

## 1. Die Glykoside von *Acokanthera Schimper* (A. DC.) BENTH. et HOOK. 3. Mitteilung<sup>1)</sup>. Untersuchung der Samen der Form, die von den Wa-Giriama zur Pfeilgiftbereitung verwendet wird<sup>2)</sup>

Glykoside und Aglykone, 193. Mitteilung<sup>3)</sup>

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

(15. X. 58)

Kürzlich beschrieben wir<sup>1)</sup> die Beschaffung von Wurzel- und Zweigholz sowie von Samen derjenigen Form von *Acokanthera Schimper* (A. DC.) BENTH. et HOOK.<sup>4)</sup>, die von den Wa-Giriama zur Gewinnung von Pfeilgift verwendet wird<sup>5)</sup>. Über die orientierende chemische Analyse des Wurzel- und Zweigholzes wurde in vorstehender Mitteilung berichtet. Die Form ist ausgezeichnet durch einen hohen Gehalt an Ouabain und völliges Fehlen von Acovenosid A. Von den zahlreichen Nebenglykosiden wurden nur N, P und R2 in reiner Form isoliert. Das ganze Gemisch ist sehr schwer trennbar. Wir beschreiben hier die nahezu vollständige Trennung des aus den Samen isolierten Glykosidgemisches, wobei zur Kontrolle fortlaufend die Papierchromatographie diente.

*Extraktion der Samen.* Die Extraktion der Samen (1,53 kg entspr. Herbarmuster B 9342<sup>1)</sup>) erfolgte prinzipiell nach früherer Vorschrift<sup>6)</sup> wie folgt: Die gemahlene und mit Wasser geweichte Samen wurden wie üblich mit wässrigem Alkohol extrahiert und diese Auszüge mit  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  gereinigt. Nach Einstellen auf  $\text{pH} = 6$  wurde im Vakuum vom Alkohol befreit und die wässrige Lösung zunächst mit Chloroform und dann mit Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Um ein Übertreten des Ouabains in den Chf-Alk-(2:1)-Extr.<sup>8)</sup> möglichst zu vermeiden, wurde der letztgenannte Auszug mit mehr Wasser gewaschen als üblich. Die verbliebenen wässrigen Phasen wurden nach Ausfällung alkoholunlöslicher Anteile und nach erneutem Einengen im Vakuum mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  halb gesättigt und erschöpfend mit Chloroform-Alkohol-(3:2) ausgeschüttelt. In der hierauf verbliebenen wässrigen Phase waren mit KEDDE-Reagens keine digitaloiden Stoffe mehr nachweisbar; sie wurde verworfen. Der ursprüngliche Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurde in Wasser gelöst und mit Chf-Alk-(9:1) ausgeschüttelt. Insgesamt wurden die in Tab. 1 genannten Ausbeuten erhalten.

<sup>1)</sup> 2. Mitteilung: F. THUDIUM, K. MOHR, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **41**, 604 (1958).

<sup>2)</sup> Auszug aus der Diss. F. THUDIUM, Basel 1957.

<sup>3)</sup> 192. Mitteilung: L. KELLER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **41**, 1633 (1958).

<sup>4)</sup> Nach M. PICHON, *Mém. Muséum national Hist. nat. Paris*, n. s. **24** (3), 132 (1948), ist die Pflanze wieder als *Cavissa Schimper* A. DC. zu bezeichnen. Wir behalten hier den Namen *Acokanthera* bei, weil ziemlich viel neuere chemische Literatur vorliegt, in der ausschliesslich diese Bezeichnung gebraucht wird.

<sup>5)</sup> P. R. O. BALLY, F. THUDIUM, K. MOHR, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **41**, 446 (1958).

<sup>6)</sup> J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 485 (1950). Es wurde zur Extraktion die dort beschriebene Methode verwendet, die weitere Behandlung der Extrakte geschah wie bei *A. Friesianum*<sup>7)</sup>.

<sup>7)</sup> H. MUHR, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 403 (1954).

<sup>8)</sup> Abkürzungen für die Bezeichnung der Lösungsmittel etc. vgl. Einleitung zum exper. Teil.

Tab. 1. Ausbeuten an Rohextrakten aus 1,53 kg Samen<sup>8)</sup>

22,70 g entspr. 1,48% Chf-Extr.
7,85 g entspr. 0,51% Chf-Alk-(9:1)-Extr.
8,59 g entspr. 0,56% Chf-Alk-(2:1)-Extr.
14,67 g entspr. 0,96% Chf-Alk-(3:2)-Extr.

Durch Papierchromatographie liessen sich in den 4 Extrakten insgesamt 21 digitaloide Lactone nachweisen. Von diesen erwies sich (siehe später) der ursprünglich als Y bezeichnete Stoff als Gemisch von (mindestens) zwei Komponenten, die als Y1 und Y2 bezeichnet werden. Es sind somit insgesamt mindestens 22 digitaloide Lactone enthalten gewesen. Fast alle konnten in reinem oder fast reinem Zustand isoliert werden. Um die Beschreibung der teilweise komplizierten Trennungen zu erleichtern, werden diese 22 Stoffe in Tab. 2 zusammengestellt. Ausser N, P, G, H und Ouabain dürfte es sich um neue Stoffe handeln. In Tab. 2 ist auch die in den Samen schätzungsweise enthaltene Menge<sup>9)</sup> sowie die Verteilung der verschiedenen Stoffe auf die vier Rohextrakte angegeben.

Tab. 2. Die 22 in den Samen nachgewiesenen digitaloiden Lactone geordnet nach zunehmender Polarität im Papierchromatogramm<sup>9)</sup>

Vorkommen in den 4 Rohextrakten	Bezeichnung	Smp.	In 1,5 kg Samen schätzungsweise enthaltene Menge		Acetyl-derivat Smp.
			in g	in %	
Chf-Extr.     Chf-Alk-(9:1)-Extr.   Chf-Alk-(2:1)-Extr.   Chf-Alk-(3:2)-Extr.	Acoschimperosid Q	247° (An-Ae)	2	0,13	217° (Ae)
	Acoschimperosid N <sup>10)</sup>	239° (Me-Ae)	5	0,33	amorph
	Acoschimperosid P <sup>12)</sup>	275° (An-Ae)	4	0,27	amorph
	Acolongiflorosid G <sup>13)</sup>	286° (An-Ae)	1	0,07	247° (An-Ae) <sup>7)</sup>
	Acolongiflorosid H <sup>13)</sup>	251° (An-Ae)	1	0,07	209° (An-Ae) <sup>7)</sup>
	Subst. R1 } Misch-	214° (An-Ae)	< 0,1	< 0,007	-
	Subst. R2 } krist.				
	Acoschimperosid S	249° (An-Ae)	< 0,2	< 0,013	246° (An)
	Acoschimperosid T	250° (An-Ae)			
	Subst. U	246° (An-Ae)			
	Acoschimperosid V	amorph	4	0,27	amorph
	Acoschimperosid W	amorph	1	0,07	amorph
	Subst. FTh 25	amorph	1	0,07	-
	Subst. FTh 13	amorph	0,1	0,007	256° (Me-Ae)
	Acoschimperosid Y1	ca. 180° (Isopr)	0,4	0,03	-
	Acoschimperosid Y2	ca. 180° (Isopr)			
	Digluco-acoschimperosid P	174° (Isopr)	1	0,07	-
	Digluco-acoschimperosid N	171° (Isopr)	2	0,13	amorph
	Acoschimperosid Z	237° (Me-Ae)	0,2	0,013	amorph
	Subst. FTh 28	amorph	< 0,1	< 0,007	162° (Me-Ae)
	Acoschimperosid ψ-K	amorph	2	0,13	amorph
	Ouabain	198–206° (Me-Ae)	10	0,67	299° (Me-Ae) <sup>16)</sup>

Anmerkungen siehe Seite 4

R1 und R2 wurden hier nur als Mischkristallisat (R1 + R2) isoliert. Das als Y1 bezeichnete Präparat enthielt möglicherweise noch etwas Y2. Y1 und Y2 gaben im Papierchromatogramm zusammen nur einen Fleck. Dieser Fleck könnte vielleicht auch noch Subst. FTh 13 enthalten. Es ist bisher unsicher, ob sich FTh 13 papierchromatographisch von Y1 + Y2 differenzieren lässt, da FTh 13 bisher nur als O-Acetylderivat rein isoliert wurde. V, W und FTh 25 sind vielleicht noch Gemische von je zwei nahe verwandten Stoffen, die im Papierchromatogramm gleich wandern.

*Untersuchung des Chf-Extraktes*<sup>9)</sup>. Die papierchromatographische Prüfung im System Fmd/Be-Chf-(4:7) liess zunächst 8 KEDDE-positive Stoffe erkennen (Nr. 2 in Fig. 3)<sup>16)</sup>. Von diesen liessen sich die drei langsamsten Flecke im System Fmd/Chf weiter in 7 Flecke auflösen (Nr. 2 in Fig. 4-6). Der Extrakt enthielt somit mindestens 12 digitaloide Lactone, die mit den Buchstaben Q, N, P, G, H, R1, R2, S, T, U, V und W<sup>17)</sup> bezeichnet werden. Durch direkte Kristallisation liessen sich leicht ca. 6,9 g rohes N isolieren, das aber noch relativ viel Q sowie kleine Mengen von G, H und V/W enthielt (Nr. 1 in Fig. 3). Da eine zufriedenstellende Trennung nicht gelang, wurden die Kristalle wieder mit der Mutterlauge vereinigt und das ganze Material durch Chromatographie an  $Al_2O_3$  in 4 Substanzgruppen (A-D in Tab. 3)<sup>18)</sup> aufgetrennt.

Tab. 3. *Vortrennung von 20,70 g Chf-Extr. in 4 Substanzgruppen an  $Al_2O_3$*

Gruppe	Menge in g	Komponenten nach Papierchromatogramm
A	14,79	Q, N, P
B	3,19	Q, N, P, G (viel), H (viel) sowie Spuren S, T, U
C	2,15	G, H, R1, R2, S, T, U
D	3,3	fast nur V und W

*Trennung der Gruppe A.* Da eine befriedigende Trennung durch Kristallisation nicht gelang, wurde eine Verteilungschromatographie ausgeführt. Von den 8 zunächst in Papierchromatogrammen ausprobierten Systemen schien das BUSH-System<sup>19)</sup> Be/Me-W-(1:1) am besten brauchbar<sup>20)</sup>. 5 g des Gemisches A wurden auf

<sup>9)</sup> Grobe Schätzung auf Grund der Ausbeuten, teilweise auch auf Grund der relativen Stärke der Flecke in den Papierchromatogrammen.

<sup>10)</sup> Erstmals isoliert aus *Acokanthera Schimperi* aus Ghinda (Erythräa)<sup>11)</sup>.

<sup>11)</sup> K. MOHR, F. THUDIUM, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **40**, 2199 (1957).

<sup>12)</sup> Erstmals isoliert aus *Acokanthera Schimperi* aus der Umgebung von Bamba (Nr. B 8541 und Nr. B 9342)<sup>1)</sup>.

<sup>13)</sup> Erstmals isoliert aus *Acokanthera longiflora*<sup>14)</sup>.

<sup>14)</sup> P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. **34**, 1740 (1951).

<sup>15)</sup> E. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **40**, 980 (1957).

<sup>16)</sup> Dabei sind die beiden langsamsten sowie die beiden schnellsten Flecke nicht vollständig getrennt.

