

Al₂O₃ chromatographiert wurde. Keine der Fraktionen kristallisierte bisher. Eine einzige zeigte im Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck, dessen Laufstrecke Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid entsprach. Doch konnte keine Kristallisation erreicht werden.

Untersuchung der Fraktionen 23–26 der Verteilungschromatographie von Konzentrat W. 23 mg der vereinigten Fraktionen 23–26 (vgl. Publikation *E. Schenker et al.*¹⁾, Seite 1031) wurden wie oben beschrieben acetyliert. Die übliche Aufarbeitung gab 32 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm mehrere Flecke zeigte. Weitere Versuche wurden deshalb nicht unternommen.

Zusammenfassung.

Die Isolierung von Strophanthidin- β -D-glucosid als krist. Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid aus *Periploca nigrescens Afzel* wird beschrieben.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

39. Die Glykoside von *Glossostelma spathulatum* (*K. Schum.*) *Bullock*¹⁾

Glykoside und Aglykone, 172. Mitteilung²⁾

von *R. Mauli*, *Ch. Tamm* und *T. Reichstein*.

(12. I. 57.)

Am 22. Sept. 1952 brachte uns Herr PD. Dr. *H. Hess* zwei Flaschen mit den in Alkohol eingelegten ganzen Pflanzen (Zweige, Wurzeln und Blätter) einer afrikanischen Asclepiadacee, die er im Mai in Angola gesammelt hatte, und die ihm durch ihren stark bitteren Geschmack aufgefallen war. Er stellte uns auch ein zugehöriges, sehr schön gepresstes Herbarmuster (vgl. Tafel) zur Verfügung. Wegen Mangel an Vergleichsmaterial war ihm eine sichere Bestimmung nicht möglich. Diese wurde in zuvorkommender Weise im Herbarium der Royal Botanical Gardens Kew ausgeführt. Am 12. März 1953 schrieb uns Herr *E. Milne-Redhead*:

„The Asclepiadacee is what my colleague, Mr. *A. A. Bullock* now calls *Glossostelma spathulatum* (*K. Schum.*) *Bullock*. It used to be known as *Xysmalobium spathulatum* (*K. Schum.*) *N. E. Br.* Mr. *Bullock* has given the synonymy of the species in the Kew Bulletin 1952, page 414³⁾.,

Angaben über chemische Untersuchungen oder über eine besondere Verwendung dieser Pflanze konnten wir nicht finden. Wir be-

¹⁾ Auszug aus Diss. *R. Mauli*, Basel 1957.

²⁾ 171. Mitteilung: *R. Mauli & Ch. Tamm*, *Helv.* **40**, 299 (1957).

³⁾ Wir danken Herrn P.D. Dr. *H. Hess* auch hier bestens für das schöne Material sowie die zugehörigen Angaben und den Herren *E. W. B. H. Milne-Redhead* und *A. A. Bullock* für die Bestimmung.

schreiben im folgenden eine chemische Untersuchung. Da nur relativ wenig Material zur Verfügung stand, hat diese nur orientierenden Charakter.

Extraktion und Isolierung der rohen Glykoside. Der Inhalt jeder der 2 Flaschen wurde separat aufgearbeitet (im folgenden als 1. und 2. Portion bezeichnet). Eine Vorprobe zeigte, dass keine Alkaloide, aber vermutlich digitaloide Lactone anwesend waren. Es wurde nach der früher gegebenen Vorschrift⁴⁾, jedoch ohne Fermentierung extrahiert. Über die erhaltenen Ausbeuten orientiert Tab. 1.

Tabelle 1⁵⁾.

Ausbeuten an Rohextrakten und ungefähre biologische Wirksamkeit.

Ursprüngliches Gewicht des frischen Pflanzenmaterials ⁶⁾	Menge in g		Biologische Wirksamkeit ⁷⁾		Flecke im Papierchromatogramm ⁸⁾
	1. Portion ca. 450 ⁶⁾	2. Portion ca. 200 ⁶⁾	Isoliertes Froschherz bezogen auf Oubain = 1	Letale Dosis im <i>Hatcher</i> -Test in mg/kg Katze ⁸⁾	
Extrakte					
Pe-Extrakte	1,86	0,40	—	—	Kedde: negativ
Ae-Extrakt I	0,39	0,33	0,1	—	A, B, C, D, E
Chf-Extrakt I	0,37	0,124	0,333	2,14	D, E
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ia	0,91	0,274	0,333	0,51	E, F, G, H
Chf-Alk-(3:2)-Extrakt .	0,50	0,124	—	—	G, H, I, K
Unlöslicher Pflanzenrückstand, trocken . .	122	50	—	—	—

Ae-, Chf- und Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia wurden orientierend am isolierten Froschherz, die zwei letzteren auch im *Hatcher*-Test an der Katze biologisch geprüft⁷⁾. Dabei zeigten alle drei Extrakte deutliche digitalisartige Wirkung, die bei den zwei letztgenannten relativ stark war (Tab. 1).

Die Prüfung der Extrakte in Papierchromatogrammen (vgl. Fig. 1–5) gab zunächst 10 Flecke (A–K). Nach präparativer Vortren-

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

⁵⁾ Bedeutung der Abkürzungen vgl. Einleitung zum Exp. Teil.

⁶⁾ Das ursprüngliche Gewicht des frischen Pflanzenmaterials kann nicht genau angegeben werden, wir schätzen es auf 600–700 g. Aus dem erhaltenen Trockenrückstand ist ferner zu schliessen, dass Flasche 1 ca. 2,5mal mehr enthielt als Flasche 2. Letztere enthielt aber keine Wurzeln.

⁷⁾ Wir danken der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel, auch hier bestens für die Ausführung dieser Prüfungen.

⁸⁾ Es handelt sich um eine orientierende Prüfung, die nur an einem Tier ausgeführt werden konnte. Die Geschwindigkeit der intravenösen Infusion betrug 1 cm³/Min.

⁹⁾ Entwickelt mit *Kedde*-Reagens, vgl. Fig. 1–5.

nung liessen sich die Flecke E und F in je zwei Flecke (E 1 und E 2 sowie F 1 und F 2) auflösen, so dass insgesamt 12 Kedde-positive Stoffe nachweisbar waren¹⁰).

Untersuchung des Petrolätherextrakts. Dieser lieferte nach zweijährigem Stehen ca. 490 mg Kristalle, Smp. 211–227°. Sie gaben mit *Kedde*-Reagens keine Färbung und wurden nicht weiter untersucht.

Untersuchung der Ae-Extrakte I. Beide Portionen wurden einzeln an Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich die folgenden Kristallisate isolieren liessen: A 1 (ca. 1 mg, Smp. 248–272°)¹¹, A (10 mg, Smp. ca. 244–266°), Mischkristallisat von A + B + C (Spur, Smp. 218–232°), C (2 mg, Smp. 220–232°) und D (9 mg, Doppel-Smp. 140–145°/230–240°). Ferner wurde E frei von den anderen, hier aber nur in amorpher Form abgetrennt.

Beispiele für die Kontrolle im Papierchromatogramm.

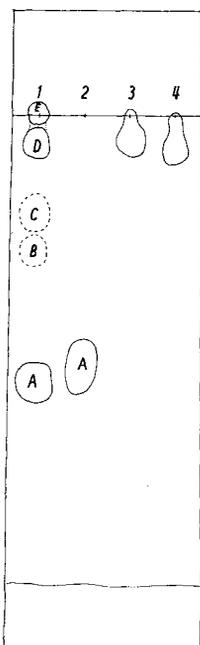


Fig. 1.
Be-Chf-(3:7):
Fmd-An-(1:3);
22°, 2 Std.



Fig. 2.
Be-Chf-(7:5):
Fmd-An-(1:3)
22°, 5 Std.

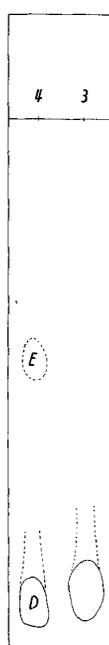


Fig. 3.
To-Bu-(4:1):W
22°, 5 Std.

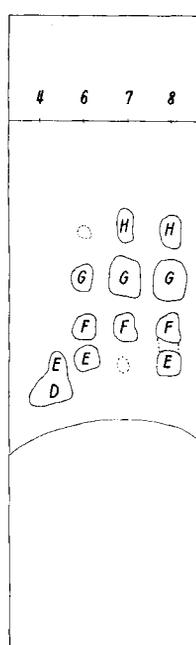


Fig. 4.
To-Bu-(1:9):W
22°, 6,5 Std.

