

## 230. Die Glykoside der Samen von *Acokanthera schimperi* (A. DC.) Bentham & Hooker.

1. Mitteilung.

### Untersuchung der Pflanzen aus Erythräa.

Glykoside und Aglykone, 185. Mitteilung<sup>1)</sup>

von K. Mohr, F. Thudium, O. Schindler und T. Reichstein.

(11. X. 57.)

Die Gattung *Acokanthera* (Apocynaceae) wird in etwa 6 nahe verwandte Arten aufgeteilt, über deren Differenzierung unter den Botanikern keine völlige Einigkeit herrscht<sup>1a)</sup>. Ihr Verbreitungsgebiet ist auf Afrika beschränkt und erstreckt sich vom Kap bis Abessinien, dabei vorwiegend die östlichen Teile des Kontinents umfassend. Fast überall, wo *Acokanthera*-Arten häufig vorkommen, wurden sie von den Eingeborenen früher zur Bereitung von Pfeilgift verwendet<sup>2)</sup>. In gewissen Gegenden dienen sie heute noch diesem Zweck.

Eine der häufigsten *Acokanthera*-Arten des nördlichen Verbreitungsgebietes ist *Acokanthera schimperi* (A. DC.) Benth. & Hook. Es ist eine sehr polymorphe Art. Herr R. D. Meikle, Botaniker im Herbarium der Royal Botanical Gardens, Kew, Richmond (Surrey) hatte die grosse Freundlichkeit, auf unsere Bitte das reiche in Kew vorhandene Material dieser schwierigen Gattung kritisch zu sichten. Er schrieb uns darüber folgendes<sup>4)</sup>:

The majority of East African specimens fall within 2 aggregates:

1. *Acokanthera schimperi* (A. DC.) Benth.; 2. *A. longiflora* Stapf.

These are quite easily distinguished, and *A. longiflora* is relatively homogeneous; but *A. schimperi* consists of many ill-defined 'microspecies', some with a relatively well-marked distribution, but none with sufficient morphological distinctions to make them permanently and clearly recognizable. Amongst these segregates (microspecies, subspecies, ecospecies or races) are:

<sup>1)</sup> 184. Mitteilung: Helv. **40**, 2110 (1957).

<sup>1a)</sup> M. Pichon, Classification des Apocynacées I. Carisées et Ambelaniées, Mém. Muséum national hist. nat. Paris, n. s. **24** (3), 132 (1948), anerkennt *Acokanthera* nur noch als Sektion der Gattung *Carissa*. Er unterscheidet 7 Species, von denen er aber nur 4 selber einsehen konnte. Inzwischen ist von H. Merxmüller *Acokanthera rhodesica* beschrieben worden. Mitt. Botan. Staatssammlungen München, **6**, 201 (1953). Wir danken Herrn H. P. Fuchs, Kölliken, dass er uns auf die letztgenannte Arbeit aufmerksam machte, sowie für seine Hilfe bei der Korrektur des Manuskripts.

<sup>2)</sup> Vgl. die Literaturangaben bei Bally und Mitarb.<sup>3)</sup>

<sup>3)</sup> P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1740 (1951).

<sup>4)</sup> Brief vom 1. Juni 1956. Wir danken Herrn R. D. Meikle auch hier bestens für seine grosse Mühe und seine wertvollen Angaben. Er hatte sich schon in einem Brief vom 8. Juli 1953 an Herrn P. R. O. Bally über diese Frage geäussert.

1) *A. schimperi* (*A. DC.*) *Benth.* var. *schimperi*. The typical plant with moderate-sized (5—6 cm long, 2,5—3 cm wide) ovate or elliptic, acute or acuminate, glossy light green leaves with flat or shortly recurved margins. Flowers moderate-sized (about 1—1,2 cm long), calyx pubescent. Occurs from Abyssinia and Eritrea south to Kenya.

*A. deflersii* *Schweinf. ex Lewin* is, as I have said before, hardly more than an ill-marked variety of *A. schimperi*; the scabrid nature of the leaves is not at all a constant feature.

2) *A. friesiorum* *Markgr.* Leaves rather small (3,5—4,5 cm long, 2,5—3,5 cm wide), broadly obovate or almost orbicular, blunt or often emarginate, dark glossy green with flat or shortly recurved margins. Flowers rather small, about 1 cm long, calyx pubescent. Occurs in S. Abyssinia, Kenya and Uganda.

3) *A. ouabaïo* *Poiss.* (non *Schweinf. ex Lewin, nec Markgraf*). Leaves large (5—9,5 cm long, 3—5,5 cm wide) broadly ovate or obovate, blunt or shortly acute, glossy mid-green with distinctly recurved margins. Flowers 1,5—1,7 cm long, calyx thinly pubescent, often glabrous. Distributed along the eastern coastal area of Africa from Somaliland south to Tanganyika. It is generally, but not exclusively, used for the manufacture of arrow-poison.

4) *A. sp.* (*A. ouabaïo* *Schweinf. ex Lewin* and *Markgr.*). Leaves moderate-sized (3,5—5,5 cm long, 1,5—4 cm wide) ovate, elliptic or almost orbicular, blunt or acuminate, dull light green, thick, with shortly recurved margins. Flowers variable, 1—1,2 cm long, calyx pubescent or glabrous. Occurs chiefly in Somaliland.

Herr *Meikle* machte ausdrücklich darauf aufmerksam, dass es sich bei der Abgrenzung dieser vier Formen oder Varianten um einen ganz provisorischen Versuch handelt<sup>5)</sup> und dass es völlig ungewiss ist, ob diesen Varianten taxonomische, oekologische oder genetische Bedeutung zukommt. Er will ihnen auch keinen nomenklatorischen Rang beimessen, so lange er die entsprechenden Populationen nicht im Feld studieren konnte<sup>6)</sup>.

Von den genannten vier Formengruppen wurden die Glykoside von *A. friesiorum* *Markgr.* bei uns ziemlich genau analysiert<sup>7)</sup><sup>8)</sup>. Die Resultate wichen sehr stark von denen ab, die frühere Forscher<sup>9)</sup> bei *A. schimperi* ähnlicher Provenienz erhalten haben<sup>10)</sup>. Es stellt sich dabei die Frage, ob die chemischen Unterschiede im Glykosidgehalt mit den morphologischen Unterschieden parallel gehen. Wir haben daher vor einiger Zeit begonnen, Holz und Samenproben dieser Art aus möglichst verschiedenen Gegenden zu untersuchen. Hier wird über die Analyse der Samen aus Ghinda (*Erythräa*) berichtet.

<sup>5)</sup> Seiner Meinung nach besteht die Möglichkeit, dass reife Früchte in Alkohol eine Differenzierung erleichtern könnten. Solches Material war leider bisher nicht zu erhalten.

<sup>6)</sup> Wir sind Herrn *Meikle* daher besonders dankbar, dass er uns trotzdem ermächtigt hat, diese vier Formengruppen hier zu erwähnen. Wir glauben, dass ein solcher Gruppierungsversuch nach morphologischen Merkmalen, auch wenn er noch sehr unsicher ist, besser ist als gar keiner, und dass er auch dem Chemiker wertvolle Anhaltspunkte liefern kann.

<sup>7)</sup> *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. 35, 45 (1952).*

<sup>8)</sup> *H. Muhr, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 37, 403 (1954).*

<sup>9)</sup> *A. Arnaud* und andere, vgl. Lit. bei *Bally* und Mitarb.<sup>7)</sup>.

<sup>10)</sup> Hauptglykosid von „*Acokanthera schimperi*„ ist nach *Arnaud* und anderen<sup>9)</sup> Ouabain. Dagegen wurde aus *A. friesiorum*<sup>7)</sup><sup>8)</sup> vorwiegend Acovenosid A und nur wenig Ouabain erhalten.