<sup>17)</sup> Die vollständigen Bezeichnungen vgl. Tab. 2.

<sup>18)</sup> Vgl. auch Tab. 9 im exper. Teil.

<sup>19)</sup> I. E. BUSH, Biochem. J. **50**, 370 (1952); im Unterschied zu dieser Vorschrift wurden jedoch die Chromatogramme bei 20-25° ausgeführt.

<sup>20)</sup> Für eine gute Trennung an der Säule sollen nicht nur die Rf-Werte für die verschiedenen Stoffe möglichst verschieden sein, sondern sie sollen auch genügend hoch sein, damit die Trennung nicht zu lange dauert und durch Diffusion etc. wieder verwischt wird.

einer Säule Nr. 4<sup>21)</sup> mit gereinigter Kieselgur als Träger in 76 Fraktionen aufgeteilt. Das Resultat ist aus Fig. 1 ersichtlich (vgl. auch Tab. 10 im exper. Teil). Etwa 70% des eingesetzten Gemisches konnten hierauf in Form der einheitlichen krist. Glykoside Q, N und P isoliert werden. Die Wiederholung mit weiteren 5 g Gemisch A gab ein analoges Resultat.

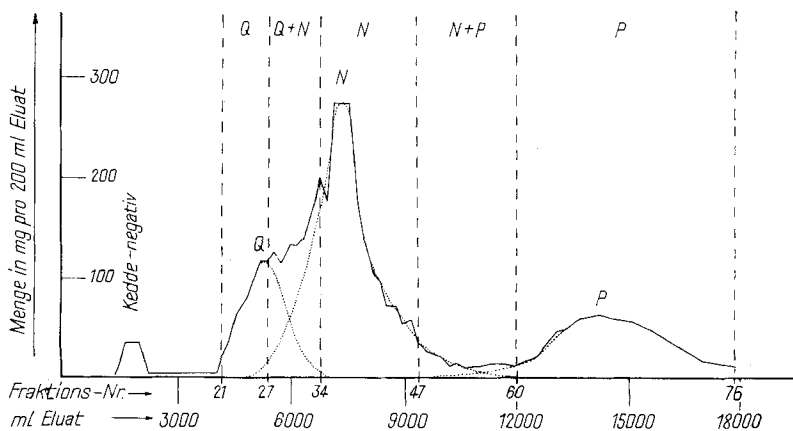


Fig. 1. Verteilungschromatographie von 5 g Gemisch (Gruppe A aus Chf-Extr.)

*Trennung der Gruppe B.* Das Gemisch B (3,15 g) wurde nochmals an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert (vgl. Tab. 11 im exper. Teil). Dabei liessen sich 1,145 g Material erhalten, das nach Papierchromatographie ausschliesslich G und H enthielt. Dieses lieferte durch Kristallisation aus reinem Methanol einheitliche G-Kristalle. Aus der Mutterlauge wurde reines H nach präparativer Papierchromatographie<sup>22)</sup> erhalten.

*Trennung der Gruppe C.* Das Gemisch (2,15 g) wurde nochmals an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, wobei 270 mg Material abgetrennt werden konnte, das nur die Flecke G und H gab. Die späteren Fraktionen wurden vereinigt (1,85 g); sie zeigten im Papierchromatogramm die Flecke G, H, R1/R2 und S/T/U. 1,42 g dieses Gemisches wurden einer groben Verteilungschromatographie im System Pgl-W-(1:1)/Chf unterworfen und dabei in zwei ungefähr gleich grosse Teile a) und b) getrennt.

*Teil a)* (stark braun gefärbt) zeigte im Papierchromatogramm die Flecke G, H und R1/R2. Er wurde durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  vorgereinigt und durch präparative Papierchromatographie<sup>22)</sup> getrennt. R1 und R2 wurden dabei in Form eines Mischkristallisates erhalten, das sich bisher nicht trennen liess.

*Teil b)* war farblos und enthielt an KEDDE-positiven Stoffen nur S, T und U<sup>24)</sup>. Er wurde zur Vorreinigung ebenfalls an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Die einzelnen Fraktionen gaben Kristallisate, die nun im Papierchromatogramm scharf begrenzte und gut getrennte Flecke lieferten. Diese Kristallisate erwiesen sich meistens als

<sup>21)</sup> H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953).

<sup>22)</sup> Ausführung nach A. V. ARX & R. NEHER, *Helv.* **39**, 1664 (1956).

<sup>23)</sup> Es wurde das System Fmd/Be-Chf-(4:7) verwendet.

<sup>24)</sup> Es ist aber bisher nie gelungen, T und U im Papierchromatogramm eindeutig voneinander zu trennen (vgl. Fig. 7). Daher ist es auch unsicher, ob nicht noch ein weiteres digitaloides Lacton mit einer Laufstrecke zwischen T und U anwesend war.

Gemische von S und T (mit Spur U) oder S und U. Sie wurden durch präparative Papierchromatographie<sup>25)</sup> getrennt. Alle 3 Stoffe wurden so schliesslich in einheitlichen Kristallen erhalten.

*Trennung der Gruppe D.* Dieses Material enthielt fast nur V und W. Durch Chromatographie an SiO<sub>2</sub> liess sich daraus ein amorphes Präparat erhalten, das im Papierchromatogramm nur den V-Fleck zeigte. Ferner wurde ein ebenfalls amorphes Präparat gewonnen, das im Papierchromatogramm vorwiegend den W-Fleck, aber auch noch einen schwachen V-Fleck zeigte. Keiner der zwei Stoffe konnte kristallisiert werden.

*Untersuchung des Chf-Alk-(9:1)-Extrakts.* Dieses Material enthielt nach Papierchromatogramm (Nr. 22 in Fig. 14) nur die 3 Stoffe V, W und FTh 25. Die ersten beiden wurden bereits aus dem Chf-Extr. erhalten und Subst. FTh 25 aus dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. (siehe unten). Daher wurde auf die präparative Trennung dieses Extraktes verzichtet.

*Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts.* Dieses Material gab im Papierchromatogramm (im System W/To-Bu-(1:1), vgl. Nr. 29 in Fig. 16 und 17) 7 Flecke entsprechend den 9 Stoffen FTh 13, Y1 und Y2 (gemeinsam), Digl-P, Digl-N, Z, FTh 28,  $\psi$ -K und Ouabain. Von diesen Flecken war der drittlangsamste (FTh 28) nur sehr schwach und nicht auf allen Chromatogrammen sichtbar. Ausserdem enthielt das Material noch eine rascher wandernde Komponente (FTh 25), die in den oben genannten Chromatogrammen (Fig. 16 und 17) bereits eluiert ist. Es ist möglich, dass FTh 25 selbst noch aus 2 Stoffen besteht<sup>26)</sup>.

Zur präparativen Trennung wurden zunächst 8 g des Gemisches einer Verteilungschromatographie (mit Wasser an Kieselgur als stationärer und Be-Bu-Gemischen als mobiler Phase) unterworfen. Der Verlauf der Trennung ist aus Fig. 2 (sowie Tab. 16 im Exper. Teil) ersichtlich.

Für die präparative Trennung wurden nur die mit I–VII bezeichneten Fraktionsgruppen verwendet. Die dazwischenliegenden Fraktionen wurden teilweise im Papierchromatogramm geprüft (vgl. Tab. 16 im Exper. Teil).

*Gruppe I* (Fr. 5–8) enthielt nach Papierchromatogramm (Nr. 23 in Fig. 14) fast reine Subst. FTh 25, die bisher nicht kristallisiert werden konnte. Daneben waren Spuren V anwesend. Das Material wurde für die enzymatische Spaltung verwendet<sup>27)</sup>. Nach dem dabei erhaltenen Resultat besteht die Möglichkeit, dass Subst. FTh 25 ein Gemisch von 2 nahe verwandten Stoffen (Gl-G + Gl-H) darstellt, die im Papierchromatogramm gleich wandern.

*Gruppe II.* Alle Fraktionen der Gruppe II (Fr. 24–46) gaben im Papierchromatogramm im System W/To-Bu-(1:1) nur einen Fleck entsprechend den Stoffen FTh 13, Y1 und Y2 gemeinsam (analog dem raschesten Fleck in Nr. 29 von Fig. 16 und 17). Trotzdem war eine gewisse Trennung eingetreten, wie sich aus folgenden Befunden ergibt.

<sup>25)</sup> Im System Fmd/Chf.

<sup>26)</sup> Ebenso ist die Einheitlichkeit der Glykoside Y1 und Y2 sowie des Stoffes, der dem als FTh 28 bezeichneten Fleck zugrunde liegt, noch unsicher. Die freie Subst. FTh 28 ist bisher nie ganz rein isoliert, wohl aber als krist. O-Acetylderivat charakterisiert worden. Auch FTh 13 ist bisher nur in amorphen Gemischen angereichert worden, die neben mindestens einer unbekanntnen Substanz noch etwas Y1 und vielleicht auch Y2 enthielten (vgl. Fussn. 29) und daraus als krist. O-Acetylderivat isoliert worden.

<sup>27)</sup> Siehe bei «Kurze Besprechung der isolierten Stoffe», S. 29.

*Untergruppe IIa* (entspr. Fr. 24–32). Diese 9 Fraktionen zeigten bei der papierchromatographischen Prüfung im System Chf-Me-W-(10:8:5)<sup>28)</sup> eine Auflösung in drei nahe beieinander liegende Flecke (a, b, c in Fig. 18)<sup>29)</sup>. Keine dieser Fraktionen kristallisierte. Daher wurde das gesamte Material von IIa in 2 Portionen acetyliert. Dabei konnte nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in geringer Ausbeute eine krist. Acetylverbindung (O-Acetyl-FTh 13) isoliert werden.

Die Fraktionen 33–34 blieben ebenfalls amorph; sie wurden nicht untersucht.

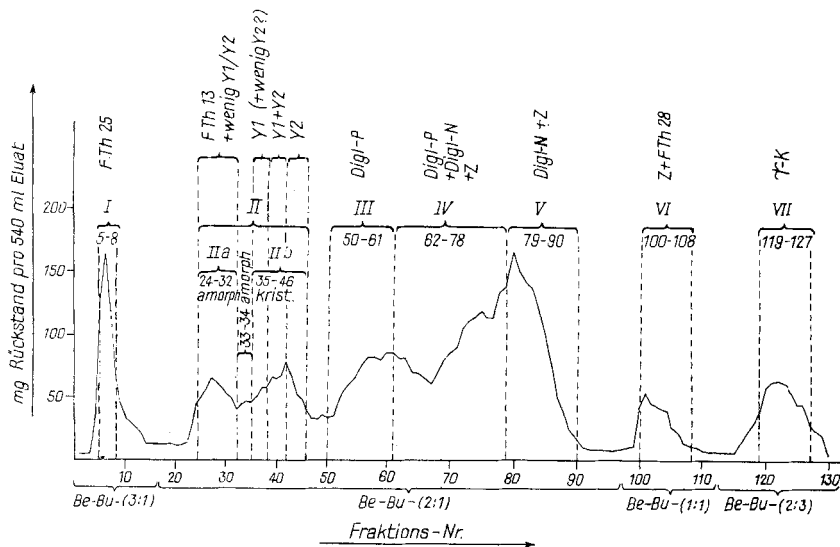


Fig. 2. Verteilungschromatographie von 8 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt

*Untergruppe IIb* (entspr. Fr. 35–46). Diese 12 Fraktionen gaben nicht nur in den Systemen W/To-Bu und Fmd/Chf (Nr. 41 und 42 in Fig. 20), sondern auch im System Chf-Me-W-(10:8:5) nur einen Fleck (vgl. z. B. Nr. 38, 39 und 40 in Fig. 18 und 19), der dem Fleck c der Untergruppe IIa entsprach. Sämtliche Fraktionen dieser Untergruppe liessen sich auch aus Isopropanol kristallisieren. Trotzdem wurden gewisse Unterschiede beobachtet, die dafür sprechen, dass auch die Untergruppe IIb aus zwei Komponenten (Y1 und Y2) bestand. So zeigten die 6 ersten Fraktionen (35–40) mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eine deutlich andere Färbung (hellgrün → grau) als die restlichen 6 Fraktionen (41–46), bei denen diese orange → rosa ausfiel<sup>30)</sup>. Auch die mit den Kristallen aus den vier mittleren Fraktionen Nr. 38–41 durchgeführte enzymatische Spaltung<sup>27)</sup> sprach eindeutig dafür, dass ein Gemisch von zwei Glykosiden vorgelegen hat, die wir als Y1 und Y2 bezeichnen.

