Hauptfleck	0,020	0,123	0,34	0,552
Nebenfleck 1	0,185	0,535	ca. 0,78	ca. 0,83
Nebenfleck 2	—	0,362	—	—

Papierchromatographische Identifizierung der Genine aus C, D u. F⁸⁾³⁶⁾.

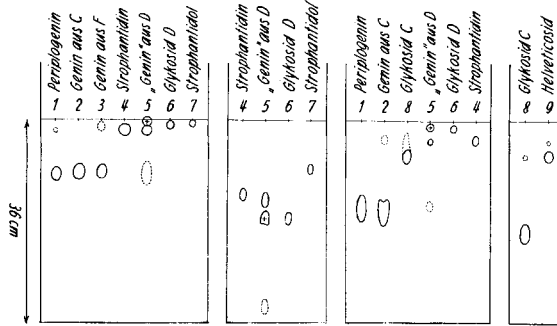


Fig. 6. Fmd (30% einmal): Be-Chf-(9:1); 16,5 Std.
 Fig. 7. Fmd (30% einmal): Chf; 14,5 Std.
 Fig. 8. Wasser: To-Bu-(9:1); 3 Std.
 Fig. 9. Wasser: To-Bu-(9:1); 3 Std.

- 1 = 0,03 mg Periplogenin
- 2 = ca. 0,075 mg Genin aus Glykosid C
- 3 = ca. 0,06 mg Genin aus Ledienosid
- 4 = 0,03 mg Strophanthidin
- 5 = ca. 0,075 mg Geninanteil aus Glykosid D nach milder Hydrolyse¹²⁾
- 6 = ca. 0,05 mg Glykosid D
- 7 = 0,03 mg Strophanthidol
- 8 = ca. 0,05 mg Glykosid C
- 9 = ca. 0,05 mg Helveticosid (= Strophanthidin-D-digitoxosid)

³⁵⁾ Mit Wasser als ruhender Phase waren die Rf-Werte relativ reproduzierbar, wenn das Papier vor dem Auftragen der Substanzen zweimal mit Wasser bespritzt (oder durchgezogen) und zwischen Filterpapier ausgepresst wurde.

³⁶⁾ Fmd (30% einmal) bedeutet, dass zum Tränken des Papiers eine 30-proz. Lsg. von entsäuertem Formamid in Aceton³⁷⁾ verwendet wurde.

³⁷⁾ *H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. 36, 357 (1953).*

Die Stoffe E und F dürften in kleiner Menge auch in den Samen von *Strophanthus mirabilis* vorkommen, denn die Mutterlauge von Subst. A aus *S. mirabilis* gab im Papierchromatogramm (vgl. Nr. 7 in Fig. 3) neben dem starken G-Fleck einen mittelstarken Fleck mit gleicher Laufstrecke wie E und einen schwachen Fleck, der F entsprach.

Ausserdem wurde auch der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus *S. mirabilis*⁷⁾ orientierend im Papierchromatogramm geprüft (Nr. 6 in Fig. 3–5). Danach enthielt dieser Extrakt auch die Stoffe W, Y und Z sowie noch einen weiteren kräftigen Fleck, der zwischen Y und Z liegt, und der bei *S. Ledienii* nicht beobachtet wurde. Dagegen fehlten im Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus *S. mirabilis* die Flecke V (= F) und X.

Papierchromatographische Identifizierung der Zucker aus C, D u. F.
Überall Bu-Py-W-(3:2:1,5)³⁸⁾.

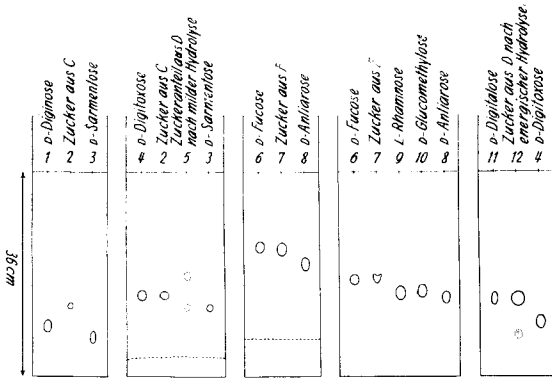


Fig. 10³⁹⁾ Fig. 11³⁹⁾ Fig. 12³⁹⁾ Fig. 13³⁹⁾ Fig. 14⁴³⁾
11 Std. 10 Std. 7,5 Std. 14,5 Std. 10,5 Std.

