

100% si l'on utilise un excès de 25% moléculaires de CH_3COCl . Le rendement pondéral devrait baisser de 17,3% s'il se dégageait une molécule de HCl au cours de la réaction. L'analyse a donné d'autre part un résultat répondant sensiblement à la formule globale du produit préparé à température plus basse:

$\text{C}_2\text{H}_3\text{OCl}_4\text{Al}$	Calculé Cl 67,0	Al 12,73%
	Trouvé „ 66,0 \pm 0,7	„ 12,7 \pm 0,1%
$\text{C}_2\text{H}_2\text{OCl}_3\text{Al}$	Calculé „ 60,7	„ 15,38%

S'il s'est produit un certain dégagement de HCl gazeux pendant la réaction, ce n'était pas dans la proportion indiquée par *Illari*. Nous ne voulons cependant pas exclure la possibilité de la formation d'une petite fraction de $\text{CH}_2=\text{CClO}-\text{AlCl}_2$, même à basse température, comme on l'a indiqué à propos de l'examen des spectres d'absorption. Ce complexe se décompose sans fusion, en tube scellé, à partir de 70° environ.

RÉSUMÉ.

Les auteurs décrivent la préparation des composés d'addition des chlorures d'acétyle et de mésoityle avec Al_2Cl_6 , obtenus sous forme de solides presque incolores dont le spectre infrarouge a été déterminé.

L'absence dans ces spectres des fréquences $\omega(\text{C}=\text{O})$ (1802 et 1775 cm^{-1}) et $\omega(\text{C}-\text{Cl})$ (593 et 613 cm^{-1}), ainsi que la présence d'une bande d'absorption nouvelle, intense (2305 et 2190 cm^{-1}) conduit à l'adoption pour ces composés d'une formule de résonance



avec forte contribution de la structure ionique.

Laboratoire de Chimie physique,
Université de Genève.

113. Die Glykoside der Samen von *Strophanthus Tholloni Franch.*

2. Mitteilung¹⁾²⁾.

Glykoside und Aglykone, 179. Mitteilung³⁾

von E. Weiss, O. Schindler und T. Reichstein.

(27. IV. 57.)

Kürzlich wurde mitgeteilt, dass die Samen von *Strophanthus Tholloni Franch.* als Glykoside zur Hauptsache ein Gemisch von „Sarmantosiden“ enthalten, wie sie auch in den leicht wasserlöslichen Anteilen der Glykoside verschiedener Formen von *Strophanthus sarmentosus* aufgefunden wurden. Solche Gemische sind sehr schwer trennbar. Wir beschreiben hier erstmals eine möglichst vollständige

¹⁾ Erste Mitteilung: *J. v. Euv, O. Schindler & T. Reichstein*, Helv. **38**, 987 (1955).

²⁾ Auszug aus Diss. *E. Weiss*, Basel 1957.

³⁾ 178. Mitt.: *Ch. Tamm, G. Volpp & G. Baumgartner*, *Experientia* **13**, 185 (1957).

Trennung eines solchen Gemisches, wobei zur Kontrolle vorwiegend die Papierchromatographie diene.

Zur Untersuchung gelangten 500 g Samen der „Probe b“ (gesammelt vom 26. November bis 5. Dezember 1950 an den Ufern des Lokundjé und des Kiangho), die sicher der Stammform (*S. Tholloni*) zugehörten, und deren Beschaffung früher¹⁾ genau beschrieben wurde. Sie waren am Tage der Extraktion somit ca. 3 ½ Jahre alt. Die wie dort durchgeführte Extraktion nach Fermentierung gab die in Tab. 1 angegebenen Mengen an Extrakten⁴⁾⁵⁾.

Tabelle 1.

Art des Extrakts ⁵⁾	Menge		Kedde-Reaktion	Bemerkungen
	in g	in %		
Pe-Extr. (= fettes Öl) .	175	= 35 %	—	nicht untersucht
Ae-Extr., roh	1,5	= 0,3 %	—	noch etwas fetthaltig nicht untersucht
Chf-Extr.	0,18	= 0,036%	—	nicht untersucht
Chf-Alk-(2:1)-Extr. . .	10,6	= 2,12 %	+ +	stark bitter
Chf-Alk-(3:2)-Extr. . .	4,2	= 0,84 %	+ +	stark bitter

Die Ausbeuten waren somit sehr ähnlich wie früher¹⁾, insbesondere wurden auch jetzt praktisch keine äther- oder chloroformlöslichen Glykoside gefunden. In der verbliebenen wässrigen Phase waren keine Glykoside mehr nachweisbar; sie wurde verworfen. Hier wird die Trennung der zwei stark aktiven Extrakte (Chf-Alk-(2:1)- und -(3:2)-Extr.) beschrieben.

Für die Prüfung im Papierchromatogramm waren vor allem zwei Systeme günstig, nämlich Wasser/Toluol-Butanol-(2:1) sowie Wasser/Butanol. Das erste war zum Nachweis aller ausser der 3 stärkst polaren Stoffe vorteilhaft, das zweite wurde für diese 3 stark polaren Stoffe verwendet. Das Resultat ist aus Fig. 1 und 2 ersichtlich. Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt gab im ersten System 10 Flecke (I–X), von denen Fleck X praktisch nicht gewandert ist. Im zweiten System liess sich dieser Fleck in die zwei Flecke α und β auflösen, der γ -Fleck entsprach dem Fleck IX des ersten Systems, während die Flecke δ und ε den nicht aufgelösten Gemischen von VI, VII und VIII sowie I–V entsprechen. Der Chf-Alk-(3:2)-Extr. enthielt hauptsächlich die drei stärkst polaren Substanzen α , β und γ und nur noch wenig VII und VIII sowie Spuren von IV und V.

⁴⁾ Die Chf-Alk-(2:1)-Extr. wurden diesmal mehrmals mit Wasser gewaschen, um ev. vorhandene Spuren von Ouabain und ähnlichen Glykosiden weitmöglichst in die Wasserphase zu bringen, aus der sie anschliessend nach stärkerem Einengen im Vakuum und Halbsättigung mit Na_2SO_4 mit Chf-Alk-(3:2)-Gemisch ausgeschüttelt wurden.

⁵⁾ Abkürzungen sowie Ausführung der Farbreaktionen usw. vgl. Einleitung zum exper. Teil.

Beispiele für die papierchromatographische Kontrolle
der freien Glykoside.

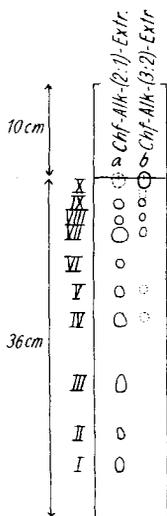


Fig. 1.

W/To-Bu-(2:1)
18 Std., 20°

- a = 0,2 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr.
b = 0,2 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr.
c = 0,03 mg Ouabain

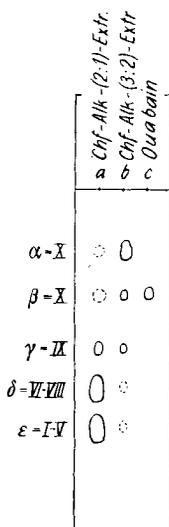


Fig. 2.

W/Bu
24 Std., 20°

- d = 0,05 mg Zenkosid
e = 0,05 mg Thollosid
f = 0,05 mg Substanz U aus¹⁾

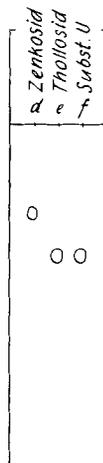


Fig. 3.

W/To-Bu-(2:1)
48 Std., 20°

Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts. Für die präparative Trennung wurden 10,38 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. (entspr. 490 g Samen) einer sorgfältigen Verteilungschromatographie in der früher beschriebenen Ausführungsform⁶⁾ mit Wasser an gereinigtem Kieselgur als ruhender und Benzol-n-Butanol-Gemischen sowie zum Schluss reinem Butanol als beweglicher Phase unterworfen. Über das Resultat orientiert Fig. 14 sowie Tab. 10 im exper. Teil.

Die Trennung ist sehr gut-erfolgt. Mit relativ wenig Überlappung wurden 11 Fraktionsgruppen, entsprechend den in Fig. 14 sichtbaren Maxima erhalten, von denen jede im Papierchromatogramm nur einen Fleck gab. Die Stoffe, die im Papierchromatogramm den Fleck V gegeben hatten, wurden in der Säule sogar noch relativ gut in zwei Maxima (entspr. Sarmentosid D und Lokundjosid (= EWE 8)) aufgetrennt. Die Substanzgruppen I, II, III, V, VI, VIII und X erwiesen sich im Laufe der weiteren Untersuchung jedoch noch als Gemische, die wie folgt getrennt wurden⁷⁾:

⁶⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 357 (1953).

⁷⁾ Die Substanzgruppe X wurde nicht getrennt. Sie enthielt neben wenig α und β noch kleine Mengen anderer hochpolarer Stoffe, die vermutlich durch Autoxydation im Laufe der langen Verteilungsoperationen entstanden waren. Die Stoffe α und β waren zur Hauptsache im Chf-Alk-(3:2)-Extr. enthalten und wurden aus diesem in Kristallen isoliert.

Beispiele für die papierchromatographische Kontrolle der Acetylderivate.

Die Zuordnung der Flecke (vgl. arabische Zahlen) geschah in üblicher Weise durch Vergleich in weiteren Chromatogrammen, die hier nicht wiedergegeben wurden.

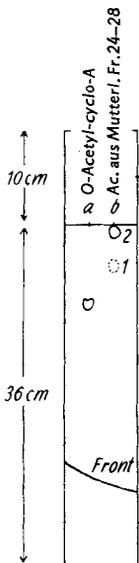


Fig. 4.
Fd/Be-Chf-(9:1)
3 Std., 20°

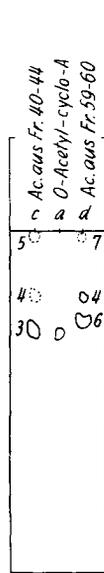


Fig. 5.
Fd/Be
5 Std., 20°

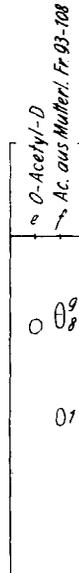


Fig. 6.
Fd/Be-Chf-(7:5)
4 Std., 20°

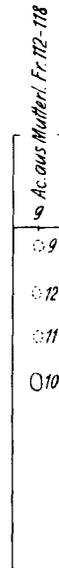


Fig. 7.
Fd/Be
4 Std., 20°

- a = 0,03 mg Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal
- b = 0,1 mg acetylierter Mutterlaugenrückstand der Fr. 24—28
- c = 0,1 mg acetylierte Fr. 40—44
- d = 0,1 mg acetylierte Fr. 59—60
- e = 0,03 mg O-Acetyl-sarmentosid-D
- f = 0,1 mg acetylierter Mutterlaugenrückstand der Fr. 93—108
- g = 0,1 mg acetylierter Mutterlaugenrückstand der Fr. 112—118

- 1 = Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester
- 2 = Tri-O-acetyl-sarmentosid-E
- 3 = O-Acetyl-bipindosid
- 4 = O-Acetyl-R
- 6 = Tetra-O-acetyl-acarbothosid
- 8 = O-Acetyl-sarmentosid-D
- 9 = Tri-O-acetyl-thollodiolidosid
- 10 = O-Acetyl-lokundjosid (EWE 9)
- 5, 7, 11 und 12 = nicht identifizierte Flecke.

Zunächst wurden alle kristallisierbaren Komponenten durch Kristallisation abgetrennt. Es gelang so, 7 krist. Stoffe in reiner Form zu isolieren. Davon waren drei, nämlich die Sarmentoside E¹⁾, A¹⁾⁸⁻¹⁴⁾

⁸⁾ J. Schmutz & T. Reichstein, *Pharmac. Acta Helv.* **22**, 167 (1947).

⁹⁾ J. Schmutz, *Helv.* **31**, 1719 (1948).

¹⁰⁾ A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein, *Helv.* **33**, 465 (1950).

¹¹⁾ J. v. Euw, F. Reber & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 413 (1951).

¹²⁾ J. Schmutz & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1264 (1951).

¹³⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, *Helv.* **35**, 1560 (1952) (betr. „Sarmentosid B“).

¹⁴⁾ F. Reber & T. Reichstein, *Pharmac. Acta Helv.* **28**, 1 (1953).

und D¹⁴) bereits bekannt. Vier weitere waren neu, sie wurden als Lokundjosid (EWE 8), Tholläthosid (EWE 7), Thollosid (EWE 1) und Zenkosid (EWE 5) bezeichnet. Von diesen war Thollosid (EWE 1) nach Papierchromatogramm (vgl. Fig. 3) identisch mit dem früher¹) als Subst. U bezeichneten, aber nicht in reiner Form isolierten Stoff. Diese sieben krist. Stoffe wurden durch Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin bei 20–40° in ihre Acetylderivate übergeführt, von denen

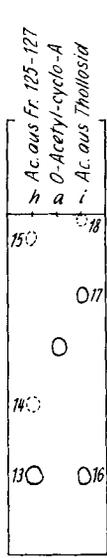


Fig. 8.
Fd/Be
6 Std., 20°

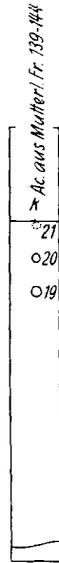


Fig. 9.
Fd/Be
3 Std., 20°

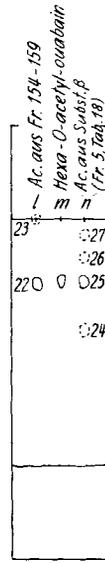


Fig. 10.
Fd/Be.Chf-(9:1)
3 Std., 20°

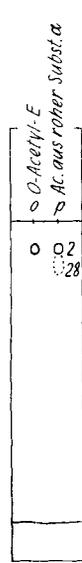


Fig. 11
Fd/Be.Chf-(7:5)
2,5 Std., 20°

h = 0,1 mg acetylierte Fr. 125—127

i = 0,1 mg acetyliertes Thollosid

k = 0,1 mg acetylierter Mutterlaugenrückstand der Fr. 139—144

l = 0,1 mg acetylierte Fr. 154—159

m = 0,03 mg Hexa-O-acetyl-ouabain

n = 0,1 mg acetylierte Subst. β

o = 0,03 mg Tri-O-acetyl-sarmentosid-E

p = 0,1 mg Acetylierungsgemisch aus roher Subst. α von präpar. Papierchromatogramm

13 = Tetra-O-acetyl-tholläthosid

14 = O-Acetyl-S

16 = Tetra-O-acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal

17 = Tetra-O-acetyl-aldehydo-thollosid

18 = Präp. EWE 23 (vermutl. Gemisch, entstanden durch teilweise Entacetylierung von acetyliertem Thollosid)

19 = O-Acetyl-Q

20 = O-Acetyl-zenkosid

22 = O-Acetyl-γ

25 = Hexa-O-acetyl-ouabain

15, 21, 23, 24, 26, 27 und 28 sind nicht identifizierte, meist sehr schwache Flecke.