## Beschaffung des Ausgangsmaterials.

Das untersuchte Material wurde von Herrn *Hans Leuenberger*<sup>11)</sup> bei Ghinda, Erythräa, gesammelt. Er gab uns dazu die folgenden Angaben:

„Das Dorf Ghinda liegt an der Strasse Asmara–Massana auf 962 m Höhe über Meer. Regenzeit ist dort ca. (Okt.) Nov.–April. Der Fundort liegt am Südwesthang östlich des Dorfzentrums auf Granitfelsboden. Die *Acokanthera* dominiert dort. Ca. 2/3 der Gesamtsträucher bestehen aus *Acokanthera*. Die restliche Vegetation besteht aus *Dichrostachys mutans*, *Dodonaea viscosa*, *Anogeissus leiocarpus*, *Balanites aegyptiaca*, *Asclepias gigantea*, *Terminalia brownii*.

Die Blätter der *Acokanthera* waren elliptisch oder eiförmig und durchweg auf Ober- und Unterseite glatt, glänzend. Behaarte Blätter (wie sie für die subsp. *deflersii* Schwf. angegeben sind) fanden sich keine. Die meisten (96%) der untersuchten Pflanzen hatten runde Früchte, nur wenige (4%) trugen ovale Früchte. Hauptblütezeit ist Mai–Juni. Nachblüte ca. Nov. Fruchtreife ca. Okt. bis März.“

Geerntet wurden:

a) *Bündel Nr. 1*, ca. 5 kg (Frischgewicht) Stammholz und Äste von Pflanze mit ovalen Früchten (geschnitten am 26. Okt. 1951), abgeschickt am 29. Okt. nach Trocknung. Erhalten (trocken ca. 3,85 kg) am 31. Jan. 1952 in Basel.

b) *Bündel Nr. 2*, ca. 5 kg (Frischgewicht) Stammholz und Äste von Pflanze mit runden Früchten. Wie oben geschnitten und verschickt. In Basel erhalten (ca. 2,78 kg trocken) am 31. Jan. 1952.

c) Weitere 15 kg Holz (nicht nach Fruchtform sortiert) wurden im November spediert.

d) 1 kg frische Früchte (reife und grüne gemischt, wobei ebenfalls auf die Form nicht geachtet wurde; es hat sich daher vorwiegend um runde Früchte gehandelt) abgeschickt am 14. Febr. 1952 per Flugpost. 760 g in relativ gutem Zustand (leicht ange-trocknet und nur oberflächlich angeschimmelt) in Basel erhalten am 26. Febr. 1952. Die Samen wurden sofort entnommen (310 g) mit etwas Chloroform besprüht und bis zur Extraktion bei 0° aufbewahrt.

e) 4 kg frische Früchte wurden Ende Febr. 1952 gesammelt und an der Luft möglichst getrocknet per Seepost geschickt. Das Material (1,6 kg) erreichte uns am 19. Mai 1952 nur oberflächlich leicht angeschimmelt. Es gab 577 g Samen, die wie oben behandelt wurden.

Herr *Leuenberger* sandte uns eine Anzahl Herbarproben der *Acokanthera* von Ghinda. Herr *Meikle* hatte die Freundlichkeit, diese zu prüfen. Er hat die Bestimmung als *A. schimperi* (*A. DC.*) *Benth. & Hook.* bestätigt. Nach seiner weiteren provisorischen Unterteilung würde er sie zu *var. schimperi*, der typischen Pflanze stellen<sup>12)</sup>.

Hier wird nur über die Untersuchung der Samen berichtet.

## Chemische Untersuchung.

Die Extraktion der Samen und die Vortrennung der Extrakte geschah ähnlich<sup>13)</sup><sup>14)</sup><sup>15)</sup> wie in früheren Fällen<sup>16)</sup><sup>8)</sup>. Die zwei Samenproben gaben dabei die in Tab. 1 angegebenen Mengen an Rohextrakten, worin

<sup>11)</sup> Wir danken Herrn *Leuenberger* auch hier bestens für seine grosse Mühe und seine wertvollen Angaben.

<sup>12)</sup> Wir danken Herrn *R. D. Meikle* auch hier für diese erneute Hilfe.

<sup>13)</sup> Bei der Trennung wurde der Chf.-Alk-(2:1)-Extr. nochmals mit Wasser waschen, um evtl. vorhandenes Ouabaïn weitmöglichst in die wässrige Phase zu treiben, aus der es dann, nach Einengen und Halbsättigung mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, durch Ausschütteln mit Chf.-Alk-(3:2)-Gemisch gewonnen wurde.

<sup>14)</sup> Gewisse weitere Änderungen siehe Exper. Teil.

<sup>15)</sup> *J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 1821 (1951).

<sup>16)</sup> *J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 485 (1950).

auch das Resultat der orientierenden Papierchromatographien (zur Bezeichnung der Flecke vgl. Schema in Fig. 1 und 2) wiedergegeben ist.

**Tabelle 1.**

Ausbeuten an Rohextrakten<sup>17)</sup>.

Extrakt <sup>18)</sup>	Probe Nr. 1 300 g Samen			Probe Nr. 2 500 g Samen		
	Menge in		starke Flecke im Papierchromatogramm	Menge in		Flecke im Papierchromatogramm
	g	%		g	%	
Chf-	3,90	1,3	O, A, H	10,95	2,2	N, A, H, X
Chf-Alk-(2:1)-	0,63	0,21	C, K	5,84	1,17	Nr. 1, Y, Digluco-N, Nr. 4, K (vgl. Nr. 8 in Fig. 6 und 7)
Chf-Alk-(3:2)-	1,47	0,49	K, Ouab	7,40	1,48	K, Ouab
Krist. Saccharose <sup>19)</sup>	25,4	8,46		89,9	18	

Der grosse Unterschied in den Ausbeuten an Rohextrakten ist auffallend. Dazu kommt, dass diese Rohextrakte auch teilweise im Papierchromatogramm verschiedene Flecken zeigten<sup>20)</sup>. Wie die präparative Trennung (siehe unten) zeigte, enthielten aber beide Samenproben trotzdem dieselben zwei Hauptglykoside in fast gleichem Verhältnis. Die Unterschiede betreffen somit nur die Nebenglykoside. Im Chf-Extr. (der als einziger bei beiden Proben präparativ getrennt wurde) waren bei Probe 1 das Glykosid O aber kein N vorhanden, Probe 2 verhielt sich genau umgekehrt. Die Untersuchung der Rohextrakte geschah wie folgt:

Der Chf-Extr. von Probe 1 lieferte durch direkte Kristallisation leicht reines Acovenosid A, eine weitere Menge wurde durch Chromatographie der Mutterlaugen an  $Al_2O_3$  gewonnen. Dabei konnten die folgenden zwei krist. Nebenglykoside isoliert werden: das neue Acoschimperosid O (= Präp. KMo 51) und ein nicht völlig reines Kristallisat von Acolongiflorosid H<sup>3)</sup>, das nach Papierchromatographie noch eine Spur Acolongiflorosid G<sup>3)</sup> enthielt. Acoschimperosid N (Beschreibung dieses Stoffes siehe unten) war auch nach präparativer Anreicherung (z. B. in den Mutterlaugen von O) im Papierchromatogramm nicht nachweisbar.

<sup>17)</sup> Ouab = Ouabaïn, weitere Abkürzungen vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

<sup>18)</sup> Der Chf-Extr. enthält die schwächst polaren, der Chf-Alk-(3:2)-Extr. die stärkst polaren (am leichtesten wasserlöslichen) Glykoside.

<sup>19)</sup> Auf eine möglichst vollständige Abtrennung der Saccharose wurde kein Wert gelegt.

<sup>20)</sup> Teilweise können diese Unterschiede durch etwas abweichende Untersuchungsmethoden bedingt sein. Die Extraktion der 2 Samenproben geschah zu verschiedener Zeit und nicht ganz gleich (vgl. Exper. Teil). Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus Probe 1 wurde nur im System Bu/W untersucht (und nur auf starke Flecke), der analoge Extr. aus Probe 2 nur im System To-Bu-(1:1)/W (wobei auch schwache Flecke registriert wurden). Acovenosid C und Acolongiflorosid K trennen sich nur im erstgenannten System. Beim Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus Probe 2 könnte der starke K-Fleck somit auch den C-Fleck enthalten.