- 1 = 0,02 mg D-Diginose
- 2 = ca. 0,03 mg Zucker aus C
- 3 = ca. 0,025 mg D-Sarmentose
- 4 = 0,025 mg D-Digitoxose
- 5 = ca. 0,03 mg Zuckeranteil aus D nach milder Hydrolyse¹²⁾
- 6 = 0,015 mg D-Fucose
- 7 = ca. 0,02 mg Zucker aus F (Ledienosid)
- 8 = 0,02 mg D-Antiarose
- 9 = 0,02 mg L-Rhamnose
- 10 = 0,02 mg D-Glucomethylose
- 11 = ca. 0,02 mg Zucker aus D (nach energischer Hydrolyse)¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾
- 12 = 0,02 mg D-Digitalose

³⁸⁾ A. Jeanes, C. S. Wise & R. J. Dimler, Anal. Chemistry **23**, 415 (1951).

³⁹⁾ Entwickelt mit „Blautetrazolium“⁴⁰⁾⁴¹⁾⁴²⁾.

⁴⁰⁾ R. B. Burton, A. Zaffaroni & E. H. Keutmann, J. biol. Chemistry **188**, 763 (1951).

⁴¹⁾ W. J. Mader & R. R. Buck, Anal. Chemistry **24**, 666 (1952).

⁴²⁾ J. v. Euw, H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **37**, 1529, Fussnote 3 (1954).

⁴³⁾ Entwicklung mit Anilinphthalat, S. M. Partridge, Nature **164**, 443 (1949); F. Cramer, Papierchromatographie, II. Aufl., Weinheim 1953, S. 69.

Tabelle 6.
Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 .

	1 Minute	2-3 Minuten	5 Minuten	10-15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
Periplocyamarin .	braunrot	kirschrot	rotviolett Rand grau	rotviolett	violett	dunkel violett	grauviolett, dunkel
Cymarim	gelb	bräunlichgelb	ocker	gelbbraun	orangebraun Rand gelbbraun	grünlich braun	braun, Rand grün
Cymarol	hellgrün	schmutziges Hellbraun	graugrün Rand gelblich	bräunlich grau	bräunlich grau	graubraun	graubraun
Emicyamarin . . .	karmin	kirschrot	blauviolett mit Stich ins Graue	blau	dunkelblau	grünblau	grünblau
Glykosid A	rotviolett	blauviolett	graublau	graublau	grau	hellgrau, grünlich	hellgrau, grünlich
Glykosid C	rötlichgrau	rotviolett Rand blauviolett	rotviolett Rand blauviolett	grauviolett	grauviolett	blauviolett bis grüingrau	violettgrau
Glykosid D ^{38a)} .	orange	rotorange	rot bis braunorange	orangebraun	khaki, grünlich	oliv	granoliv
Glykosid F	rotviolett	violettgrau	blauviolett	graublau	graublau	blaugrau	violettgrau

^{38a)} Glykosid D enthielt ca. 25% Subst. E. Emicyamarin nach 1 Tag; gelb. Glykosid D nach 2 Tagen: dunkel graugrün.

Der eine von uns (*Ch. T.*) dankt dem *Schweiz. Nationalfonds* für ein Stipendium, das ihm die Beteiligung an dieser Arbeit ermöglichte. Ferner dankt einer von uns (*H. L.*) dem Research Grant Committee der *Eli Lilly Company*, Indianapolis, USA, für einen Beitrag, der ihm die Ausführung dieser Arbeit sehr erleichterte.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler-Block* bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 45 Min. bei 0,01 Torr und 60° getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 mit Einwaage im Schweinchen. — Ausführung der *Raymond-Reaktion*³³⁾, der *Keller-Kiliani-Reaktion*⁴⁴⁾, der Zuckerprüfung²⁰⁾, der Papierchromatographie der Glykoside und Genine³³⁾³⁷⁾³⁵⁾ (siehe auch besondere Bemerkung unten) und der Zucker³⁸⁾, der Adsorptionschromatographie⁴⁵⁾ an alkalifreiem Al_2O_3 ⁴⁶⁾, der Verteilungschromatographie³⁷⁾ und der Nachweisreaktion mit „Blautetrazolum“^{40) 41) 42)} oder mit Anilinphtalat⁴³⁾ nach früheren Angaben. Verhältniszahlen bedeuten, wenn nichts anderes erwähnt, immer Volumverhältnisse. Es gelten die folgenden Abkürzungen: Alk = Äthanol, An = Aceton, Ae = Äther, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = entsäuertes Formamid³³⁾, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