¹⁰ Die zwei in Chf-Alk-(3:2) nur schwach sichtbaren Flecke I und K konnten nach weiteren Trennungsoperationen allerdings nicht mehr beobachtet werden. Möglicherweise ist im Ae-Extrakt dagegen noch eine Substanz (A 1) enthalten, die im Papierchromatogramm noch etwas rascher läuft als A.

¹¹ A 1 scheint im Papierchromatogramm (vgl. Nr. 31 in Fig. 17) etwas rascher zu wandern als A. Die Differenzierung ist aber unsicher.

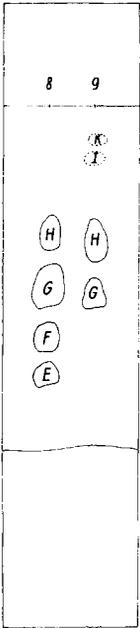


Fig. 5.

To-Bu-(1:9):W
22°, 8 Std.

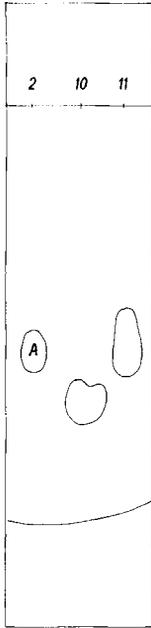


Fig. 6.

Be-Chf-(3:7):Fmd-An-(1:3)
22°, 2 Std.

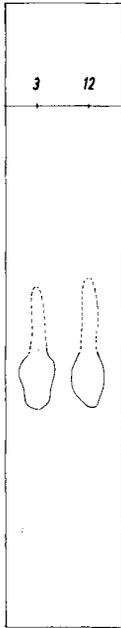


Fig. 7.

Chf:Fmd
22°, 6 Std.

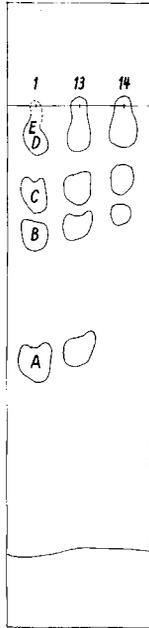


Fig. 8.

Be-Chf-(3:7):Fmd-An-(1:3)
22°, 2 Std.

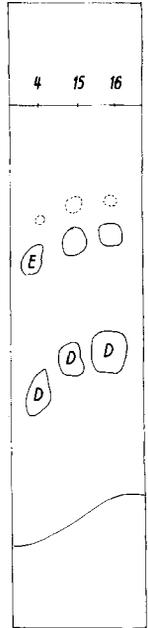


Fig. 9.

To-Bu-(4:1):W
22°, 4,5 Std.

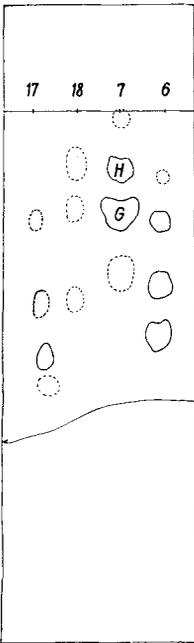


Fig. 10.

To-Bu-(1:4):W
22°, 6 Std.

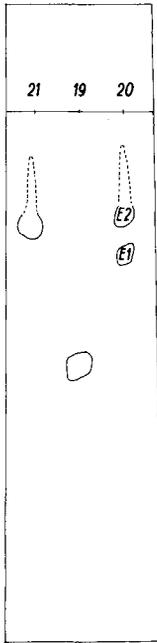


Fig. 11.

To-Bu-(4:1):W
22°, 5 Std.

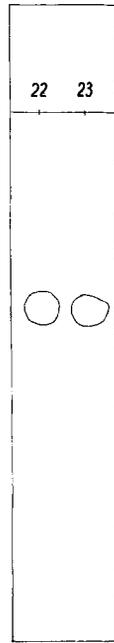


Fig. 12.

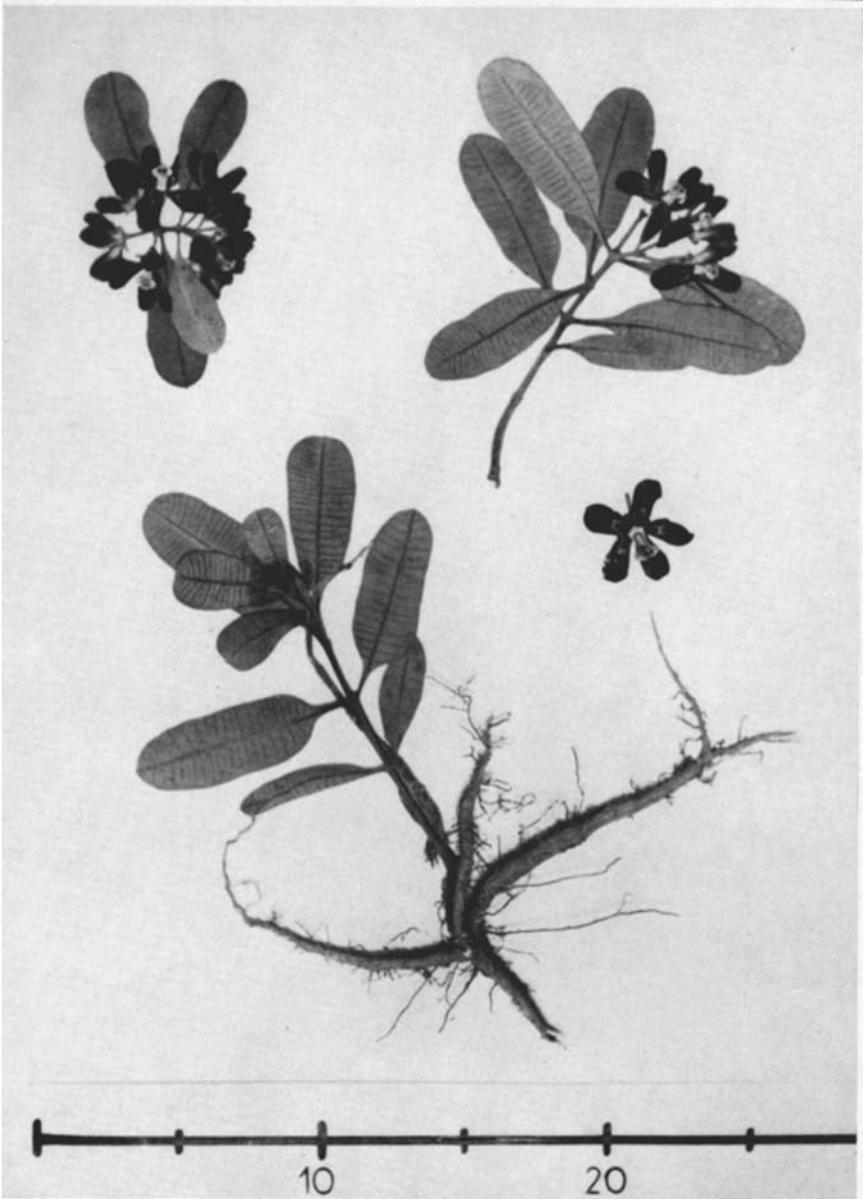
Be-Chf-(9:1):Fmd
22°, 43,5 Std.



Fig. 13.

To-Bu-(1:1):W
22°, 5 Std.

Tafel I.



Glossostelma spathulatum (K. Schum.) Bullock (Photo Dr. L. Jenny, Basel).
Herbarmuster H. Hess, Nr. 51/341. Lichter Buschwald an der Strasse von Chicuma nach
Calaquembe; Boden sandig, ca. 1610 m, 18. 12. 1951.

Untersuchung der Chf-Extrakte I. Auch hier wurden beide Präparate an Al_2O_3 chromatographiert. Beide gaben insgesamt 51 mg krist. D (Doppel-Smp. $140-141^{\circ}/230-240^{\circ}$) sowie ein amorphes E-Konzentrat.

Untersuchung der Chf-Alk-(2:1)-Extrakte Ia. Die zwei Portionen wurden verschieden behandelt. Die 870 mg aus erster Portion wurden zunächst zwischen Wasser und Chf-Alk-(9:1)-Gemisch verteilt und gaben:

315 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr. I (gab im Papierchromatogramm (Fig. 4) die Flecke E-G);

536 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ib (aus wässriger Phase, gab im Papierchromatogramm (Fig. 4) die Flecke F-H).

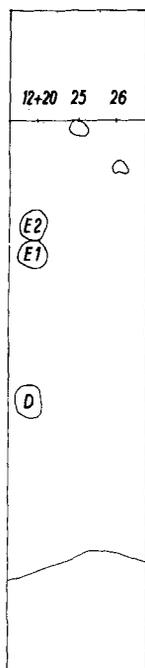


Fig. 14.
To-Bu-(4:1):W
22°, 3 Std.



Fig. 15.
To-Bu-(1:1):W
22°, 5,5 Std.