Der Chf-Extr. von Probe 2 gab ebenfalls durch direkte Kristallisation leicht reines Acovenosid A. Die Mutterlaugen wurden zunächst an  $Al_2O_3$  chromatographiert, wobei sich noch reine Kristalle von A und N (siehe unten) abtrennen liessen. Die verbleibenden reichlichen Mengen von Gemischen wurden einer Verteilungschromatographie unterworfen, worauf sich noch die folgenden krist. Stoffe in papierchromatographisch reiner Form abtrennen liessen: der neue Stoff Acoschimperosid N (= Präp. K. Mo 49), Acovenosid A, Acolongiflorosid H und eine Spur Subst. X, die ebenfalls vermutlich einen neuen Stoff darstellt.

Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. von Probe 1 gab direkt keine Kristalle. Im Papierchromatogramm wurden zwei starke<sup>21)</sup> Flecke (K<sup>22)</sup> und C<sup>23)</sup>) erhalten. Die ganze Menge wurde acetyliert. Das acetylierte Gemisch gab direkt keine Kristalle<sup>24)</sup>, wurde aber bisher nicht weiter untersucht<sup>25)</sup>.

Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus Probe 2 wurde nur im Papierchromatogramm untersucht. Es gab dabei 5 Flecke (Nr. 8 in Fig. 6 u. 7). Als Vergleich diente ein analoger Extrakt aus *Acokanthera schimperi* aus der Umgebung von Bamba (entspr. Herbarmuster Nr. B 9342)<sup>26)</sup> (der im gleichen System 6 Flecke zeigte, vgl. Nr. 9 in Fig. 6 u. 7). Daraus ergibt sich, dass drei der genannten 5 Flecke von Probe 2 dieselben Laufstrecken zeigten wie K<sup>22)</sup>, Digluco-N<sup>26)</sup> und Y<sup>26)</sup>. Die Flecke Nr. 1 (schwach) und Nr. 4 wurden nicht identifiziert.

Die Chf-Alk-(3:2)-Extrakte aus beiden Samenproben gaben aus wenig Wasser oder aus Me-Ae leicht krist. Ouabain. Die Mutterlaugen zeigten (bei beiden Proben) im System Bu/W nur zwei starke Flecke mit Laufstrecken wie K und Ouabain. Um zu entscheiden, ob der K-Fleck durch Acolongiflorosid K oder durch  $\psi$ -K<sup>26)</sup> (oder eine andere Substanz) hervorgerufen wurde, haben wir eine Probe (60 mg) des Chf-Alk-(3:2)-Extr. aus Probe 1 durch präparative Papierchromatographie<sup>27)</sup> getrennt. Dabei wurden 20 mg amorphes Präparat erhalten, das im Papierchromatogramm (System Bu/W) nur noch den K-Fleck gab. Acetylierung lieferte in schlechter Ausbeute ein Acetat-

<sup>21)</sup> Die schwachen Flecke wurden in diesem Versuch nicht registriert.

<sup>22)</sup> Acolongiflorosid K<sup>3)</sup> diente als Vergleichssubstanz. Dieselbe Laufstrecke zeigt  $\psi$ -K (aus *A. schimperi* Nr. B. 9342. Vgl. spätere Mitteilung) sowie Subst.  $\gamma$  aus *S. thollonii*. Die Acetylderivate von K,  $\psi$ -K und  $\gamma$  lassen sich aber papierchromatographisch unterscheiden.

<sup>23)</sup> Laufstrecke in Bu/W wie Acovenosid C, Helv. **34**, 1239 (1951).

<sup>24)</sup> Acolongiflorosid K gibt bei der Acetylierung bei 20° nach Papierchromatogramm zwei Acetylderivate. Das stärker polare davon kristallisiert in reiner Form leicht<sup>3)</sup>. Das Acetylderivat von  $\psi$ -K kristallisierte bisher nicht.

<sup>25)</sup> Nach dem Ergebnis beim Chf-Alk-(3:2)-Extr. vermuten wir, dass auch hier K und nicht  $\psi$ -K vorlag.

<sup>26)</sup> Siehe spätere Mitteilung über die Form, die von den Giriama zur Gewinnung von Pfeilgift verwendet wurde.

<sup>27)</sup> Ausführung nach *E. von Arx & R. Neher*, Helv. **39**, 1664 (1956).

gemisch, das im Papierchromatogramm (Nr. 12 in Fig. 9 und 10) neben einigen sehr schwachen zwei starke Flecke gab. Dieselben zwei Flecke (Nr. 14 in Fig. 10) gab Acolongiflorosid K<sup>3)</sup><sup>28)</sup> nach Acetylierung unter gleichen Bedingungen<sup>29)</sup>. Der langsamer laufende Fleck entsprach dem krist. O-Acetyl-acolongiflorosid-K<sup>3)</sup> (Nr. 15 in Fig. 10 u. 11). Der rascher wandernde Fleck ist immer noch etwas langsamer als O-Acetyl- $\psi$ -K (Nr. 13 in Fig. 9). Dieser Extrakt dürfte somit K und nicht  $\psi$ -K enthalten.

In Tab. 2 sind die Ausbeuten an Kristallen zusammengestellt. Beide Samenproben dürften noch kleine Mengen weiterer Nebenglykoside enthalten, da wir uns bei der Kontrolle durch Papierchromatographie teilweise auf starke Flecke beschränkten. Es interessierte in erster Linie der Gehalt an Acovenosid A und Ouabaïn, der ungefähr richtig erfasst sein dürfte<sup>30)</sup>. Diese zwei Samenproben aus *Erythraea* enthielten somit mindestens ebensoviel Acovenosid A als Ouabaïn<sup>30)</sup>. Sie nehmen damit eine Mittelstellung ein zwischen den Samen von *Acokanthera friesiorum* (und gewissen anderen Formen von *A. schimperi* aus Kenya) und der *A. schimperi* entspr. den Herbarnummern B 8451 und B 9342 aus der Umgebung von Bamba<sup>26)</sup>.

Tabelle 2.

Ausbeuten an krist. Glykosiden<sup>31)</sup>.

Glykosid <sup>32)</sup>	Aus 300 g Samen Probe 1		Aus 500 g Samen Probe 2	
	in g	in %	in g	in %
A	0,985	0,33	3,7	0,74
Ouabaïn	0,5	0,17	1,7	0,34
O	0,043	0,014	—	—
N	—	—	ca. 0,8	0,16
G	sehr wenig anwesend <sup>33)</sup>		sehr wenig anwesend <sup>33)</sup>	
H	0,053	0,018	ca. 0,15	0,03
X	—	—	Spur	

<sup>28)</sup> Dieses Präparat wurde durch Verseifung von krist. O-Acetyl-acolongiflorosid-K<sup>3)</sup> gewonnen. Es war amorph, aber papierchromatographisch einheitlich.

<sup>29)</sup> Acolongiflorosid K bildet demnach offenbar 2 Acetylderivate, von denen bisher nur eines in Kristallen isoliert wurde. Möglicherweise ist letzteres nur partiell acetyliert.

<sup>30)</sup> Acovenosid A ist sehr leicht isolierbar. Die in Kristallen erhaltene Menge dürfte dem wahren Gehalt daher nahekommen. Ouabaïn ist relativ gut wasserlöslich, so dass bei der Isolierung leichter Verluste eintreten. Der wahre Gehalt dürfte somit merklich höher sein, als es dem Gewicht der isolierten Kristalle entspricht.