Bemerkung zur Chromatographie der Glykoside und Aglykone. Zum Entwickeln wurde die *Raymond-Reaktion* verwendet. Um eine Bräunung des Papiers beim Besprühen mit NaOH-Lsg. zu vermeiden, wurde bei den Fmd-Systemen wie folgt verfahren: nach Beendigung des Chromatogramms wurde das Papier nicht im Ofen getrocknet, sondern nur etwa 10 Min. an der Luft bei ca. 20° hingengelassen. Das noch formamidfeuchte Papier wurde durch eine 5-proz. Lösung von m-Dinitrobenzol in Benzol gezogen, durch Hängen an der Luft (10 Min. bei 20°) von Benzol befreit und anschließend mit NaOH-Lsg. besprüht. Für Chromatogramme mit Wasser als ruhender Phase wird nach wie vor gründliches Trocknen im Ofen empfohlen. Eine Bräunung wurde in diesem Falle nie beobachtet.

Extraktion der Samen (ausgeführt am 25. April 1953). Die hellbraunen, dicht behaarten Samen zeigten die folgenden durchschnittlichen Masse: Länge 14,0 mm, Breite 3,3 mm, Dicke 1,9 mm, Gewicht 28,0 mg. 150 g Samen wurden nach früherer Vorschrift⁴⁾ extrahiert und gaben die im theoret. Teil genannten Ausbeuten. Zur Vermeidung von Emulsionen wurden hier alle alkoholischen Lösungen vor dem Ausschütteln mit Äther oder Chloroform im Vakuum bis zum Sirup eingeeengt. Der „gereinigte“ Ätherextrakt wurde durch Verteilung des rohen Ätherextrakts zwischen 80-proz. Methanol und Petroläther bereitet. Die nach Ausschütteln mit Chf-Alk-(2:1) erhaltene wässrige Phase war nicht mehr bitter, gab mit *Raymond-Reagens* keine Färbung und wurde verworfen.

Trennung des Ätherextrakts. Die 1,02 g gereinigter Ätherextrakt wurden an 30 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 100 cm³ der in Tab. 7 genannten Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—10 gaben nur *Raymond-negatives Material* (nicht untersucht).

Die Fraktionen 11—14 gaben aus Me-Ae 143,5 mg rohes Periplocymarin vom Doppel-Smp. 133—144°/204—206°. Nach Umkristallisieren daraus 130 mg nahezu reines Material, Smp. wie oben. Kristalle und Mutterlaugen wurden vereinigt; sie dienen zur Verteilung 1 (siehe unten).

Die Fraktionen 15—16 enthielten nach Papierchromatogramm ein Gemisch aus Cymarin und wenig Periplocymarin (Trennung siehe unten). Sie dienen zur Verteilung 1.

Fraktion 17 gab aus Me-Ae 97,9 mg rohes Cymarin, Smp. 137,5—144°. Diese Kristalle wurden zusammen mit den Kristallen aus Fr. 6 des Chf-Extr. (siehe unten) um-

⁴⁴⁾ *J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **31**, 883 (1948).

⁴⁵⁾ *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, *Disc. Farad. Soc.* **7**, 305 (1949).

⁴⁶⁾ Bereitet nach *J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein*, *Helv. Nr. 27*, 1292, Fussnote 2 (1944), aber reaktiviert bei 180—190°.

Tabelle 7.
Chromatographie von 1,02 g Ae-Extr.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Rohe Kristalle aus Me-Ae		
			Menge in mg	Smp.	Resultat der Papierchromatographie
1—3	Be	328,9	—	gelbes Öl	nicht untersucht <i>Raymond</i> -Reaktion negativ
4—10	Be-Chf-(7:3)			gelbes Öl	
11—14	Be-Chf-(1:1)	184,2	143,5	133—144°	Periplocymarin
15—16	Be-Chf-(1:4)	11,3	7,5	135—145°	Gemisch
17	Chf	134,1	97,9	132—144°	Cymarin
18—19	Chf	53,5	23,9	191—207°	A
20—21	Chf	7,3	—	amorph	
22	Chf-Me-(99:1)	4,0	—	amorph	
23	Chf-Me-(98:2)	10,3	1,1	154—159°	Emicymarin + C
24—25	Chf-Me-(98:2)	4,4	—	amorph	
26—27	Chf-Me-(96:4)	12,3	7,4	145—156°	C
28	Chf-Me-(92:8)	7,1	4,7	149—159°	C + D
29	Chf-Me-(92:8)	3,0	—	amorph	
30—31	Chf-Me-(85:15)	9,0	—	amorph	
32	Chf-Me-(70:30)				
33	Me				

kristallisiert. Es resultierten 89,9 mg annähernd reines Cymarin, Smp. 137—140°. Die Kristalle dienten zur Verteilung 2, die Mutterlaugen zur Verteilung 1.