<sup>28)</sup> Ausführung nach K. B. JENSEN, Acta pharmacol. toxicol. **9**, 99 (1953).

<sup>29)</sup> Von diesen drei Flecken entsprach Fleck c den Substanzen Y1 und Y2. Da das krist. O-Acetyl-FTh 13 aus Fraktionen isoliert wurde, die den Fleck c nur noch sehr schwach zeigten, glauben wir, dass FTh 13 einem der Flecke a oder b entspricht. Die Ausbeute an krist. O-Acetyl-FTh 13 war aber so schlecht, dass wir es nicht völlig ausschliessen können, dass auch FTh 13 im c-Fleck enthalten war. In letzterem Falle würden die Flecke a und b von unbekanntem Stoffen herrühren.

<sup>30)</sup> Solche Unterschiede können gelegentlich auch durch kleine Verunreinigungen hervorgerufen werden, die im Papierchromatogramm nicht sichtbar sind, wenn sie mit KEDDE-Reagens keine Färbung geben oder zufällig eine gleiche Laufstrecke zeigen wie die Hauptkomponente.

Wir haben daher die Kristalle der drei ersten Fraktionen (Nr. 35–37) vereinigt (75 mg); sie stellen das bisher beste Präparat von Y1 dar, enthielten aber vielleicht noch etwas Y2. Ebenso wurden die Kristalle der letzten vier Fraktionen (Nr. 43–46) vereinigt (120 mg) und als Y2 bezeichnet<sup>31)</sup>. Wir vermuten auf Grund der Färbung mit  $H_2SO_4$ , dass sie im wesentlichen einheitlich waren, obwohl ein sicherer Beweis aussteht. Die achte Fraktion (Nr. 42, nach Farbreaktion reines oder nahezu reines Y2) wurde zur Probe acetyliert, doch liessen sich aus dem Derivat auch nach Chromatographie keine Kristalle isolieren.

*Gruppe III.* Alle Fraktionen dieser Gruppe (Nr. 50–61) gaben im Papierchromatogramm nur einen Fleck. Sie kristallisierten aus Isopropanol. 8 Fraktionen lieferten dabei insgesamt 425 mg krist. Digluco-acoschimperosid P<sup>32)</sup>.

*Gruppe IV.* Die Fraktionen dieser Gruppe (Nr. 62–78) enthielten nach Papierchromatogramm alle ein Gemisch von Digl-P, Digl-N und Z. Auf die Trennung wurde verzichtet, da der erstgenannte Stoff bereits aus Gr. III rein erhalten wurde, während Digl-N und Z aus Gr. V isoliert wurden.

*Gruppe V.* Die Fraktionen dieser Gruppe (Nr. 79–90) enthielten nach Papierchromatogramm (z. B. Nr. 35 in Fig. 17) Digl-N und Z. Durch Kristallisation aus Wasser oder aus Isopropanol konnte aus allen diesen Fraktionen krist. Digluco-acoschimperosid N isoliert werden, das im Papierchromatogramm (Nr. 28 in Fig. 16) nur noch einen Fleck gab. Durch 8tägiges Stehen der einzelnen Fraktionen oder Mutterlaugen in Isopropanol konnte das Digl-N so weitgehend auskristallisiert werden (Totalausbeute an Kristallen 1,11 g), dass in den Mutterlaugen nur noch der Z-Fleck zu erkennen war. Diese Mutterlaugen (insgesamt 218 mg) wurden an  $SiO_2$  chromatographiert, worauf sich 30 mg reines Acoschimperosid Z in Kristallen isolieren liessen. Papierchromatogramm siehe Nr. 27 in Fig. 16. Die Mutterlaugen von Z wurden in siedendem Acetanhydrid<sup>33)</sup> acetyliert. Es resultierte ein papierchromatographisch einheitliches O-Acetylderivat (Nr. 45 in Fig. 22); auch nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  gaben alle Fraktionen nur einen Fleck, doch konnten keine Kristalle erhalten werden.

*Gruppe VI.* Die Fraktionen dieser Gruppe (100–108) gaben im Papierchromatogramm (Nr. 36, 34, 33 und 32 in Fig. 17) neben dem Z-Fleck (schwach) einen weiteren, stärkeren Fleck. Seine Einheitlichkeit ist nicht völlig gesichert. Wegen der Lage (zwischen Z und  $\psi$ -K) glauben wir, dass er dem nur sehr schwach sichtbaren Fleck (FTh 28) des rohen Extraktes entspricht. Keine dieser Fraktionen kristallisierte. Daher wurde das ganze Material (377 mg) mit Py-Acetanhydrid<sup>8)</sup> bei 35° acetyliert<sup>34)</sup>. Nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  wurden 45 mg Kristalle erhalten, die im Papierchromatogramm (Nr. 44 in Fig. 22) erheblich *rascher* wandern als obiges O-Acetyl-Z (vgl. bei Gruppe V). Wir bezeichnen es daher als Substanz O-Acetyl-FTh 28.

<sup>31)</sup> Y1 und Y2 unterschieden sich nicht nur in der genannten Farbreaktion mit  $H_2SO_4$ , sondern auch etwas (ca. 6°) in der spez. Drehung.

<sup>32)</sup> Ausserdem wurden die Fr. 53 und 54 (zusammen 111 mg) acetyliert. Das Acetylierungsprodukt kristallisierte aber nicht. Der Versuch wurde angesetzt, bevor es gelang, Digl-P zu kristallisieren.

<sup>33)</sup> Diese Methode hat sich bereits beim Ouabain als zuverlässig erwiesen, um ein einheitliches Acetylierungsprodukt zu erhalten; vgl. E. WEISS u. Mitarbeiter<sup>15)</sup>.

<sup>34)</sup> Z liefert unter diesen Bedingungen ein Gemisch, das im Papierchromatogramm neben dem Fleck des oben genannten O-Acetyl-Z noch einen zweiten, *langsamer* laufenden Fleck liefert, der offenbar einem partiell acetylierten Z entspricht.

*Gruppe VII.* Die Fraktionen dieser Gruppe (Nr. 119–127) gaben im Papierchromatogramm nur einen Fleck ( $\psi$ -K). Dieser zeigte sowohl im System Wasser/Bu wie im System Wasser/To-Bu-(1:1) dieselbe Laufstrecke wie Acolongiflorosid K<sup>35)</sup>, sowie fast dieselbe wie Subst.  $\gamma$  aus *Strophanthus Tholloni*<sup>36)15)</sup>. Über die Differenzierung von  $\gamma$  siehe die früheren Angaben<sup>11)</sup>. Die vereinigten Fraktionen Nr. 119 und 121–127 (total 500 mg) wurden zur Reinigung in wässriger Sodalösung gelöst und mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Das so erhaltene Material (420 mg) stellte das bisher beste Präparat von Acoschimperosid- $\psi$ -K dar. Es gelang bisher nicht, Kristalle zu erhalten.

Das nach Eluieren der Gruppe VII noch auf der Säule verbliebene Material (ca. 1 g) bestand zur Hauptsache aus Ouabain. Es wurde mit Alkohol heruntergewaschen, aber nicht weiter untersucht.

*Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts.* Dieses Material (14,67 g) lieferte durch direkte Kristallisation aus Alkohol 6,90 g reines Ouabain. Die Mutterlaugen (7,77 g) zeigten im Papierchromatogramm nur die Flecke von  $\psi$ -K und Ouabain. Auf eine Trennung wurde bisher verzichtet.

#### *Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie* (Fig. 3–32)

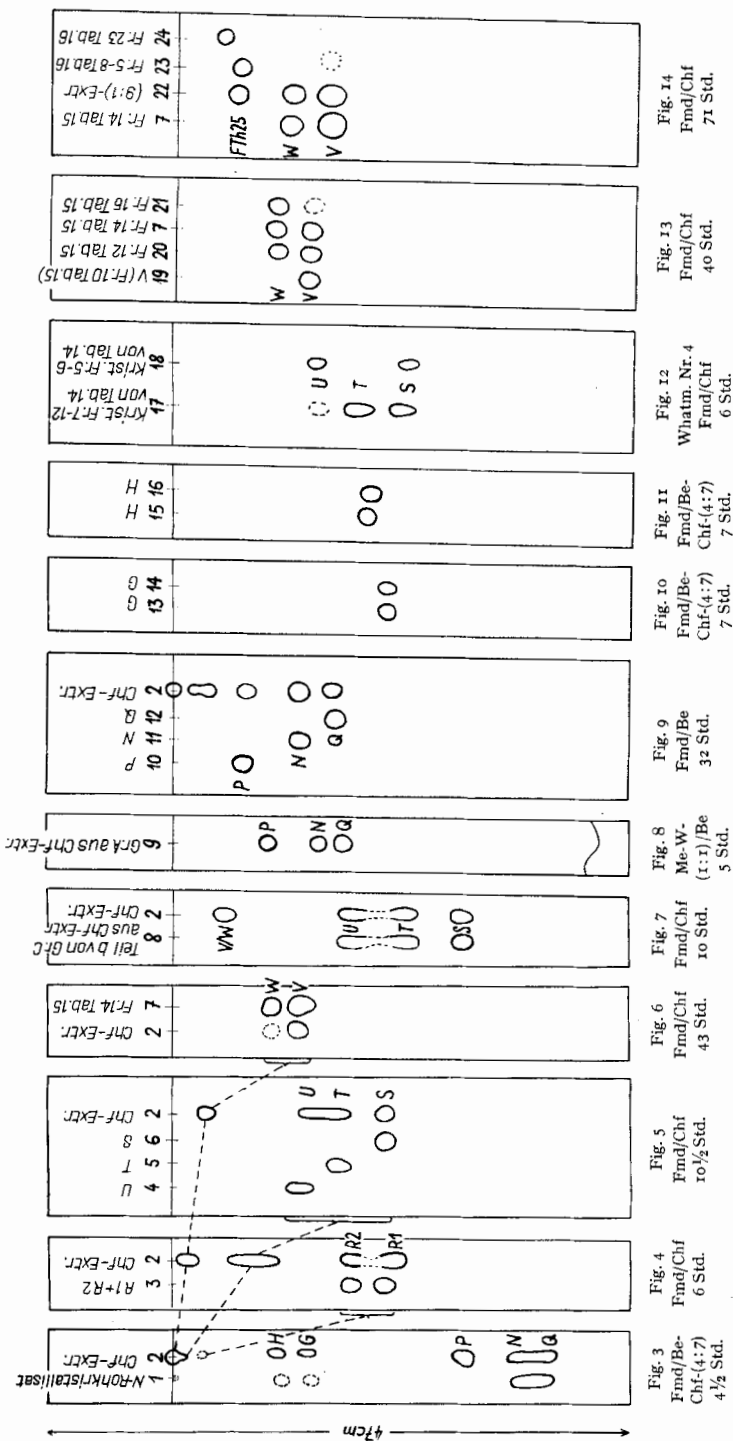
Wo keine Front eingezeichnet ist, wurde die bewegliche Phase abtropfen gelassen. Die in Fig. 23–25 enthaltenen fremden Glykoside wurden zwecks zusätzlicher Charakterisierung der Laufstrecken benützt.