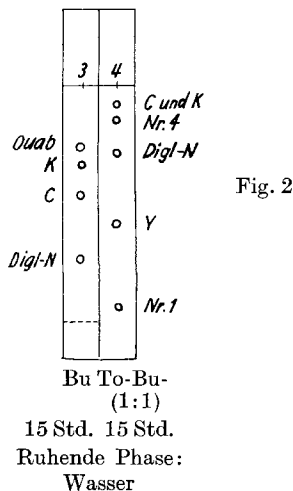
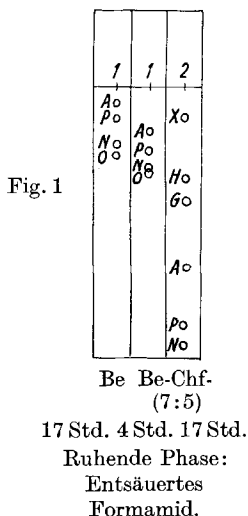
<sup>31)</sup> In den präparativ nicht untersuchten Chf-Alk-(2:1)-Extrakten enthielten beide Proben ausserdem u. a. noch reichliche Mengen eines Stoffes mit gleicher Laufstrecke wie K.

<sup>32)</sup> Hier wird die abgekürzte Buchstaben-Bezeichnung benützt. Die vollen Namen, die jeweils von der Stammpflanze abgeleitet sind, aus der der betreffende Stoff erstmals isoliert wurde, sind bei der Besprechung der Einzelstoffe wiedergegeben.

<sup>33)</sup> Hier nicht in Kristallen isoliert.

Fig. 1 und 2 zeigen das Verhalten der Stoffe O, N, P<sup>26</sup>), A, G, H, X, Nr. 1, Y<sup>26</sup>), Digluco-N<sup>26</sup>), Nr. 4, C, K und Ouabaïn im Papierchromatogramm schematisiert. In den Fig. 3–13 sind massgetreue Beispiele von Papierchromatogrammen wiedergegeben. In Tab. 3 sind einige weitere Kriterien zusammengestellt, die ausser dem Papierchromatogramm zur Differenzierung der Stoffe O, N, P, G und H besonders nützlich sind. Tab. 4 gibt die Farbreaktionen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. In Tab. 5 sind die Smp., Drehungen und vermutlichen Bruttoformeln der isolierten Stoffe zusammengestellt. Fig. 14 gibt die UV.-Absorptionsspektren von O und N. O zeigt neben dem typischen Maximum des Butenolidrings noch eine undeutliche Schulter bei ca. 290 m $\mu$ , so dass die Anwesenheit einer Keto- oder Aldehydgruppe möglich ist. Im UV.-Spektrum von N ist keine solche Erhöhung sichtbar, dagegen eine kurzwellige Endabsorption, wie sie früher auch bei Acolongiflorosid H gefunden wurde<sup>8</sup>), die möglicherweise von einer isolierten tri- oder tetra-substituierten >C=C< Doppelbindung herrühren könnte. N gab allerdings mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung, während diese Reaktion bei H und seinem Acetylderivat deutlich positiv ausfiel<sup>8</sup>). Dagegen gab das Acetylderivat<sup>34</sup>) von N eine deutliche Gelbfärbung.

Schema des Verhaltens im Papierchromatogramm<sup>17</sup>).

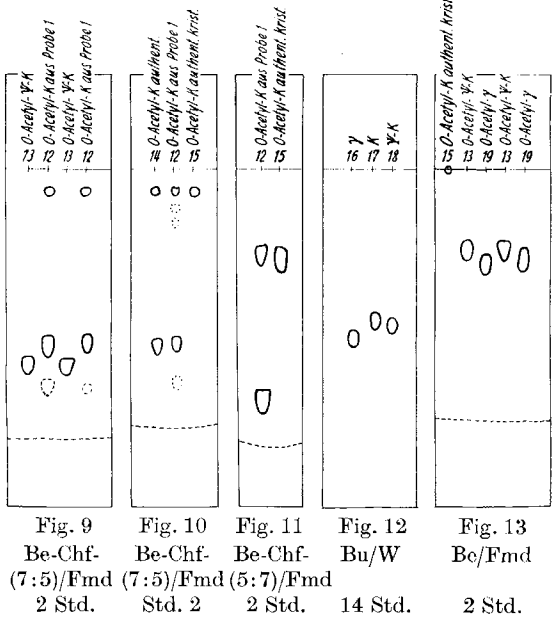
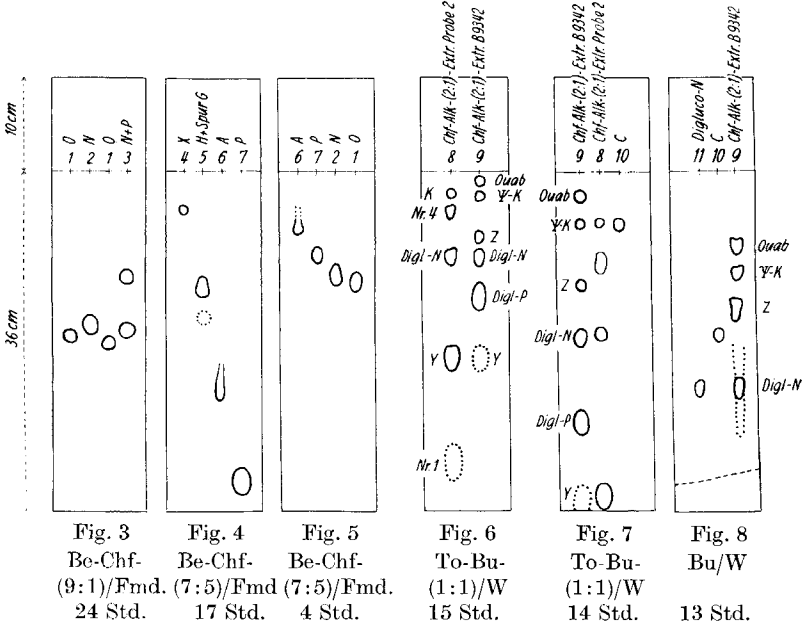


- 1 Je 0,03 mg der krist. Glykoside A, P, N und O.
- 2 Je 0,03 mg der krist. Substanzen X, H, G, A, P und N.
- 3 Je 0,03 mg krist. Ouabaïn, amorphes Acolongiflorosid K (bereitet aus krist. Acetylderivat<sup>3</sup>), krist. Acovenosid C<sup>35</sup>) sowie krist. Glykosid Digluco-N<sup>26</sup>).
- 4 Ca. 0,4 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. von Probe 2 und 0,03 mg Acovenosid C.

<sup>34</sup>) Dieser Stoff wurde bisher nur in amorphem Zustand erhalten.

<sup>35</sup>) K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1239 (1951). Das dort beschriebene Präparat konnte inzwischen kristallisiert werden. Vgl. spätere Mitteilung.

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie<sup>17)</sup>.



Das Papier von Fig. 7 wurde 3 Std. und dasjenige von Fig. 12 acht Std. vor Beginn der Chromatographie in den Trog eingehängt (äquilibriert). Dadurch vergrößern sich die Laufstrecken fast aller Flecken merklich. In allen anderen Figuren wurde sofort mit der Chromatographie begonnen.



1. Ca. 0,03 mg Acoschimperosid O.
2. Ca. 0,03 mg Acoschimperosid N.
3. Je ca. 0,03 mg Acoschimperosid N und P<sup>36</sup>).
4. Ca. 0,05 mg Kristalle aus Frakt. 32–35 der Verteilungschromatographie (= Subst. X).
5. Ca. 0,04 mg Acolongiflorosid H + wenig Acolongiflorosid G.
6. Ca. 0,03 mg Acovenosid A.
7. Ca. 0,03 mg Acoschimperosid P<sup>26</sup>).
8. Ca. 1 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Samenprobe 2.
9. Ca. 0,5 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Samen von *A. schimperi* B 9342<sup>26</sup>).
10. Ca. 0,03 mg Acovenosid C.
11. Ca. 0,05 mg Digluco-acoschimperosid N<sup>26</sup>).
12. Ca. 0,15 mg rohes Acetylierungsgemisch von Acolongiflorosid K aus Chf-Alk-(3:2)-Extr. von Samenprobe 1.
13. Ca. 0,05 mg O-Acetyl-acoschimperosid  $\psi$ -K aus den Samen von *A. schimperi* B 9342<sup>26</sup>).
14. Ca. 0,1 mg Acetylierungsgemisch von authentischem Acolongiflorosid K aus *A. longiflora*<sup>3</sup>).
15. Ca. 0,03 mg krist. O-Acetyl-acolongiflorosid K aus *A. longiflora*<sup>3</sup>).
16. Ca. 0,03 mg Subst.  $\gamma$  aus *Strophanthus thollonii*<sup>37</sup>).
17. Ca. 0,05 mg Acolongiflorosid K aus *A. longiflora*<sup>3</sup>).
18. Ca. 0,05 mg Acoschimperosid  $\psi$ -K aus *A. schimperi* B 9342<sup>26</sup>).
19. Ca. 0,05 mg O-Acetyl-Subst.  $\gamma$  aus *Strophanthus thollonii*<sup>37</sup>).