Fig. 12.
Fd/Be
3 Std., 20°

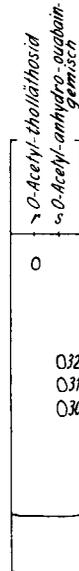


Fig. 13.
Fd/Be-Pe-(2:1)
2,5 Std., 20°

q = 0,1 mg Kristalle aus Acetyl-ouabain von Versuch 1, Tab. 17

r = 0,03 mg Tetra-O-acetyl-tholläthosid

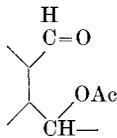
s = 0,1 mg Kristalle aus Acetyl-anhydro-ouabain von Versuch 4, Tab. 17.

30 = Präp. EWE 20 (Hepta-O-acetyl-anhydro-ouabain ?)

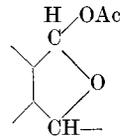
31 = Präp. EWE 21 (Hexa-O-acetyl-anhydro-ouabain ?)

29 und 32 nicht identifiziert (amorph).

alle ausser O-Acetyl-zenkosid kristallisierten. Dabei ergab sich eine Schwierigkeit. Sarmentosid A gab wie früher¹⁾¹¹⁾¹²⁾¹⁴⁾ bei der Acetylierung ein Gemisch, aus dem sich die früher als Sarmentosid-A-acetat¹²⁾ und Sarmentosid-C-acetat¹⁴⁾ bezeichneten Stoffe in Kristallen isolieren liessen. Ersteres enthielt eine Aldehydgruppe, letzteres nicht. Früher wurde angenommen, dass das zur Acetylierung verwendete Präparat ein Gemisch gewesen war. Es hat sich aber inzwischen gezeigt¹⁵⁾, dass lediglich zwei verschiedene Acetylderivate desselben Glykosids vorliegen, entspr. den zwei Formeln a) und b). Sar-



a) Tetra-O-acetyl-aldehydo-sarmentosid-A.



b) Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal.

¹⁵⁾ Vgl. spätere Mitteilung.

mentosid C¹⁴) ist also mit Sarmentosid A identisch¹⁵). Ganz gleich verhielt sich Thollosid (EWE 1) bei der Acetylierung¹⁶). Es lieferte ein Tetra-O-acetyl-aldehydo-thollosid (EWE 2), das nach UV.-Absorptionsspektrum eine freie Aldehydgruppe enthielt und ein Tetra-O-acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal (EWE 3), in dem vermutlich keine Aldehydgruppe mehr vorhanden war.

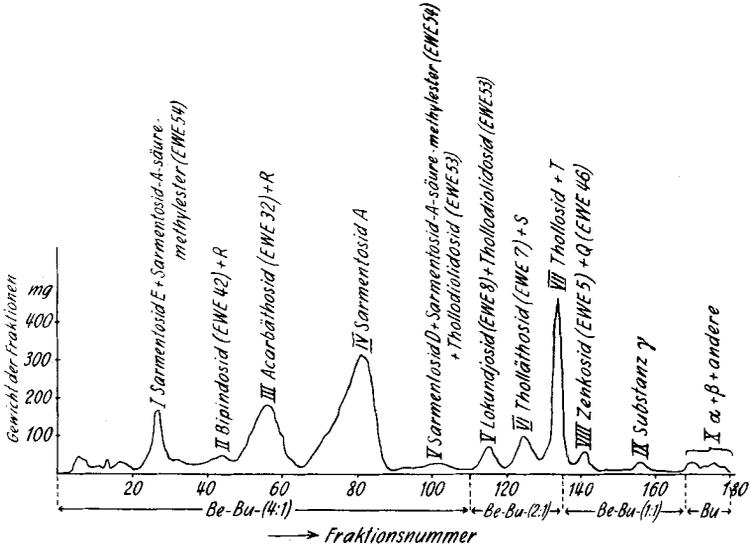


Fig. 14.

Verteilungschromatographie von 10,38 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus S. Tholloni.

Nachdem die reinen Acetylderivate der 7 genannten Stoffe zur Verfügung standen, wurden Proben der Mutterlaugenprodukte sowie der amorphen Konzentrate entweder im Mikromaßstab oder präparativ acetyliert und die Rohprodukte im Papierchromatogramm untersucht; falls neue Stoffe darin nachweisbar waren, wurden diese weitmöglichst (meist durch Chromatographie an Al_2O_3) isoliert. So gelang es, 6 weitere Glykoside in Form ihrer krist. Acetylderivate zu fassen. Eines davon war identisch mit dem bekannten O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester („Sarmentosid-A-acetatsäure-methylester“¹²). Hier wurde es an zwei Stellen erhalten, nämlich aus den Mutterlaugen von Sarmentosid E und aus den Mutterlaugen von Sarmentosid D. Die 5 weiteren krist. Acetylderivate werden als O-Acetyl-bipindosid (EWE 13), O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12), O-Acetyl-thollodioldosid (EWE 10), O-Acetyl-T und O-Acetyl-Q (EWE 6) bezeichnet.

¹⁶) Von der cyclo-Form b) sind theoretisch zwei Raumisomere möglich. Bisher wurde jeweils nur eine Form isoliert.

Lediglich bei den teilweise nur in kleiner Menge vorhandenen drei Stoffen: Subst. R (aus II und III), Subst. S (aus VI) und Subst. γ (aus IX) konnte weder das freie Glykosid noch das Acetylderivat in Kristallen isoliert werden, so dass ihre Charakterisierung sich vorzugsweise auf das Verhalten im Papierchromatogramm stützt. Von diesen drei amorphen Stoffen ist lediglich Subst. γ in praktisch reiner Form isoliert worden.

Trennung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts. Dieser Extrakt enthielt vor allem Subst. α , ferner die Hauptmenge Subst. β , von der aber insgesamt nur sehr wenig vorhanden war. Subst. β zeigte im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie Ouabain und konnte anschliessend auch eindeutig mit Ouabain identifiziert werden. Nach einigen Vorversuchen zeigte es sich, dass eine weitgehende Trennung durch Chromatographie an SiO_2 möglich ist. 3,6 g Material (entspr. 429 g Samen) wurden so chromatographiert, wobei das in Tab. 2 genannte Material resultierte (vgl. auch Tab. 19 im exper. Teil).

Tabelle 2.

Chromatographie von 3,6 g Chf-Alk-(3:2)-Extr. an SiO_2 .
(Übersicht.)

Fraktions-Nr.	Eindampfrückstand		
	Menge	Fleck im Papierchromatogramm	Habitus, bei Kristallen Smp., Menge und Art
1—4	572 mg	γ, δ, ϵ	braun, amorph, nicht untersucht
5—8	402 mg	$\beta + \gamma +$ wenig δ und ϵ	9 mg krist. Subst. β (= Ouabain), Smp. 185—188°
9—13	1,733 g	α	600 mg krist. Subst. α Zers. ab ca. 250°
14—17	284 mg	Begleiter von α	Kedde-Reaktion: positiv; amorph, braun, nicht untersucht

Die Kristallisation von Subst. α war etwas von Zufällen abhängig, was nicht mehr erstaunte, als entdeckt wurde, dass es sich bei den Kristallen um das Ca-Salz¹⁷⁾ einer Säure handelt. Die freie Säure kristallisierte nicht; Subst. α gab aber bei der Acetylierung ein krist. Derivat, das sich mit Tri-O-acetyl-sarmentosid-E als identisch erwies. Über ihre vermutliche Konstitution wird später berichtet.

¹⁷⁾ Das Ca-Ion wurde durch Papierchromatographie nach der Methode von H. T. Gordon & C. A. Hewel, *Analyt. Chemistry* **27**, 1471 (1955), nachgewiesen. Es wurde dabei nur der dem Ca entsprechende Fleck erhalten. Wir danken den Herren PD. Dr. S. Fallab und H. Seiler auch hier bestens für die Ausführung dieser Bestimmung.

Tabelle 3.
Übersicht der aus *S. Tholloni* isolierten oder darin nachgewiesenen Glykoside und ihrer Acetylderivate.

Fleck im Papier- chroma- togramm Fig. 1	Freies Glykosid			Menge 500 g Samen		Acetylderivat	
	kristallisiert	Name und Präp.-Nr.	rein isoliert in mg	insgesamt vor- handen geschätzt mg	%	Kristalli- siert	
X	+	Subst. α (krist. als Salz)	700	1100 = 0,21		+	O-Acetyl-sarmentosid-E
	+	Subst. β = Ouabain	11	50 = 0,01		+	Hexa-O-acetyl-ouabain
IX	—	Subst. γ	—	150 = 0,03		—	O-Acetyl-subst. γ
VIII	+	Zenkosid (EWE 5)	42	100 = 0,021		—	O-Acetyl-zenkosid
	—	Subst. Q (EWE 46)	—	120 = 0,024		+	O-Acetyl-Q (EWE 6)
VII	+	Thollosid (EWE 1)	918	1000 = 0,20		+	O-Acetyl-aldehydo-thollosid (EWE 2)
	—	Subst. T	—	20 = 0,004		+	O-Acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal (EWE 3)
VI	+	Tholläthosid (EWE 7)	282	350 = 0,07		—	O-Acetyl-tholläthosid (EWE 4)
	—	Subst. S	—	40 = 0,008		—	O-Acetyl-S
V	+	Lokundjosid (EWE 8)	88	180 = 0,036		+	O-Acetyl-lokundjosid (EWE 9)
	—	Thollodiosid (EWE 53)	—	30 = 0,006		+	O-Acetyl-thollodiosid (EWE 10)
	+	Sarmentosid D	137	160 = 0,032		+	O-Acetyl-sarmentosid-D
	—	Sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 54) (auch aus I)	—	50 = 0,01		+	O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 11)
IV	+	Sarmentosid A	2657	2800 = 0,56		+	O-Acetyl-aldehydo-sarmentosid-A
	—					+	O-Acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal (= Sarmentosid-C-acetat)
III	—	Acarbäthosid (EWE 32)	—	1200 = 0,24		+	O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12)
	—	Subst. R (auch aus II)	—	120 = 0,024		—	O-Acetyl-R
II	—	Bipindosid ¹⁸⁾ (EWE 42) (enth. noch Subst. R)	—	120 = 0,024		+	O-Acetyl-bipindosid (EWE 13)
I	+	Sarmentosid E	288	350 = 0,07		+	O-Acetyl-sarmentosid-E

¹⁸⁾ Dieses Glykosid wurde auch aus *S. sarmentosus var. senegambiae* (Nr. MPD 50) isoliert und ist bei dieser Gelegenheit aus Wasser kristallisiert worden (siehe Diss. B. Fechtig, Basel, die später erscheinen wird).

Die krist. Subst. β konnte nach Smp., Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm mit Ouabain identifiziert werden. Da es uns aus den früher¹⁾ angegebenen Gründen interessierte, die wirklich vorhandene Menge möglichst genau zu kennen, wurden 280 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt (entspr. 33,3 g Samen) der präparativen Papierchromatographie¹⁹⁾ unterworfen. Das gesamte Material, das Subst. β enthielt, wog 24,2 mg, war aber noch so unrein, dass es nicht kristallisierte. Zur Isolierung des Ouabains wurde dieses Material durch 1½ stündiges Erhitzen mit überschüssigem Acetanhydrid bei 130° acetyliert²⁰⁾ und das Rohprodukt an Al₂O₃ chromatographiert. Das gesamte Material, das Hexa-O-acetyl-ouabain enthielt, wog 5,1 mg und lieferte 1,1 mg reine Kristalle, die nach Smp., Mischprobe, Farbreaktionen, Papierchromatogramm und IR.-Spektrum mit authentischem Material identisch waren. Wir schätzen, dass mindestens etwa 40% der wirklich vorhandenen Menge tatsächlich isoliert wurde, dass somit in den 280 mg Extrakt ca. 2–3 mg Ouabain enthalten waren, in den ganzen 4,2 g Extrakt (aus 500 g Samen) somit ca. 30–45 mg. Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt enthielt auch noch Spuren Ouabain, aber sicher weniger als der (3:2)-Extrakt. Die gesamte Menge schätzen wir daher auf 45–65 mg pro 500 g Samen.

In Tab. 3 sind die so in reiner Form isolierten sowie die durch Papierchromatographie nachgewiesenen Glykoside aus *S. Tholloni* (total 18 Stoffe) zusammengestellt. Da die Kontrolle recht genau durchgeführt wurde, glauben wir, dass mit diesen 18 Stoffen alle Glykoside, die in den Samen in Mengen von mindestens 0,01% vorkommen, auch tatsächlich erfasst sind, ausser einigen hochpolaren Stoffen (Begleitern von Subst. α). Tab. 4 gibt eine Zusammenstellung der wichtigsten Eigenschaften der genannten 18 Glykoside und die vermutlichen Bruttoformeln.

Wie aus Tab. 4 ersichtlich, gaben 5 Stoffe positive Werte bei der Alkoxybestimmung. Beim Thollosid (EWE 1) vermuten wir, dass fest gebundenes Kristall-Methanol vorliegt, da die zwei daraus bereiteten Acetylderivate methoxylfrei waren. Die anderen 4 Stoffe: Subst. Q, Tholläthosid, Sarmentosid-A-säure-methylester und Acarbäthosid enthalten jedoch alle eine echte Alkoxygruppe. Wir vermuten, dass es sich bei diesen 4 Glykosiden um Artefakte handelt, wodurch sich die Zahl der tatsächlich aus den Samen stammenden Stoffe auf 14 reduzieren würde.

¹⁹⁾ Ausführung nach *E. v. Arx & R. Neher*, *Helv.* **39**, 1664 (1956).

²⁰⁾ In Pyridin-Acetanhydrid bei 20° liefert Ouabain Gemische verschiedener Acetyl-derivate. Mit Acetanhydrid + 1% HClO₄ in Eisessig bei 20° werden nur Anhydroderivate gebildet. Bei obigem Verfahren liefert Ouabain ein Rohprodukt, das im Papierchromatogramm fast nur den Fleck des Hexa-O-acetyl-ouabains zeigt und dieses krist. Produkt in sehr guter Ausbeute liefert.