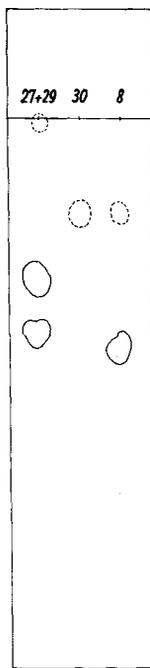


Fig. 16.
To-Bu-(1:1):W
22°, 33 Std.

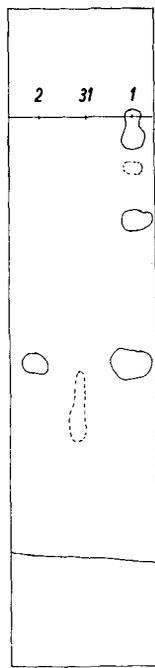


Fig. 17.
Be-Chf-(5:7):
Fmd-An-(1:3)
22°, 2 Std.

- 1 = 0,30 mg Ae-Extrakt I
- 2 = 0,05—0,10 mg Genin A, krist.
- 3 = 0,10 mg Strophanthidin, authentisch
- 4 = 0,20—0,40 mg Chf-Extrakt I
- 5 = 0,03 mg Genin C, krist.
- 6 = 0,30 mg Chf-Alk-(9:1)-Extrakt I
- 7 = 0,30 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ib
- 8 = 0,30—0,40 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ia
- 9 = 0,40 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt I
- 10 = 0,10 mg Digitoxigenin

- 11 = 0,10 mg Uzarigenin
 12 = 0,10 mg Strophanthidin (D) aus *Glossostelma spathulatum*
 13 = 0,20 mg Ae-Extrakt II
 14 = 0,20 mg Ae-Extrakt III
 15 = 0,20 mg Chf-Extrakt II
 16 = 0,20 mg Chf-Extrakt III
 17 = ca. 0,1 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt II
 18 = ca. 0,1 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt III
 19 = 0,05 mg Strophanthidol
 20 = 0,10 mg Mischkristallisat E1 + E2 aus dem Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ia
 21 = 0,10 mg Genin E2, krist.
 22 = 0,05 mg Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid, teilsynthetisch¹²⁾
 23 = 0,05 mg Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid aus *Glossostelma spathulatum*
 24 = 0,05 mg Uzarin
 25 = 0,10 mg Subst. E. Sche. 17 aus *Periploca nigrescens*¹³⁾
 26 = 0,10 mg Nigerscigenin aus *Periploca nigrescens*¹³⁾
 27 = 0,05 mg Strophanthidin- β -D-glucosid, teilsynthetisch¹²⁾
 28 = 0,20 mg amorphes Glykosid-G-Konzentrat
 29 = 0,05 mg Strophanthidol- β -D-glucosid¹²⁾
 30 = 0,40 mg amorphes Glykosid-H-Konzentrat
 31 = 0,05 mg Genin A1, krist.

Jeder Teil wurde mit Taka-Amylase behandelt, wobei weitgehender Abbau stattfand¹⁴⁾. Die fraktionierte Ausschüttelung lieferte hierauf die in Tab. 2 genannten 6 Extrakte. Von diesen müssen die Ae-Extr. II und III sowie die Chf-Extr. II und III vorwiegend Stoffe (Genine?) enthalten haben, die bei dem fermentativen Abbau durch

Tabelle 2.

Enzymatischer Abbau des Chf-Alk-(9:1)-Extrakt I und des Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ib mit Taka-Amylase.

Extrakte	Menge in mg %		Flecke im Papierchromatogramm ¹⁵⁾
Chf-Alk-(9:1)-Extrakt I . . .	315	100	E, F, G (H)
Ae-Extrakt II	28	8,9	A, B, C, D
Chf-Extrakt II	21	6,8	D, E
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt II . .	214	68,0	E, F, G
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ib . .	536	100	(E), F, G, H
Ae-Extrakt III	53	9,9	B, C, D
Chf-Extrakt III.	62	11,6	D, E
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt III . .	248	46,2	E, F, G, H

¹²⁾ R. Mauli, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **40**, 284 (1957).

¹³⁾ E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 1004 (1954).

¹⁴⁾ Auf die Isolierung der dabei vermutlich abgespaltenen D-Glucose wurde verzichtet.

¹⁵⁾ Vgl. Fig. 8—10.

Verlust von D-Glucose aus stärker wasserlöslichen Glykosiden entstanden sind. Im Papierchromatogramm wurden darin dieselben oben genannten 5 Stoffe (A–E) nachgewiesen, die auch in den ursprünglichen Ae- und Chf-Extr. enthalten waren. Diese vier Extrakte wurden hierauf vereinigt und an Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich 48 mg krist. D (= Strophanthidin, siehe unten) isolieren liessen. Andere Kristalle wurden dabei nicht erhalten. Dieses Resultat sprach stark dafür, dass im ursprünglichen Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia Strophanthidin- β -D-glucosid enthalten sein müsse. Ein direkter Vergleich zeigte auch, dass Fleck G der Papierchromatogramme genau diesem Glucosid entsprach (vgl. Nr. 27 und 28 Fig. 15), das auch in *Periploca nigrescens* vorkommt¹³⁾¹⁶⁾. Um es zu isolieren, wurden die noch vorhandenen 265 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia von Portion 2 ohne weitere Vorbehandlung einer Verteilungschromatographie¹⁷⁾ unterworfen¹⁸⁾. Kristalle wurden dabei nicht erhalten, obgleich die Trennung befriedigend verlief (vgl. Tab. 7 im Exp. Teil). Die relativ leicht eluierbaren Anteile, welche im Papierchromatogramm nur den E Fleck gaben, wurden an Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich 12 mg eines Mischkristallisats von E 1 + E 2 (Smp. 266–275°) sowie 9 mg reines krist. E 2 (Smp. 274–286°) isolieren liessen. F wurde bei der Verteilung nur in Gemischen eluiert. Hingegen wurde eine Reihe von Fraktionen gewonnen, die nur G und andere die nur H enthielten. Die ersteren (38 mg) wurden acetyliert, worauf sich nach Chromatographie an Al_2O_3 5 mg krist. Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid isolieren liessen (Identifizierung vgl. unten).

Untersuchung der Chf-Alk-(3:2)-Extrakte. Dieses Material gab im Papierchromatogramm die 4 Flecke G, H, I und K, wobei die zwei letztgenannten sehr schwach waren. Beide Portionen wurden vereinigt (610 mg) und ebenfalls einer Verteilungschromatographie unterworfen. Neben etwas Gemischen liessen sich G und H in amorpher aber papierchromatographisch reiner Form abtrennen¹⁹⁾. Die G-Fraktionen wurden acetyliert, worauf sich nach Chromatographie an Al_2O_3 weitere 8 mg krist. Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid isolieren liessen.

Auch die H-Fraktionen wurden acetyliert; es gelang aber nicht, aus dem Acetylierungsprodukt Kristalle zu isolieren.

¹⁶⁾ R. Mauli & Ch. Tamm, *Helv.* **40**, 299 (1957).

¹⁷⁾ Ausgeführt nach H. Hegedüs, *Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **36**, 357 (1953).

¹⁸⁾ Dieses Material hatte im Papierchromatogramm (vgl. Nr. 8 in Fig. 4, 5 und 13) die vier Flecke E, F, G und H gegeben, wobei E und F in Wirklichkeit Doppelflecken waren; es enthielt demnach vermutlich 6 digitaloide Lactone. (Nr. 8 stammte zwar aus 1. Portion, der entsprechende Extrakt aus 2. Portion hatte aber genau dieselben Flecken gegeben).

¹⁹⁾ I und K wurden dabei nicht mehr aufgefunden. Möglicherweise wurden sie mit Bu nicht eluiert.

In Tab. 3 sind die Ausbeuten an krist. Stoffen²⁰⁾ sowie die geschätzten wirklich vorhandenen Mengen zusammengestellt, in Tab. 4 die relativen Laufstrecken in 7 verschiedenen Systemen, in Tab. 5 die bisher bestimmten Eigenschaften der 6 in Kristallen isolierten Präparate und in Tab. 6 Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄.

Tabelle 3.

Ausbeuten an krist. Stoffen sowie Schätzung der wirklich vorhandenen Menge aller 11 Substanzen.

Stoff	Isolierte Kristalle in mg ²⁰⁾	Schätzung der wirklich vorhandenen Menge in mg	Identifizierung sowie Bemerkungen
A 1	1	2	Eventuell identisch mit A
A	10	20	Genin, evtl. Uzaringenin (?)
B	—	2	—
C	2	4	—
D	60	80	Strophanthidin
E 1	—	15	—
E 2	30	50	Vermutlich Genin
F 1	—	?	—
F 2	—	?	—
G	—	120	Strophanthidin- β -D-glucosid
Acetyl-G	25	—	Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid
H	—	80	Eventuell Glucosid von E 2

Tabelle 5.