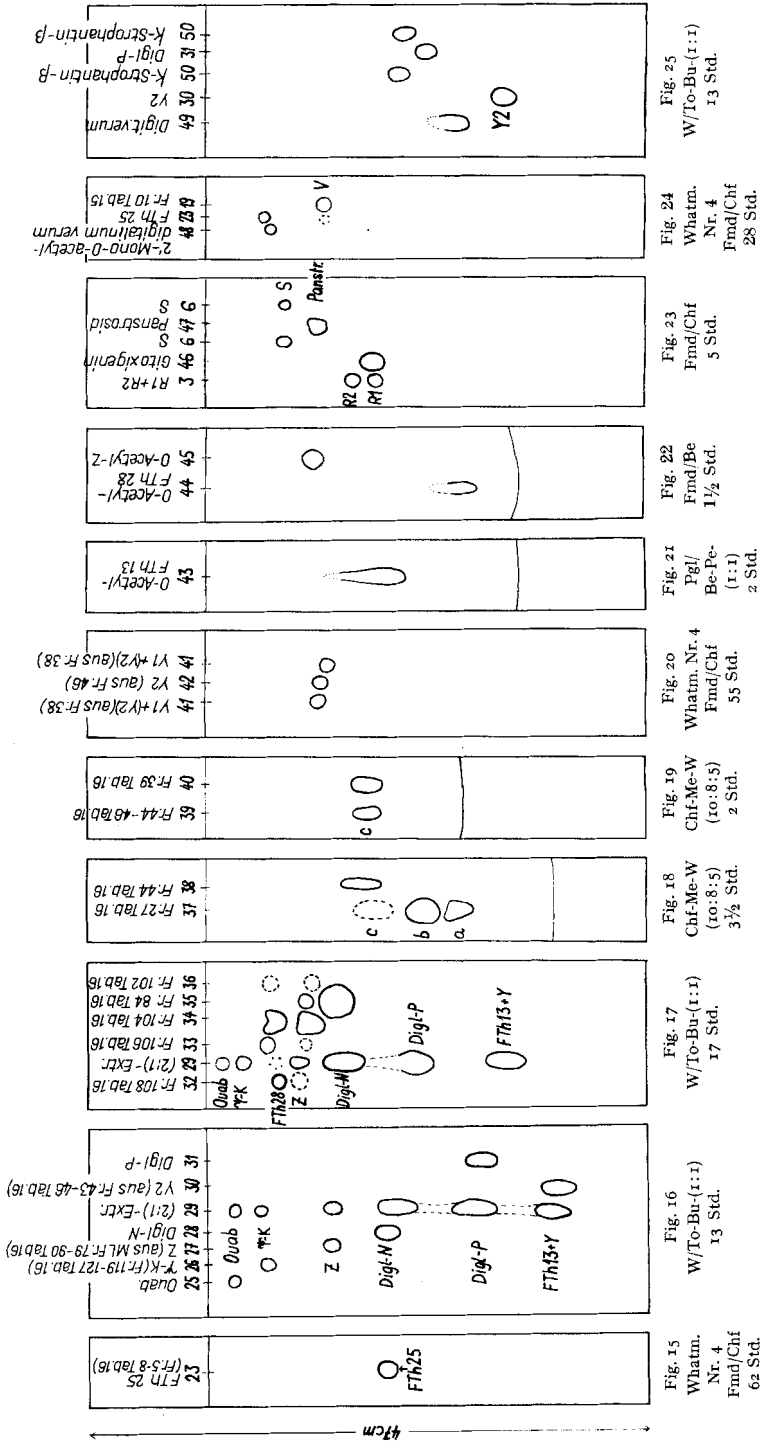
- |                 |   |
|-----------------|---|
| 1 = 0,15 mg     | rohes Kristallinat aus Chf-Extr. (enthält vorwiegend N)   |
| 2 = 0,3–0,8 mg  | Chf-Extr.   |
| 3 = 0,06 mg     | R1/R2 (Rohkristallinat)   |
| 4 = 0,03 mg     | Subst. U  |
| 5 = 0,03 mg     | Acoschimperosid T   |
| 6 = 0,03 mg     | Acoschimperosid S   |
| 7 = 0,60 mg     | Fr. 14 von Tab. 15  |
| 8 = 0,10 mg     | Teil b der Gruppe C von Tab. 9  |
| 9 = 0,10 mg     | Gruppe A von Tab. 9   |
| 10 = 0,03 mg    | Acoschimperosid P   |
| 11 = 0,03 mg    | Acoschimperosid N   |
| 12 = 0,03 mg    | Acoschimperosid Q   |
| 13 = 0,03 mg    | Acolongiflorosid G aus <i>A. longiflora</i>   |
| 14 = 0,03 mg    | Acolongiflorosid G aus Fr. 13–24 von Tab. 11  |
| 15 = 0,03 mg    | Acolongiflorosid H aus präp. Papierchromatogramm von Kristallen aus Mutterlaugen der Fr. 13–24, Tab. 11 |
| 16 = 0,03 mg    | Acolongiflorosid H aus <i>A. longiflora</i>   |
| 17 = 0,06 mg    | Vereinigte Kristalle aus den Fr. 7–12 u. aus den Mutterl. der Fr. 10–12 von Tab. 14                     |
| 18 = 0,08 mg    | Vereinigte Kristalle aus den Fr. 5–6 und aus den Mutterl. der Fr. 7–9 von Tab. 14                       |
| 19 = 0,06 mg    | Fr. 10 von Tab. 15 = Acoschimperosid V  |
| 20 = 0,06 mg    | Fr. 12 von Tab. 15  |
| 21 = 0,06 mg    | Fr. 16 von Tab. 15  |
| 22 = ca. 0,2 mg | Chf-Alk-(9:1)-Extr.   |
| 23 = ca. 0,1 mg | Fr. 5–8 von Tab. 16 (= Subst. FTh 25)   |
| 24 = 0,1 mg     | Fr. 23 von Tab. 16 (vermutl. = FTh 13)  |
| 25 = 0,03 mg    | Ouabain   |
| 26 = 0,03 mg    | Fr. 119–127 von Tab. 16 (= Acoschimperosid $\psi$ -K)   |

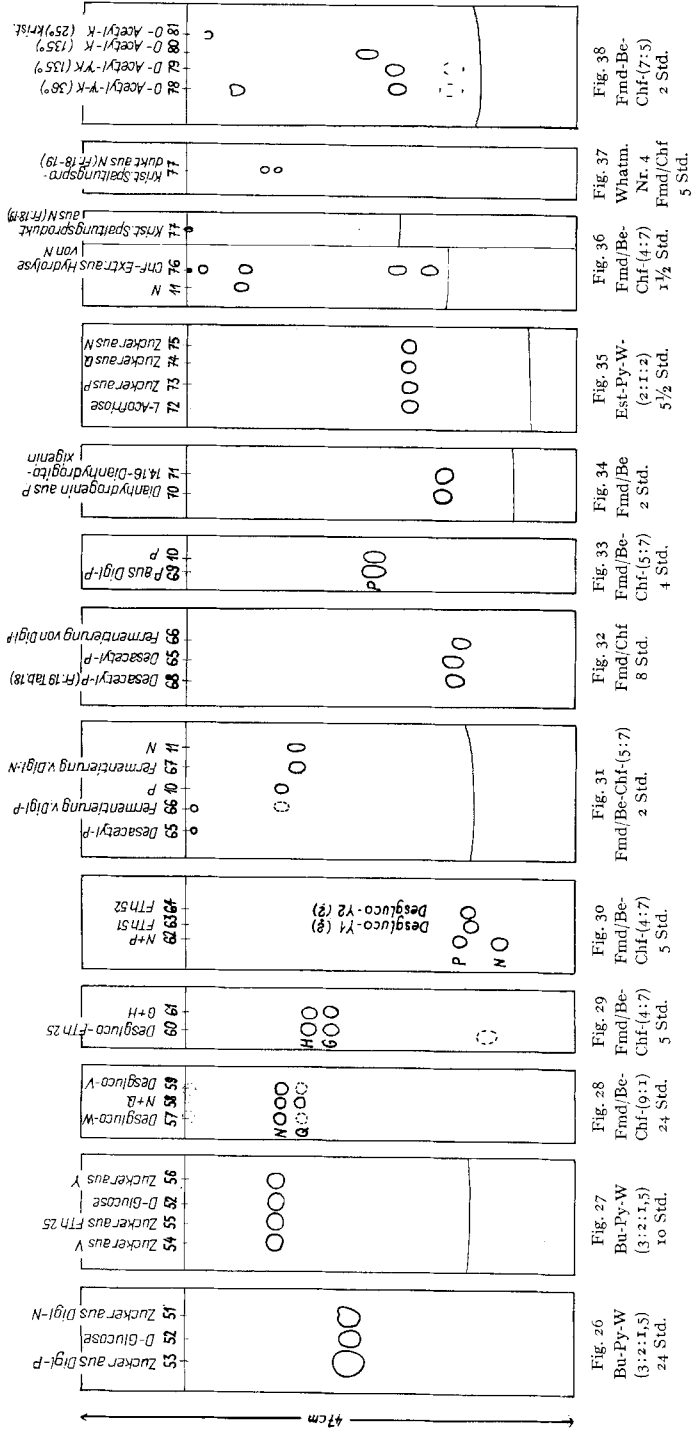
<sup>35)</sup> Zum Vergleich diente das amorphe, durch Verseifung des krist. Acetylderivats erhaltene Präparat<sup>14)</sup>.

<sup>36)</sup> Auch die Stoffe  $\gamma_1$  und  $\gamma_2$  aus *S. gratus* (vgl. spätere Mitteilung) zeigen ähnliche Laufstrecken; sie lassen sich aber von K und  $\psi$ -K differenzieren, im System W/Bu erscheinen sie zwischen K und Ouabain.