Tabelle 4.
Die wichtigsten Eigenschaften und die vermutlichen Formeln der aus den Samen von *S. Tholloni* isolierten Stoffe.

	kri- stalli- siert	Smp.	$[\alpha]_D$	Vermutliche Bruttoformel	Alko- xyl- grup- pen	Ver- brauch an KOH	Alde- hydr, nach UV	Biolog. Wir- kung
Freie Säure aus Subst. α	—	—	—	$C_{29}H_{42}O_{12}^{21)}$				
O-Acetyl-Derivat (= O-Acetyl-sarmentosid-E)	+	295—300° 280—300°/zers.	$-18,4 \pm 2$ (Chf) $-35,7 \pm 5$ (50% Alk)	$C_{35}H_{46}O_{14}$ $C_{29}H_{41}O_{12}Ca\frac{1}{2}+H_2O$				
Subst. α	+				$^{22)}$ $^{23)}$	1 ²²⁾	$^{22)}$ $^{23)}$	$^{22)}$ $^{23)}$
Subst. β = Ouabain	+	185—188°	$-44,3 \pm 2$ (Me) ²²⁾	$C_{29}H_{44}O_{12}^{22)}$				
Hexa-O-acetyl- β	+	299—303°	$-39,6 \pm 2$ (Chf) ²³⁾	$C_{41}H_{56}O_{18}^{23)}$				
Subst. γ	—	—	—	—				
O-Acetyl- γ	—	—	—	—			?	
Zenkosid (EWE 5)	+	256—262°	$-29,9 \pm 2$ (80% Me)	$C_{29}H_{42}O_{11}$	—		+	+
O-Acetyl-zenkosid	—	—	—	—				
Subst. Q (EWE 46)	—	—	—	$C_{30}H_{44}O_{12}^{21)}$				
O-Acetyl-Q (EWE 6)	+	178—182°	$-17,7 \pm 2$ (Chf)	$C_{38}H_{52}O_{16}$	1		?	
Thollosid (EWE 1)	+	259—265°	$-16,1 \pm 2$ (80% Me)	$C_{29}H_{42}O_{11}+CH_3OH$	1		+	+
O-Acetyl-aldehydo-thollosid (EWE 2)	+	179—184°	$-31,5 \pm 2$ (Chf)	$C_{37}H_{50}O_{15}$	—		+	
O-Acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal (EWE 3)	+	176—182°	$+10,4 \pm 2$ (Chf)	$C_{37}H_{50}O_{15}+H_2O$	—		?	
Subst. T	—	—	—	—				
O-Acetyl T	+	257—260°	—	—				
Tholläthosid (EWE 7)	+	166—170°	$+6,1 \pm 2$ (80% Me)	$C_{31}H_{46}O_{12}$	1	2	—	—
O-Acetyl-tholläthosid (EWE 4)	+	158—161°	$-17,4 \pm 2$ (Chf)	$C_{39}H_{54}O_{16}$	1		—	

Nach den UV.-Absorptionsspektren (vgl. Fig. 15 und Tab. 5) glauben wir, dass die vier Stoffe Sarmentosid A, Sarmentosid D, Thollosid (EWE 1) und Zenkosid (EWE 5) eine Carbonylgruppe, vermutl. eine Aldehydgruppe enthalten²³⁾, wie dies für Sarmentosid A bewiesen ist¹²⁾. In Tab. 6 sind die relativen Rf-Werte der isolierten Glykoside und in Tab. 7 diejenigen ihrer O-Acetylverbindungen zusammengestellt. Herr Dr. K. K. Chen hatte die grosse Freundlichkeit, die Toxizität einiger der hier beschriebenen Stoffe an der Katze bei intravenöser Infusion zu prüfen²⁴⁾. Die Resultate sind in Tab. 8 zusammengestellt, wo zum Vergleich auch die früher von ihm gefundenen Werte für Ouabain und Sarmentosid A eingesetzt sind.

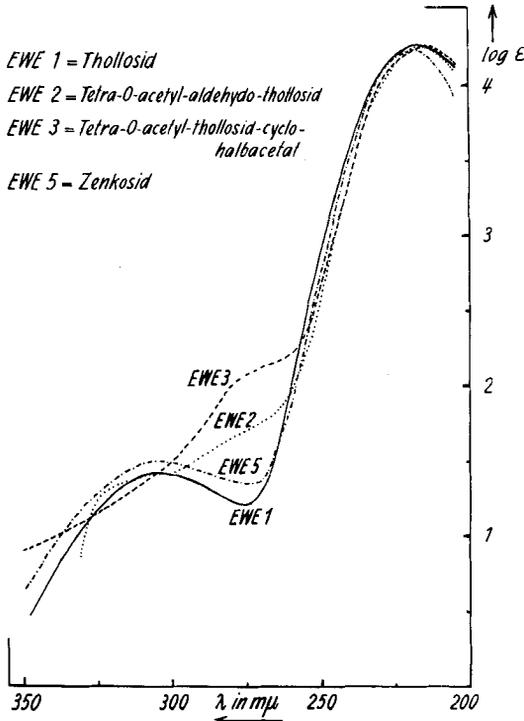


Fig. 15.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol (genaue Lage der Maxima vgl. Tab. 5)²⁵⁾.

²³⁾ Ein völlig sicherer Schluss ist eigentlich nur über die Abwesenheit einer CO-Gruppe möglich, wenn $\log \epsilon$ im Gebiet von 280–300 $m\mu$ unter 1 liegt, da kleine Mengen stark absorbierender Verunreinigungen eine CO-Gruppe vortäuschen können. Wenn aber sowohl das freie Glykosid wie das Acetylderivat ein deutliches Maximum zeigen (z. B. Sarmentosid A¹²⁾¹⁴⁾, dann darf die Anwesenheit einer CO-Gruppe mit grosser Wahrscheinlichkeit vermutet werden.

²⁴⁾ Wir danken Herrn Dr. K. K. Chen, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate. Er wird darüber später a. a. Ort berichten.

²⁵⁾ Sofern nichts anderes angegeben: aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem Unicam-SP-500-Spektrophotometer mit Photomultiplier 1 P 28.

Tabelle 5.
Lage und Höhe der Absorptionsmaxima in Alkohol²⁶⁵.

Substanz	Butenolidring λ_{\max} (log ϵ) in $m\mu$	Carbonylregion (Schwache Bande) λ_{\max} (log ϵ) in $m\mu$	log ϵ berechnet auf
Subst. α	221 (4,15)	Schwache Schulter bei 280—310 (1,79—1,50)	$C_{29}H_{41}O_{12}Ca/2 + 6 H_2O = 709,8$
O-Acetyl-Subst.- γ (amorph)	217 (4,23)	Schwache Schulter bei 280—305 (1,89—1,52)	$C_{41}H_{56}O_{18} = 836,9$
Zenkosid (EWE 5)	218 (4,23)	305 (1,52)	$C_{29}H_{42}O_{11} = 566,6$
O-Acetyl-Q (EWE 6)	217 (4,23)	Schwache Schulter bei 275—295 (1,97—1,72)	$C_{38}H_{52}O_{16} = 764,8$
Thollosid (EWE 1)	217 (4,26)	305 (1,41)	$C_{29}H_{42}O_{11} + CH_3OH = 598,7$
Tetra-O-acetyl-aldehydo-thollosid (EWE 2)	217 (4,26)	Schulter bei 305 (1,40)	$C_{37}H_{50}O_{15} + H_2O = 752,8$
Tetra-O-acetyl-thollosid-cyclo-halbacetat (EWE 3)	215 (4,25)	Schwache Schulter bei 270—280 (2,11—1,98)	$C_{37}H_{50}O_{15} + H_2O = 752,8$
Tholläthosid (EWE 7)	217 (4,29)	Schwache Schulter bei 280—300 (1,50—1,31)	$C_{31}H_{46}O_{12} + 3 H_2O = 664,7$
O-Acetyl-tholläthosid (EWE 4)	216 (4,29)	— — —	$C_{38}H_{54}O_{16} = 778,8$
Lokundjosid (EWE 8)	217 (4,24)	Schwache Schulter bei 275—290 (1,46—1,38)	$C_{29}H_{44}O_{10} = 552,64$
O-Acetyl-lokundjosid (EWE 9)	217 (4,23)	— — —	$C_{31}H_{52}O_{14} + H_2O = 738,8$

Tabelle 5 (Fortsetzung).

Substanz	Butenolidring λ_{max} (log ϵ) in $m\mu$	Carbonylregion (Schwache Bande) λ_{max} (log ϵ) in $m\mu$	log ϵ berechnet auf
O-Acetyl-thololidosid (EWE 10)	217 (4,20)	Schwache Schulter bei 270—280 (1,94—1,84)	$C_{35}H_{46}O_{14} = 690,7$
O-Acetyl-sarmentosid-D ¹⁴) ²⁶)	216 (4,20)	307,5 (1,48)	$C_{37}H_{50}O_{15} = 734,87$
O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 11)	217 (4,23)	— —	$C_{38}H_{52}O_{16} = 764,8$
Sarmentosid A ¹⁴) ²⁶)	217 (4,20)	303 (1,42)	$C_{29}H_{42}O_{11} = 566,6$
Tetra-O-acetyl-aldehydo-sarmentosid-A ¹²) ²⁶) . .	217 (4,26)	Schulter bei 290—310 (1,67—1,52)	$C_{37}H_{50}O_{15} = 734,8$
Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal (= „Sarmentosid-C-acetat“ ¹⁴) ²⁶)	216 (4,19)	— —	$C_{37}H_{50}O_{15} + H_2O = 752,98$
Tetra-O-acetyl-acarbothosid (EWE 12)	217 (4,22)	— —	$C_{39}H_{54}O_{16} = 778,8$
O-Acetyl-bipinosid (EWE 13).	217 (4,27)	— —	$C_{37}H_{52}O_{14} + 3 H_2O = 774,8$
O-Acetyl-sarmentosid-E ¹⁴) ²⁶)	216 (4,21)	— —	$C_{35}H_{46}O_{14} = 690,7$

²⁶) Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem „Beckman-Quarz-Spektrophotometer Modell DU“.

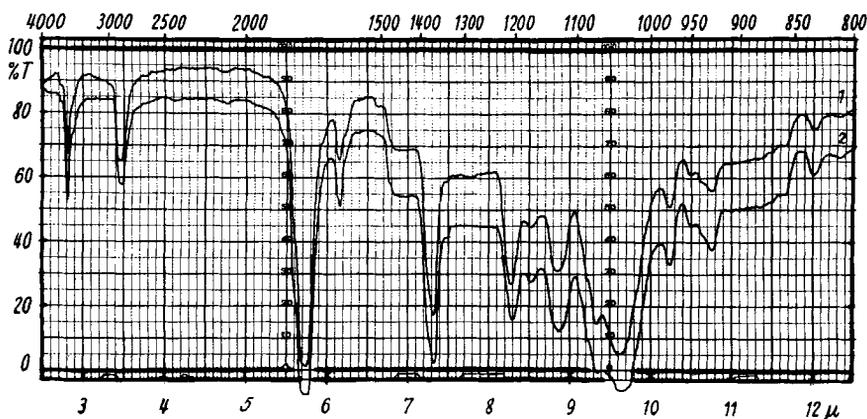


Fig. 16.

IR.-Absorptionsspektrum in CH_2Cl_2 ²⁷⁾.

Kurve 1 = O-Acetyl- β ; Kurve 2 = Hexa-O-acetyl-ouabain, authentisch.

Kurve 2 ist um 10 Einheiten nach unten versetzt.

Tabelle 6.

Relative Rf-Werte der freien Glykoside im Papierchromatogramm bezogen auf Sarmentosid E = 0,32 für das erste und 0,67 für das zweite System²⁸⁾.

Substanz	System		Substanz	System	
	To-Bu-(2:1)/W	Bu/W		To-Bu-(2:1)/W	Bu/W
Sarmentosid E	0,32	0,67	Tholläthosid (EWE 7)	0,09	0,56
Bipindosid (EWE 42) .	0,28	↓	Thollosid (EWE 1) .	0,05	↓
Acarbäthosid (EWE 32)	0,22	↓	Zenkosid (EWE 5) .	0,04	0,52
Sarmentosid A	0,16	↓	Subst. γ ²⁹⁾	0,03	0,42
Sarmentosid D	0,12	↓	Ouabain (β)		0,28
Lokundjosid (EWE 8) .	0,12	0,63	Subst. α		0,12

Von den vier vermutlichen Aldehyden zeigen somit nur Sarmentosid A und Thollosid sehr starke Wirksamkeit. Von den aldehydfreien Glykosiden ausser dem bekannten aber in *S. Tholloni* nur in Spuren vorkommenden Ouabain sind Lokundjosid und Bipindosid besonders toxisch.

²⁷⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem Perkin-Elmer-double-beam-Spektrophotometer Modell 21. Die Regionen der Absorption des CH_2Cl_2 sind in Fig. 16 auf der Grundlinie markiert.

²⁸⁾ Die in Tab. 6 enthaltenen Rf-Werte entsprechen im Mittel denjenigen, die wirklich gefunden wurden. Die absoluten Werte schwanken aber. Sie wurden daher auf Sarmentosid E bezogen, für das im Mittel 0,32 bzw. 0,67 gefunden wurde.

²⁹⁾ Subst. γ zeigt in diesen Systemen eine fast gleiche Laufstrecke wie Acolongiflorosid K (vgl. P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1740 (1951)), dessen krist. Acetylderivat im System Be-Chf 7:5/Fd jedoch ca. siebenmal langsamer läuft als Acetyl- γ .

Tabelle 7.
Relative Laufstrecken der Acetylderivate im Papierchromatogramm.

Substanz	System		Substanz	System	
	Be/Fd	R _{Hexa-O-acetyl-ouabain}		Be/Fd	R _{Hexa-O-acetyl-ouabain}
	R _{Hexa-O-acetyl-ouabain}			R _{Hexa-O-acetyl-ouabain}	
O-Acetyl-lokundjostid (EWE 9)	1,85		O-Acetyl-R	0,55	
O-Acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal (EWE 3)	1,78		Penta-O-acetyl-Derivat von NaBH ₄ -Reduktionsprodukt aus Sarmentosid A ¹⁵⁾	0,55	
O-Acetyl-tholläthosid (EWE 4)	1,65		O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methyl ester (EWE 11)	0,44	1,28
O-Acetyl-S	1,19		Tetra-O-acetyl-aldelhydro-sarmentosid-A	0,23	1,00
O-Acetyl-γ	1,17		O-Acetyl-sarmentosid-D	0,21	0,90
Hexa-O-acetyl-ouabain	1,00		O-Acetyl-thollidollosid (EWE 10)		0,60
O-Acetyl-Q (EWE 6)	0,98		Präp. EWE 23 ³⁰⁾		0,47
Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal (= „Sarmentosid-C-acetat“)	0,86		O-Acetyl-sarmentosid-E		
O-Acetyl-bipindosid (EWE 13)	0,83				
O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12)	0,79				
O-Acetyl-aldelhydro-thollosid (EWE 2)	0,60				
O-Acetyl-T	0,60				
O-Acetyl-zenkosid	0,60				

³⁰⁾ Während der Chromatographie an Al₂O₃ partiell desacetyliertes O-Acetyl-thollosid (event. Gemisch; liefert bei Reacetylierung wieder EWE 2 und EWE 3).