Fr. 18—19 gaben aus Me-Ae 23,9 mg rohes Glykosid A, Smp. 191—207,5°. Umkristallisieren aus Me-Ae gab 18,9 mg farblose, zugespitzte, flache Nadeln, Smp. 206—209°, $[\alpha]_D^{23} = +31,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,075$ in Me). Kristalle und Mutterlaugen wurden zur Verteilung 1 verwendet, doch liess sich Glykosid A dabei nicht wieder isolieren.

Fr. 20—22 gaben keine Kristalle, sie dienten zur Verteilung 1.

Fr. 23 lieferte aus Me-Ae 1,1 mg rohes Emicymarin, Smp. 154—159°. Der amorphe Mutterlaugenrückstand (9,2 mg) enthielt nach Papierchromatogramm vorwiegend Glykosid C (nicht weiter untersucht).

Die Fraktionen 24—25 kristallisierten bisher nicht und wurden nicht weiter untersucht.

Die Fr. 26—27 gaben aus Me-Ae 7,4 mg rohes Glykosid C in farblosen Nadeln vom Smp. 145—156°, das nach Papierchromatogramm einheitlich war.

Fr. 28 gab aus Me-Ae 4,7 mg rohe Kristalle, vierkantige verwachsene Stäbchen, Smp. 149—159°, die nach Papierchromatographie ein Gemisch von viel C mit wenig D enthielten. Umkristallisieren gab zu Drusen verwachsene Nadeln vom Doppel-Smp. 149—154°/220—222°, wobei einzelne Nadeln erst bei 258—265° schmolzen. Im Papierchromatogramm war jetzt nur C + D nachweisbar.

Die Fraktionen 29—33 waren amorph und wurden nicht weiter untersucht.

Trennung des Chf-Extrakts. Die 2,0 g Chf-Extrakt wurden an 60 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 200 cm³ der in Tab. 8 genannten Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—5 gaben nur *Raymond*-negatives Material (nicht untersucht).

Tabelle 8.
Chromatographie von 2,0 g Chf.-Extrakt.

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand			
		Menge in mg		Smp.	Resultat der Papierchromatographie
		Menge in mg	Rohe Kristalle aus Me-Ae		
1—3	Be-Chf.(9:1) . . .	144,9	—	—	<i>Raymond</i> -Reaktion: negativ, nicht untersucht Cymarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Cymarol + Spur Emicyamarin Cymarin + Emicyamarin Cymarol + Emicyamarin Cymarol + Emicyamarin Emicyamarin Emicyamarin Emicyamarin Emicyamarin krist. Anteile nur D + E amorphe Anteile: C + D + E + F + Spur Emicyamarin + Spur G F + wenig G
4—5	Be-Chf.(8:2) . . .	23,5	15,0	134—136°	
6	Be-Chf.(6:4) . . .	73,3	49,8	131—155°	
7—10	Be-Chf.(6:4) . . .	7,7	4,6	197—201°	
11	Be-Chf.(6:4) . . .	15,7	5,9	204—215°	
12—13	Be-Chf.(6:4) . . .	33,0	15,8	124—133°	
14	Be-Chf.(3:7) . . .	91,0	49,7	138—152°/189—219°	
15—16	Be-Chf.(3:7) . . .	100,1	31,9	196—226°	
17—22	Be-Chf.(3:7) . . .	8,9	2,8	220—226°	
23	Be-Chf.(3:7) . . .	126,4	38,7	231—239°	
24—25	Chf	49,9	41,6	156—165°	
26	Chf	414,6	377,2	155—162°	
27—37	Chf	218,3	190,4	151—162°	
38—43	Chf-Me.(99:1) . . .	18,2	10,2	154—162°	
44	Chf-Me.(98:2) . . .	17,7	6,7	134—160°	
45	Chf-Me.(98:2) . . .	wenig	amorph ver-		
46	Chf-Me.(98:2) . . .	Krist.	schiedene Smp.		
47—51	Chf-Me.(96:4) . . .	247,8	nur aus		
52—53	Chf-Me.(96:4) . . .		Wasser		
54—56	Chf-Me.(92:8) . . .				
57—58	Chf-Me.(85:15) . . .				
59—61	Chf-Me.(70:30) . . .	115,4	64,4	168—178°	
62	Chf-Me.(40:60) . . .			amorph	
63	Chf-Me.(40:60) . . .	6,5	—	amorph	
64	Me	7,8	—		

Fr. 6 gab aus Me-Ae 15,0 mg rohes Cymarin, Smp. 134–136°. Sie wurde zusammen mit Fr. 17 aus Ae-Extr. umkristallisiert (siehe oben). Kristalle und Mutterlaugen dienten zur Verteilung 2.