**Tabelle 3.**

Weitere Reinheitskriterien, sowie Angaben, die zur Unterscheidung der Stoffe O, N, P, G, H und A (ausser Papierchromatogrammen) besonders brauchbar sind.

O	Konz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : anfangs rein orange. Sehr schwer löslich in An. Aus Dioxan kristallisierbar
N	84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : schwarz, verdeckt andere Färbungen. Smp. 235 <sup>0</sup> oder höher. Starke negative Drehung. Kristallisiert leicht aus An-Ae und aus Me-Ae. Von P durch Kristallisation aus Me-Ae trennbar (wobei sich P in Mutterlauge anreichert).
P <sup>36</sup> )	Krist. leicht aus An (in hexagonalen Plättchen), aber sehr langsam aus Me-Ae. 84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : orange. Smp. ca. 275 <sup>0</sup> . Von H durch Chromatographie an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> trennbar.
G	Wurde hier nicht rein isoliert. Durch Kristallisation aus Me von H trennbar.
H	Sehr schwer zu reinigen. Bisher nur durch Verteilungschromatographie einheitlich erhalten. 84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : intensiv violett, verdeckt andere Färbungen leicht.
A	Leicht zu reinigen. Krist. aus Me. 84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : citronengelb.

Zur Charakterisierung der 3 neuen Stoffe kann noch folgendes bemerkt werden:

*Acoschimperosid O* wurde bisher nur aus der hier erwähnten Samenprobe 1 in kleinen Mengen isoliert. Es konnte noch nicht biologisch geprüft werden. Das Acetylderivat kristallisierte bisher nicht.

<sup>36</sup>) Glykosid P ist hier nur zum Vergleich eingesetzt, da es eine ähnliche Laufstrecke zeigt wie N. Es wurde aus *A. schimperi* aus der Umgebung von Bamba (entspr. Herbarmuster *Bally* Nr. 8541 und Nr. 9342) isoliert<sup>26</sup>).

<sup>37</sup>) Siehe *E. Weiss, O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* **40**, 980 (1957).

Tabelle 4.

Farbreaktionen mit 84-proz.  $H_2SO_4$  nach angegebener Zeit in Minuten  
(offen gestanden auf weisser Porzellantüpfelplatte).

Zeit	O	N	H	A
0'	orange	violett	braunrot	blass ocker
0,5'	schokoladebraun	dunkelbraun	schwarzviolett	blass ocker
1'	rotbraun	schwarzbraun	schwarzviolett	blass ocker
5'	violettrot	schwarz	schwarzviolett	citron
10'	violettrot	schwarz	ultramarin	citron
30'	rotviolett	grünstichig schwarz	ultramarin	citron
60'	grauviolett	dunkelgrün	ultramarin	bräunlich gelb
120'	grünlich grau	dunkelgrün	grünblau	bräunlich gelb
240'	olivgrün	dunkelgrün	olivgrün	violettrot

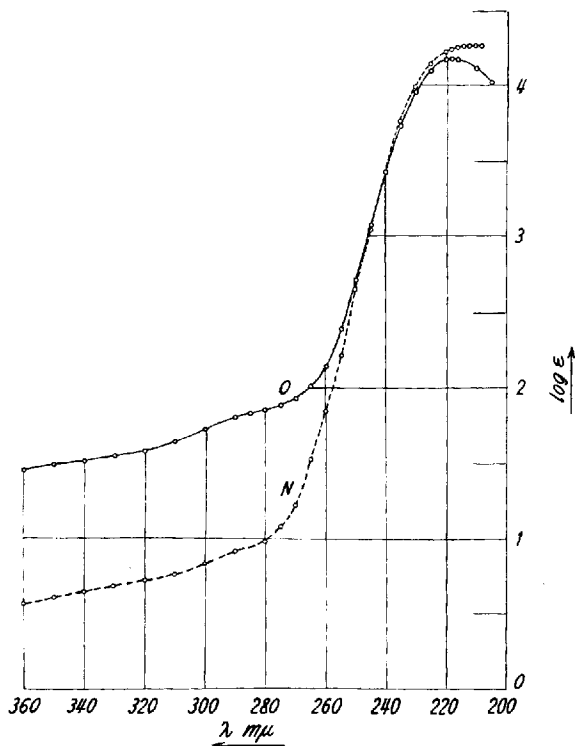


Fig. 14.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>38)</sup>.

Kurve O = Acochimperosid O, Maximum bei  $218\text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,18$ , ber. auf  $C_{30}H_{46}O_{10}$  (566,70).

Kurve N = Acochimperosid N, kein deutliches Maximum (kurzwellige Endabsorption), bei  $217\text{ m}\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,24$ , ber. auf  $C_{30}H_{42}O_9$  (546,65).

<sup>38)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller auf einem „Beckman-Quartz-Spectrophotometer, Modell DU“.

**Tabelle 5.**  
Vergleich der isolierten Stoffe.

Stoff	Smp.	$[\alpha]_D$	Vermutliche Bruttoformel	CH <sub>3</sub> O-Gruppen	Zucker-Prüfung	Keller-Kiliani-Reaktion	Tetra-nitro-methan-probe	Ketogruppe nach UV.-Spektr.
A	215–218°	– 60,6 An	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>9</sub>	1	+	–	–	abwesend
O	235–243°	– 58,4 D	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>10</sub>	1	+	–	–	möglich
Acetyl-O	amorph							
N	235–240°	– 107,2 Me	C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>9</sub>	1	+	–	–	abwesend aber End-absorpt.
Acetyl-N	amorph	–	–				+	
Benzoyl-N	188–193°	– 29,5 Chf	C <sub>44</sub> H <sub>50</sub> O <sub>11</sub>					
H	261–264°	– 39,6 Me	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>9</sub>	1	+	–	+	abwesend aber End-absorpt.
X	265–279°	?	?	?	?	?	?	?
Ouabaïn	180–183°	– 37,9 Me	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>12</sub>	0	+	–	–	abwesend
P <sup>36)</sup>	273–275°	– 35,6 Me	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>10</sub>	1	+	–	–	abwesend

*Acoschimperosid N* ist inzwischen auch noch aus anderen Proben von *A. schimperi* erhalten worden<sup>26)</sup>. Das Acetylderivat kristallisierte bisher nicht. Hingegen konnte ein gut krist. Benzoylderivat erhalten werden, dessen Analysen auf ein Di-O-benzoylderivat passten.

*Subst. X*. Da von diesem Stoff nur insgesamt 3 mg isoliert wurden, fand keine weitere Prüfung statt.

Für diese Arbeit standen uns Mittel aus dem *Arbeitsbeschaffungskredit des Bundes* zur Verfügung, wofür auch hier bestens gedankt sei.

### Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca.  $\pm 2^\circ$ , darüber ca.  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,02 Torr und 70° getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 110° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> mit Einwaage im Schвейchen. Ausführung der Papierchromatographie<sup>39)40)41)</sup>, Adsorptionschromatographie nach dem Durchlaufverfahren<sup>42)</sup> an alkali-freiem Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>43)</sup>, Verteilungschromatographie<sup>40)</sup>, *Keller-Kiliani*-Reaktion<sup>44)</sup>, Zucker-

<sup>39)</sup> O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951).

<sup>40)</sup> H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 357 (1953).