27 = 0,03 mg	krist. Acoschimperosid Z
28 = 0,03 mg	krist. Digluco-acoschimperosid N
29 = 0,5 mg	Chf-Alk-(2:1)-Extr.
30 = 0,03 mg	Acoschimperosid Y2 (Kristalle der Fr. 43–46 von Tab. 16)
31 = 0,03 mg	Digluco-acoschimperosid P
32 = 0,1 mg	Fr. 108 von Tab. 16 (vorwiegend Subst. FTh 28)
33 = 0,1 mg	Fr. 106 von Tab. 16
34 = 0,1 mg	Fr. 104 von Tab. 16
35 = 0,1 mg	Fr. 84 von Tab. 16
36 = 0,1 mg	Fr. 102 von Tab. 16
37 = 0,06 mg	Fr. 27 von Tab. 16 (vermutl. FTh 13 + zweite Subst. + wenig Y) <sup>37)</sup>
38 = 0,05 mg	Fr. 44 von Tab. 16 (Acoschimperosid Y2)
39 = 0,05 mg	Fr. 44–46 von Tab. 16 (Acoschimperosid Y2)
40 = 0,05 mg	Fr. 39 von Tab. 16 (Acoschimperosid Y1 + Y2)
41 = 0,06 mg	Krist. Acoschimperosid Y1 + (Y2) aus Fr. 38 von Tab. 16
42 = 0,06 mg	Krist. Acoschimperosid Y2 aus Fr. 46 von Tab. 16
43 = 0,03 mg	Subst. O-Acetyl-FTh 13
44 = 0,03 mg	Subst. O-Acetyl-FTh 28 aus Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -Chromatogramm der acetylierten Fr. 100–108 von Tab. 16
45 = 0,03 mg	Amorphes O-Acetyl-acoschimperosid-Z (acetylierte Mutterlaugen von krist. Z)
46 = 0,03 mg	Gitoxigenin
47 = 0,03 mg	Panstroside <sup>38)</sup>
48 = 0,03 mg	2'-Mono-O-acetyl-digitalinum-verum <sup>39)</sup> (acetyliert im Digitalose-Teil)
49 = 0,03 mg	Digitalinum verum <sup>40)</sup>
50 = 0,03 mg	k-Strophanthin- $\beta$ <sup>41)</sup>
51 =	Zuckeranteil <sup>42)</sup> aus Abbau von Digluco-N mit Schneckenferment <sup>43)</sup> (entspr. ca. 0,03 mg Zucker)
52 = 0,02 mg	D-Glucose
53 =	Zucker aus Abbau von Digluco-acoschimperosid P mit dem Fermentpräparat aus <i>Adenium multiflorum</i>
54 =	Zucker aus Abbau von Acoschimperosid V (Fr. 10 von Tab. 15) mit Schneckenferment <sup>43)</sup>
55 =	Zucker aus Abbau von Präp. FTh 25 (Fr. 5–8 von Tab. 16) mit Schneckenferment <sup>43)</sup>
56 =	Zucker aus Abbau von krist. Acoschimperosid Y (vermutl. Y1 + Y2) (Krist. der Fr. 38–41 von Tab. 16) mit Schneckenferment <sup>43)</sup>
57 = 0,06 mg	«Desgluco W» = Chf-Extr. aus Abbau von Fr. 16, Tab. 15 (= rohes Acoschimperosid W) mit Schneckenferment <sup>43)</sup>
58 = je 0,03 mg	Acoschimperosid N und Acoschimperosid Q
59 = 0,06 mg	«Desgluco-V» = Chf-Extr. aus Abbau von Fr. 10, Tab. 15 (= Acoschimperosid V) mit Schneckenferment <sup>43)</sup>
60 = 0,06 mg	«Desgluco-FTh 25» = Chf-Extr. aus Abbau von Fr. 5–8 Tab. 16, (= Präp. FTh 25) mit Schneckenferment <sup>43)</sup>
61 = je 0,03 mg	Acolongiflorosid G und Acolongiflorosid H

<sup>37)</sup> Es ist unsicher, in welchem der drei Flecke die Subst. FTh 13 enthalten ist. Wir vermuten, dass sie einem der Flecke a oder b entspricht.

<sup>38)</sup> Es wurde ein Präparat aus *Strophanthus Gerrardi*, Helv. **33**, 522 (1950), verwendet.

<sup>39)</sup> Es wurde ein durch Verseifung von Hexa-O-acetyl-digitalinum-verum (vgl. Helv. **35**, 434 (1952)) bereitetes Präparat vom Smp. 260–270° verwendet.

<sup>40)</sup> Es wurde ein Handelspräparat der Firma F. HOFFMANN-LA ROCHE verwendet, das nach Papierchromatogramm nur freies Digitalinum verum enthielt.

<sup>41)</sup> Es wurde ein von Herrn Prof. A. STOLL freundlichst überlassenes Präparat aus *Strophanthus kombé* verwendet.

<sup>42)</sup> Vgl. Exper. Teil.

<sup>43)</sup> Es wurde das in Helv. **34**, 46 (1951) beschriebene Trockenpräparat verwendet. Obwohl es bereits 6 Jahre im Exsikkator über CaCl<sub>2</sub> bei 0° gestanden hatte, war es noch sehr gut wirksam.

Tab. 4. Zusammenstellung der wichtigsten physikalischen Daten und chemischen Eigenschaften der isolierten Stoffe<sup>9)14)46)</sup>

Stoff <sup>17)</sup>	Form Smp.	$[\alpha]_D$ und vermutliche Brutto-Formel	Methoxy <sup>17)</sup>	Acetoxy <sup>146)</sup>	Keller-Kilian <sup>149)</sup>	Zuckerprüfung <sup>50)</sup>	Fluoreszenz im UV. mit $H_3PO_4$ <sup>51)</sup>	Vermutl. Aldehyd- oder Keto-Gruppe nach UV. <sup>52)</sup>	Vermutl. isolierte Doppelbindung nach UV. <sup>53)</sup>	Tetranitromethan <sup>67)</sup>	Abbau mit Schnecken-ferment <sup>43)</sup> liefert <sup>54)</sup> :	Beständigkeit gegen $CrO_3$ im Eisessig bei 20° <sup>55)</sup>
Q	rechteckige Blättchen 247-248°	- 69,2 ± 2 Me - 77,9 ± 2 D $C_{30}H_{44}O_9$	1	-	-	+	-	-	-	-	-	
O-Ac-Q <sup>56)</sup>	Nadeln 217-221°	- 51,0 ± 2 Me $C_{34}H_{48}O_{11}$	1	-	-	+	+	-	-	+	-	+
N <sup>11)</sup>	Körner 239-240°	- 107,3 ± 2 Me $C_{30}H_{42}O_9$	1	-	-	+	+	-	+	+	-	
O-Ac-N <sup>11)</sup>	amorph									+		
«O-Bz-N» 45 <sup>11)</sup>	Nadeln 188-192°	- 29,5 ± 2 Chf $C_{44}H_{50}O_{11}$										
P <sup>1)</sup>	hexagon. Plättchen 275-279° (Zers.)	- 35,6 ± 2 Me $C_{32}H_{46}O_{10}$	1	+	-	+	+	-	-	-	- <sup>57)</sup>	
O-Ac-P <sup>1)</sup>	amorph											
Desac-P <sup>58)</sup>	gallertige Kugeldrusen 222-223°	- 11,2 ± 2 Me $C_{30}H_{46}O_9$					+				-	
G <sup>14)7)</sup>	Stäbchen 287-293°	- 21,5 ± 2 Me $C_{30}H_{46}O_9$ <sup>7)</sup>	1 <sup>14)</sup>	- <sup>14)</sup>		+	-	- <sup>14)</sup>	- <sup>14)</sup>	- <sup>14)</sup>	-	
O-Ac-G <sup>14)7)</sup>	Nadeln <sup>14)</sup> 246-251° <sup>7)</sup>	- 7,1 ± 2 An <sup>7)</sup> $C_{36}H_{52}O_{12}$										
H <sup>14)7)</sup>	Körner 251-253°	- 39,8 ± 2 Me $C_{30}H_{44}O_9$ <sup>7)</sup>	1 <sup>14)7)</sup>	- <sup>7)</sup>	(?) <sup>14)</sup>	+	-	- <sup>14)</sup>	+	+	-	

O-Ac-H <sup>14)</sup> 7)	Stäbchen 211–217° <sup>14)</sup>	-30,6 ± 2 Me <sup>14)</sup> C <sub>36</sub> H <sub>50</sub> O <sub>12</sub>										+ <sup>7)</sup>						+ <sup>7)</sup>
R1/R2	Kugeldrusen gallertig 214–216°																	
S	Nadeln 249–250°	-57,5 ± 2 Me C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>10</sub>	1	(?) <sup>50)</sup>	+	- (?)	+											±
T	Nadeln 250–251°	-36,1 ± 3 Me C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>10</sub> + 0,5 H <sub>2</sub> O oder C <sub>36</sub> H <sub>54</sub> O <sub>13</sub>	1			-												
O-Ac-T	Nadeln 246–249° roh																	

<sup>44)</sup> Zur Komplettierung wurden auch die Eigenschaften der früher beschriebenen Derivate: O-Ac-N, O-Bz-N<sup>45)</sup>, O-Ac-P, O-Ac-G und O-Ac-H eingesetzt. Die übrigen Daten entsprechen den in dieser Arbeit isolierten Präparaten.

<sup>45)</sup> Bedeutet O-Benzoyl-N etc., in diesem Fall Di-O-benzoyl-N.

<sup>46)</sup> + = positives, – = negatives, (?) = unsicheres Resultat, ± = schwache Reaktion. Wo nicht geprüft wurde, ist das entspr. Feld offengelassen.

<sup>47)</sup> Quantitative Bestimmung nach ZEISEL.

<sup>48)</sup> Qualitative Bestimmung nach M. FRÈREJACQUE, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **246**, 1804 (1955).

<sup>49)</sup> Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. **31**, 883 (1948).

<sup>50)</sup> Qualität. Bestimmung, ausgeführt nach BALLY u. Mitarb.<sup>14)</sup>.

<sup>51)</sup> A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, Bull. Soc. chim. France **17**, 288 (1950), vgl. P. BELLET, Ann. pharm. franc. **8**, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* **8**, 746 (1950).

<sup>52)</sup> Nur ein negatives Resultat ( $\log \epsilon$  zwischen 280–300  $m\mu > 1.3$ ) ist eindeutig, da kleine Mengen stark absorbierender Verunreinigungen eine CO-Gruppe vortäuschen können.

<sup>53)</sup> Maximum im UNICAM-SP-500-Spektrophotometer gemessen merklich (3  $m\mu$  oder mehr) kurzwelliger als 217  $m\mu$  oder bis 200  $m\mu$  ansteigende Endabsorption.

<sup>54)</sup> – bedeutet, dass kein Abbau stattgefunden hat, offenes Feld, dass nicht geprüft wurde. G, H, N und Q sind nicht für sich mit Schneckenferment umgesetzt worden. Sie wurden bei solchen Versuchen aber als Endprodukte erhalten, so dass sie höchstwahrscheinlich gegen das Ferment beständig sind.

<sup>55)</sup> Nur bei O-Acetyl-Derivaten geprüft.

<sup>56)</sup> Bedeutet O-Acetyl-Q etc., in diesem Fall Di-O-acetyl-Q.

<sup>57)</sup> Vermutlich wegen zu geringer Wasserlöslichkeit vom Ferment nicht angegriffen.

<sup>58)</sup> Künstlich aus P bereitet.

<sup>59)</sup> Subst. S färbt sich mit Säure braun, so dass die KELLER-KILIANI-Reaktion nicht zuverlässig ist. Die Xanthhydroprobe nach V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, Rev. Univ. nac. Cordoba **32**, 439 (1945), zitiert nach P. BELLET, Ann. Pharm. franc. **8**, 471 (1950) (Ausführung dabei selbst beschriebenen), war negativ.