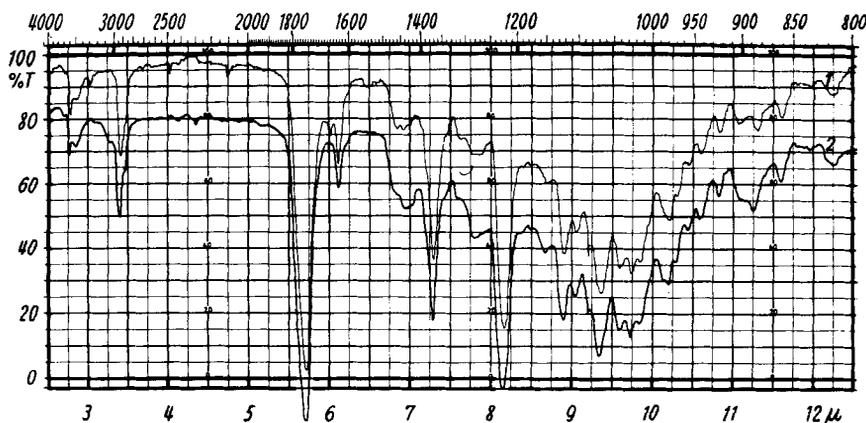


Fig. 17.

IR.-Absorptionsspektrum in CH₂Cl₂²⁷⁾.

Kurve 1 = O-Acetyl-α; Kurve 2 = Tri-O-acetyl-sarmentosid-E, authentisch.
Kurve 2 ist um 10 Einheiten nach unten versetzt.

Tabelle 8.

Resultate der biologischen Prüfung²⁴⁾ an der Katze.

Substanz	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg Katze ± Standard error
Sarmentosid E	3	vermutlich unwirksam ¹⁾
Bipindosid (BF 2) ³¹⁾	10	0,1031 ± 0,0042
Acarbäthosid (EWE 32)	3	unwirksam bis 7,475
Sarmentosid A	10	0,0967 ± 0,0037 ¹⁾¹⁴⁾
Sarmentosid D	3	2,963 ± 0,0456
Lokundjosid (EWE 8)	5	0,1074 ± 0,0044
Tholläthosid (EWE 7)	2	unwirksam bis 3,696 ³²⁾
Thollosid (EWE 1)	10	0,1027 ± 0,0061
Zenkosid (EWE 5)	1	höchstens schwach ³³⁾
Ouabain (Subst. β)	40	0,122 ± 0,002 ³⁴⁾
Subst. α	?	unwirksam bis 4,831 ³⁵⁾

³¹⁾ Es handelt sich um ein von Herrn B. Fechtig aus den Samen von *S. sarmentosus* var. *senegambiae* (Nr. MPD 50) isoliertes und aus Wasser kristallisiertes Präparat; vgl. Diss. B. Fechtig, Basel, die später erscheinen wird.

³²⁾ Herr Dr. K. K. Chen schrieb uns dazu am 10. 9. 55: „Your glycoside EWE 7 is inactive in both cats and frogs. In one cat a total dose of 3,696 mg did not kill. A second cat died with a dose of 10,538 mg/kg but death could have been due to the excessive amount of ethyl alcohol, which was 11,93 ml. In frogs the dose ranged from 17,73 to 60,06 mg/kg. There was no systolic standstill of the ventricle.“

³³⁾ Von diesem Stoff konnten nur 1,5 mg zur Prüfung abgegeben werden. Herr Dr. Chen schrieb uns am 29. 6. 56: „A frog receiving a dose of 20,83 mg/kg gave a ± response. One cat given 0,8987 mg/kg by slow intravenous injection did not die, although there was a decrease in heart rate. This glycoside has a doubtful cardiac action.“

³⁴⁾ K. K. Chen, A. L. Chen & R. C. Anderson, J. Amer. pharmac. Assoc. **25**, 579 (1936).

³⁵⁾ An Fröschen unwirksam bis zu 32,75 mg/kg, Brief von Dr. F. G. Henderson vom 7. 8. 56.

Tabelle 9.

Färbungen mit H_2SO_4 auf weisser Porzellan-Tüpfelplatte nach angegebener Zeit
(offen bei 20° stehengelassen).

Zeit	O-Acetyl-R (amorph)			
	84-proz. H_2SO_4		konz. H_2SO_4	
15''	farblos		blass rosa	
1'	farblos		blass orange	
2'	farblos		orange	
5'	farblos		braun-orange	
10'	farblos		weinrot	
30'	farblos		rötlich violett	
1 h	farblos		blaugrau	
2 h	farblos		graugrün	
5 h	farblos		graugrün	
	Bipindosid (BF 2) ³¹⁾		O-Acetyl-bipindosid (EWE 13)	
	84-proz. H_2SO_4	konz. H_2SO_4	84-proz. H_2SO_4	konz. H_2SO_4
15''	gelb	goldgelb	gelb	gelb
1'	orange	braun-gelb	goldgelb	goldgelb
2'	braun-orange	braun-gelb	braun-orange	braun-orange
5'	dunkel rotbraun	braun	braun	braun-orange
10'	rötlich violett	braun	dunkel-braun	braun-orange
30'	violett	dunkel braun	violett	schmutzig rotbr.
1 h	violett	dunkel braun	violett	rötlich violett
2 h	schmutzig violett	violett	violett	violett
5 h	schmutzig violett	schmutzig blau	violett	blau
7 h	—	—	violett	blaugrün
	O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12)		O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 11)	
15''	farblos	blass orange	farblos	blass rosa
1'	farblos	orange	farblos	orange
2'	farblos	orange	farblos	orange
5'	farblos	rosa	farblos	rosa
10'	farblos	rötlich violett	farblos	hell violett
30'	farblos	dunkel blau	farblos	blau
1 h	farblos	dunkel blau	farblos	blau
2 h	farblos	dunkel blau	farblos	blau
5 h	farblos	dunkel blau	farblos	blau
7 h	farblos	dunkel blaugrün	farblos	blaugrün

Tabelle 9 (Fortsetzung).

Zeit	Lokundjosid (EWE 8)		O-Acetyl-lokundjosid (EWE 9)	
	84-proz. H ₂ SO ₄	konz. H ₂ SO ₄	84-proz. H ₂ SO ₄	konz. H ₂ SO ₄
15''	gelb	gelb	wie EWE 8	wie EWE 8
1'	orange	braun-orange	wie EWE 8	wie EWE 8
2'	orange	braun-orange	wie EWE 8	wie EWE 8
5'	braun-orange	braun	wie EWE 8	wie EWE 8
10'	braun-orange	braun	wie EWE 8	wie EWE 8
30'	hell violett	hell violett	wie EWE 8	wie EWE 8
1 h	violett	violett	wie EWE 8	wie EWE 8
2 h	violett	blauviolett	wie EWE 8	wie EWE 8
5 h	schmutzig violett	graugrün	wie EWE 8	wie EWE 8
	Tholläthosid (EWE 7)		O-Acetyl-tholläthosid (EWE 4)	
15''	farblos	blass rosa	farblos	blass rosa
1'	farblos	rosa	farblos	hell orange
2'	farblos	rosa	farblos	intensiv orange
5'	farblos	hell violett	farblos	rot orange
10'	farblos	violett	farblos	zinnerber
30'	farblos	blau	farblos	violett-rot
1 h	farblos	hellblau	farblos	leuchtend blau
2 h	farblos	blass grünlich	farblos	hell blau
5 h	—	—	farblos	stumpf blaugrün
	O-Acetyl-tholldiolidosid (EWE 10)		Thollosid (EWE 1)	
15''	farblos	rosa	zitronengelb	gleich wie 84-proz.
1'	farblos	bläulich rot	braunrot	gleich wie 84-proz.
2'	farblos	bläulich rot	dunkel braunrot	gleich wie 84-proz.
5'	farblos	bläulich rot	dunkel braun	gleich wie 84-proz.
10'	farblos	bläulich rot	dunkel braun	gleich wie 84-proz.
30'	farblos	dunkel braun	grünlich braun	gleich wie 84-proz.
1 h	farblos	dunkel grün	grünlich braun	gleich wie 84-proz.
2 h	farblos	dunkel grün	schmutzig blaugrün	gleich wie 84-proz.
5 h	farblos	dunkel grün	schmutzig olivgrün	gleich wie 84-proz.
	Tetra-O-acetyl-thollosid-cyclo-halb-acetal (EWE 3)		Tetra-O-acetyl-aldehydo-thollosid (EWE 2)	
15''	gelb	gelb	gelb	gelb-braun
1'	orange	orange	hellbraun	rotbraun
2'	orange	orange	hellbraun	rotbraun
5'	orange	rötlich orange	dunkel braun	dunkel braun
10'	rötlich orange	rötlich orange	dunkel braun	dunkel braun
30'	braun	braun	grünlich braun	grünlich braun
1 h	hellgrün	hellbraun	dunkel grün	grünlich braun
2 h	hellgrün	grünlich braun	dunkel grün	grünlich braun
5 h	hell olivgrün	hell olivgrün	hell grün	olivgrün

Tabelle 9 (Schluss).

Zeit	Zenkosid (EWE 5)		O-Acetyl-Q (EWE 6)	
	84-proz. H ₂ SO ₄	konz. H ₂ SO ₄	84-proz. H ₂ SO ₄	konz. H ₂ SO ₄
15"	blassgelb	gelb	farblos	blassgelb
1'	gelb orange	bräunlich orange	farblos	blass orange
2'	orange	bräunlich orange	farblos	orange
5'	hell rotbraun	rot	farblos	hellrot
10'	hellbraun	rotbraun	farblos	hellrot
30'	hellbraun	braun	farblos	rotviolett
1 h	hellbraun	braun	farblos	blau
2 h	hellbraun	braun	farblos	blau
5 h	hellbraun	braun	farblos	hellgrün
	O-Acetyl- γ (amorph)		Substanz α	
15"	farblos	gelb	farblos	blassgelb
1'	farblos	goldgelb	farblos	orange
2'	farblos	orange	farblos	rötlich orange
5'	farblos	orange	farblos	weinrot
10'	farblos	rot	farblos	rötlich violett
30'	farblos	rot	farblos	violett
1 h	farblos	bräunlich rot	farblos	violett
2 h	farblos	braun	farblos	schmutzig violett
5 h	farblos	grünlich schwarz	farblos	grünlich grau
7 h	farblos	schmutzig d'grün	—	—

In Tab. 9 sind noch die Färbungen der isolierten Stoffe und ihrer O-Acetyl-derivate mit 84-proz. und konz. H₂SO₄ zusammengestellt. Sie sind zuweilen zur Charakterisierung oder Differenzierung sehr nützlich.

Der eine von uns (E. W.) dankt für einen Beitrag aus einem *Eli Lilly* Research Grant, der ihm die Ausführung der 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 1 Std. bei 0,01 Torr und 60–70° getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 110° über P₂O₅. Bei den hygroskopischen Stoffen erfolgte die Einwaage im Schweinchen und ist dann vermerkt. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf-Ae-(1:3) (oder anderem Lösungsmittel, sofern angegeben), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Adsorptionschromatographie nach der Durchlaufmethode³⁶⁾ an Al₂O₃, das ohne Anwendung von Säure von Alkali befreit³⁷⁾, aber bei nur 180° reaktiviert wurde. Verteilungschromatographie³⁸⁾, Papierchromato-

³⁶⁾ T. Reichstein & C. W. Shoppee, Disc. Trans. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

³⁷⁾ J. v. Eeuw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. 27, 1287, S. 1292, Fussnote 2 (1944).

³⁸⁾ H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. 36, 357 (1953).

graphie mit entsäuertem Formamid³⁹⁾ oder W⁴⁰⁾ als ruhender Phase, Entwicklung mit *Kedde*-Reagens⁴¹⁾ und Ausführung der Tüpfelprobe³⁹⁾ nach früheren Angaben.

Für die Lösungsmittel werden die folgenden Abkürzungen benützt: Ae = Äther, Ac₂O = Acetanhydrid, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Di = Dioxan, Fd = entsäuertes Formamid³⁹⁾, Me = Methanol, Pe = Petroläther (Sdp. 45–55°), Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

Ausführung der Lacton- und Ester-Titrationen (durch Herrn *E. Flury*, Mikrolabor unseres Instituts). Ca. 10 mg Subst. wurden 2 Std. mit 0,2-n. alkoholischer, carbonatfreier KOH (in N₂) unter Rückfluss gekocht. Dann wurde potentiometrisch mit Glaselektrode mit 0,03-n. H₂SO₄ titriert. Ein Testversuch mit Digitoxigenin ergab einen Verbrauch von 1,06 Äquiv. KOH.

Ausführung der Mikroacetylierung mit Py-Ac₂O. 1 mg Subst. (krist. oder amorph) wurde mit 0,1 cm³ abs. Py und 0,08 cm³ Ac₂O 16 Std. bei 36° oder 48 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand diente direkt zur Papierchromatographie.

Mikroacetylierung ohne Py bei 135° (besonders für Ouabain etc. geeignet). 1 mg Subst. und 0,2 cm³ Ac₂O wurden im Ölbad 1 Std. auf 135° (Badtemp.) erhitzt und dann im Vakuum eingedampft.

Extraktion der Samen und Vortrennung der Extrakte (ausgeführt im Juni 1954). Die 500 g Samen wurden nach früherer Vorschrift⁴²⁾ extrahiert und gaben die in Tab. I genannten Ausbeuten. Von der verbliebenen wässrigeren Phase wurden 10 cm³ im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Me angerieben. Die Me-Lösung gab mit *Kedde*-Reagens keine Färbung mehr, daher wurde das Material verworfen.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. Dieses Material gab Kristalle, die jedoch wie früher¹⁾ ein Gemisch darstellten. Sie wurden daher nicht abgetrennt. Der Gesamtextrakt gab im Papierchromatogramm im System W/Bu 2 starke und 3 schwache Flecke (a in Fig. 2). Im System W/To-Bu-(2:1) liessen sich jedoch 10 Flecke erhalten (a in Fig. 1).