<sup>41)</sup> E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 680 (1954).

<sup>42)</sup> T. Reichstein & C. W. Shoppee, Disc. Transact. Faraday Soc. **1949**, 305.

<sup>43)</sup> J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944).

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

prüfung<sup>45)</sup> und Prüfung mit *Raymond*-Reagens<sup>39)</sup> nach früheren Angaben. Es gelten die folgenden Abkürzungen: Ae = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, D = Dioxan, Fmd = entsäuertes Formamid<sup>39)</sup>, Me = Methanol, To = Toluol, Py = Pyridin, W = Wasser.

Extraktion der Samenprobe Nr. 1 (ausgeführt am 12. Juni 1952).

Die am 26. 2. 1952 per Luftfracht erhaltenen 760 g ungetrockneter, oberflächlich ganz leicht von Schimmel befallener Früchte wurden sofort vom Fruchtfleisch befreit und gaben 310 g reine Samen. Diese wurden leicht mit Chf besprüht und in verschlossener Flasche bei 0° aufbewahrt.

300 g Samen wurden in der Fleischhackmaschine grob gemahlen, mit 450 ml W angerührt, mit 5 ml Toluol versetzt und verschlossen 20 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 500 ml Alk versetzt, kurz aufgeköcht und abgenutscht. Der Rückstand wurde nochmals mit 500 ml 65-proz. Alk und ein drittes Mal mit 500 ml 75-proz. Alk heiss extrahiert. Der zuletzt scharf abgenutschte Rückstand wurde an der Luft getrocknet und anschliessend in der Schlagmühle fein gemahlen. Das feine Pulver wurde wie oben erneut mit Wasser aufgeweicht und insgesamt 3 mal mit Alkohol von 65 bis 85% heiss extrahiert, bis es nicht mehr bitter war und dann verworfen.

Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum auf 300 ml eingengt, mit 400 ml Alkohol und dem frisch aus 300 g Pb-Acetat-trihydrat bereiteten und in 50-proz. Alkohol angeschlemmten Pb(OH)<sub>2</sub> versetzt und 15 Min. kräftig geschüttelt. Es wurde abgenutscht und gründlich mit 50-proz., dann mit 90-proz. Alkohol gewaschen. Das Filtrat wurde mit verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf pH = 6 gebracht und unter Kontrolle des pH im Vakuum auf 100 ml eingengt. Dann wurde 4 mal mit je 500 ml Chf ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom je einmal gewaschen mit je 20 ml W, 2-n. Sodalösung, W und nochmals W. Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen gab 3,90 g Chf-Extr. als dunkles Harz.

Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden vereinigt und unter Kontrolle des pH = 5–6 im Vakuum bis zum dickflüssigen Sirup eingedampft. Es wurde mit Alkohol versetzt, bis keine weitere Fällung mehr entstand, und nach kurzem Stehen abdekantiert. Der weisse, schmierige Niederschlag wurde durch Erwärmen mit wenig Wasser verflüssigt und erneut mit Alkohol gefällt. Diese Fällung wurde noch mit Alkohol ausgekocht. Der fast geschmacklose Rückstand gab mit *Raymond*-Reagens keine Färbung mehr und wurde verworfen. – Die vereinigten alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum eingedampft und der dickflüssige Rückstand in heissem Me gelöst. Beim Abkühlen kristallisierten 25,36 g (8,45%) reine Saccharose aus. Die Mutterlauge wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand (13 g) in 20 ml Wasser gelöst und 4 mal mit je 120 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom 3 mal mit je 20 ml W und je einmal mit je 10 ml 2-n. Sodalösung und W gewaschen. Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen gab 0,63 g Chf-Alk-(2:1)-Extr.

Die wässrige Phase und die 3 ersten Waschwasser wurden vereinigt und im Vakuum auf 15 ml eingengt, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> halb gesättigt und 3 mal mit je 100 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit den 10 ml Sodalösung und Wasser, die zum Waschen der Chf-Alk-(2:1)-Extrakte benützt worden waren, gewaschen, nachdem diese vorher mit wasserfreier Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> halb gesättigt worden waren. Trocknen und Eindampfen gab 1,47 g Chf-Alk-(3:2)-Extr.

Die verbleibende wässrige Phase wurde mit Alk von Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> befreit und gab beim Eindampfen noch 4,8 g amorphen Rückstand.

Trennung des Chf-Extr. Die 3,90 g Chf-Extr. gaben aus Me-Ae 750 mg krist. Acovenosid A, Smp. 215–221°. Die Mutterlauge (3,15 g) wurde an 120 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 400 ml der in Tab. 6 genannten Lösungsmittel.

<sup>45)</sup> P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1750 (1951).

**Tabelle 6.**  
Chromatographie von 3,15 g Chf-Extr.-Mutterlauge an  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Frak- tions- Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Roh- menge in mg	Habitus; bei Kristallen: Menge, Smp. und Art
1—5	Be-Chf-(1:1) u. Chf	251	amorph. <i>Raymond</i> -Reaktion negativ
6	Chf-Me-(99:1)	110	amorph
7	Chf-Me-(99:1)	83	43 mg, 223—240°, O
8—11	Chf-Me-(98:2)	1178	367 mg, Krist. A und (G) + H
12—13	Chf-Me-(95:5)	298	} 113 mg, Krist. A und (G) + H
14	Chf-Me-(90:10)	79	
15	Gemisch <sup>46)</sup>	872	amorph, braun

Die Fr. 1—5 waren amorph, gaben mit *Raymond*-Reagens keine Färbung und wurden nicht untersucht.

Fr. 6 (amorph) zeigte im Papierchromatogramm nur den O-Fleck, N war nicht nachweisbar.

Fr. 7 gab aus An 43 mg krist. *Acoschimperosid* O, Smp. 223—240°; die Mutterlauge zeigte im Papierchromatogramm nur den O-Fleck, N war nicht nachweisbar.

Die Fr. 8—14 gaben aus Me-Ae insgesamt 480 mg Kristallgemisch, aus dem sich nach Umkristallisieren aus Me-Ae und reinem Me noch 235 mg reines *Acovenosid* A, Smp. 221—225°, abtrennen liessen. Die Mutterlauge gaben unreines *Acolongiflorosid* H, nach nochmaligem Umkristallisieren 53 mg farblose feine Körnchen, Smp. 257—269°, Färbung mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  tief violett. Nach Papierchromatogramm (Be-Chf-(7:5)/Fmd) lag nahezu reines H vor, das noch eine Spur G enthielt.

Prüfung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. Dieser gab im Papierchromatogramm (Bu/W) nach 24 Std. zwei starke Flecke mit Laufstrecken von 11—12 cm (entspr. *Acolongiflorosid* K) und 16—20 cm (entspr. *Acovenosid* C). Die ganze Menge (630 mg) wurde mit 3,6 ml abs. Py und 2,4 ml Acetanhydrid 48 Std. bei 18° stehengelassen und anschliessend  $\frac{1}{2}$  Std. auf 60° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 512 mg neutrales Rohprodukt sowie 150 mg saure Anteile. Das Neutralprodukt gab auch nach Impfen mit krist. *Acetylacolongiflorosid*-K<sup>3)</sup> keine Kristalle.

Trennung des Chf-Alk-(3:2)-Extr. Die 1,47 g Extrakt gaben aus wenig Wasser (Impfen) 498 mg krist. *Ouabaïn*. Die Mutterlauge zeigte im Papierchromatogramm (Bu/W) nach 24 Std. zwei starke Flecke mit Laufstrecken von 8—9 cm (entspr. *Ouabaïn*) und 11—12 cm (entspr. *Acolongiflorosid* K). Zur Isolierung des K wurden 60 mg des Mutterlauerückstandes auf 3 Papierblättern (*Whatman* Nr. 1) durch präparative Papierchromatographie<sup>27)</sup> getrennt. Es wurde das System Bu/W benützt und 10 Std. bei 20° laufen gelassen. Die Eluierung der K-Banden gab 20 mg farblosen Schaum, der im Papierchromatogramm (System Bu/W) nur noch den K-Fleck zeigte. Dieses Material (20 mg) wurde mit 0,4 ml abs. Py und 0,3 ml Acetanhydrid 18 Std. auf 36° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 7 mg neutrales Rohprodukt<sup>47)</sup>, das nicht kristallisierte. Im Papierchromatogramm (Nr. 12 in Fig. 10 u. 11) gab es dieselben 2 Flecke wie ein Vergleichspräparat (Nr. 14 in Fig. 10), das durch Acetylierung von authentischem *Acolongiflorosid* K unter gleichen Bedingungen gewonnen worden war.