Digl-P	Kugeldrusen 174–179°	$-51,4 \pm 2 \text{ Me}$ $\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_{20}$	1	+						Desac- P + Gl.
O-Ac-digl-P	amorph, ebenso O-Bz-digl-P									
Digl-N	Kugeldrusen 171–174°	$-94,5 \pm 2 \text{ Me}$ $\text{C}_{42}\text{H}_{62-64}\text{O}_{19}$	1	-			+			N + Gl.
O-Ac-digl-N	amorph									
Z	Würfel (deformiert) 237–239°	$-34,0 \pm 2 \text{ W}$ $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_{11} (?)$ + ca. 5% Asche	-							-
FTh 28	amorph, nicht völlig von Z getrennt									
O-Ac-FTh 28	Tafeln oder Kugeldrusen 163–165°	$-33,0 \pm 2 \text{ An}$ $\text{C}_{62}\text{H}_{86}\text{O}_{31}$	1							+
$\psi$ -K	amorph		1							-
O-Ac- $\psi$ -K	amorph (ebenso O-Bz- $\psi$ -K)									+ <sup>63)</sup>
Ouabain	längliche Blättchen 198–206°	$-41,1 \pm 2 \text{ Me}$ $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{O}_{12}$	-							-

<sup>60)</sup> Fluoreszenz *gelb* nach ca. 30 Sekunden.

<sup>61)</sup> Das Präparat enthielt vielleicht noch etwas Y2.

<sup>62)</sup> Das Präparat enthielt nach UV.-Spektrum eine merkliche Menge Cardien-(16,20:22)-olid.

<sup>63)</sup> Da es sich um ein amorphes und sicher nicht völlig einheitliches Präparat gehandelt hat, ist der positive Ausfall der Reaktion nicht beweiskräftig.



Tabelle 5. *Farbreaktion*

Substanz	Im ersten Moment	nach $\frac{1}{2}$ Min.	1 Min.	5 Min.
Acoschimperosid Q . . . . .	dunkelgelb	braun	braun	orange-braun
Acoschimperosid N . . . . .	violett	dunkelbraun	schwarzbraun	schwarz
Acoschimperosid P . . . . .	orange-gelb	orange-gelb	orange-gelb	orange
Acolongiflorosid G . . . . .	blass rotbraun	blass rotviolett	blass rotviolett	violettrot
Acolongiflorosid H . . . . .	braunrot	schwarzviolett	schwarzviolett	schwarzviolett
Acoschimperosid S . . . . .	braunrot	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelgrün
Acoschimperosid T . . . . .	blass hellgrau	olivgrün	olivgrün	blaugrün
Substanz U . . . . .	leuchtend rot-orange	leuchtend rot-orange	leuchtend rot-orange	leuchtend rot-orange
Acoschimperosid V (amorph) .	braun-violett	schwarzbraun	schwarzbraun	schwarz
Subst. O-Acetyl FTh 13 . . . .	violett	schwarz	schwarz	schwarz
Acoschimperosid Y1 <sup>64</sup> ) . . . . .	blass gelbgrün	blass gelbgrün	gelbgrün	gelbgrün
Präparat FTh 51 . . . . .	—	blass gelbgrün	hell gelbgrün	hell gelbgrün
Acoschimperosid Y2 . . . . .	blass orange-gelb	orange-gelb	orange-gelb	orange-gelb
Präparat FTh 52 . . . . .	orange-gelb	orange-gelb	orange-gelb	orange-gelb
Diglucos-acoschimperosid P . .	dunkelgelb	dunkelgelb	dunkelgelb	dunkelgelb
Diglucos-acoschimperosid N . .	braun-violett	dunkelbraun	dunkelbraun	schwarz-oliv
Acoschimperosid Z . . . . .	farblos	farblos	blass orange-gelb	blass orange-gelb
Subst. O-Acetyl-FTh 28 . . . .	orange	orange	orange	orange
Acoschimperosid $\psi$ -K (amorph)	beige	braun-ocker	braun-ocker	braun-oliv
Ouabain . . . . .	farblos	farblos	farblos	blass braun

<sup>64</sup>) Ca. 0,5 mg Substanz wurden in der Vertiefung einer Porzellantüpfelplatte mit 2 Tropfen 84-proz. platte wurde zur Beobachtung der Farben unbedeckt stehengelassen.

mit 84-proz.  $H_2SO_4$  <sup>64)</sup>

10 Min.	30 Min.	60 Min.	120 Min.	240 Min.
orange-braun	braun	weinrot	graugrün	blass oliv
schwarz	grünlich schwarz	dunkelgrün	dunkelgrün	dunkelgrün
rot-orange	braun-orange	orange-braun	gelbbraun	ocker
violettrot	violettrot	violett	schmutzig grün-blau	grau
dunkelblau	dunkelblau	dunkelblau	grünblau	oliv
dunkelgrün	grasgrün	grasgrün	grasgrün	blass oliv
blaugrün	mauve	rosa	farblos	farblos
rotorange	orange	gelb	gelb	gelb
schwarz	schwarz	dunkelgrün	dunkelgrün	grün
schwarz-grün	intensiv blaugrün	blaugrün	grün	blass graugrün
gelbgrün	blass grauviolett	grau	blass graugrün	blass honiggelb
hell gelbgrün	grau	schmutzig grün-grau	blass grün	citron
orange-gelb	rosa	lilarot	grauviolett	blass violett
orange-gelb	orange Rand lilarosa	schmutzig braun-lila	grau	grau
dunkelgelb	orange	ocker	ocker	blass ocker
lauchgrün	lauchgrün	lauchgrün	grasgrün	blass grün
blass orange-gelb	blass gelb	blass citron	blass citron	blass citron
orange	dunkelgelb	citron	citron	gelb
braun-oliv	grün	grün	grasgrün	blass grün
blass braun	blass braun	blass citron	blass citron	blass citron

$H_2SO_4$  versetzt, wobei zur sofortigen Auflösung mit einem spitzen Glasstab aufgerührt wurde. Die Tüpfel-

- 62 = je 0,03 mg Acoschimperosid N und Acoschimperosid P  
 63 = 0,03 mg Präp. FTh 51 (Kristalle aus Fr. 2, Tab. 19)  
 64 = 0,03 mg Präp. FTh 52 (Kristalle aus Fr. 4-6, Tab. 19)  
 65 = 0,03 mg Desacetyl-acoschimperosid P  
 66 = 0,05 mg Chf-Extr. aus Abbau von Digluco-acoschimperosid P mit Schneckenferment  
 67 = 0,03 mg Chf-Extr. aus Abbau von Digluco-acoschimperosid N mit Schneckenferment  
 68 = 0,03 mg Desacetyl-P aus P mit HCl (Krist. aus Fr. 19, Tab. 18)  
 69 = 0,03 mg Chf-Extr. aus Abbau von Digluco-acoschimperosid P mit dem Ferment aus *Adenium multiflorum*  
 70 = 0,03 mg Dianhydrogenin aus P (Krist. Fr. 5, Tab. 17 nach Reinigung durch präp. Papierchromatographie)  
 71 = 0,03 mg 14,16-Dianhydro-gitoxigenin authentisch  
 72 = 0,02 mg L-Acofriose authentisch  
 73 = 0,02 mg L-Acofriose aus Acoschimperosid P  
 74 = 0,03 mg Zuckersirup aus Hydrolyse von Acoschimperosid Q  
 75 = 0,02 mg L-Acofriose aus Acoschimperosid N  
 76 = 0,1 mg Chf-Extr. aus MANNICH-Spaltung von Acoschimperosid N  
 77 = 0,03 mg Kristalle aus Fr. 18-19 der Chromatographie von 164 mg rohem Genin aus MANNICH-Spaltung von Acoschimperosid N  
 78 = ca. 0,05 mg Rohes Acetatgemisch aus Mikro-Acetylierung von amorphem Acoschimperosid  $\psi$ -K mit Py/Acetanhydrid bei 36° nach WEISS u. Mitarb.<sup>15)</sup>  
 79 = ca. 0,03 mg Rohes Acetat aus Mikro-Acetylierung von amorphem Acoschimperosid  $\psi$ -K mit Acetanhydrid bei 135° nach WEISS u. Mitarb.<sup>15)</sup>  
 80 = ca. 0,05 mg Rohes Acetat aus Mikro-Acetylierung von krist. O-Acetyl-acolongiflorosid-K<sup>14)</sup> mit Acetanhydrid bei 135°<sup>15)</sup>  
 81 = ca. 0,03 mg Krist. O-Acetyl-acolongiflorosid K<sup>14)</sup>

### Eigenschaften der isolierten Stoffe

Die wichtigsten physikalischen Daten und chemischen Resultate sind in Tab. 4 zusammengestellt. Tab. 5 gibt die Färbungen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Herr Dr. CHEN hatte wieder die Freundlichkeit, eine Anzahl der neuen, in reiner Form isolierten Stoffe biologisch an der Katze zu prüfen<sup>65)</sup>. Wir geben seine Resultate in Tab. 6, wo auch die früher von ihm gefundenen Werte für die bereits bekannten, hier erneut isolierten Stoffe zum Vergleich angegeben werden.

Alle hier besprochenen Stoffe zeigten im UV. die für Cardenolide typische Absorption (vgl. Fig. 40-43). Aus der Höhe der Extinktion bei 217 m $\mu$  (log  $\epsilon$  soll normalerweise ca. 4,22 sein) lässt sich bei reinen Stoffen das ungefähre Molekulargewicht und damit die Anzahl der anwesenden Zucker berechnen. In zwei Fällen (bei O-Ac-FTh 13 und Y2) konnte im Gebiet von 280-310 m $\mu$  eine zusätzliche Absorption beobachtet werden, wie sie gesättigten Aldehyden oder Ketonen zukommt; sie könnte hier aber auch durch kleine Mengen stark absorbierender Verunreinigungen hervorgerufen sein. Hingegen zeigen die Kurven, dass solche Carbonylgruppen bei allen anderen hier beschriebenen krist. Stoffen *nicht* enthalten sind. In einigen Fällen (bei N, H, S, O-Ac-FTh 13 und Digl-N) wurde das kurzwellige Maximum nicht wie üblich bei ca. 217 m $\mu$  gefunden, sondern es lag entweder bei noch kürzeren Wellen (N, O-Ac-FTh 13) oder es wurde steigende Endabsorption beobachtet (z. B. Digl-N). Wir glauben, dass diese Erscheinung bei reinen Stoffen auf das Vorliegen einer zu-

<sup>65)</sup> Wir danken Herrn Dr. K. K. CHEN, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate und sein Einverständnis, sie hier zu publizieren.

sätzlichen, isolierten, drei- bis vierfach substituierten Doppelbindung deutet<sup>66)</sup>, was sich oft<sup>67)</sup> durch eine positive Tetranitromethanprobe bestätigen lässt.