Die Fraktionen 7–22 enthielten nach Papierchromatographie vorwiegend Cymarin und Cymarol sowie eine Spur Emicymarin. Sie dienten zur Verteilung 2.

Die Fraktionen 23–26 waren nach Papierchromatographie Gemische von Cymarol mit Emicymarin. Die Fraktionen 24–25 gaben aus Methanol-Äther 26,1 mg Kristalle, Smp. 235–240°, die aber ebenfalls ein analoges Gemisch darstellten.

Fr. 23 sowie die Mutterlauge der Fr. 24–26 dienten zur Verteilungschromatographie 2.

Die Fraktionen 27–44 gaben aus Me-Ae 584,5 mg rohes Emicymarin und daraus 336,7 mg analysenreine Kristalle, Smp. 156–159°, nach Papierchromatographie einheitlich. Die Mutterlauge wurde nicht untersucht.

Fr. 45 wurde nicht untersucht.

Die Fr. 46–56 kristallisierten weder aus Me-Ae noch aus An-Ae; hingegen lieferte Fr. 49 aus wenig Wasser nach längerem Stehen Kristalle. Nach Impfen damit liessen sich auch die Fr. 47, 49, 50, 51, 52 und 54 kristallisieren. Dabei wurden erhalten:

aus Fr. 47 ca. 5 mg grobe Kristalle, die bei ca. 60° opak wurden und bei 135–148° schmolzen. Bei weiterem Erhitzen bei ca. 260° Blasenbildung, aber keine Rekrystallisation;

aus Fr. 49 1,8 mg unregelmässige Kristalle, teilw. Nadeln, Smp. 153–159°, teilw. erstarrend bei ca. 210° und erneuter Smp. bei ca. 235°. Nach Papierchromatographie ein Gemisch von D + E;

aus Fr. 50 8,5 mg feine Nadeln, Smp. 154–160°, bei ca. 180–200° wieder erstarrend und zweiter Smp. bei ca. 265°. Nach Papierchromatographie ein Gemisch von D + E;

aus Fr. 51 ca. 1 mg und aus Fr. 52 nur Spur Kristalle (nicht untersucht);

aus Fr. 54 ca. 1,5 mg feine, gerade abgeschnittene Nadeln, Smp. 152–154°. Nach Papierchromatographie ebenfalls Gemisch von D + E.

Die Fr. 46–56 wurden nicht weiter untersucht.

Die Fr. 57–62 gaben aus Me-Ae 64,4 mg rohes Ledienosid (Glykosid F), Smp. 168–178°. Umkristallisieren lieferte 58 mg reines Material, Smp. 169–175°.

Die Fraktionen 63–64 waren amorph und wurden nicht untersucht.

Erstes Verteilungschromatogramm. Hiefür dienten sämtliche aus dem Ae-Extrakt stammenden Gemische, die zur Hauptsache Periplocyamarin und Cymarin enthielten, nämlich die Fr. 11–16 und 18–22 von Tab. 7 (Kristalle und Mutterlaugen) sowie die Mutterl. von Fr. 17 (total 283 mg). Sie wurden an einer Säule Nr. 1³⁷), die mit 150 g Kieselgur-Wasser-(1:1)⁴⁷) beschickt war, getrennt. Es wurden Fraktionen von ca. 9,5 cm³ genommen. Durchlaufgeschwindigkeit 3,5 cm³ pro Std. Als Eluiermittel dienten Benzol (für Fr. 1–28), Be-Chf-(1:1) (für Fr. 29–38) und reines Chf (für Fr. 39–41).

Die Fr. 1–10 gaben 92,7 mg amorphes Material. *Raymond*-Reaktion: negativ. Nicht untersucht.

Die Fr. 11 gab 4,0 mg farbloses Harz, *Raymond*-Reaktion: positiv. Sie gab keine Kristalle und wurde nicht untersucht.

Die Fr. 12–16 (125,1 mg) gaben aus Me-Ae 93,8 mg rohes Periplocyamarin und daraus 81,7 mg analysenreines Material vom Doppel-Smp. 126–139,5°/198–200°. Die Mutterlaugen wurden mit den Kristallen aus den Fr. 11 u. 12 (19,4 mg) der zweiten Verteilung vereinigt. Es liessen sich daraus noch 26,4 mg Periplocyamarin kristallisieren.