<sup>46)</sup> Chf-Me-Äthylacetat-(1:1:1).

<sup>47)</sup> Auch früher hatte die Acetylierung roher Präparate von *Acolongiflorosid* K nur eine schlechte Ausbeute an Neutralprodukt gegeben, daneben wurden saure Anteile erhalten<sup>3)</sup>.

## Extraktion von Samenprobe Nr. 2 (ausgeführt im Okt. 1952).

Die in getrocknetem Zustand am 19. 5. 1952 per Seepost erhaltenen Früchte (1,6 kg) wurden vom Fruchtfleisch befreit und gaben 577 g Samen, die bis zur Verarbeitung, wieder mit etwas Chf besprüht, verschlossen bei 0° aufbewahrt wurden.

500 g Samen wurden wie bei Probe 1 extrahiert, wobei insgesamt 12mal extrahiert werden musste, bis das verbleibende Pulver nicht mehr bitter war. Nach Reinigung mit Pb(OH)<sub>2</sub> wurde 7mal mit Chf ausgeschüttelt, wobei 10,95 g Chf-Extr. resultierten.

Die wässrige Phase wurde wieder mit Alkohol behandelt, wobei schliesslich 30 g unlösl. Material verblieben, das mit *Raymond*-Reagens keine Färbung gab und verworfen wurde. Die in wässrigem Alkohol löslichen Teile gaben aus Me 80,18 g krist. Saccharose (1mal aus W-Me umkristallisiert). Die Mutterlauge wurde wieder ganz eingengt, in 100 ml Wasser aufgenommen, im Vakuum von Me-Resten befreit und 4mal mit je 500 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Gewaschen wurde mit 100 ml W, 70 ml W, 40 ml 2-n. Soda-lösung und 40 ml W. Trocknen und Eindampfen gab 5,84 g Chf-Alk-(2:1)-Extr.

Die wässrige Phase wurde wie bei Probe 1 behandelt und gab 7,40 g Chf-Alk-(3:2)-Extr.

Die zuletzt verbliebene wässrige Phase gab aus Me noch 9,69 g krist. Saccharose.

Untersuchung des Chf-Extr. Die 10,95 g Material gaben aus Me-Ae 3,24 g krist. Acovenosid A. Der Mutterlauge rückstand (7,67 g) wurde an 225 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 750 ml der in Tab. 7 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 7.

Chromatographie von 7,67 g Chf-Extr.-Mutterlauge an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Frak-tions-Nr.	Eluiermittel	Eindampfrückstand	
		Roh-menge in mg	Habitus, bei Kristallen: Menge, Smp. und Art
1—3	Be-Chf-(1:3) u. Chf	819	Öl, <i>Raymond</i> -Reaktion: negativ
4	Chf-Me-(99:1)	1505	470 mg F. 218—242° N
5	Chf-Me-(99:1)	1016	191 mg F. 216—240° N + H + wei- terer Fleck nicht identifiziert
6—8	Chf-Me-(99:1)	725	392 mg F. 237—248°, N + H + (G)
9—11	Chf-Me-(98:2)	1065	422 mg Krist., H + A
12	Chf-Me-(95:5)	1157	167 mg Krist., A
13	Chf-Me-(92:8)		
14	Chf-Me-(85:15)		
15	Gemisch <sup>46</sup> )	1052	Amorph, <i>Kedde</i> -Reaktion sehr schwach
Total		7,34 g	

Die Fr. 1—3 waren amorph, *Raymond*-Reaktion: negativ, verworfen.

Die Fr. 4 gab aus Me-Ae 470 mg rohe Subst. N, Smp. 218—242°. (Papierchromatographie.) Umkristallisieren aus Me, dann aus An gab 241 mg reines Acoschimperosid N in länglichen Blättchen vom Smp. 243—248°. Färbung mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: schwarz → grasgrün (4 Std.).

Fr. 5 gab aus Me-Ae 191 mg Kristallgemisch, Smp. 216—240°. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus An wurden farblose Kristalle unbestimmter Form erhalten. Smp. 242—250°, Färbung mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: schwarz-violett, preussischblau. Nach Papierchromatographie enthielt dieses Gemisch Subst. X, Acolongiflorosid H und wenig Aco-schimperosid N.

Die Fr. 6—8 gaben aus Me-Ae 392 mg Kristallgemisch, Smp. 237—248°. Sie waren nach Papierchromatogramm ein Gemisch von Acolongiflorosid G, Acolongiflorosid H

und Acoschimperosid N. Durch Umkristallisieren aus An wurde zunächst ein Teil a (36 mg, Smp. 242—247°,  $[\alpha]_D^{25} = -67,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,08$  in Me)) erhalten, der im Papierchromatogramm einen starken H-Fleck und einen schwachen N-Fleck gab<sup>48</sup>). Weiter wurde ein Teil b (94 mg, Smp. 259—265°) erhalten, der im Papierchromatogramm einen starken H-Fleck und einen schwachen G-Fleck gab. Beide Teile zeigten mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eine tief violette Farbe. Sie wurden mit den Mutterlaugen vereinigt zur Verteilungschromatographie verwendet (vgl. Tab. 8).

Die Fr. 9—11 gaben aus Me-Ae 422 mg Kristallgemisch (A u. H), das sich durch fraktionierte Kristallisation teilweise in A (218 mg) und nicht ganz reines H trennen liess.

Die Fr. 12—14 gaben noch 167 mg Acovenosid A.

Die Fr. 15 blieb amorph. Im Papierchromatogramm gab dieses Material nur dann sichtbare Flecke (A—H), wenn sehr viel davon verwendet wurde. Es wurde nicht weiter untersucht.

Verteilungschromatographie. Von dem gesamten krist. Material (1,431 g) aus der Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Chromatographie wurden nur 385 mg reines A und 241 mg reines N erhalten. Die restlichen 605 mg Kristallgemisch wurden zur Verteilung verwendet<sup>49</sup>). Hierfür dienten 800 g Kieselgur-Wasser-(1:1) als stationäre Phase. Durchlaufgeschwindigkeit 400—600 ml pro 24 Std. Das Resultat ist aus Tab. 8 ersichtlich.

Tabelle 8.

Verteilungschromatographie von 605 mg Kristallgemisch aus Chf-Extr.

Frak- tions- Nr.	Eluiermittel		Eindampfrückstand Habitus; bei Kristallen: Smp. und Art
	Art	Menge in mg	
1	Be	} 30	amorph
2	Be		
3	Be		
4	Be	89	} N
5	Be	16	
6	Be	73	224—228° A (Me-Ae)
7	Be	94	157/236—246° A + H (Be-An)
8	Be	97	158/229—246° A + H
9	Be	27	Krist. (A) + H
10	Be	36	251—278° H + Spur A
11—31	Be	16	Krist. H
32—44	Be	238	261—264° H (An-Ae)
45—46	Be	147	265—279° H + Subst. X
47—54	Be-Chf-(1:1)	11	} Spur Subst. X
55—69	Chf	11	
70—75	Chf-Bu-(98:2)	} 52	Spur krist. 249—261°, <i>Kedde</i> -negativ, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> : braungelb. Hauptm. amorph, braun
Total			

<sup>48</sup>) Ein früheres Präparat aus *A. longiflora*<sup>3</sup>) hatte fast dieselbe Drehung gezeigt. Gef.  $[\alpha]_D^{25} = -67,2^{\circ} \pm 4^{\circ}$  ( $c = 1$  in Me). Die papierchromatographische Kontrolle zeigte, dass es auch nicht ganz rein war und neben H noch wenig von einem Stoff enthielt, der im verwendeten System (Be-Chf-(4:7)/Fmd) eine ca. 5fach grössere Laufstrecke zeigte.