Eigenschaften der 6 isolierten Kristallisate.
? bedeutet: nicht festgestellt.

Stoff	Smp.	$[\alpha]_D$	Vermutliche Formel	Resultat der Prüfung auf Zucker
A 1	248—272 ^o	?	?	?
A	244—266 ^o	+ 3,4 ^o \pm 4 ^o (Me)	C ₂₃ H ₃₄ O ₄ (?)	
C	220—229 ^o	?	?	?
D	136—140 ^o /230—240 ^o	+ 43,4 ^o \pm 2 ^o (Me)	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	—
E 2	286—290 ^o	?	?	—
Acetyl-G	158—170 ^o /246—252 ^o	+ 12,6 ^o \pm 3 ^o (Chf)	C ₃₇ H ₅₀ O ₁₅	+

Die isolierten Stoffe.

Genin A1. Die Differenzierung dieses Stoffes von A ist unsicher. Auf jeden Fall dürfte er zuckerfrei sein.

²⁰⁾ Berechnet auf den Inhalt beider Flaschen (entspr. ca. 650 g frischen Pflanzen), auch dann, wenn nur eine Portion zur Isolierung verwendet wurde.

Tabelle 4.

Relative Laufstrecken ²¹⁾ in 7 verschiedenen Systemen. Die als Bezugspunkt verwendete Substanz ist mit dem Wert 1,00 eingesetzt.

	Stationäre Phase							Fmd-An-(1:3)						
	Be-Chf -(7:5)	Be-Chf -(1:1)	Be-Chf -(5:7)	Be-Chf -(3:7)	To-Bu -(4:1)	To-Bu -(1:1)	To-Bu -(1:4)	Be-Chf -(7:5)	Be-Chf -(1:1)	Be-Chf -(5:7)	Be-Chf -(3:7)	To-Bu -(4:1)	To-Bu -(1:1)	To-Bu -(1:4)
A 1			16,06	1,29										
A	12,60	7,13	12,50	1,00	6,10	1,00								
B	4,17	4,40			3,54	0,58								
C	3,00	3,44	2,14	0,17	2,64	0,43								
D = Strophanthidin	1,00	1,00	1,00	0,09	1,00	0,16	1,00	1,27	1,00	0,48	0,57	1,00	4,82	
E 1														
E (nicht aufgetrennt)		Start			Start		Start	0,37	0,42			0,51	2,44	1,48
E 2								0,08				0,37	1,36	1,27
F (nicht aufgetrennt)								Start				0,21	1,00	1,00
G = Strophanthidin-β-D-Glucosid												0,07	0,33	0,72
H														0,29
J														0,17
K														
Digitoxigenin								1,22			1,21			
Uzarin	12,93							1,03			0,97			
HPU 23 ²²⁾	2,88										0,39			
Periplogenin														
3-O-Acetyl-periplogenin														
Strophanthidol												0,79	1,00	
Nigrescigenin												0,16		
E. Sche. 12 ¹³⁾														
E. Sche. 16 ¹³⁾														
E. Sche. 17 ¹³⁾														
Strophanthidol-β-D-glucosid												0,03	0,14	0,66
Uzarin													0,41	1,36

²¹⁾ Bezogen auf den Stoff, dessen Laufstrecke willkürlich mit 1,00 bezeichnet ist. Nicht alle Werte werden durch direkten Vergleich mit der Bezugssubstanz bestimmt. Viele werden durch Vergleich mit einem andern Stoff berechnet. Die Fehlergrenze ver Doppelt sich dabei mindestens. Die hier gegebenen relativen Laufstrecken sind daher nicht als sicher reproduzierbare Werte anzusehen. Sie sollen lediglich die Erkennung der betr. Stoffe erleichtern.

²²⁾ Genin aus *Pachycarpus Schinzianus*; siehe spätere Mitteilung von H. P. Uehlinger, Ch. Tamm & T. Reichstein.

Genin A. Es handelte sich um ein Genin (vgl. Tab. 5). Die Laufstrecke im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 6) war gleich wie bei Uzarigenin und von der von Digitoxigenin deutlich verschieden. Die Mischprobe mit Uzarigenin gab keine Depression und die IR.-Spektren (vgl. Fig. 18) zeigten weitgehende Übereinstimmung. Reines Uzarigenin

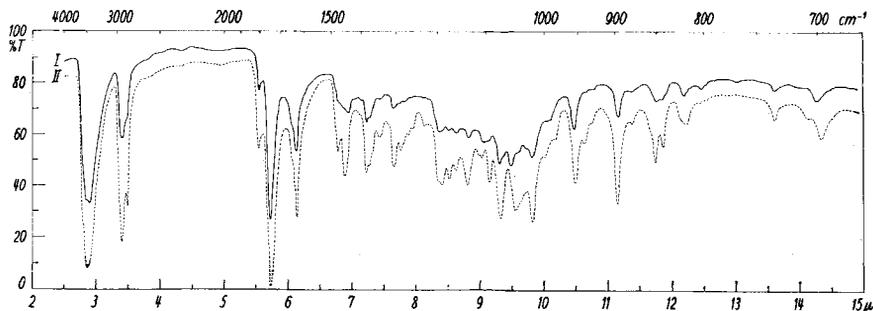


Fig. 18.

IR.-Absorptionsspektrum²³⁾.

Kurve I = Genin A, fest, 0,86 mg in 250 mg KBr

Kurve II = authentisches Uzarigenin²⁴⁾, fest, 0,80 mg in 250 mg KBr,
um 10% T nach unten versetzt.

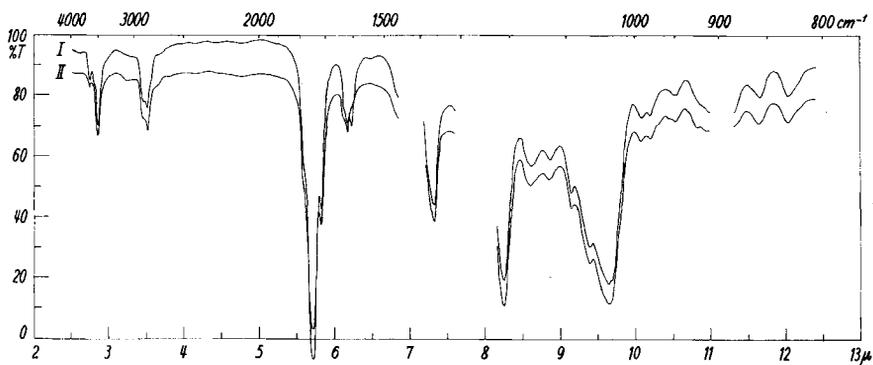


Fig. 19.

IR.-Absorptionsspektrum²³⁾.

Kurve I = Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid, isoliert aus *Glossostelma spathulatum*, Lösung in CH_2Cl_2 , $d = 0,493$ mm, $c = 0,028$ -m. (Mikrozelle)

Kurve II = Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid, teilsynthetisch¹²⁾, Lösung in CH_2Cl_2 , $d = 0,504$ mm, $c = 0,042$ -m. Um 10% T nach unten versetzt.

²³⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem *Perkin-Elmer-Double-Beam-IR-Spektrophotometer, Modell 21*, mit NaCl-Optik.

²⁴⁾ Präparat von Dr. H. P. Uehlinger, durch Reduktion von Uzarigenon mit Al-Isopropylat hergestellt, Smp. 222–244°, $[\alpha]_D^{22} = +14,7^\circ$ in Alkohol; siehe spätere Mitteilung.

zeigte jedoch $[\alpha]_D^{20} = +14,0^\circ \pm 3^\circ$ (in Alk)²⁵; auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren etwas verschieden (Tab. 6). Wir vermuten, dass A ein nicht ganz reines Präparat von Uzarigenin darstellte, die Identität ist aber nicht völlig gesichert. Nach dem IR-Spektrum ist A jedoch sicher verschieden von Urezigenin²⁶. Von den verschiedenen Aglykonen, die *Huber* und Mitarb.²⁷ aus *Xysmalobium undulatum* isoliert hatten, zeigten ihre Aglykone a, B₁ und B₂ sowie b (= „Xysmalobigenin“) ähnliche Eigenschaften wie unser Genin A. Versuche für einen eindeutigen Identitätsbeweis wurden jedoch nicht unternommen. Die anderen Geneine aus *Xysmalobium undulatum* dürften nach Smp., Drehung oder Farbreaktion von unserem Genin A verschieden sein.

Tabelle 6.

Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ (auf weisser Porzellan-Tüpfelplatte).