Verteilungschromatographie. 10,4 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. (entspr. 490 g Samen) wurden der Verteilungschromatographie³⁸⁾ unterworfen. Es wurde Säule Nr. 4 verwendet, die mit 3 kg Kieselgur-W-(1:1), suspendiert in Be-Bu-(4:1) gefüllt und mit diesem Gemisch gründlich nachgewaschen worden war. Die 10,4 g Extrakt wurden in Me gelöst, mit 70 g trockener gereinigter³⁸⁾ Kieselgur vermischt und im Vakuum unter Schütteln rasch getrocknet. Das Pulver wurde mit 70 cm³ W vermischt, mechanisch gut homogenisiert und auf die Säule gegeben. Dann wurde sofort mit der Chromatographie begonnen. Zum Eluieren diente für Fr. 1–109 Be-Bu-(4:1), für Fr. 110–134 Be-Bu-(2:1), für Fr. 135–167 Be-Bu-(1:1) und für die Fr. 168–181 reines Bu, jeweils mit W gesättigt. Es wurden Fraktionen von je ca. 550 cm³ (je ca. 8 Std.) abgetrennt. Die Temp. war 15–18°. Die papierchromatographische Prüfung erfolgte bei Fr. 1–150 im System W/To-Bu-(2:1), bei den späteren im System W/Bu. Über das Ergebnis orientieren Fig. 14 und Tab. 10.

Die Fr. 1–23 gaben meist nur schwache *Kedde*-Reaktion. Sie lieferten keine Kristalle und wurden nicht weiter untersucht.

Die Fr. 24–28 gaben aus Me-Ae 238 mg krist. Sarmenosid E. Mikroacetylierung einer Kristallprobe gab nur den Fleck von Acetyl-sarmenosid-E ($R_{Acetyl-sarm.-D} = 0,47$). Von den vereinigten Mutterlaugen (276 mg) wurden 214 mg mit 2,7 cm³ abs. Py und 2,2 cm³ Ac₂O 2 Tage bei 23° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 202 mg neutrales Rohprodukt. Dieses gab aus An-Ae 27 mg Acetyl-sarmenosid-E vom Smp. 310–315°. Der Mutterlaugenrückstand (175 mg) enthielt nach Papierchromatogramm (vgl. Fig. 4) ausser Acetyl-sarmenosid-E noch ein ca. 5–6mal rascher laufendes Acetyl-Derivat. Er wurde an 8 g Al₂O₃ chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 18 cm³ der in Tab. 11 genannten Lösungsmittel.

³⁹⁾ O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 108 (1951).

⁴⁰⁾ E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **37**, 680 (1954).

⁴¹⁾ J. E. Bush & D. A. H. Taylor, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).

⁴²⁾ J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1821 (1951).

Tabelle 10.
Verteilungschromatographie von 10,4 g Chf-Alk-(2:1)-Extr.

Fraktionsnummer	Eindampfrückstand				
	roh		Daraus erhaltene Kristalle		
	Menge in mg	Fleck im Papierchromatogramm	Menge in mg	Smp. nach Umkristallisieren	Fleck im Papierchromatogramm und Kristallform
1—23	446	—	—	—	
24—28	537	I	288	265—268°	I flache Nadeln
29—39	340	I + II	—	—	
40—44	199	II	—	—	
45—50	274	II + III	—	—	
51—60	1406	III	—	—	
61—65	166	III + IV	—	—	
66—87	3073	IV	2657	236—240°	IV Nadeln in Drusen
88—92	58	IV + V	—	—	
93—108	299	V	137	297—303°	V Nadeln
109—111	32	V	—	—	
112—118	295	V	88	268—274°	V Prismen
119—121	55	V + VI	—	—	
122—127	444	VI	124	166—171°	VI Nadeln
128—129	81	VI + VII	—	—	Kristallgemisch
130—136	1310	VII	918	259—265°	VII Prismen
137—138	59	VII + VIII	—	—	
139—144	201	VIII	42	256—262°	VIII Nadeln
145—152	75	VIII + IX	—	—	
153—160	134	LX bzw. γ	—	—	
161—173	162	γ + andere	—	—	
174—179	105	β + andere	—	—	
180—181	15	kürzer als β	—	—	
Rest ⁴³⁾	699	laufende Flecke ⁴⁴⁾	—	—	

Tabelle 11.
Chromatographie von 175 mg Acetatgemisch aus Verteilungsfractionen 24—28.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus, bei Kristallen Menge in mg und Smp.
1—3	Be-Chf-(1:4)	46,5	amorph, <i>Kedde</i> : negativ
4—6	Chf	9,0	1,6 mg Spiesse, 270—280°
7—14	Chf-Me-(99,5:0,5)	77,6	52 mg Nadeln, 307—310°
15—18	Chf-Me-(99:1)	2,0	amorph
19—20	Chf-Me-(98:2)	3,0	amorph
21—22	Chf-Me-(96:4)	5,0	amorph

⁴³⁾ Mit Me heruntergewaschen.

⁴⁴⁾ Enthielt noch etwas α und ähnlich laufendes Material, vermutlich relativ viel Oxydationsprodukte von Aldehyden. Nicht weiter untersucht.

Die Fr. 4—6 des Al_2O_3 -Chromatogramms gaben aus Me-Ae 1,6 mg O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (= EWE 19) in farblosen Spiessen, Smp. 270—280°. Die 52 mg Nadeln aus den Fr. 7—14 waren identisch mit O-Acetyl-sarmentosid-E.

Die Fr. 29—39 (320 mg) waren nach Papierchromatogramm ein Gemisch (sie gaben die Flecken I + II). Sie wurden in 4 cm³ abs. Py und 3,3 cm³ Ac_2O 2 Tage bei 23° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 324 mg neutrales Acetatgemisch, das an 25 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 30 cm³ der in Tab. 12 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 12.

Chromatographie von 324 mg Acetatgemisch aus Verteilungsfractionen 29—39.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg roh	Habitus, bei Kristallen Menge, Smp. und Form
1—15	Be-Chf-(1:2) und Chf	13,6	amorph
16—18	Chf-Me-(99,5:0,5)	30,2	amorph
19—20	Chf-Me-(99:1)	41,5	10,2 mg, 282—286°, Spiesse in Drusen
21—23	Chf-Me-(99:1)	18,8	
24—26	Chf-Me-(98:2)	121,0	84 mg, 302—306°, Nadeln in Drusen
27—32	Chf-Me-(96:4)	23	

Die Fr. 19—20 gaben aus Me-Ae 10,2 mg rohen O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 19), der nach Papierchromatogramm noch etwas O-Acetyl-bipindosid (EWE 13) enthielt. Auch die Mutterlaugen dieser Kristalle gaben im Papierchromatogramm die entsprechenden 2 Flecke. Die Fr. 24—26 gaben aus Me-Ae 84 mg O-Acetyl-sarmentosid E.

Die Fr. 40—44 (199 mg) des Verteilungschromatogramms waren nach Papierchromatogramm einheitlich, lieferten aber keine Kristalle. Sie wurden wie oben 2 Tage bei 23° acetyliert und das neutrale Rohprodukt (240 mg) an Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf-(1:4) eluierten Anteile (30,2 mg) enthielten nach Papierchromatogramm neben wenig O-Acetyl-bipindosid vorwiegend O-Acetyl-R; sie gaben bisher keine Kristalle. Die mit Chf eluierbaren Anteile (106,4 mg) gaben aus Me-Ae 59 mg O-Acetyl-bipindosid (EWE 13) in feinen Nadeln vom Smp. 158—163°. Aus den späteren Fraktionen liessen sich nur noch 2 mg Kristalle, Smp. 303—307° (vermutlich O-Acetyl-sarmentosid-E) isolieren. Diese Fraktionen gaben aber im Papierchromatogramm noch zwei langsam wandernde Flecke. Es handelt sich vermutlich um partiell durch das Alk-haltige Chf auf der Al_2O_3 -Säule entacetyliertes O-Acetyl-bipindosid, denn diese Fraktionen lieferten nach Mikro-Nachacetylierung wieder einen starken, dem O-Acetyl-bipindosid entsprechenden Fleck.

Die amorphen Fr. 45—50 (274 mg) gaben im Papierchromatogramm die Flecke II + III. Da die entsprechenden Acetylderivate (EWE 13 und EWE 12) sich auch schwer trennen lassen, wurde dieses Material nicht weiter untersucht.

Die Fr. 51—60 (total 1,406 g) gaben im Papierchromatogramm nur einen Fleck (III), liessen sich aber nicht kristallisieren. Sie enthielten alle als Hauptprodukt Acarbäthosid, das sich in Form des krist. Acetylderivats leicht daraus isolieren liess. Daneben liess sich durch Papierchromatographie in kleiner Menge noch O-Acetyl-R nachweisen. Zur Untersuchung wurden die ersten drei (51—53) und die letzten zwei (59—60) Fraktionen für sich acetyliert und die mittleren (54—58) nur durch Chromatographie an SiO_2 gereinigt. Die Fr. 51—53 (321 mg) gaben nach Acetylierung 410 mg Rohprodukt und daraus aus Me-Ae 216 mg krist. O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12) vom Smp. 244—247°. Der Mutterlaugen-

rückstand (194 mg) wurde an Al_2O_3 chromatographiert und lieferte noch 30 mg krist. O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12) von derselben Reinheit, zusammen somit 246 mg. Die Fr. 59—60 (201 mg) lieferten 260 mg rohes Acetylierungsgemisch, daraus aus Me-Ae 143 mg reines krist. O-Acetyl-acarbäthosid, Smp. 245—248°. Die Mutterlaugensubstanz (117 mg) gab im Papierchromatogramm (vgl. d in Fig. 5) ausser dem Fleck von EWE 12 noch einen mittelstarken Fleck von O-Acetyl-R, sowie noch einen sehr schwachen, ganz langsam wandernden Fleck. Zur Trennung wurde an 12 g Al_2O_3 chromatographiert; zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 12 cm³ der in Tab. 13 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 13.

Chromatographie von 114 mg amorphem Acetylierungsgemisch aus Verteilungsfractionen 59—60.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Fleck im Papierchromatogramm (Fig. 5)	Habitus, bei Kristallen, Menge, Form und Smp.
1—11	Be-Chf-(7:3)—(3:2)	6,7	O-Acetyl-R (Fleck 4) EWE 12 (Fleck 6)	amorph
12—26	Be-Chf-(1:1)—(1:2)	21,8		amorph
27—36	Be-Chf-(1:3)—Chf	26,5		13,6 mg Nadeln, 244—247°
37—44	Chf-Me-(99,5:0,5)—(99:1)	28,7	Fleck 7	amorph
45—50	Chf-Me-(98:2)—(96:4)	6,5		amorph

Das Material der Al_2O_3 -Chromatogramms-Fr. 12—26 gab nach Mikroacetylierung wieder denselben Fleck (O-Acetyl-R). Die Kristalle aus Fr. 27—36 waren O-Acetyl-acarbäthosid.

Die Fr. 54—58 des Verteilungschromatogramms (zusammen 810 mg) wurden an 22,8 g SiO_2^{45} chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je ca. 80 cm³ der in Tab. 14 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 14.

Chromatographie der Verteilungsfractionen 54—58 an SiO_2 .

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Habitus	Flecke im Papierchromatogramm nach Mikroacetylierung (analog Fig. 5)
1—4	Chf-Me-(19:1)-(9:1)	13	braun, amorph	EWE 12 + O-Acetyl-R
5	Chf-Me-(9:1)	99	fast weisser Schaum	
6	Chf-Me-(9:1)	196	„	EWE 12 + O-Acetyl-R
7	Chf-Me-(17:3)	168	„	
8	Chf-Me-(17:3)	170	„	EWE 12 + O-Acetyl-R
9	Chf-Me-(17:3)	68	„	EWE 12 + O-Acetyl-R + Fleck 7
10	Chf-Me-(7:3)	55	„	

⁴⁵⁾ SiO_2 engporig 0,15—0,3 mm gekörnt „für Chromatographie“, bezogen von Dr. Bender & Dr. Hobein A.G., Zürich 42.

In den Fr. 5—8 des SiO_2 -Chromatogramms lag somit ein Gemisch vor, das vorwiegend Acarbäthosid und wenig Subst. R enthielt.

Die Fr. 61—65 des Verteilungschromatogramms waren ein Gemisch und wurden nicht getrennt.

Die Fr. 66—87 des Verteilungschromatogramms gaben aus Me-Ae 2,657 g krist. Sarmentosid A vom Smp. 236—240°. Sowohl die Fr. 66—68 wie die Fr. 86—87 lieferten nach Acetylierung und Chromatographie an Al_2O_3 die zwei entsprechenden Acetylderivate.

Die Fr. 88—92 waren nach Papierchromatographie ein Gemisch von vorwiegend Sarmentosid A und D. Sie wurden nicht getrennt.

Die Fr. 93—108 (299 mg) gaben aus Me-Ae 137 mg Sarmentosid D in Nadeln vom Smp. 297—303°. Die Mutterlaugen (151 mg) wurden mit Py und Ac_2O 2 Tage bei 22° acetyliert. Das Rohprodukt (181 mg) gab im Papierchromatogramm (Fig. 6) neben einem langen Fleck (O-Acetyl-D und O-Acetyl-thollodiolidosid) noch den bedeutend schneller wandernden Fleck von O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 11). Es wurde an 8 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 18 cm^3 der in Tab. 15 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 15.

Chromatographie von 181 mg Acetatgemisch
aus den Verteilungsfractionen 93—108 an Al_2O_3 .

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Fleck im Papierchromatogramm (Fig. 6)	Habitus, bei Kristallen Menge, Form, Smp.
1—2	Chf	112,0	EWE 11 (Fleck 1)	amorph, braun
3—6	Chf	31,5	O-Acetyl-D + EWE 11	14 mg längliche Blättchen, 207—217°/287—293° = O-Acetyl-D
7	Chf-Me-(99:1)	3,2		Krist. Gemisch
8—10	Chf-Me-(99:1)	24,0	EWE 10 und andere	12,4 mg Blättchen, 321—326°
11—16	Chf-Me-(98:2)-(96:4)	3,5		amorph

Die Fr. 3—6 gaben 14 mg O-Acetyl-sarmentosid D und die Fr. 8—10 lieferten aus An-Ae 12,4 mg O-Acetyl-thollodiolidosid (EWE 10). Zur Isolierung des sehr rasch wandernden O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylesters (EWE 11) wurden die Fr. 1—2 und die Mutterlaugen der Fr. 3—6 vereinigt (124 mg) und nochmals an 4 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf und reinem Chf eluierbaren Anteile (50,7 mg) gaben aus An-Ae 18 mg papierchromatographisch reinen O-Acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 11) in Nadeln vom Smp. 285—289°.