Tabelle 6. *Resultate der biologischen Prüfung*<sup>68)</sup>

Stoff	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg (Katze)
Acoschimperosid Q . . . . .	10	0,300 ± 0,0268
Acoschimperosid N . . . . .	10	0,3173 ± 0,0233
Acoschimperosid P . . . . .	10	0,2695 ± 0,0098
Acolongiflorosid G . . . . .	10	0,5235 ± 0,0318
Acolongiflorosid H . . . . .	10	0,2864 ± 0,0163 <sup>14)</sup> <sup>69)</sup>
Acoschimperosid S . . . . .	2 Frösche	unwirksam bis 28,03 sowie 48,98 mg/kg an zwei Fröschen
Acoschimperosid V (amorph) . .	10	0,7042 ± 0,0549
Acoschimperosid Y2 . . . . .	6	1,180 ± 0,2249
Digluco-acoschimperosid P . . .	10	0,5351 ± 0,0346
Digluco-acoschimperosid N . . .	10	1,590 ± 0,1081
Acoschimperosid $\psi$ -K (amorph) .	10	0,1559 ± 0,0074
Ouabain . . . . .	40	0,122 ± 0,002 <sup>70)</sup>

*Chemische Untersuchungen.* Von den hier beschriebenen Stoffen wurde bisher nur die Konstitution von P vollständig und diejenige von Digl-P weitgehend aufgeklärt. Danach besitzt P die Formel I (S. 28). Dies ergibt sich aus den in Tab. 4 angegebenen Daten und folgenden zusätzlichen Befunden.

P wird vom Enzympräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum*<sup>71)</sup> und mit dem Enzympräparat aus dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke *Helix pomatia*<sup>43)</sup> nicht verändert<sup>57)</sup>. Entacetylierung unter Bildung von Desacetyl-P (II) trat aber bei Behandlung mit KHCO<sub>3</sub> in wässrigem Methanol oder in schlechter Ausbeute auch mit HCl in wässrigem Aceton ein. Dementsprechend verbrauchte P beim Kochen mit Alkali (Lactontitration) zwei Äquiv. Lauge. Die Prüfung auf 14,16-Dihydroxy-cardenolide sowohl mit der Fluoreszenzreaktion nach PESEZ<sup>51)</sup> als auch durch Auftreten einer starken Bande bei ca. 338 m $\mu$  (Kurve III in Fig. 39) nach Behandlung mit konz. HCl bei 0°<sup>75)</sup> war positiv. Energische saure Hydrolyse von P in präparativem Maßstab durch Erhitzen mit HCl in wässriger Essigsäure<sup>72)</sup>

<sup>66)</sup> P. BLADON, H. B. HENBEST & G. W. WOOD, *Chemistry & Ind.* **1951**, 866; *J. chem. Soc.* **1952**, 2737; F. BADER, *Helv.* **34**, 1632 (1951); H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, *Helv.* **39**, 1507 (1956).

<sup>67)</sup> Die Tetranitromethanprobe sollte eigentlich immer positiv sein, wenn nach UV. eine isolierte Doppelbindung vorliegt. Bei Stoffen, die in Chf nicht genügend löslich sind, ist die Probe aber unzuverlässig. Die O-Acetylderivate sind dafür besser geeignet.

<sup>68)</sup> Intravenöse Infusion an der Katze bzw. intraperitoneale Injektion beim Frosch.

<sup>69)</sup> Das damalige Präparat war nicht ganz rein. Nach der später durchgeführten papierchromatographischen Kontrolle<sup>11)</sup> enthielt es noch merkliche Mengen von einer Substanz, die im verwendeten System (Fmd/Be-Chf-(4:7)) eine ca. 5fach grössere Laufstrecke zeigte.

<sup>70)</sup> K. K. CHEN, A. L. CHEN & R. C. ANDERSON, *J. Amer. pharmac. Assoc.* **25**, 579 (1936).

<sup>71)</sup> Bereitet nach A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 1993 (1950).

<sup>72)</sup> Es wurde das von H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **63**, 2866 (1930), empfohlene Gemisch von 11 Teilen W, 7 Teilen Eisessig und 2 Teilen konz. HCl verwendet.

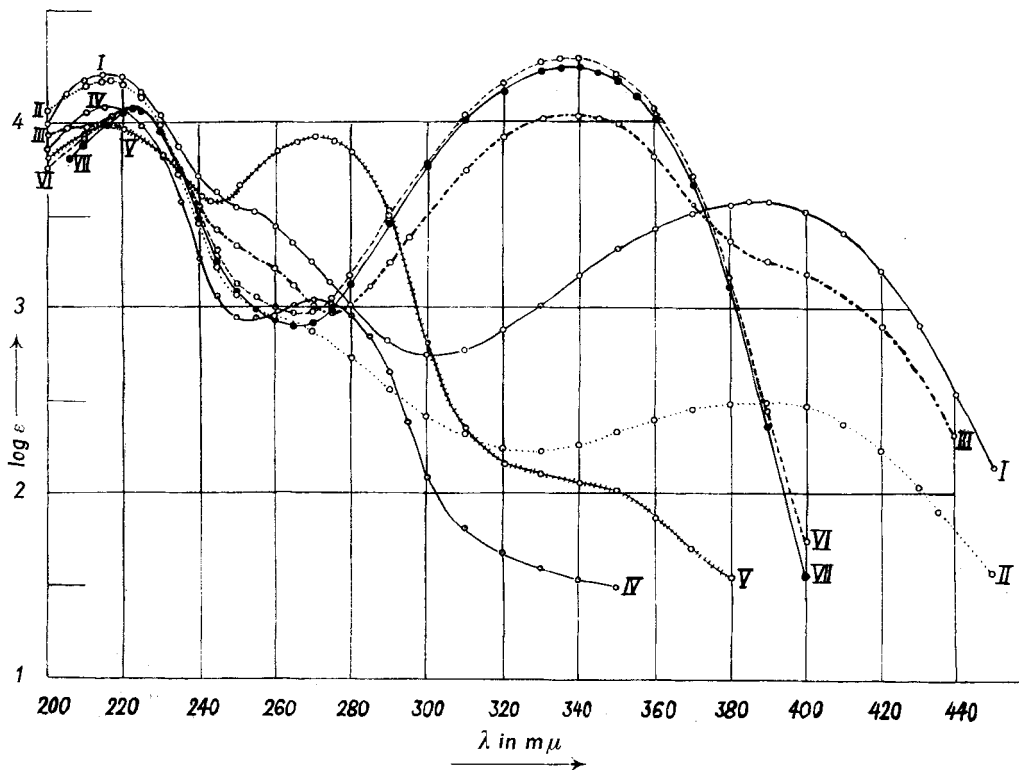


Fig. 39. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol <sup>73)</sup>

- Kurve I <sup>74)</sup> = Subst. O-Acetyl-FTh 28 nach Behandlung mit konz. HCl <sup>75)</sup>. Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,25$ ) und ca. 387  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,58$ ), ber. auf  $C_{62}H_{86}O_{31}$  (1327,31).  
 Kurve II <sup>74)</sup> = Acoschimperosid Q nach Behandlung mit konz. HCl <sup>75)</sup>. Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und ca. 390  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,48$ ), ber. auf  $C_{30}H_{44}O_9$  (548,65).  
 Kurve III <sup>74)</sup> = Acoschimperosid P nach Behandlung mit konz. HCl <sup>75)</sup>. Maxima bei 222  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,07$ ) und 340  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,04$ ), ber. auf  $C_{32}H_{48}O_{10}$  (592,70).  
 Kurve IV = Acoschimperosid P nach Adsorption an  $Al_2O_3$ . Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,08$ ) und 270  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,04$ ), ber. auf  $C_{32}H_{48}O_{10}$  (592,70).  
 Kurve V = Amorphes Di-O-acetyl-acoschimperosid P nach Adsorption an  $Al_2O_3$ . Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,99$ ) und 270  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,93$ ), ber. auf  $C_{36}H_{52}O_{12}$  (676,77).  
 Kurve VI = 14,16-Dianhydro-gitoxigenin aus saurer Hydrolyse von Acoschimperosid P. Maxima bei 223  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,07$ ) und 338  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,34$ ), ber. auf  $C_{23}H_{30}O_3$  (354,47).  
 Kurve VII = 14,16-Dianhydro-gitoxigenin aus Strosipesid. Maxima bei 222,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,06$ ) und 337,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,30$ ), ber. auf  $C_{23}H_{30}O_3$  (354,47).

<sup>73)</sup> Aufgenommen mit einem UNICAM Spektrophotometer, Modell SP 500. Die Kurven I und VII von Fig. 39, I, II, IV und VI von Fig. 40 sowie I, II und III von Fig. 41 wurden von Herrn Dr. P. ZOLLER aufgenommen, Kurve II in Fig. 43 und die Kurven I und II in Fig. 44 von Herrn G. ROTZLER und die übrigen von F. THUDIUM.

<sup>74)</sup> Die Substanzproben zur Aufnahme der Kurven I, II und III in Fig. 39, Kurve I in Fig. 43 und Kurve I und II in Fig. 44 wurden nur grob gewogen. Die  $\epsilon$ -Werte dieser 6 Kurven können mit einem Fehler von ca. 50% behaftet sein.

<sup>75)</sup> H. HEGEDÜS & T. REICHSTEIN, Helv. **38**, 1133 (1955).

lieferte krist. 14,16-Dianhydro-gitoxigenin (III) und L-Acofriose (IV), die ebenfalls in Kristallen isoliert und mit authentischem Material<sup>76)</sup> identifiziert wurde. Di-O-acetyl-P (amorph) lieferte (in Be-Pe-(1:1) gelöst) im Kontakt mit  $Al_2O_3$  ein amorphes Präparat, das im UV. (Kurve V in Fig. 39) die typische Absorption eines Cardien-(16,20:22)-olids (VI) zeigte. Diese Reaktion ist für 16-O-Acetyl-Derivate des Gitoxigenins charakteristisch<sup>76)</sup>. HIRSCHMANN & HIRSCHMANN<sup>77)</sup> haben die  $\beta$ -Stellung der 16-ständigen HO-Gruppe im Gitoxigenin endgültig bewiesen. Dass die Acetoxy-

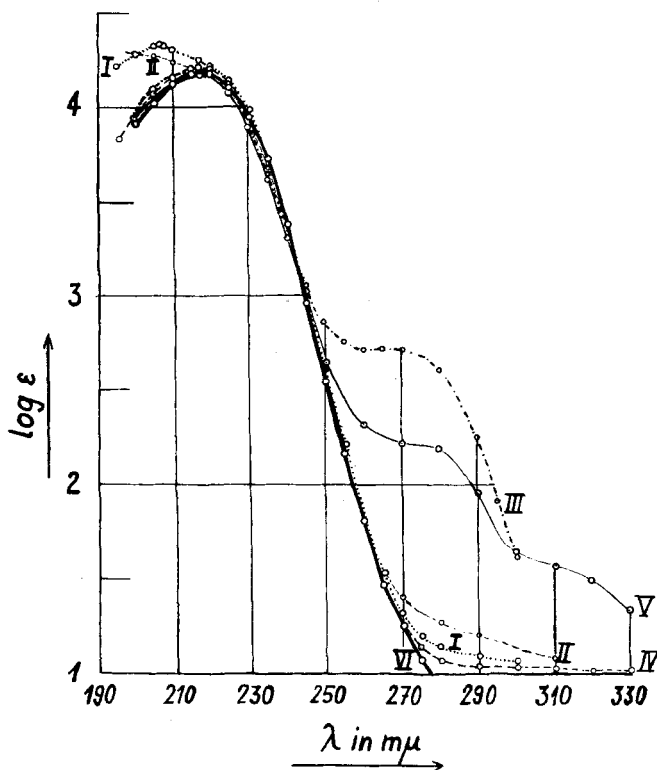


Fig. 40. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>73)</sup>

- Kurve I = Acoschimperosid N. Maximum bei 206–207  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,34$ ), ber. auf  $C_{30}H_{44}O_9$  (548,66).  
 Kurve II = Digluco-acoschimperosid N. Kurve berechnet auf  $C_{42}H_{64}O_{19}$  (872,94). Ansteigende Endabsorption.  
 Kurve III = Subst. O-Acetyl-FTh 28. Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,21$ ); Schulter bei 270  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,72$ ), ber. auf  $C_{62}H_{86}O_{31}$  (1327,31).  
 Kurve IV = Acoschimperosid Q. Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ), ber. auf  $C_{30}H_{44}O_9$  (548,65).  
 Kurve V = Digluco-acoschimperosid P. Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,19$ ) und Schulter bei 270  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,22$ ), ber. auf  $C_{44}H_{68}O_{20}$  (916,98).  
 Kurve VI = Di-O-acetyl-acoschimperosid Q. Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $C_{34}H_{48}O_{11}$  (632,72).