Färbung nach	A 1	A	Uzarigenin zum Vergleich	C	E 2
1'	gelbbraun	rot	orange	braun	gelb
5'	hellbraun	—	dunkelgelb	schmutzig gelbbraun	dunkelgelb
15'	grün	weinrot mit blauem Rand	braun mit blauem Rand	schmutzig gelbbraun	orange
20'	grün	blau	—	—	—
30'	grün	blaugrün	blaugrün	hellbraun	hellbraun
60'	grün	grün	—	hellgrau	grünliche Flocken
120'	grün	braungelb	gelbe Flocken	braune Flocken	grünliche Flocken

Genin B. Dieser Stoff wurde nur als Mischkristalliat vom Smp. 218–232°, bestehend aus A, B und C erhalten.

Genin C. Dieser Stoff wurde nur in so kleiner Menge erhalten, dass eine weitere Untersuchung unterblieb.

Genin D (Strophanthidin). Dieses Genin wurde in grösster Menge erhalten. Nach Smp., Mischprobe, Drehung, Analyse, Papierchromatogramm (Fig. 1 u. 7), UV.-Absorptionsspektrum und Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ war es identisch mit Strophanthidin.

Subst. E 1. Dieser Stoff wurde nicht rein erhalten, sondern nur als Mischkristalliat mit E 2. Im Papierchromatogramm (Fig. 11 u.

²⁵ *S. Rangaswami & T. Reichstein*, *Helv.* **32**, 939 (1949). *Tschesche & Brathge*²² fanden $[\alpha]_D^{20} = +10,5^\circ$ in Alk.

²⁶ *R. Tschesche & K. H. Brathge*, *Chem. Ber.* **85**, 1042 (1952). Hier wurde zum Vergleich ein von *Dr. H. P. Uehlinger* durch Reduktion von Uzarigenon mit Al-Isopropylat hergestelltes Präparat verwendet; es zeigte Smp. 224–236°, $[\alpha]_D^{27} = +17,5^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,7701 in Chf).

²⁷ *H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 46 (1951).

14) wandern E 1 und E 2 etwas langsamer als Strophanthidol, aber merklich rascher als Nigrescigenin und Subst. E. Sche. 17 aus *Periploca nigrescens*¹³⁾, wodurch eine Identität mit diesen drei stark polaren Geninen ausgeschlossen wird.

Genin E 2. Eine Identifizierung gelang bisher nicht, für eine Analyse war die bisher rein erhaltene Menge unzureichend.

Subst. F zeigte im Papierchromatogramm eine sehr ähnliche Laufstrecke wie Uzarin (vgl. Fig. 13). In geeigneten Systemen löste sich der F-Fleck jedoch in die zwei nahe benachbarten Flecke F 1 und F 2 auf, so dass vermutlich ein Gemisch vorlag. F liess sich durch die Verteilungschromatographie stark anreichern, wurde aber bisher nie ganz frei von Glykosid G erhalten. Solche Präparate (F + G) wurden mit *Taka*-Amylase abgebaut, worauf als Spaltstück im Papierchromatogramm aber nur Strophanthidin nachweisbar war, das aus G stammte (siehe unten). Es ist daher bisher unsicher, ob es sich bei F um Genine oder Glykoside handelt.

Glykosid G. G wurde wie oben erwähnt nur als amorphes Konzentrat erhalten. Nach Acetylierung liess sich jedoch das Tetra-O-acetylderivat in Kristallen fassen, die nach Smp., Mischprobe, Drehung, Analyse, Papierchromatogramm (Fig. 15), Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und IR.-Spektrum mit Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid¹²⁾ identisch waren.

Glykosid H. Dieser Stoff wurde nur in Form eines amorphen Konzentrats erhalten, das aber im Papierchromatogramm nur einen *Kedde*-positiven Fleck gab. Energische saure Hydrolyse lieferte Zucker, der nach Papierchromatogramm nur aus D-Glucose bestand. Bei Behandlung mit *Taka*-Amylase trat Abbau ein; das entstandene Spaltstück war nach Papierchromatogramm vermutlich mit E 2 identisch²⁸⁾. Danach könnte es sich beim Glykosid H um das β -D-Glucosid von E 2 handeln.

Diskussion der Ergebnisse. Die bisherigen Versuche zeigen, dass *Glossostelma spathulatum* ein Gemisch verschiedener digitaloider Aglykone und Glykoside produziert, von denen die letzteren offenbar dieselben Aglykone enthalten, wie sie auch in freiem Zustand aufgefunden wurden. Von den Glykosiden wurde nur Strophanthidin- β -D-glucosid in reiner Form (als Acetylderivat) isoliert und eindeutig identifiziert; es stellt offenbar auch das Hauptglykosid der Pflanze dar. Es scheinen aber noch andere Glykoside anwesend zu sein, die als Zucker ausschliesslich D-Glucose enthalten. Glykoside dieses Typs wurden auch in anderen *Asclepiadaceen* aufgefunden, so in *Xysmalobium undulatum*²⁷⁾ und *Periploca nigrescens*¹³⁾¹⁶⁾.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds* für die Unterstützung dieser Arbeit.

²⁸⁾ Der entsprechende Fleck war allerdings schwach und konnte nur beim Entwickeln mit 2, 4, 2', 4'-Tetranitrodiphenyl und KOH nach Lichti sichtbar gemacht werden; vgl.¹²⁾.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 2 Std. bei 0,05 Torr und 70–80° getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum (nicht über 50°), Aufnehmen in Chloroform, Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und H₂O, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Adsorptionschromatographie²⁹⁾ an alkalifreiem Al₂O₃ (reaktiviert bei 185°)³⁰⁾, der Verteilungschromatographie¹⁷⁾, der Papierchromatographie¹⁷⁾³¹⁾^{31a)}, der Tüpfelproben mit *Raymond*-oder *Kedde*-Reagens³¹⁾^{31a)}³²⁾³³⁾ auf Papier, der *Keller-Kiliani*-Reaktion³⁴⁾, der Zuckerprüfung³⁵⁾, der Farbreaktion mit H₂SO₄³⁴⁾ und Tetranitromethan³⁶⁾ nach früheren Angaben. Die Verhältniszahlen bei Lösungsmittelgemischen beziehen sich auf Volumteile. Es gelten folgende Abkürzungen: Alk = Äthanol, Ae = Äther, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid (entsäuert³¹⁾, Me = Methanol, Pe = Petroläther, To = Toluol, W = Wasser.

Vorbereitung des Pflanzenmaterials. Die Pflanzen wurden von Herrn PD. Dr. H. Hess am 1. Mai 1952 bei Chicuma, ca. 100 km südlich von Ganda im Distrikt Benguela in Süd-Angola gesammelt. Sie wurden in frischem Zustand in Stücke von ca. 4–8 cm Länge zerschnitten, die in zwei Weinflaschen à 700 cm³ abgefüllt und mit Alkohol überdeckt wurden; die Flaschen wurden dann mit Alkohol ganz gefüllt und verschlossen. Sie erreichten uns am 22. Sept. 1952 in sehr gutem Zustand und wurden bis zur Aufarbeitung im Dunkeln aufbewahrt. Der Inhalt jeder Flasche wurde separat verarbeitet.

Extraktion der ersten Portion (ausgeführt 1. Febr. 1954). Die dunkelgrüne Flüssigkeit wurde abgegossen (Gewicht der Lösung 430 g) und das feuchte Pflanzenmaterial (ca. 380 g) mit 1,5 l frischem Alk 16 Std. stehengelassen, dann im „Turmix“ fein zerkleinert, abgutscht und mit weiteren Portionen von je 500 cm³ Alk, der steigende Wassermengen (bis zu 50%) enthielt, bei 50–70° je eine Std. extrahiert, bis der Rückstand nicht mehr bitter schmeckte und die Extrakte mit *Kedde*- oder *Raymond*-Reagens keine Färbung mehr zeigten. Der Rückstand wurde an der Luft getrocknet und gewogen. Die vereinigten Extrakte (ca. 5 l) wurden durch eine Schicht Kieselgur (Celite 535) filtriert und das klare Filtrat im Vakuum auf ca. 300 cm³ eingengt. Dann wurde mit 300 cm³ Alk verdünnt und mit dem frisch aus 360 g Pb-Diacetat-trihydrat bereiteten, gründlich gewaschenen und mit ca. 100 cm³ 70-proz. Alk gut angeschlammten Pb(OH)₂⁴⁾ versetzt und 15 Min. energisch geschüttelt. Hierauf wurde durch eine ca. 5 mm dicke, gründlich mit 70-proz. Alk gewaschene Schicht Kieselgur (Hyflo Super Cel) abgutscht und mit 50-proz. Alk nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit H₂SO₄ auf pH = 6 gebracht und unter Kontrolle des pH im Vakuum bei 40° auf 260 cm³ eingengt. Hierauf wurde je sechsmal mit je 300 cm³ Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge wurden zweimal mit je 40 cm³ W, einmal mit 40 cm³ 2-n. Sodalösung und noch zweimal mit je 40 cm³ W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum bei 50° eingedampft. Es resultierten 2,19 g roher Ae-Extr. (übel riechend), 0,37 g Chf-Extr. I (stark bitter, grün) und 0,91 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia (stark bitter, grün).