Die Fr. 109—111 des Verteilungschromatogramms wurden nicht getrennt; sie waren ein Gemisch von vorwiegend Sarmentosid D und Lokundjosid, die im Papierchromatogramm zusammen nur den einen Fleck V gaben.

Die Fr. 112—118 (295 mg) gaben aus Me-Ae 88 mg krist. Lokundjosid (EWE 8) in Prismen vom Smp. 268—274°. 179 mg aus den Mutterlaugen wurden mit Py und Ac_2O 2 Tage bei 20° acetyliert. Das Rohprodukt (201 mg) gab im Papierchromatogramm (Fig. 7) vier Flecke (Nr. 9—12), von denen der schnellst wandernde (Nr. 10 = O-Acetyl-lokundjosid) sehr stark war. Es wurde an 20 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 20 cm^3 der in Tab. 16 genannten Lösungsmittel.

Die Fr. 9—10 gaben aus Me-Ae 7,7 mg nicht ganz reines O-Acetyl-lokundjosid und die Fr. 11—22 52,1 mg reines Material. Die Fr. 28—29 gaben aus An-Ae 5,1 mg O-Acetyl-thollodiolidosid (EWE 10).

Tabelle 16.

Chromatographie von 201 mg Acetatgemisch
aus den Verteilungsfractionen 112—118 an Al_2O_3 .

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Papierchromatogramm, vgl. Fig. 7	Habitus, bei Kristallen Menge, Form und Smp.
1—6	Be-Chf-(2:1)	15,7		amorph
7—8	Be-Chf-(2:1)	14,9	Nr. 11 + (EWE 9)	amorph
9—10	Be-Chf-(2:1)	20,0	EWE 9 + (Nr. 11)	7,7 mg Blättchen 166—172 ^o
11—22	Be-Chf-(2:1)-(1:4)	67,2	EWE 9	52,1 mg Blättchen 170—175 ^o
23—27	Be-Chf-(1:4)-Chf	10,3	Nr. 12 + (EWE 9)	amorph
28—29	Chf-Me-(98:2)	30,0	EWE 10 + Nr. 12	5,1 mg Blättchen 319—329 ^o
30—35	Chf-Me-(98:2)-(90:10)	26,2		amorph

Die Fr. 119—121 des Verteilungschromatogramms waren Gemische; sie wurden nicht weiter getrennt.

Die Fr. 122—127 (444 mg) des Verteilungschromatogramms gaben erst nach längerer Zeit Kristalle, nachdem die Fr. 125—127 bereits acetyliert worden waren. Die Fr. 122—124 (196 mg) gaben aus Me-Ae 124 mg Tholläthosid (EWE 7) in Nadeln vom Smp. 166—171^o. Die Fr. 125—127 (248 mg) wurden mit Py und Ac_2O 16 Std. bei 30^o acetyliert. Das Rohprodukt (316 mg) gab im Papierchromatogramm (Fig. 8) drei Flecke (13—15). Es wurde an Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf-(1:1)-(1:4) eluierbaren Anteile (180 mg) gaben aus Me-Ae 124,7 mg krist. O-Acetyl-tholläthosid (EWE 4) in Nadeln vom Smp. ca. 158—161^o, das nur noch den Fleck Nr. 13 zeigte. Die Mutterlaugen enthielten teilweise noch das O-Acetyl-S (Fleck Nr. 14).

Die Fr. 128—129 waren Gemische; sie wurden nicht getrennt.

Die Fr. 130—136 (1,310 g) gaben aus Me-Ae 918 mg Thollosid (EWE 1) in Prismen, Smp. 259—265^o. Thollosid gab nach der Acetylierung 3 Flecke (16—18 in Fig. 8), die den drei krist. Stoffen EWE 3, EWE 2 und EWE 23 entsprachen. Der letztere erwies sich als partiell acetyliertes Thollosid (bzw. als partiell desacetyliertes Tetra-O-acetyl-thollosid) und gab bei Reacetylierung wieder EWE 2 und EWE 3. 243 mg der Mutterlauge des Thollosids wurden ebenfalls mit Py und Ac_2O bei 36^o acetyliert. Das Rohprodukt (323 mg) zeigte im Papierchromatogramm dieselben 3 Flecke (Nr. 16, 17, 18). Chromatographie an Al_2O_3 lieferte 22 mg krist. Tetra-O-acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal (Präp. EWE 3) vom Smp. 177—182^o (gab nur Fleck Nr. 16), 33 mg krist. Tetra-O-acetyl-aldehydthollosid (Präp. EWE 2) in Blättchen vom Smp. 177—180^o (gab den Fleck Nr. 17) und 24 mg krist. Präp. EWE 23 in Nadeln, Smp. 166—171^o (gab den Fleck Nr. 18)⁴⁶⁾. — Alle unreinen Reste und Mutterlaugenprodukte des Thollosids (zusammen 117 mg) wurden ebenfalls acetyliert und das acetylierte Gemisch (160 mg) mit den verbliebenen Acetatgemischen (240 mg) vereinigt (400 mg) an 40 g Al_2O_3 chromatographiert. Ausser EWE 3, EWE 2 und EWE 23 konnten aus 3 (zwischen EWE 3 und EWE 2 eluierten) Fraktionen noch 2,4 mg O-Acetyl-T in Nadeln vom Smp. 243—260^o erhalten werden, die im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke zeigten wie EWE 2. Die zuletzt eluierten Anteile waren Gemische von EWE 23 mit höher schmelzenden Produkten.

⁴⁶⁾ Das rohe Acetylierungsprodukt enthielt nach Papierchromatogramm neben EWE 2 und EWE 3 nur sehr wenig EWE 23. Vermutlich wurde das rohe Acetylierungsprodukt bei der Chromatographie an Al_2O_3 teilweise entacetyliert und anderweitig verändert. Die Ausbeute an krist. EWE 2 und EWE 3 war immer schlecht. In den Eluaten liessen sich neben den drei kristallisierten Stoffen durch Papierchromatographie noch andere nachweisen.

Die Fr. 137–138 des Verteilungschromatogramms waren Gemische; sie wurden nicht getrennt.

Die Fr. 139–144 (201 mg) gaben aus Me-Ae 42 mg Zenkosid (EWE 5). 152 mg aus der Mutterlauge wurden mit Ac_2O in Py bei 36° acetyliert und gaben 192 mg rohes Neutralprodukt. Dieses zeigte im Papierchromatogramm 3 Flecke (Nr. 19–21 in Fig. 9). Es wurde an 19 g Al_2O_3 chromatographiert. Die Fr. 8–12 (75 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1) und -(1:2)) gaben aus Me-Ae 53 mg O-Acetyl-Q (EWE 6) in Nadeln, Smp. 178–182° (sie gaben im Papierchromatogramm nur den Fleck Nr. 19 von Fig. 9). Die Fr. 13–15 (11,5 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:2)–(1:4)) gaben im Papierchromatogramm 2 Flecke (Nr. 19 und 20). Die Fr. 16–21 (21 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:4) und reinem Chf) gaben im Papierchromatogramm fast nur den Fleck Nr. 20 (mit Spuren von Fleck Nr. 21). Dem Fleck Nr. 20 entspricht O-Acetyl-zenkosid, das bisher nicht kristallisierte (siehe unten).

Tabelle 17.

Acetylierungsversuche mit Ouabain.

Ouabain Menge in mg	Bedingungen						Erhalten:				
	abs. Py in cm^3	AcOH in cm^3	Ac_2O in cm^3	Zusatz in cm^3	Temp.	Zeit in Std.	Menge in mg	Flecke im Papier- chroma- togramm	Menge in mg	Smp.	Flecke im Papier- chroma- togramm
53	1	—	0,8	—	100°	2	65	25 + 29 (Fig. 12)	40	294– 299°	Hexa-O- acetyl- ouabain + 29
58	—	—	1,0	—	100°	4	63	25 + 29 (Fig. 12)	42	293– 298°	Hexa-O- acetyl- ouabain + 29
54	—	—	2,0	—	$140^{047)}$	1	74	25 + Spur 29	62	297– 303°	Hexa-O- acetyl- ouabain
544	—	7,0	2,8	0,035 70-proz. HClO_4	20°	2	718	30 – 32 (Fig. 13)	115 ⁴⁸⁾ 19 ⁴⁸⁾	254– 260° 262– 267°	EWE 20 ⁴⁹⁾ EWE 21 ⁴⁹⁾
50	—	—	1	0,0025 85-proz. H_3PO_4	100°	0,3	52	30 – 32 (Fig. 13)	— ⁵⁰⁾	—	—

Die Fr. 145–152 waren ein Gemisch von Zenkosid und Subst. γ , sie wurden nicht getrennt.

Die Fr. 153–160 (134 mg) waren nach Papierchromatogramm einheitlich (Subst. γ), kristallisierten aber bisher nicht. Die Fr. 154–159 (118 mg) wurden mit Ac_2O in Py bei

⁴⁷⁾ Unter Rückfluss gekocht.

⁴⁸⁾ Nach Chromatographie an Al_2O_3 .

⁴⁹⁾ Anhydroderivate, vgl. Beschreibung weiter unten.

⁵⁰⁾ Wurde nicht zur Kristallisation angesetzt.

20⁰ acetyliert. Das Rohprodukt (155 mg) zeigte im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 10) einen starken (Nr. 22 = O-Acetyl- γ) und einen sehr schwachen, langsamer wandernden Fleck (Nr. 23). Nach Chromatographie an Al_2O_3 wurden 114 mg reines O-Acetyl- γ (farbloses Glas, das bisher nicht kristallisierte) und 27 mg Gemische erhalten.

Die Fr. 161—181 wurden nur noch im Papierchromatogramm untersucht (Resultat vgl. Tab. 10). Die darin nachgewiesenen Stoffe β und α wurden aus den Chf-Alk-(3:2)-Extr. isoliert. Die Stoffe, die nach Fr. 181 mit Me heruntergewaschen wurden, dürften reichlich Oxydationprodukte enthalten. Es zeigte sich, dass Stoffe mit ganz ähnlichen Laufstrecken entstehen, wenn die Sarmetoside A und D sowie Thollosid und Zenkosid in Me oder W gelöst etwa 8—10 Tage stehen bleiben. Bei den Acetylderivaten genügen sogar schon 3—4 Tage, um eine weitgehende Oxydation zu erreichen.

Trennung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts. Dieses Material zeigte im Papierchromatogramm (System Bu/W, vgl. Fig. 2) 5 Flecke (α , β , γ , δ und ϵ); von diesen war nur der α -Fleck stark. Sonst interessierte nur noch der β -Fleck, da er dieselbe Laufstrecke zeigte wie Ouabain. Subst. γ wurde bereits aus dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. isoliert, und die Flecke δ und ϵ waren Gemische, die einer Reihe von Stoffen entsprachen, die in viel grösseren Mengen im Chf-Alk-(2:1)-Extr. enthalten waren.

Trennung von 280 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. durch präp. Papierchromatographie⁵¹). Die Papierbogen (*Whatman* Nr. 1 oder *Schleicher & Schüll* 2043 b) wurden durch eine W-An-(1:3)-Mischung gezogen und 15 Min. an der Luft getrocknet. Während dieser Zeit wurde auf das leicht feuchte Papier die Substanz auf der Startlinie aufgetragen und das Papier dann in den Trog gehängt.

Versuch a. 100 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. wurden auf 5 Blättern *Schleicher & Schüll* 2043 b aufgetragen (20 mg pro Blatt) und 14—15 Std. bei 20⁰ im System Bu/W chromatographiert. Dann wurde im Luftstrom getrocknet, zwei Randstreifen und ein schmaler Mittelstreifen ausgeschnitten, mit *Kedde*-Reagens entwickelt und die Zonen markiert. Extraktion mit heissem Me gab 37 mg rohe Subst. α (nach Papierchromatogramm frei von β , aber vermutlich doch nicht einheitlich), 10,2 mg rohe Subst. β (nach Papierchromatogramm einheitlich) und 5,7 mg rohe Subst. γ (nach Papierchromatogramm einheitlich). Die rascher wandernden Zonen wurden nicht isoliert.

Versuch b. 180 mg Material wurden ganz analog auf 10 Blättern *Whatman* Nr. 1 chromatographiert. Erhalten wurden 71 mg rohe Subst. α und 14,2 mg rohe Subst. β . Auf Isolierung von γ wurde verzichtet.

Acetylierung der rohen Subst. α . 106 mg des so erhaltenen α -Konzentrats wurden mit Py und Ac_2O 5 Tage bei 18⁰ stehengelassen (es blieb ein kleiner unlöslicher Rest, vermutlich anorganisch). Die übliche Aufarbeitung gab 84 mg neutrales Rohprodukt, das aus Me-Ae in feinen Nadeln kristallisierte. Kristalle und Mutterlaugenprodukte wurden an 6 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Chf-Me von 0,5—1% Me-Gehalt eluierten Anteile (45,0 mg) gaben aus Me-Ae 32,6 mg farblose, zu Drusen vereinigte Spiesse, Smp. 286—290⁰. Sie gaben im Papierchromatogramm (Fig. 11) einen starken und einen wenig schneller wandernden schwachen Fleck; der erstere zeigte genau gleiche Laufstrecke wie O-Acetyl-sarmetosid E. Genau dieselben 2 Flecke in ähnlicher Stärke gab auch das rohe Ausgangsprodukt vor der Chromatographie.

Vorreinigung und Acetylierung von Subst. β . Das rohe Konzentrat der Subst. β gab weder aus W noch aus Me-Ae Kristalle, auch nicht nach Impfen mit Ouabain. Offenbar enthielt es noch zu viel Ballaststoffe (vermutlich *Kedde*-negatives Material). Die 10,2 mg Konzentrat aus Versuch a wurden an 0,5 g SiO_2 chromatographiert⁵²) (vgl. Tab. 18).

Fr. 5 zeigte mit H_2SO_4 eine sehr ähnliche Färbung wie Ouabain und die Mikroacetylierung (135⁰, ohne Py), gab neben 3 schwachen einen starken Fleck (Nr. 25 in Fig. 10) wie Hexa-O-acetyl-ouabain.

⁵¹) Generelle Methode wie bei *E. v. Arx & R. Neher*¹⁸).

⁵²) Ein Vorversuch mit Ouabain zeigte, dass dieser Stoff sich ohne merkbliche Verluste an SiO_2 chromatographieren lässt und mit Chf-Me-Gemischen eluiert wird.