Die Fr. 17–19 (52,6 mg) gaben aus Me-Ae 32,0 mg Kristallgemisch, das nach Papierchromatogramm vorwiegend Periplocyamarin, daneben aber noch Cymarin, Glykosid A und Cymarol enthielt. Es wurde nicht weiter getrennt.

Die Fraktionen 20–25 (42,4 mg) bestanden nach Papierchromatogramm aus einem Gemisch von Periplocyamarin, Cymarin, Glykosid A und Cymarol. Sie gaben aus Me-Ae 23,9 mg Kristalle, die vorwiegend aus Cymarol und etwas Cymarin bestanden. Sie wurden nicht weiter getrennt.

⁴⁷) Hier handelt es sich ausnahmsweise um ein Gewichtsverhältnis.

Die Fr. 26—41 (91,1 mg) waren amorph. Sie enthielten nach Papierchromatogramm Cymarın, wenig Glykosid A, Cymarol, Glykosid C und Emieymarın. Sie wurden nicht weiter untersucht.

Zweites Verteilungschromatogramm. Hiefür dienten alle Gemische (Kristallise u. Mutterlaugen), die vorwiegend Cymarın u. Cymarol enthielten, nämlich die Kristalle aus Fr. 17 von Tab. 7, die Fr. 6—23 und die Mutterlaugen der Fr. 24—26 von Tab. 8 (zusammen 445 mg) sowie analoge Fraktionen (334,9 mg) eines Al_2O_3 -Chromatogramms des Chf-Extrakts aus einem Vorversuch mit 80 g Samen. Dieses Material (723 mg) wurde an einer Säule Nr. 2³⁷), die mit 360 g Kieselgur-Wasser-(1:1)⁴⁷) beschiekt war, chromatographiert. Zuerst wurden Fraktionen von durchschnittlich 35 cm³ genommen, von Fr. 30 an solche zu ca. 53 cm³ und von Fr. 91 an zu ca. 98 cm³. Durchlaufgeschwindigkeit ca. 15 cm³ pro Std.

Die Fraktionen 1—9 (10,4 mg, eluiert mit Be) waren amorph. *Raymond*-Reaktion: negativ. Nicht untersucht.

Fr. 10 (8,7 mg gelbliches Material, eluiert mit Be) zeigte positive *Raymond*-Reaktion, kristallisierte aber nicht. Sie wurde nicht untersucht.

Die Fr. 11—12 (48,5 mg gelbes Material, eluiert mit Be) enthielten nach Papierchromatogramm Periplocymarın und wenig Subst. α . Sie gaben aus Me-Ae 19,4 mg krist. Periplocymarın. Es wurde mit dem Material aus Mutterlaugen von Fr. 12—16 der ersten Verteilung vereinigt (siehe oben).

Die Fr. 13—15 (106,7 mg, eluiert mit Be) enthielten nach Papierchromatogramm: Periplocymarın, wenig Subst. α , Cymarın und eine Spur Glykosid A. Sie gaben aus Me-Ae 67,5 mg Kristallgemisch, das nicht weiter getrennt wurde.

Die Fr. 16—23 (213,0 mg, eluiert mit Be) enthielten nach Papierchromatogramm nur Cymarın. Sie gaben aus Me-Ae 157,2 mg rohes und nach Umkristallisieren 132 mg analysenreines Cymarın, Smp. 125—131⁰; aus den Mutterlaugen noch 33,8 mg Kristalle.

Die Fr. 24—32 (28,0 mg, eluiert mit Be) enthielten nach Papierchromatogramm Cymarın, Glykosid A, Cymarol, Subst. B⁴⁸) und langsamer wandernde Stoffe. Sie gaben aus Me-Ae zusammen 18,0 mg Kristalle (Gemisch), Smp. teilw. 147⁰ — ca. 160⁰ mit teilweiser Rekristallisation bei 170⁰, Smp. der Hauptmenge bei ca. 182—200⁰. Sie wurden nicht weiter untersucht.

Die Fr. 33—47 (125 mg, eluiert mit Be-Chf-(9:1)) gaben aus Me-Ae 78,5 mg rohes Cymarol mit Smp. zwischen 200 u. 220⁰. Umkristallisieren gab 71,0 mg Kristalle, Smp. 200—218⁰, die nach Papierchromatographie reines Cymarol darstellten.

Die Fr. 48—53 (19,9 mg, eluiert mit Be-Chf-(9:1)) enthielten nach Papierchromatographie Cymarol. Sie wurden mit den Mutterlaugen der Fr. 34—47 vereinigt und gaben noch 26,4 mg rohes krist. Cymarol.