Die verbleibende wässrige Phase (noch schwach bitter) wurde zusammen mit den beiden ersten Waschwässern im Vakuum auf 250 cm³ eingengt, mit 20 g Na₂SO₄ versetzt und viermal mit je 300 cm³ Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die Extrakte wurden mit der

²⁹⁾ T. Reichstein & C. W. Shoppee, Disc. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

³⁰⁾ J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. 27, 1292, Fussnote 2 (1944).

³¹⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. 34, 108 (1951).

^{31a)} E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 37, 680 (1954).

³²⁾ W. D. Raymond, Analyst 63, 478 (1938); 64, 113 (1939).

³³⁾ I. E. Bush & D. A. H. Taylor, Biochem. J. 52, 643 (1952).

³⁴⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 31, 883 (1948).

³⁵⁾ P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. 34, 1740 (1951).

³⁶⁾ K. Reyle & T. Reichstein, Helv. 35, 105 (1952).

Lösung von 2,2 g Na_2SO_4 und 0,4 g KHCO_3 in 40 cm^3 W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es resultierten 0,50 g Chf-Alk-(3:2)-Extr. I (mässig bitter). Die verbleibende wässerige Phase gab mit *Kedde*-Reagens keine Färbung mehr und wurde verworfen.

Reinigung des rohen Ae-Extr. Die 2,19 g Material wurden in 100 cm^3 80-proz. Me aufgenommen und dreimal mit je 100 cm^3 Pe ausgeschüttelt. Die zweimal mit je 50 cm^3 80-proz. Me gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Pe-Auszüge gaben beim Eindampfen 1,86 g Pe-Extr. (nicht untersucht)³⁷⁾.

Die vereinigten wässrig-methanolischen Phasen wurden im Vakuum auf ca. 10 cm^3 eingengt und fünfmal mit je 30 cm^3 Chf ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 0,39 g gereinigten Ae-Extr. I (gelbgrün, bitter).

Extraktion der 2. Portion. Der Inhalt der zweiten Flasche wurde genau gleich behandelt und gab die in Tab. 1 genannten Ausbeuten.

Trennung des Ae-Extr. I. Von den 0,39 g der ersten Portion wurden 0,34 g an 11 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fr. 1—5 (eluiert mit Be-Chf-(3:1)) gaben 27 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ; verworfen.

Die Fr. 6—7 (28 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben aus Me-Ae 6 mg Genin A in Kristallen vom Smp. 230—246°. Papierchromatogramm siehe Fig. 1.

Die Fr. 8 (5 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gab aus Me-Ae eine Spur Kristalle vom Smp. 218—232°. Nach Papierchromatogramm lag ein Gemisch von A + B + C vor.

Die Fr. 9—10 (18 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 2 mg Genin C in Kristallen, Smp. 220—232°. Papierchromatogramm siehe Fig. 2.

Die Fr. 11—13 (37 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99,5:0,5)) gaben aus Me-Ae 5 mg Genin D in Kristallen vom Smp. 134—143°. Papierchromatogramm vgl. Fig. 1 und 7.

Die Fr. 14—23 (eluiert mit Chf-Me-Gemischen von 0,5—20% Me-Gehalt) gaben 87 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion positiv. Im Papierchromatogramm war nur Fleck E sichtbar.

Die Fr. 24—30 (eluiert mit Chf-Me-(4:1), -(1:1) und reinem Me) gaben 49 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ; verworfen.

Trennung des Ae-Extr. aus 2. Portion. 0,330 g gereinigter Ae-Extr. aus 2. Portion wurden an 8 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fr. 1—5 (42 mg, eluiert mit Be-Chf von 25—50% Chf-Gehalt) waren amorph. *Kedde*-Reaktion negativ (bei Fr. 5 sehr schwach positiv); verworfen.

Fr. 6 (10 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gab aus Me-Ae 1 mg Genin A 1 vom Smp. 248—272°.

Fr. 7 (12 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:3)) gab aus Me-Ae 4 mg krist. Genin A vom Smp. 266—270°.

Die Fr. 8—13 (31 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:3), reinem Chf und Chf-Me-(99,5:0,5)) waren amorph; *Kedde*-Reaktion negativ.

Die Fr. 14 (9 mg, eluiert mit Chf-Me-(99:1)) gab aus Me-Ae noch 4 mg krist. Genin D.

Die folgenden Fraktionen 15—20 gaben noch 34 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion positiv; es enthielt nach Papierchromatogramm noch wenig D und E.

Trennung der Chf-Extr. I. 310 mg Chf-Extr. I aus 1. Portion wurden an 10 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fr. 1—2 (33 mg, eluiert mit Be-Chf-(3:1)) gaben aus Ae nur eine Spur Kristalle. *Kedde*-Reaktion negativ.

Die Fr. 3—5 (eluiert mit Be-Chf-(3:1) und -(1:1)) gaben 4 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion negativ.

Die Fr. 6—8 (eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben 7 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion schwach positiv.

³⁷⁾ Nach zweijährigem Stehen schieden sich aus dem grünen öligen Präparat 490 mg (aus beiden Portionen) Kristalle ab. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Ae-Me Smp. 211—227°. Die *Kedde*-Reaktion war negativ, daher wurden sie nicht untersucht.

Die Fr. 9—11 (40 mg, eluiert mit Chf-Me-(99,5:0,5)) gaben aus Me-Ae 27 mg Genin D (Strophanthidin) in Kristallen vom Smp. 136—139°. Im Papierchromatogramm gaben sie nur den D-Fleck.

Die Fr. 12—20 (eluiert mit Chf-Me-Gemischen von 0,5—5% Me-Gehalt) gaben 52 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion positiv. Im Papierchromatogramm war nur der E-Fleck sichtbar.

Die Fr. 21—28 (eluiert mit Chf-Me-Gemischen von 5—50% Me-Gehalt) gaben 37 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ.

2. *Portion*. Die Chromatographie von 120 mg Chf-Extr. I der 2. Portion lieferte noch 24 mg krist. Genin D mit Doppel-Smp. 137—140°/230—240° (Erstarren bei ca. 180°).

Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia aus 1. Portion in Chf-Alk-(9:1)-Extr. I und Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ib. 870 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia aus 1. Portion wurden in 20 cm³ Wasser gelöst und 8mal mit je 30 cm³ Chf-Alk-(9:1) ausgeschüttelt. Die mit 5 cm³ Wasser gewaschenen (Emulsionen durch Zentrifugieren getrennt) und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 315 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr. I (Papierchromatogramm s. Fig. 4). Die wässrigen Phasen wurden im Vakuum eingedampft und gaben 536 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ib (Papierchromatogramm s. Fig. 4). Beide Extrakte zeigten stark bitteren Geschmack.

Abbau des Chf-Alk-(9:1)-Extr. I mit *Taka*-Amylase. 315 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr. I wurden in 15 cm³ Wasser aufgenommen, mit 1 Tropfen Essigsäure, 1 cm³ Toluol und 630 mg *Taka*-Amylase³⁸) versetzt und verschlossen unter öfterem Umschwenken 4 Tage bei 37—39° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum auf 8 cm³ eingengt, mit 60 cm³ abs. Alk versetzt und durch ein mit Kieselgur (Celite 535) gedichtetes Filter gentscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum auf 15 cm³ eingengt und nach einander je fünfmal mit je 30 cm³ Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden je zweimal mit je 5 cm³ W, einmal mit 5 cm³ 2-n. Na₂CO₃ und zweimal mit je 3 cm³ W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Die verbleibende wässrige Phase und die beiden ersten Washwässer wurden zusammen im Vakuum auf 8 cm³ eingengt und noch fünfmal mit je 30 cm³ Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt, wobei noch 36 mg Material resultierten. So wurden die 3 Extrakte: Ae-Extr. II, Chf-Extr. II und Chf-Alk-(2:1)-Extr. II erhalten. Über die Ausbeuten und das Resultat der Papierchromatographie vgl. Tab. 2.

Abbau des Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ib mit *Taka*-Amylase. 536 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ib wurden wie oben beschrieben mit 1,07 g *Taka*-Amylase behandelt. Es resultierten die Ae-Extr. III, Chf-Extr. III und Chf-Alk-(2:1)-Extr. III. Über die erhaltenen Mengen und das Resultat orientiert Tab. 2.