Tabelle 18.Vorreinigung von 10,2 mg roher Subst. β an SiO_2 .

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus
1	12 cm ³ Chf-Me-(9:1)	2,0	gelb, schmierig
2	5 cm ³ Chf-Me-(4:1)	1,0	amorph, hell
3	5 cm ³ Chf-Me-(4:1)	1,3	amorph, hell
4	6 cm ³ Chf-Me-(2:1)	3,6	amorph, hell
5	6 cm ³ Chf-Me-(2:1)	1,7	amorph, hell
6	5 cm ³ Chf-Me-(1:1)	0,2	amorph, hell

Die 3,6 mg von Fr. 4 sowie die 14,2 mg rohe Subst. β aus Versuch b wurden vereinigt (17,8 mg) und mit 0,5 cm³ Ac_2O 1 1/2 Std. auf 130° erwärmt⁵³⁾. Die übliche Aufarbeitung gab 16 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm wieder 4 Flecke gab, von denen aber nur der dem Hexa-O-acetyl-ouabain entsprechende Fleck (Nr. 25) stark war. Es wurde an 1 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf-Gemischen eluierten Anteile gaben nur 4,8 mg braunes Öl (gab im Papierchromatogramm nur den Fleck Nr. 24 in Fig. 10, nicht identifiziert). Die mit reinem Chf und Chf-Me-(99,5:0,5) eluierten Anteile (5,1 mg) zeigten im Papierchromatogramm die Flecke Nr. 25 und 26 und gaben aus Me-Ae 0,5 mg Kristalle, Smp. ca. 280–295°. — Die weiteren Fraktionen gaben nur noch 1,8 mg amorphes Material (gab Fleck Nr. 27). Die Mutterlaugen der Kristalle wurden nochmals an SiO_2 chromatographiert, worauf sich noch 0,7 mg Drusen vom Smp. 294–298° isolieren liessen. Die vereinten Kristalle wurden zusammen aus Me-Ae umkristallisiert und gaben 1,1 mg Hexa-O-acetyl-ouabain in zu Drusen vereinigten Spiessen vom Smp. 299–303°.

Tabelle 19.Chromatographie von 3,6 g Chf-Alk-(3:2)-Extr. an SiO_2 .

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Papierchromatogramm	Eigenschaften
1—2	Chf-Me-(4:1)	111		braunes Öl
3	Chf-Me-(4:1)	216	γ, δ, ϵ	brauner Sirup
4	Chf-Me-(3:1)	245	γ, δ, ϵ	amorph
5	Chf-Me-(3:1)	120	$\beta, \gamma, \delta, \epsilon$	Aus Me zuerst
6	Chf-Me-(7:3)	154		38 mg Na_2SO_4 ,
7—8	Chf-Me-(7:3)	128	β, γ	aus Mutterlauge
				9 mg Subst. β ,
				Smp. 185–188°
9—10	Chf-Me-(3:2)	467	α	Aus Me-An 600 mg
11—13	Chf-Me-(1:1)	1266		krist. Subst. α
14—15	Chf-Me-(1:1)	192	höher polar,	
16—17	Chf-Me-(2:3)	92	ähnlich wie α	
Total		2991		Kedde: positiv

⁵³⁾ Auch unter diesen Bedingungen wird aus Ouabain eine fast quantitative Ausbeute an Hexa-O-acetylderivat erhalten. Vgl. auch Tab. 17.

Trennung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts an SiO_2 . Bei langsamem Eindunsten einer Probe des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts in Me wurden zufällig ein wenig (2 mg) Kristalle (Zers. ab 280°) erhalten. Sie waren nach Papierchromatogramm reine Subst. α . Die Menge liess sich kaum vermehren, doch zeigte es sich, dass nach Chromatographie an SiO_2 mehr Kristalle erhältlich waren. Der ganze verbliebene Rest (3,6 g) wurde daher an 108 g SiO_2 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 360 cm^3 der in Tab. 19 genannten Lösungsmittel.

Die Fr. 1—4 wurden nur im Papierchromatogramm geprüft; sie waren frei von Subst. β .

Die Fr. 5—8 gaben aus Me zunächst 38 mg Na_2SO_4 (rein anorganisch, Smp. $> 325^\circ$ etc.). Die Mutterlauge lieferte aus Me 9 mg krist. Ouabain.

Die Fr. 9—13 lieferten aus Me-An insgesamt 600 mg rohe Subst. α .

Beschreibung der isolierten Stoffe.

Alle hier beschriebenen Stoffe wurden in den erwähnten Systemen im Papierchromatogramm geprüft; sofern nichts anderes angegeben, geben sie dabei nur einen Fleck.

Sarmentosid E. Aus Me-Ae farblose flache Nadeln, Smp. $265\text{--}268^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = -37,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,808$ in 80-proz. Me). Nach Mischprobe, Papierchromatogramm und Farbreaktionen mit H_2SO_4 identisch mit dem früher¹⁾ beschriebenen Präparat.

Tri-O-acetyl-sarmentosid E. Aus Me-Ae farblose Nadeln in Drusen. Smp. $307\text{--}310^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = -25,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,009$ in Chf). Nach Mischprobe, Papierchromatogramm und Farbreaktionen mit H_2SO_4 identisch mit früher¹⁴⁾ beschriebenem Material. Der Stoff blieb bei nochmaliger Acetylierung (Mikroausführung) unverändert. Hingegen gaben alle durch Acetylierung von Sarmentosid-E-Mutterlaugenprodukten erhaltenen Kristallfraktionen im Papierchromatogramm neben dem Fleck des Tri-O-acetyl-sarmentosids E noch einen schwachen, langsamer wandernden Fleck (nicht identifiziert).

O-Acetyl-bipindosid. Aus Me-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. $158\text{--}162^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = -36,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,922$ in Chf). Trocknung zur Analyse im Schweinchen (hygroskopisch) gab 7,1—7,7% Gewichtsverlust; $\text{C}_{37}\text{H}_{52}\text{O}_{14} + 3 \text{H}_2\text{O}$ (774,84): für $3 \text{H}_2\text{O}$ ber. 7,0%.

$\text{C}_{37}\text{H}_{52}\text{O}_{14}$	Ber. C 61,65	H 7,27	O 31,08%
(720,79)	Gef. ,, 61,70	,, 7,34	,, 30,62%

Der Stoff war alkoxyfrei. Er war gut löslich in Me, Chf und An, fast unlöslich in Ae. UV.-Spektrum siehe Tab. 5.

O-Acetyl-acarbäthosid (EWE 12). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 245 bis 248° , $[\alpha]_D^{25} = -24,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,056$ in Chf). Gewichtsverlust bei Trocknung 0—0,3% (Analyse OAB und AP).

$\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_{16}$	Ber. C 60,14	H 6,99	O 32,87	— OC_2H_5 5,79%
(778,82)	Gef. ,, 59,80; 59,52	,, 6,97; 6,95	,, 32,34; 32,33	,, 6,01% ⁵⁴⁾

Der Stoff war gut löslich in Me, Chf und An, fast unlöslich in Ae. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 5.

Sarmentosid A. Aus Me-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 236 bis 240° , $[\alpha]_D^{26} = -33,0^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,463$ in 80-proz. Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit früherem¹⁴⁾ Präparat. Die Mikroacetylierung lieferte ein Gemisch, das im Papierchromatogramm 2 Flecke gab mit Laufstrecken entsprechend Tetra-O-acetyl-aldehydo-sarmentosid A (früher als Sarmentosid-A-acetat bezeichnet) und Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal (früher als Sarmentosid-C-acetat bezeichnet).

Tetra-O-acetyl-aldehydo-sarmentosid A (früher als Sarmentosid-A-acetat bezeichnet). Aus Me-Ae farblose, teilweise zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. $166\text{--}170^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = -42,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,073$ in Chf). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit früherem Präparat¹⁴⁾.

⁵⁴⁾ Über den Beweis, dass es sich um eine Äthoxygruppe handelt, wird später berichtet.

Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal (früher als Sarmentosid-C-acetat bezeichnet). Aus Me-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 253—257°, manchmal auch mit Doppel-Smp. 184—186°/249—251°. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit früherem Präparat¹⁴).

Sarmentosid D. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 297—303°, $[\alpha]_D^{24} = -45,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,651$ in 95-proz. Di). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit früherem Präparat¹⁴).

O-Acetyl-sarmentosid D. 19 mg Sarmentosid D vom Smp. 297—303° wurden mit Ac_2O in Py bei 37° acetyliert. Das Rohprodukt (25 mg) gab aus Me-Ae 20,5 mg längliche Blättchen, Doppel-Smp. 210—215°/287—293°, $[\alpha]_D^{22} = -43,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Chf). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit früherem Präparat¹⁴).

Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester (EWE 11 und EWE 19). Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 285—289°, $[\alpha]_D^{23} = -26,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,058$ in Chf). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung.

$C_{38}H_{52}O_{16}$	Ber. C 59,67	H 6,85	O 33,47	-OCH ₃ 4,05%
(764,80)	Gef. ,, 59,47	„ 7,30	„ 33,34	„ 4,41%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 5. Die Präparate EWE 11 und EWE 19 waren nach Smp., Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material¹²). Der Stoff war gut löslich in Me, Chf und An, fast unlöslich in Ae.

O-Acetyl-thollodiolidosisid (EWE 10). Aus An-Ae farblose, in der Mitte bauchig verbreiterte Blättchen, Smp. 321—326° (Zers.), $[\alpha]_D^{22} = -16,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,586$ in Chf). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung.

$C_{35}H_{46}O_{14}$	Ber. C 60,86	H 6,71	O 32,43%
(690,72)	Gef. ,, 59,96	„ 7,05	„ 32,51%

Der Stoff war alkoxyfrei. Er war mässig löslich in Me, gut löslich in Chf und An und fast unlöslich in Ae. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 5.

Lokundjosid (EWE 8). Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 268—274°, $[\alpha]_D^{25} = -11,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,071$ in 80-proz. Me). Trocknung zur Analyse im Schweinchen, Gewichtsverlust 0,2—1,8%.

$C_{29}H_{44}O_{10}$	Ber. C 63,02	H 8,03	O 28,95%
(552,64)	Gef. ,, 63,85; 62,76	„ 8,35; 8,34	„ 28,08%

Der Stoff war alkoxyfrei. Er war löslich in 80-proz. und reinem Me, schwer löslich in An und praktisch unlöslich in Ae. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 5.

O-Acetyl-lokundjosid (EWE 9). 19 mg Lokundjosid vom Smp. 269—277° wurden mit Ac_2O in Py 2 Tage bei 22° acetyliert. Das Rohprodukt (28 mg) gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck. Aus Me-Ae längliche Blättchen, Smp. 171—175°, $[\alpha]_D^{24} = -21,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,13$ in Chf). Trocknung im Schweinchen, Gewichtsverlust 2,8%; $C_{37}H_{52}O_{14} + H_2O$ (738,80): ber. H_2O 2,44%.

$C_{37}H_{52}O_{14}$	Ber. C 61,65	H 7,27	O 31,08%
(720,79)	Gef. ,, 61,95	„ 7,51	„ 32,62% ⁵⁵⁾

Der Stoff war alkoxyfrei, er war gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 5.

Tholläthosid (EWE 7). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 166—170°, $[\alpha]_D^{25} = +6,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,996$ in 80-proz. Me). Trocknung zur Analyse im Schweinchen, Gewichtsverlust 8,2—9,9%; $C_{31}H_{46}O_{12} + 3 H_2O$ (664,73): ber. $3 H_2O$ 8,15%.

$C_{31}H_{46}O_{12}$	Ber. C 60,97	H 7,59	O 31,44	-O ₂ H ₅ 7,38%
(610,68)	Gef. ,, 60,48; 60,84	„ 7,77; 7,54	„ 32,37	„ 8,63% ⁵⁴⁾

UV.-Spektrum vgl. Tab. 5. Der Stoff war gut löslich in Me, mässig in An und fast unlöslich in Ae. Die Mikroacetylierung lieferte ein Präparat, das im Papierchromatogramm nur einen Fleck (entsprechend EWE 4) gab.

⁵⁵⁾ Bei der O-Bestimmung wurde ohne Schweinchen getrocknet.

Tetra-O-acetyl-tholläthosid (EWE 4). Aus Me-Ae farblose feine Nadeln, Smp. 158—161°, $[\alpha]_D^{25} = -17,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,967$ in Chf). Trocknung im Schweinchen gab 1,1—3,2% Gewichtsverlust.

$C_{39}H_{54}O_{16}$ Ber. C 60,14 H 6,99 O 32,87 - OC_2H_5 5,79%
(778,82) Gef. ,, 60,51; 60,78 ,, 6,89; 7,03 ,, 32,00 ,, 6,95%⁵⁴)

Tetranitromethan-Probe: negativ. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Tab. 5. Die Kristalle waren gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae.

Thollosid (EWE 1). Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 259—265°, $[\alpha]_D^{25} = -16,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,917$ in 80-proz. Me). Trocknung zur Analyse im Schweinchen gab keinen Gewichtsverlust (OAB und AP).

$C_{29}H_{42}O_{11} + CH_3OH$ Ber. C 60,18 H 7,75 O 32,07 - OCH_3 5,18%
(598,67) Gef. ,, 59,95; 59,69 ,, 7,86; 7,64 ,, 31,30 ,, 5,38%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 15. Die Kristalle waren schwer löslich in An, mässig löslich in Me, etwas besser löslich in 80-proz. Me, 95-proz. Di oder W. Thollosid zeigte im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie das frühere amorphe Präparat U¹). Die isomeren Glykoside α - und β -Antiarin wandern ein wenig langsamer.

Mikroacetylierung gab immer ein Gemisch, das im Papierchromatogramm 2 Flecke entspr. EWE 2 und EWE 3 lieferte; EWE 2 war ca. 5mal stärker als EWE 3. Eine Probe Thollosid wurde durch fraktionierte Kristallisation in 4 Fraktionen aufgetrennt. Alle gaben im Papierchromatogramm denselben Fleck und zeigten denselben Smp. Die Mikroacetylierung dieser 4 Präparate gab genau dasselbe Bild wie oben. Thollosid verhielt sich demnach bei der Acetylierung praktisch gleich wie Sarmenosid A.

Präparative Acetylierung von Thollosid. 180 mg Substanz wurden mit Ac_2O und Py 40 Std. bei 38° behandelt. Das Rohprodukt (239 mg) zeigte im Papierchromatogramm (i in Fig. 8) 3 Flecke entspr. EWE 3, EWE 2 und EWE 23. Es wurde an 20 g Al_2O_3 chromatografiert; zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 20 cm³ der in Tab. 20 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 20.