Die Fr. 54—63 (17,1 mg, eluiert mit Be-Chf-Gemischen von 10—50% Chf-Gehalt) kristallisierten nicht. Sie enthielten nach Papierchromatogramm Cymarol, Subst. B, Glykosid C und Emieymarın.

Die Fr. 64—72 (34,5 mg, eluiert mit Be-Chf-Gemischen von 50—95% Chf-Gehalt) kristallisierten nicht. Sie enthielten nach Papierchromatogramm Emieymarın sowie kleine Mengen D und E.

Die Fr. 73—97 (195,6 mg, eluiert mit Chf-Bu-Gemischen von 0—100% Bu-Gehalt) waren amorph. Sie enthielten nach Papierchromatogramm Emieymarın, D, E, F und G.

Die Fr. 98—100 (5,1 mg, eluiert mit reinem Bu) waren amorph. *Raymond*-Reaktion: negativ. Sie wurden nicht untersucht.

⁴⁸) Subst. B stammte wahrscheinlich aus dem Chf-Extrakt des Vorversuchs, von dem analoge Fraktionen gemeinsam mit den Gemischen aus dem Chf-Extrakt des Hauptversuchs zur Verteilungschromatographie gelangten; vgl. ⁶).

Identifizierung bzw. Beschreibung der isolierten Stoffe.

Periplocyamarin aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae feine farblose Nadeln, Doppel-Smp. 126—139,5°/198—207°, $[\alpha]_D^{24} = + 32,6^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,964$ in Chf).

$C_{30}H_{46}O_8$	Ber. C 67,39	H 8,67	—OCH ₃ 5,80%
(534,67) (OAB)	Gef. „ 67,30	„ 8,78	„ 6,43%

Authentisches Vergleichsmaterial und die Mischprobe schmolzen gleich. Farbreaktionen vgl. Tab. 6. Nach Papierchromatogramm einheitlich.

Cymarın aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 125—131°, $[\alpha]_D^{24} = + 40,0^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,989$ in Chf).

$C_{30}H_{44}O_9$	Ber. C 65,67	H 8,08	—OCH ₃ 5,66%
(548,65) (OAB)	Gef. „ 65,82	„ 8,14	„ 6,38%

Authentisches Vergleichsmaterial und die Mischprobe schmolzen gleich. Farbreaktionen vgl. Tab. 6. Nach Papierchromatogramm einheitlich.

Cymarol aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae oder aus An-Ae kurze, beidseitig zugespitzte Stäbchen, meist zu Drusen verwachsen, Smp. ca. 200—225°, $[\alpha]_D^{25} = + 36,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,438$ in Chf), $[\alpha]_D^{26} = + 30,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,364$ in Me).

$C_{30}H_{46}O_9$	Ber. C 65,43	H 8,42	—OCH ₃ 5,64%
(550,67) (OAB)	Gef. „ 65,31	„ 8,62	„ 5,57%

Authentisches Material und die Mischprobe schmolzen gleich. Farbreaktionen vgl. Tab. 6. Nach Papierchromatographie einheitlich.

Emicyamarin aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae farblose Tafeln, Smp. 159—162°, aus Me Nadeln, Smp. 159—162°, aus Wasser feine verfilzte Nadeln, Doppel-Smp. 155—160°/206—210°, $[\alpha]_D^{22} = + 13,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,240$ in Me).

$C_{30}H_{46}O_9$	Ber. C 65,43	H 8,42	—OCH ₃ 5,64%
(550,67) (OAB)	Gef. „ 65,14	„ 8,50	„ 5,68%

Authentisches Material und die Mischprobe schmolzen gleich. Farbreaktionen vgl. Tab. 6. Nach Papierchromatographie einheitlich.

Di-O-acetyl-emicyamarin. 30 mg Emicyamarin aus *S. Ledienii* vom Smp. 159—162° in 0,3 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung gab 41,3 mg Rohprodukt. Aus Me-Ae 28,2 mg sechseckige Tafeln, Smp. 278—279°. Aus An-Ae 25,9 mg Kristalle vom gleichen Smp. $[\alpha]_D^{25} = + 27,5^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,074$ in Chf). Authentisches Material und die Mischprobe schmolzen gleich.

Glykosid A aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae farblose, kurze flache Nadeln, Smp. 206—209° (werden von ca. 130° an opak), $[\alpha]_D^{23} = + 31,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,075$ in Me). *Keller-Kiliani*-Reaktion: positiv (himmelblau, nach einigen Min. violett). Farbreaktionen und Papierchromatogramm vgl. Tab. 2 und 4.