Untersuchung der erhaltenen Abbauprodukte. Ae-Extr. II und III und Chf-Extr. II und III wurden vereinigt (164 mg). 160 mg dieses Materials wurden an 5 g Al₂O₃ chromatographiert.

Fr. 1 (eluiert mit Chf) gab 10 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion positiv. Im Papierchromatogramm waren A- und B-Fleck sichtbar. Es wurde nicht weiter untersucht.

Fr. 2 (eluiert mit Chf) gab 10 mg amorphes Material. Im Papierchromatogramm waren die Flecke A, B und C sichtbar. Es wurde nicht weiter untersucht.

Die Fr. 3—9 (60 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99,5:0,5)) gaben aus Me-Ae 41 mg krist. Genin D vom Doppel-Smp. 138—142°/219—230°.

Die Fr. 10—16 (eluiert mit Chf-Me-Gemischen von 1—5% Me-Gehalt) gaben 26 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion positiv.

Die Fr. 17—20 (eluiert mit Chf-Me-(9:1) und -(1:1)) gaben noch 7 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ.

Verteilungschromatographie des Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia aus 2. Portion. 265 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Ia (aus 2. Portion) wurden in der früher beschriebenen Ausführungsform¹⁷) durch Verteilungschromatographie in 60 Fraktionen getrennt. Dazu diente Säule Nr. 1, die mit 200 g Kieselgur-Wasser-(1:1) beschiekt war. Durchlaufgeschwindigkeit etwa 4 cm³ pro Std. Jede Fraktion entspricht dem in 6 Std. erhaltenen Eluat (= ca. 25 cm³). Das Resultat ist aus Tab. 7 ersichtlich.

Tabelle 7.

Verteilungschromatogramm 1 von 265 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt Ia (aus 2. Portion).

Fraktions-Nr.	Eluiermittel Be-Bu	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Resultat der Papierchromatogramme
1—4	—(1:1)	4	<i>Kedde</i> -Reaktion negativ
5—7	—(1:1)	126	E 1, E 2
8—15	—(1:1)	75	E 1, E 2, F
16—21	—(1:1)	12	F, G
22—39	—(1:1)	38	G
40—42	—(1:1)	2	G, H
43—48	—(1:3)	9	G, H
49—58	—(1:4)	39	H
59—60	—(1:4)	23	<i>Kedde</i> -Reaktion negativ

Keine der Fraktionen kristallisierte. Sie wurden in Gruppen zusammengefasst und wie folgt behandelt.

Fr. 1—4 des Verteilungschromatogramms 1 wurden nicht untersucht.

Fr. 5—7 des Verteilungschromatogramms 1 (120 mg davon) wurden an 4 g Al_2O_3 chromatographisch in die folgenden 20 Fraktionen zerlegt:

Die Fr. 1—6 (eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1)) gaben 13 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion negativ.

Fr. 7 (eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gab 3 mg amorphes Material. *Kedde*-Reaktion positiv.

Fr. 8 (12 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gab aus Me-Ae 8 mg Kristalle vom Smp. 266—273°. Nach Papierchromatogramm (Fig. 11) lag ein Gemisch von E 1 und E 2 vor. Kristalle und Mutterlaugen wurden vereinigt und zu diesem Material noch die folgenden Gemische zugefügt: Fr. 14—23 (87 mg) von Al_2O_3 -Chromatogr. vom Ae-Extr. I aus 1. Portion, Fr. 15—20 (34 mg) aus Al_2O_3 -Chromatogr. vom Ae-Extr. I aus 2. Portion, Fr. 12—20 (52 mg) aus Al_2O_3 -Chromatogr. von Chf-Extr. I aus 1. Portion und Fr. 10—18 (24 mg) aus Al_2O_3 -Chromatogr. von Chf-Extr. I aus 2. Portion. Das Ganze (209 mg) wurde wieder an Al_2O_3 chromatographiert. Es liessen sich aber keine Kristalle mehr erhalten.

Die Fr. 9—12 (13 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2) und -(95:5)) gaben aus Me-Ae 9 mg Kristalle vom Smp. 274—286°. Nach Papierchromatogramm (Fig. 11) lag reines Genin E 2 vor.

Fr. 13 (eluiert mit Chf-Me-(95:5)) gab 1 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion positiv.

Die Fr. 14—20 (eluiert mit Chf-Me-Gemischen) gaben noch 51 mg amorphes, *Kedde*-negatives Material.

Fr. 8—15 des Verteilungschromatogramms 1 wurden wie folgt acetyliert. Die 75 mg amorphes Material wurden mit 2 cm³ abs. Pyridin und 1,5 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 35° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 105 mg Rohprodukt, das an 3 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Keine der 19 Fraktionen lieferte Kristalle; die meisten gaben im Papierchromatogramm mehrere *Kedde*-positive Flecke.

Fr. 16—21 des Verteilungschromatogramms 1 (12 mg) wurden in 12 cm³ Wasser mit 2 Tropfen 1-proz. Essigsäure, 60 mg *Taka*-Amylase³⁸⁾ und 0,5 cm³ Toluol unter gelegentlichem Umschwenken 4 Tage bei 34° stehengelassen. Aufarbeitung wie beim Abbau des Chf-Alk-(9:1)-Extr. I gab 3,1 mg Chf-Auszüge und 4 mg Chf-Alk-(2:1)-Auszüge. Beide waren amorph und gaben im Papierchromatogramm nur noch den D-Fleck. In den wasserlöslichen Anteilen liess sich im Papierchromatogramm D-Glucose nachweisen.

³⁸⁾ Wir danken der Schweizerischen Ferment AG., Basel, auch hier bestens für die Überlassung dieses Präparates.

Fr. 22—39 des Verteilungschromatogramms 1 (38 mg) wurden wie die Fr. 8—15 acetyliert und das amorphe Rohprodukt (41 mg) an 1,2 g Al_2O_3 chromatographisch in 15 Fraktionen aufgetrennt.

Die Fr. 1—7 (eluiert mit Be-Chf-Gemischen von 30—75% Chf-Gehalt) gaben 28 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ; nicht untersucht.

Die Fr. 8—10 (7 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:3) und reinem Chf) gaben aus Me-Ae 5 mg Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid vom Smp. 245—251°. Sie gaben im Papierchromatogramm nur einen Fleck.

Die Fr. 11—15 (eluiert mit Chf-Me-Gemischen) gaben noch 5 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ; nicht untersucht.

Fr. 40—48 des Verteilungschromatogramms 1 wurden nicht weiter untersucht.

Fr. 49—58 des Verteilungschromatogramms 1 (39 mg, die nur H-Fleck gaben) wurden für die zwei folgenden Versuche verwendet.

27 mg Material wurden wie oben mit *Taka*-Amylase abgebaut und gaben 15,3 mg Chf-Auszug sowie 3,9 mg Chf-Alk-(2:1)-Auszug. Beide Teile waren amorph. Bei beiden wurde im Papierchromatogramm (mit 0,4 mg Material) mit *Kedde*-Reagens gar kein Fleck erhalten. Mit dem empfindlicheren 2,4,2',4'-Tetranitro-diphenyl-Reagens¹²⁾ gaben beide einen deutlichen E-Fleck (vermutlich E 2), der Chf-Alk-(2:1)-Auszug ausserdem noch sehr schwach den H-Fleck.

12 mg wurden mit 0,35 cm³ *Kiliani*-Mischung³⁹⁾ 1 Std. auf 95° erhitzt. Nach üblicher Aufarbeitung gaben die wasserlöslichen Anteile im Papierchromatogramm nur einen Fleck, der D-Glucose entsprach.

Fr. 59—60 des Verteilungschromatogramms 1 wurden nicht untersucht.

Untersuchung der Chf-Alk-(3:2)-Extrakte. Das Material der ersten (490 mg) und der zweiten Portion (120 mg) wurden vereinigt (610 mg) und wie oben durch Verteilungschromatographie in 40 Fraktionen aufgetrennt. Verwendet wurde Säule Nr. 2, die mit 600 g Kieselgur-Wasser-(1:1) beschickt war. Durchlaufgeschwindigkeit ca. 14 cm³ pro Std. Jede Fraktion entspricht dem in 15 Std. erhaltenen Eluat (= ca. 205—210 cm³). Über das Resultat orientiert Tab. 8.

Tabelle 8.

Verteilungschromatographie 2 von 610 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt.

Fraktions-Nr.	Eluiermittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Resultat der Papierchromatographie
1—8	Be-Bu-(1:1)	69	<i>Kedde</i> -Reaktion sehr schwach positiv
9	Be-Bu-(1:1)	9	F, G
10—11	Be-Bu-(1:1)	18	G
12—15	Be-Bu-(1:4)	69	G
16—18	Be-Bu-(1:4)	50	G, H
19—29	Be-Bu-(1:4)	102	H
30—32	Bu	43	H
33—40	Bu	318	<i>Kedde</i> -Reaktion negativ

Fr. 1—8 und Fr. 9 des Verteilungschromatogramms 2 wurden nicht untersucht.