Chromatographie von 239 mg Acetylierungsgemisch aus Thollosid.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		
		Menge in mg	Habitus	Menge in mg	Smp.	Papierchromatogramm
1—2	Be-Chf-(4:6)	2,5	braun amorph	—	—	
3	Be-Chf-(4:6)	14,9	Nadeln	5	184—190°	EWE 3
4	Chf	30,1	amorph	—	—	
5	Chf	52,9	Spiesse	44	176—181°	EWE 2
6—8	Chf	18,4	amorph	—	—	
9—11	Chf-Me-(99,5:0,5)	6,3	amorph	—	—	
12—14	Chf-Me-(99:1)	13,0	Nadeln	6	163—169°	EWE 23
15—17	Chf-Me-(98:2)	13,6	amorph	—	—	
18—20	Chf-Me-(96:4)	7,9	amorph	—	—	
21—22	Chf-Me-(9:1)	5,1	amorph	—	—	
23—24	Chf-Me-(7:3)	4,1	amorph	—	—	

Tetra-O-acetyl-thollosid-cyclo-halbacetal (EWE 3). Aus Me-Ae farblose flache Nadeln, Smp. 176—182°, $[\alpha]_D^{25} = +10,4^0 \pm 2^0$ ($c = 0,933$ in Chf). Trocknung im Schweinchen gab 3,5% Gewichtsverlust.

$C_{37}H_{50}O_{15} + H_2O$	Ber. C 59,02	H 6,97	- OCH ₃ 0%
(752,79)	Gef. ,, 58,52	,, 7,06	,, 1,25%

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 15. Tetranitromethan gab keine Färbung. Bei der Mikroacetylierung blieb der Stoff unverändert. Er war leicht löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae.

Tetra-O-acetyl-aldehydo-thollosid (EWE 2). Aus Me-Ae farblose Blättchen, Smp. 179—184°, $[\alpha]_D^{25} = -31,5^0 \pm 2^0$ ($c = 0,866$ in Chf). Trocknung im Schweinchen gab 1,55—3,60% (OAB und AP) Gewichtsverlust; $C_{37}H_{50}O_{15} + H_2O$ (752,79): ber. H₂O 2,4%.

$C_{37}H_{50}O_{15}$	Ber. C 60,48	H 6,86	O 32,66%
(734,77)	Gef. ,, 60,65; 60,51	,, 7,10; 7,09	,, 31,37%

Der Stoff war alkoxyfrei. Tetranitromethan gab keine Färbung. UV.-Spektrum vgl. Fig. 15. Er war gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae. Bei der Mikroacetylierung blieb er unverändert.

Präparat EWE 23. Diese Kristalle waren nach Papierchromatogramm nicht völlig einheitlich. Bei öfterem Umkristallisieren konnten ausser der bei 166—171° schmelzenden Hauptmenge noch wenig Nadel-Drusen mit Smp. 238—243° erhalten werden. Reacetylierung gab wieder EWE 3 und EWE 2.

O-Acetyl-T. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 257—260°. Laufstrecke im Papierchromatogramm gleich wie bei EWE 2. Die Kristalle liessen sich durch Umkristallisation aus Me-Ae unter Animpfen mit EWE 2 nicht in eine tiefer schmelzende Modifikation überführen. Auch liess sich EWE 2 durch Animpfen mit O-Acetyl-T nicht in eine höher schmelzende Form umwandeln. O-Acetyl-T ist also sicher verschieden von EWE 2. Wegen Substanzmangel konnte es nicht weiter untersucht werden.

Zenkosid (EWE 5). Aus Me-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 256—262°, $[\alpha]_D^{25} = -29,9^0 \pm 2^0$ ($c = 0,96$ in 80-proz. Me). Trocknung im Schweinchen gab 7,3 und 8,8% Gewichtsverlust; $C_{29}H_{42}O_{11} + 3 H_2O$ (620,72): ber. 3 H₂O 8,71%.

$C_{29}H_{42}O_{11}$	Ber. C 61,47	H 7,47	O 31,06%
(566,63)	Gef. ,, 61,26	,, 7,68	,, 31,50%

Der Stoff war methoxyfrei. Er war gut löslich in 80-proz. Me, mässig in Me, schwer löslich in An. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 15. Das Produkt der Mikroacetylierung gab nur einen Fleck (entspr. Nr. 20 in Fig. 9). O-Acetyl-zenkosid konnte bisher nicht kristallisiert werden.

O-Acetyl-Q (EWE 6). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 178—182°, $[\alpha]_D^{25} = -17,7^0 \pm 2^0$ ($c = 0,996$ in Chf). Trocknung zur Analyse im Schweinchen gab 2,76, 3,18 und 3,39% Gewichtsverlust; $C_{38}H_{52}O_{16} + H_2O$ (782,82): ber. H₂O 2,30%.

$C_{38}H_{52}O_{16}$	Ber. C 59,68	H 6,85	O 33,47	- OCH ₃ 4,06%
(764,80)	Gef. ,, 60,26; 60,02	,, 7,12; 6,99	,, 32,99; 32,44	,, 4,19%

Die quantitative Bestimmung des Alkoxyrestes nach *Furter*⁵⁶) gab krist. 3,5-Dinitrobenzoesäure-methylester vom Smp. 103—104°. Misch-Smp. mit authentischem Material ohne Depression, wohl aber derjenige mit dem Äthylester. Der Stoff war gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae. UV.-Spektrum vgl. Tab. 5.

Substanz γ . Dieser Stoff konnte bisher nur in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form isoliert werden. In den benützten zwei Systemen zeigte er eine fast gleiche Laufstrecke wie Acolongiflorosid K⁵⁷). Er ist damit aber sicher nicht identisch, denn die Farbreaktionen mit H₂SO₄ waren ganz verschieden. Auch zeigte das amorphe

⁵⁶) *M. Furter*, *Helv.* **21**, 872 (1938).

⁵⁷) *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 1740 (1951).

O-Acetyl- γ im Papierchromatogramm (System Fd/Be-Chf-(7:5)) eine ca. 7mal grössere Laufstrecke als das krist. O-Acetyl-acolongiflorosid K⁵⁸).

Ouabain (Subst. β). Die 9 mg Kristalle (farblose Spiesse aus Me) zeigten Smp. 185—188°. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm waren sie identisch mit authentischem Ouabain.

Hexa-O-acetyl-ouabain. Die 1,1 mg Kristalle (zu Drusen vereinigte Spiesse aus Me-Ae) zeigten Smp. 299—303°. Nach Mischprobe, Farbreaktion mit H₂SO₄ und Papierchromatogramm waren sie identisch mit authentischem Material. Auch die IR.-Spektren (vgl. Fig. 16) waren gleich.

Substanz α . Die Rohkristalle waren in Me und Di sowie in den sonst gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln schwer löslich, besser löslich in warmem 50-proz. Me. Zur Reinigung wurde in Me-W warm gelöst, im Vakuum eingeeengt (schäumte stark), die trübe Lösung durch eine Schicht gewaschene Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) filtriert und durch allmählichen An-Zusatz (und Impfen) langsam kristallisiert. Die so erhaltenen farblosen, zu Drusen vereinigten Spiesse waren in kaltem W nur noch wenig löslich. Sie wurden noch einmal wie oben umkristallisiert. Die Kristalle verkohlten bei ca. 280—300° unter teilweise Schmelzen, $[\alpha]_D^{23} = -35,7^{\circ} \pm 5^{\circ}$ ($c = 0,350$ in 50-proz. Alk). Trocknung zur Analyse im Schweinchen gab 13,1% Gewichtsverlust; (C₂₉H₄₁O₁₂)₂Ca + 12 H₂O (1419,46): ber. für 10 H₂O Verlust 12,7%, für 11 H₂O 13,9%. — Die Substanz enthielt 3,77% Asche, die als CaO identifiziert werden konnte¹⁷).

(C ₂₉ H ₄₁ O ₁₂) ₂ Ca + 2 H ₂ O (1239,35)	Ber. C 56,21	H 6,99	CaO 4,52%
(C ₂₉ H ₄₁ O ₁₂) ₂ Ca + 1 H ₂ O (1221,33)	Ber. „ 57,03	„ 6,93	„ 4,59%
	Gef. „ 57,12	„ 7,21	„ 3,77%

Freie Säure aus Subst. α . 100 mg Subst. α wurden in 15 cm³ 50-proz. Me gelöst und langsam durch eine kleine Säule mit Amberlit IR 120⁵⁹) (in H⁺-Form) filtriert und mit 50 cm³ 50-proz. Me nachgewaschen. Die Filtrate gaben beim Eindampfen 84 mg aschefreies Rohprodukt als farblosen Schaum. Das Produkt war leicht löslich in Me und in W, fast unlöslich in An. Die Mikroacetylierung gab ein Produkt, das im Papierchromatogramm dieselben 2 Flecken gab wie das rohe Acetylierungsprodukt von Subst. α (Fig. 11).

Tri-O-acetyl-sarmentosid E aus Subst. α . 61 mg Subst. α (Rohkristalle) wurden mit 2 cm³ abs. Py und 1,6 cm³ Ac₂O 1½ Std. auf 90—100° erwärmt, wobei ein kleiner Rest (anorgan. Material) ungelöst blieb. Die übliche Aufarbeitung gab 53 mg neutrales Rohprodukt als gelben Schaum. Es gab im Papierchromatogramm dieselben 2 Flecke wie in Fig. 11 dargestellt. Es wurde an 2 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Chf eluierten Anteile (37,7 mg) gaben aus Me-Ae 30,4 mg teilweise zu Drusen vereinigte farblose Nadeln, Smp. 291—295°. Nach Papierchromatogramm einheitlich und identisch mit Tri-O-acetyl-sarmentosid E. Umkristallisieren aus An-Ae gab flache Nadeln, Smp. 295—300°, $[\alpha]_D^{24} = -18,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1$ in Chf).

C ₃₅ H ₄₆ O ₁₄	Ber. C 60,86	H 6,71	O 32,43%
(690,72)	Gef. „ 60,86	„ 7,02	„ 32,27%

Die Kristalle waren methoxylfrei. Gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit Tri-O-acetyl-sarmentosid E. Auch das IR.-Spektrum (Fig. 17) war gleich.

(Hepta-?) -O-Acetyl-anhydro-ouabain (EWE 20). Aus Me-Ae farblose, dünne Blättchen, Smp. 254—260°, $[\alpha]_D^{26} = -70,03^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 1,065$ in Chf). Trocknung zur Analyse im Schweinchen gab keinen Gewichtsverlust.

C ₄₃ H ₅₆ O ₁₈ (860,88)	Ber. C 59,99	H 6,56%	Gef. C 59,76	H 6,61%
--	--------------	---------	--------------	---------

⁵⁸) Acolongiflorosid K gibt bei der Acetylierung neben dem krist. O-Acetyl-acolongiflorosid K noch ein viel rascher wanderndes Acetylderivat, das sich aber doch von Acetyl- γ unterscheidet (vgl. F. Thudium, O. Schindler & T. Reichstein, Helv., spätere Mitt.).

⁵⁹) Ein Produkt der Firma Rohm & Haas Comp., Philadelphia (Pa.), USA., bezogen durch die Firma Th. Christ, Basel.

Der Stoff war gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae. Tetranitromethanprobe: positiv. Er zeigte ähnliche Eigenschaften wie das zuerst von *Arnaud* und später von *Jacobs & Bigelow* beschriebene Anhydro-ouabain-heptacetat⁶⁰. *Arnaud* beschrieb dünne, wasserfreie, rhombische Blättchen, Smp. 310°, Zers., $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -68,5^{\circ}$ ($c = 0,73$ in 85-proz. Alk). *Jacobs & Bigelow* fanden Smp. 283–285°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -51,7^{\circ}$ ($c = 0,53$ in 85-proz. Alk).

(Hexa-?)-O-Acetyl-anhydro-ouabain (EWE 21). Aus Me-Ae farblose, dicke, fast quadratische Blättchen, Smp. 262–267°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -76,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 1,007$ in Chf). Trocknung zur Analyse im Schweinchen gab 0,56% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{41}\text{H}_{54}\text{O}_{17}$ (818,84) Ber. C 60,13 H 6,65% Gef. C 60,03 H 6,89%

Der Stoff war gut löslich in Me, An und Chf, schwer löslich in Ae. Tetranitromethanprobe: positiv.

Die Mikroanalysen ohne Bezeichnung wurden im Mikrolabor (Leitung *E. Thommen*) unseres Instituts ausgeführt; die mit *AP* bezeichneten Analysen bei Herrn *A. Peisker*, Brugg.

Zusammenfassung.

Aus den Samen von *Strophanthus Tholloni Franch.* wurden nach Fermentierung 9 krist. Glykoside in freier Form sowie weitere 6 in Form ihrer krist. Acetylderivate isoliert. Ein 16. Stoff (Subst. γ) konnte nur in amorpher, aber praktisch einheitlicher Form isoliert werden. Ausserdem wurden kleine Mengen von 2 weiteren Glykosiden (R, S) papierchromatographisch nachgewiesen.

Von den in Kristallen isolierten Stoffen waren fünf (die Sarmentoside A, E und D, der Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-säure-methylester sowie das hier nur in Spuren vorkommende Ouabain) bereits bekannt. Die anderen stellen neue Stoffe dar; sie wurden als O-Acetyl-bipindosid, O-Acetyl-acarbäthosid, O-Acetyl-thollodiolidosid, Lokundjosid, Tholläthosid, Thollosid, O-Acetyl-T, O-Acetyl-Q, Zenkosid und Subst. α bezeichnet. Über ihre vermutliche Konstitution wird später berichtet. Ihre starke digitalisartige Wirkung verdanken die Samen hauptsächlich ihrem Gehalt an Sarmentosid A, Thollosid, Bipindosid und Lokundjosid. Das stark wirksame Ouabain ist nur in kleinen Mengen enthalten. Von den anderen Glykosiden zeigen noch Sarmentosid D und vielleicht auch Zenkosid eine gewisse, aber relativ schwache Wirkung.

Der früher als „Sarmentosid-C-acetat“ bezeichnete Stoff wurde jetzt als Tetra-O-acetyl-sarmentosid-A-cyclo-halbacetal bezeichnet, da er sich von einer cyclischen Halbacetalform von Sarmentosid A ableitet. Über den Beweis dafür soll später berichtet werden.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

⁶⁰ *M. Arnaud*, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **126**, 1654 (1898); *W. A. Jacobs & N. W. Bigelow*, J. biol. Chemistry **96**, 647 (1932).