Glykosid C aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae farblose, beidseitig zugespitzte Nadeln, Doppel-Smp. 148—150°/205—210°, $[\alpha]_D^{26} = + 27,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,678$ in Chf). *Keller-Kiliani*-Reaktion: positiv (braunviolett, wird dunkel). Papierchromatogramm und Farbreaktionen vgl. Tab. 4 und 6.

Hydrolyse im Mikromaßstab: 1,5 mg Glykosid C vom Smp. 148—150°/205—210° in 0,08 cm³ Me u. 0,08 cm³ 0,1-n. H₂SO₄ wurden 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Aufarbeitung nach früherer Vorschrift¹²⁾ gab ca. 1,3 mg rohes Genin. Die wässrige Phase wurde im Vakuum auf ca. 0,3 cm³ eingengt. Von dieser Lösung wurden ca. 0,02 cm³ direkt auf das Papier getropft. Über das Resultat der Papierchromatographie orientieren Nr. 2 in Fig. 6 u. 8 und Nr. 2 in Fig. 10 u. 11.

Glykosid F (= Ledienosid) aus *Strophanthus Ledienii*. Aus Me-Ae farblose, vierkantige, leicht abgeflachte, gerade oder schief abgeschnittene Nadeln, Smp. 169—175°, $[\alpha]_D^{23} = + 5,2^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,131$ in Me). Der Stoff war methoxylfrei (OAB).

$C_{29}H_{44}O_9$ (536,64)	Ber. C 64,90	H 8,27%	Gef. C 64,53	H 8,49%	(OAB).
----------------------------	--------------	---------	--------------	---------	--------

Die Mischprobe mit Subst. A aus *Strophanthus mirabilis* schmolz bei 165—170°. UV.-Absorptionsspektrum siehe Fig. 1, Papierchromatogr. und Farbreaktionen vgl. Tab. 4, 5 und 6.

Hydrolyse im Mikromaßstab: 1,6 mg Ledenosid vom Smp. 169—175° wurden in 0,4 cm³ „Mannich-Reagens“⁴⁹⁾ 26 Tage bei 0° stehengelassen, anschliessend mit 0,4 cm³ Wasser versetzt, im Vakuum auf 0,4 cm³ eingeeengt, mit 0,4 cm³ Me versetzt, 30 Min. unter Rückfluss gekocht und durch Einengen im Vakuum auf etwa 0,3 cm³ von Me befreit. Übliche Aufarbeitung¹⁸⁾ gab 0,8 mg Genin als farbloses Harz. Die Wasserphase wurde im Vakuum auf etwa 0,3 cm³ eingeeengt; von dieser Lösung wurden etwa 0,015 cm³ direkt auf das Papier getropft. Das Ergebnis der Papierchromatographie ist aus Fig. 6 (Nr. 3) und Fig. 12 u. 13 (Nr. 7) ersichtlich.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor (Leitung *E. Thommen*) unseres Instituts ausgeführt.

Zusammenfassung.

Aus den Samen von *Strophanthus Ledienii Stein* liessen sich nach Fermentierung die vier folgenden Hauptglykoside isolieren: Periplocyamarin, Cymarin, Cymarol und Emicyamarin. Dieselben vier Hauptglykoside enthält auch *S. Eminii*, der mit *S. Ledienii* botanisch besonders nahe verwandt ist. Ausserdem konnten aus den Samen in kleineren Mengen drei weitere Stoffe in Kristallen erhalten werden, die als Glykoside A und C und Ledenosid (= Glykosid F) bezeichnet werden. Glykosid A wurde nicht aufgeklärt. Glykosid C ist sehr wahrscheinlich ein β -D-Digitoxosid des Periplogenins und Ledenosid ein β -D-Fucosid desselben Aglykons; Glykosid A und C unterscheiden sich somit von Periplocyamarin bzw. Emicyamarin nur durch das Fehlen einer Methylgruppe am Sauerstoffatom von C-3 des Zuckeranteils. Schliesslich konnten durch Papierchromatographie noch acht weitere *Raymond*-positive Stoffe nachgewiesen werden. Sie wurden als Glykosid D und Subst. α , E, G, W, X, Y und Z bezeichnet, konnten aber bisher nicht in Kristallen isoliert werden. Von diesen Stoffen stellt Glykosid D höchst wahrscheinlich ein β -D-Digitalosid des *Strophanthidins* dar, während Subst. G mit Subst. A aus *S. mirabilis*⁷⁾ identisch sein dürfte.

Organisch-chemische Anstalt
der Universität Basel.

⁴⁹⁾ „Mannich-Reagens“ = Lösung von 0,1 cm³ konz. HCl in 10 cm³ Aceton¹⁸⁾