Fr. 10—15 des Verteilungschromatogramms 2. 79 mg des vereinigten Materials wurden mit 2 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 37° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 92 mg Rohprodukt, das an 4 g Al_2O_3 chromatographisch in 23 Fraktionen zerlegt wurde.

³⁹⁾ *H. Kiliani*, Ber. deutsch. chem. Ges. **63**, 2866 (1930), Gemisch aus 3,5 Teilen Eisessig, 1 Teil konz. HCl und 5,5 Teilen Wasser.

Die Fr. 1—11 (eluiert mit Be-Chf-Gemischen von 30—80% Chf-Gehalt) gaben 35 mg amorphes Material; *Kedde*-Reaktion negativ. Nicht untersucht.

Die Fr. 12—14 (8 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:4)) gaben aus Me-Ae 6 mg krist. Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid vom Doppel-Smp. 165°/220—250° (Wiedererstarren bei ca. 170—190°).

Die Fr. 15—17 (eluiert mit Chf) gaben nur Spuren Material.

Die Fr. 18—19 (15 mg, eluiert mit Chf-Me-(1:1)) waren amorph, sie gaben im Papierchromatogramm einen sehr langsam wandernden Fleck, vielleicht ein Oxydationsprodukt.

Die Fr. 20—23 (11 mg, eluiert mit Chf-Me-Äthylacetat -(1:1:1) unter Zusatz von 1—5% Eisessig) waren amorph. *Kedde*-Reaktion negativ.

Fr. 16—18 des Verteilungschromatogramms 2 wurden nicht untersucht.

Fr. 19—32 des Verteilungschromatogramms 2. Von diesem Material, das im Papierchromatogramm nur den H-Fleck zeigte, wurden 138 mg mit 2 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 16 Std. bei 37° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 159 mg Rohprodukt, das an 4,7 g Al₂O₃ chromatographisch in 20 Fraktionen zerlegt wurde. Keine davon lieferte Kristalle; in den Papierchromatogrammen liessen sich keine deutlichen Flecke erkennen.

Fr. 33—40 des Verteilungschromatogramms 2 gaben im Papierchromatogramm keine Flecke und wurden nicht weiter untersucht.

Charakterisierung und Identifizierung der isolierten Stoffe.

Genin A (= Uzarigenin ?). Die Rohkristalle (10 mg) wurden mehrmals aus Me-Ae umkristallisiert und gaben 5 mg monokline Prismen mit quadratischem Querschnitt, Smp. 244—266° (Zers., Sintern bei 230—240°), $[\alpha]_D^{25} = +3,4^0 \pm 4^0$ ($c = 0,467$ in Me). Authentisches Uzarigenin aus Odorosid B zeigte Smp. nach starkem Zerreiben 240—260°, Mischprobe 236—262°. *Keller-Kiliani*-Reaktion und Zuckerprüfung negativ. Vergleich im Papierchromatogramm siehe Fig. 6, Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ Tab. 6, IR.-Spektren Fig. 18.

Genin B wurde nur als Mischkristalliat vom Smp. 218—232° (aus Me-Ae) bestehend aus den Geninen A, B und C erhalten. Nicht weiter untersucht.

Genin C. Aus Me-Ae 2 mg Nadeln, Smp. 220—232°. Papierchromatogramm s. Fig. 2; Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ Tab. 6.

Genin D (= Strophanthidin). Rohkristalle (direkt isoliert 60 mg, aus Abbau mit *Taka*-Amylase 48 mg) aus Me und Me-Ae farblose Prismen, Doppel-Smp. 138—142°/230—240° (Zers.), $[\alpha]_D^{25} = +43,4^0 \pm 2^0$ ($c = 1,014$ in Me). Trocknung zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P₂O₅ (Schweinechen), C₂₃H₃₂O₆ + H₂O (422,51), Gewichtsverlust: Ber. 4,25%, gef. 4,00%.

C₂₃H₃₂O₆ (404,49) Ber. C 68,29 H 7,97% Gef. C 68,41 H 7,99%

UV.-Absorptionsspektrum in Alk zeigte Maxima bei 217 m μ ($\log \epsilon = 4,22$) und ca. 300 m μ ($\log \epsilon = 1,47$). Authentisches Strophanthidin und die Mischprobe schmolzen gleich. Auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ (Tab. 6) und die Laufstrecken im Papierchromatogramm (Fig. 7) waren gleich.

Subst. E 1 (vermutl. Genin) wurde nur als Mischkristalliat von E 1 und E 2 erhalten, 8 mg aus Me-Ae, Smp. 266—273°. Papierchromatogramm vgl. Fig. 11. Nicht weiter untersucht.

Genin E 2. Aus Me-Ae 9 mg Kristalle, Smp. 274—286°. Umkristallisieren aus Me-Ae gab Rhomben, Smp. 286—290°. *Keller-Kiliani*-Reaktion und Zuckerprobe negativ. Papierchromatogramm s. Fig. 11. Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ vgl. Tab. 6.

F 1 und F 2 (vermutlich Glykoside) wurden nur als amorphes Rohkonzentrat zusammen mit Glykosid G erhalten.

Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid (O-Acetyl-G). Die 11 mg Rohkristalle gaben nach Umkristallisieren aus Me und Me-Ae 6 mg farblose Nadeln vom Doppel-Smp. 158—170°/246—252° (Wiedererstarren bei ca. 188—200°), $[\alpha]_D^{25} = +12,6^0 \pm 3^0$ ($c = 0,57$ in Chf). Authentisches Material und die Mischprobe schmolzen gleich, auch

die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 (Tab. 6) und die Laufstrecken im Papierchromatogramm (Fig. 12) waren gleich, ebenso die IR.-Spektren (Fig. 19).

Glykosid H wurde nur als amorphes Konzentrat erhalten, auch das Acetyl-derivat kristallisierte bisher nicht. Auf Grund der positiven Zuckerprobe und des Verhaltens bei der Behandlung mit *Taka*-Amylase dürfte es sich bei H um ein Glykosid handeln, das vermutlich D-Glucose enthält.

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

Zusammenfassung.

In *Glossostelma spathulatum* (*K. Schum.*) *Bullock* liessen sich insgesamt 12 *Kedde*-positive Stoffe nachweisen (A–K), davon J und K nur in Spuren. Von diesen konnten vier (A, C, D und E 2) in Kristallen isoliert werden. A ist möglicherweise mit Uzarigenin identisch, D wurde eindeutig mit Strophanthidin identifiziert. Stoff G, ein Glykosid, wurde in Form seines krist. Acetylderivats isoliert, das mit Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid identisch war. Strophanthidin- β -D-glucosid ist ein Hauptglykosid von *Glossostelma spathulatum*; der Stoff wurde früher aus *Periploca nigrescens Afzel* isoliert¹³⁾¹⁶⁾.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

40. Zum stereochemischen Verlauf der *Michael*-Addition.

Über Synthesen in der Aldosteron-Reihe III¹⁾;

Über Steroide, 145. Mitteilung²⁾

von **A. Wettstein, K. Heusler, H. Ueberwasser und P. Wieland.**

Herrn Prof. Dr. Rolf Meier zum 60. Geburtstag gewidmet.

(19. I. 57.)

Den hier zu beschreibenden Versuchen zur Synthese 18-oxigener Steroide liegt folgender Arbeitsplan zugrunde: Es wird von dem von *Sarett* und Mitarb.³⁾ hergestellten tricyclischen Hydroxyketon Ia, dem *d, l*- Δ^{8a} -1-Oxo-4 β -hydroxy-4 β -methyl-7-äthylendioxy-4 $\alpha\alpha$,10 $\alpha\beta$ -dodecahydro-phenanthren ausgegangen. Die Verbindung Ia enthält 4 asymmetrische Kohlenstoffatome in der den natürlichen 11 β -Hydroxy-steroiden entsprechenden Anordnung und ist bereits früher von uns zur Totalsynthese des Aldosterons⁴⁾¹⁾ verwendet worden. Aus die-

¹⁾ Mitt. II dieser Reihe s. *E. Vischer, J. Schmidlin & A. Wettstein*, *Experientia* **12**, 50 (1956).

²⁾ 144. Mitteilung s. *R. Neher & A. Wettstein*, *Helv.* **39**, 2062 (1956).

³⁾ *G. I. Poos, G. E. Arth, R. E. Beyler & L. H. Sarett*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 422 (1953).

⁴⁾ *J. Schmidlin, G. Anner, J. R. Billeter & A. Wettstein*, *Experientia* **11**, 365 (1955).