<sup>49</sup>) Hier wäre es richtiger gewesen, die ganze Mutterlauge von A und N, nicht nur die Kristalle für die Verteilungschromatographie zu verwenden.

Die Fr. 1—2 gaben nur 30 mg amorphes Material.

Die Fr. 3—4 (105 mg) gaben aus Me-Ae wenig krist. Acoschimperosid N.

Fr. 5 (73 mg) gab aus Me-Ae krist. Acovenosid A, Smp. 224—228°.

Die Fr. 6—9 (zusammen 254 mg) gaben aus Me-Ae zuerst reines Acovenosid A. Die Mutterlauge lieferte aus Be-An krist. Acolongiflorosid H, Smp. 176/227—236°, das nach Papierchromatogrammen noch eine Spur G enthielt.

Die Fr. 10—31 (254 mg) gaben aus An-Ae reines Acolongiflorosid H, Smp. 261—264°.

Die Fr. 32—44 (147 mg) gaben aus An-Ae zunächst reines Acolongiflorosid H, Smp. 261—264°, die Mutterlauge lieferte aus Me eine Spur Subst. X.

Die Fr. 45—54 gaben aus Me noch eine Spur Subst. X.

Die Fr. 55—75 gaben nur noch wenig braunen Rückstand. Im Papierchromatogramm gab Fr. 59 4 Flecke, der rascheste zeigte im System Be-Chf-(7:5)/Fmd nach 17 Std. eine Laufstrecke von 5,2 cm, entspr. Subst. X.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. gab im Papierchromatogramm (System To-Bu-(1:1)/(W), vgl. Nr. 9 in Fig. 6 und 7) fünf Flecke, davon zeigten drei gleiche Laufstrecken wie Y<sup>26</sup>), Digluco-N<sup>26</sup>) und K. Da diese Stoffe sehr schwer zu trennen sind<sup>26</sup>), wurde auf eine weitere Untersuchung dieses Extraktes vorläufig verzichtet.

Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extr. Die 7,40 g Material gaben aus wenig Wasser 1,70 g krist. Ouabain. Die Mutterlauge gab im Papierchromatogramm (System Bu/W) zwei Flecke mit Laufstrecken wie Ouabain und K. Sie wurden nicht weiter untersucht.

#### Charakterisierung der isolierten krist. Glykoside.

Acovenosid A. Aus Me farblose hexagonale Blättchen, Smp. 215—218°,  $[\alpha]_D^{25} = -60,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,27$  in An). Nach Mischprobe, Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Papierchromatogr. (einheitlich) identisch mit authentischem Material. 60 mg wurden mit 0,6 ml Py und 0,4 ml Acetanhydrid acetyliert (16 Std. 18°, eine Std. 70°). Das Rohprodukt (75 mg) gab aus An-Ae farblose Kristalle, Smp. 227—229°. Mischprobe mit authentischem Derivat ebenso.

Acoschimperosid O. Krist. aus An, dann aus Me farblose Blättchen, Smp. 214—240°. Aus D Spiesse, Smp. 235—243°,  $[\alpha]_D^{25} = -58,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,062$  in D). Gewichtsverlust bei Trocknung 1,15%.

C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>10</sub>	Ber. C 63,58	H 8,18	OCH <sub>3</sub> 5,48%
(566,70)	Gef. „ 63,10	„ 8,10	„ 6,16%

Das Präparat war nach Papierchromatogramm einheitlich. Der Stoff ist in An sehr schwer löslich, zunehmend leichter in Me, Chf und D. UV.-Spektren siehe Theoret. Teil.

O-Acetyl-acoschimperosid-O. 9,6 mg krist. Acoschimperosid O wurden in 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml Acetanhydrid wie oben acetyliert. Die Aufarbeitung gab 13 mg neutrales Rohprodukt, das bis jetzt nicht kristallisierte.

Acoschimperosid N. Aus An farblose, längliche Blättchen, Smp. 235—240°,  $[\alpha]_D^{25} = -107,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,175$  in Me). Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>9</sub>	Ber. C 65,91	H 7,75	OCH 5,69%
(546,65)	Gef. „ 66,12; 66,09	„ 7,84; 7,82	„ 5,83%

Geschmack bitter. Das Präparat war nach Papierchromatographie einheitlich. Mit Tetranitromethan gab es *keine* eindeutige Gelbfärbung. UV.-Spektrum siehe theoret. Teil.

O-Acetyl-acoschimperosid-N. 40 mg krist. Acoschimperosid N wurden in 1,2 ml abs. Py und 0,8 ml Acetanhydrid 12 Std. bei 20° und 2½ Std. bei 50° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 51 mg neutrales Rohprodukt, das bisher nicht kristallisierte. Es gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung.



Di-O-benzoyl-acoschimperosid-N. 25 mg Acoschimperosid N (aus Samenprobe 2) wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,17 ml reinstem Benzoylchlorid 2 Std. bei 0°, dann 18 Std. bei 20° unter H<sub>2</sub>O-Ausschluss stehengelassen. Dann wurde mit 0,1 ml Me versetzt und nochmals 2 Std. stehengelassen. Die Aufarbeitung gab 63 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me farblose Nadeln, Smp. 188–193°,  $[\alpha]_D^{25} = -29,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,120 in Chf).

C<sub>44</sub>H<sub>50</sub>O<sub>11</sub> (754,88) Ber. C 70,00 H 6,67% Gef. C 69,98 H 6,99%

Acolongiflorosid H. Die Fraktionen der Verteilungschromatographie (Nr. 27–31 von Tab. 8), die im Papierchromatogramm nur den H-Fleck zeigten, gaben aus An farblose Blättchen, Smp. 261–264°,  $[\alpha]_D^{25} = -39,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,137 in Me)<sup>50</sup>. Nach Papierchromatogramm einheitlich und identisch mit der Hauptkomponente der früheren Präparate<sup>3)50</sup>). Die Mischprobe mit dem alten Präparat<sup>8)</sup> gab keine Depression, die Farbreaktionen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren gleich. Tetranitromethan gab eine merkliche Gelbfärbung.

Subst. X. Von diesem Stoff wurden bisher nur 3 mg Kristalle nach Verteilungschromatographie isoliert. Aus Me farblose Nadeln, Smp. 265–279°, Färbung mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: gelb. Weitere Reaktionen konnten nicht ausgeführt werden.

Ouabaïn. Präparat aus Samenprobe 1, aus wenig W quadratische Blättchen, dann aus Me-Ae farblose Stäbchen, Smp. 181–183°,  $[\alpha]_D^{25} = -40,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 0,975 in Me). Präparat aus Samenprobe 2, analog kristallisiert, zeigte Smp. 180–183°,  $[\alpha]_D^{25} = -37,9^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,05 in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material aus *Strophanthus gratus*.

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

### Zusammenfassung.

Die Analyse der Samen von *Acokanthera schimperi* (A. DC.) Benth. et Hook. aus Ghinda (Erythräa) wird beschrieben. Als Hauptglykoside enthielten sie sowohl Acovenosid A (0,33–0,74%) wie Ouabaïn (ca. 0,3–0,5%). Als Nebenglykoside wurden Acoschimperosid O, Acoschimperosid N, Acolongiflorosid H und eine Spur Subst. X in Kristallen isoliert. Durch Papierchromatographie ist unter anderem die Anwesenheit von Acovenosid C und Acolongiflorosid K wahrscheinlich gemacht worden. Die Acoschimperoside O und N sowie Subst. X stellen vermutlich neue Stoffe dar.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

<sup>50</sup>) H. Muhr und Mitarb.<sup>8)</sup> fanden für ein Präparat, das noch merkliche Mengen Acolongiflorosid G enthielt, Smp. 249–255°,  $[\alpha]_D^{20} = -42,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (c = 1,07 in Me).