<sup>76)</sup> A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 76 (1950).

<sup>77)</sup> H. HIRSCHMANN & F. B. HIRSCHMANN, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3755 (1956).

gruppe in P sich tatsächlich an C-16 befindet, ergibt sich aus folgenden zwei Befunden. Auch P selbst spaltet beim Kontakt mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  teilweise Essigsäure ab (vgl. Kurve IV in Fig. 39)<sup>78</sup>). Ferner wurde eine Probe P mit überschüssigem  $\text{CrO}_3$  in Eisessig oxydiert und das amorphe rohe Dehydrierungsprodukt mit  $\text{HCl}$  in wässriger Essigsäure energisch hydrolysiert. Es konnte wieder 14,16-Dianhydrogitoxigenin (in etwa gleicher Ausbeute wie aus unbehandeltem P) isoliert werden. Das zeigt eindeutig, dass die 16-ständige HO-Gruppe in P verestert ist. Bisher gelang es nicht, das intakte Genin (Oleandrigenin) aus P eindeutig zu fassen. Bei der Einwirkung von  $\text{HCl}$  in wässrigem Aceton nach MANNICH<sup>79</sup>) trat nur sehr langsame Reaktion ein. Auch nach 18tägiger Einwirkung lieferte die Aufarbeitung höchstens Spuren von

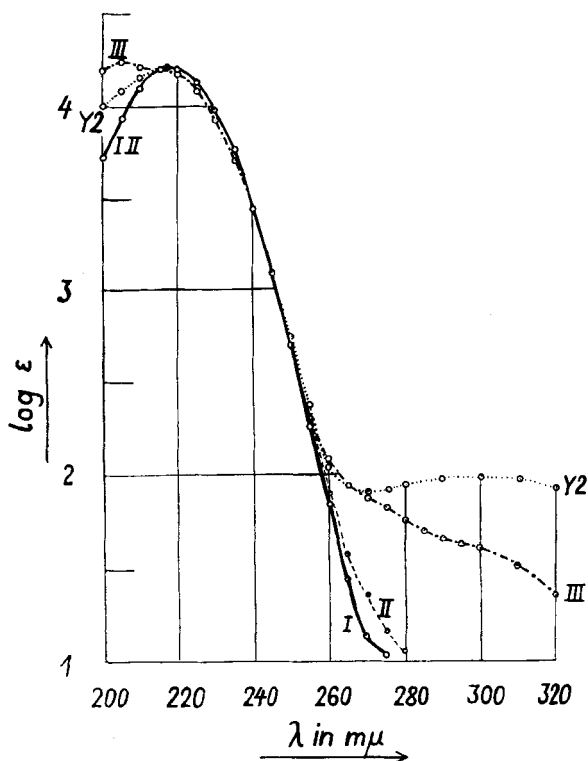


Fig. 41. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>73)</sup>

- Kurve I = Präparat FTh 51 (vermutl. Desgluco-Y1). Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$  (534,67).  
 Kurve II = Präparat FTh 52 (vermutl. Desgluco-Y2). Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,21$ ), ber. auf  $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$  (534,67).  
 Kurve Y2 = Acoschimperosid Y2. Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{18}$  (858,95).  
 Kurve III = Subst. O-Acetyl-FTh 13. Maximum bei ca. 205  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,24$ ), Schulter bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $\text{C}_{46}\text{H}_{64}\text{O}_{19}$  (920,97).

<sup>78)</sup> Die Reaktion geht nur weniger rasch, weil zur Lösung des freien P das stärker polare  $\text{Chf}$  verwendet werden musste.

<sup>79)</sup> C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

Zucker. Aus dem chloroforml. Material wurden dementsprechend auch nur Spuren einer krist. Substanz isoliert, die möglicherweise Oleandrogenin darstellt. Ein grosser Teil P blieb unverändert und etwas Desacetyl-P (II) wurde erhalten. Auch die Essigsäure wurde bisher nicht eindeutig identifiziert. Trotzdem glauben wir, dass wenig Zweifel an der Richtigkeit der Formel I für P bestehen. Dafür spricht die gefundene biolog. Aktivität, und auch die molekulare Drehung (vgl. Tab. 7) wäre mit der vorgesehenen Konstitution eines  $\alpha$ -L-Acofriosids- $\langle 1,5 \rangle$  des Oleandrogenins gut

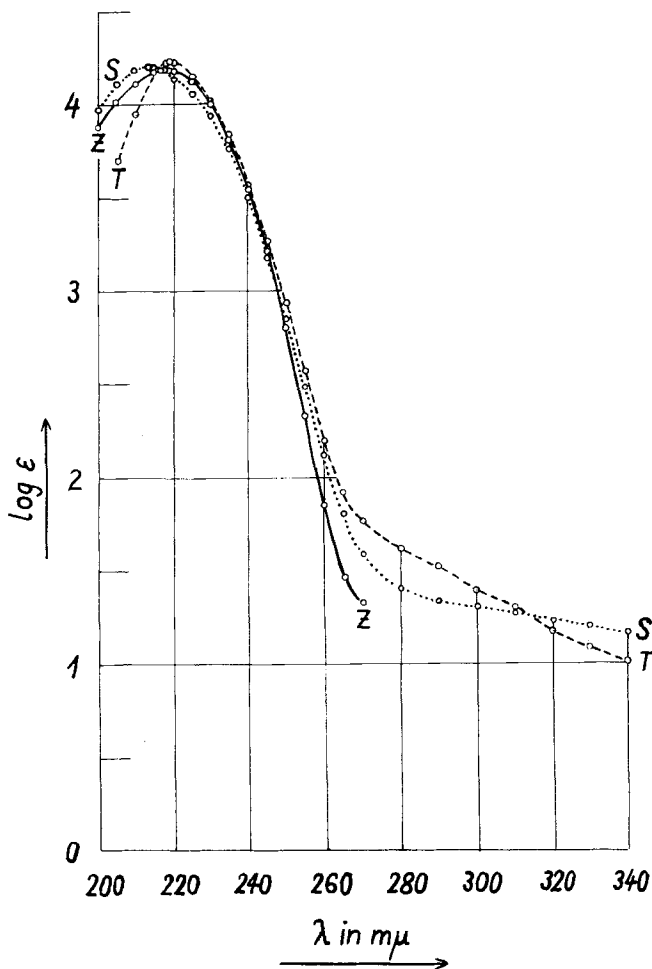


Fig. 42. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>73)80)</sup>

- Kurve S = Acoschimperosid S. Maximum bei 214  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $C_{30}H_{44}O_{10}$  (564,64).  
 Kurve T = Acoschimperosid T. Maximum bei 219  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ), ber. auf  $C_{36}H_{54}O_{13}$  (694,79).  
 Kurve Z<sup>80)</sup> = Acoschimperosid Z. Maximum bei 218  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,19$ ), ber. auf  $C_{29}H_{43}O_{11}Na$  (590,63).

<sup>80)</sup> Acoschimperosid Z wurde in 90-proz. Alkohol aufgenommen.



verträglich. Die Bindung des Zuckers ( $\alpha$ -L-Derivat) würde der Regel von KLYNE<sup>81)</sup> entsprechen. Ferner ist das Acetylierungsinkrement der molekularen Drehung bei Gitoxigenin und einigen seiner Derivate bekannt. Gefunden wurde im Mittel  $-173^\circ$ <sup>82)</sup>. Die Differenz der molekularen Drehung von P und Desacetyl-P beträgt  $-156^\circ \pm 23^\circ$ , was eine sehr befriedigende Übereinstimmung darstellt.

*Digluco-acoschimperosid P*. Dieses Glykosid wurde vom Fermentpräparat aus den Samen von *Adenium multiflorum*<sup>71)</sup> langsam abgebaut. Aus den Spaltprodukten liess sich P präparativ in guter Ausbeute isolieren und eindeutig mit authentischem Material identifizieren. Der erhaltene Zucker war nach Papierchromatogramm (Nr. 53 in Fig. 26) identisch mit D-Glucose. Ein im Mikromaßstab durchgeführter Versuch

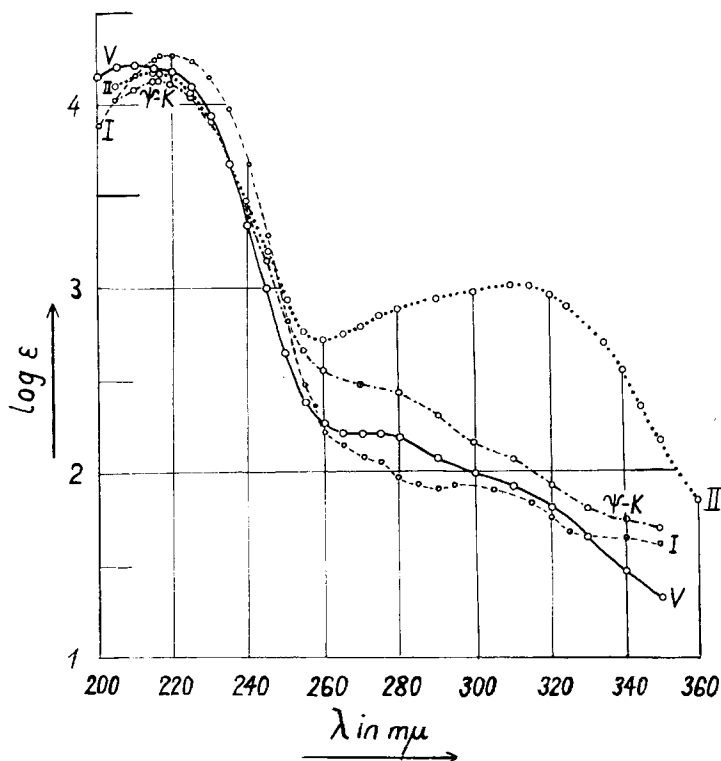


Fig. 43. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>73)</sup>

- Kurve I<sup>74)</sup> = Desacetyl-acoschimperosid P aus «Mannich-Spaltung» von P. Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,26$ ), ber. auf  $C_{30}H_{46}O_9$  (550,67).  
 Kurve V = Acoschimperosid V (amorph). Maximum bei ca. 210  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ), ber. auf  $C_{36}H_{52}O_{14}$  (708,77).  
 Kurve  $\psi$ -K = Acoschimperosid  $\psi$ -K (amorph). Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,12$ ), ber. auf  $C_{30}H_{46}O_{12}$  (598,73).  
 Kurve II = Subst. FTh 25 (amorph). Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,17$ ) und 313  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,00$ ), ber. auf  $C_{36}H_{54}O_{14}$  (710,79).

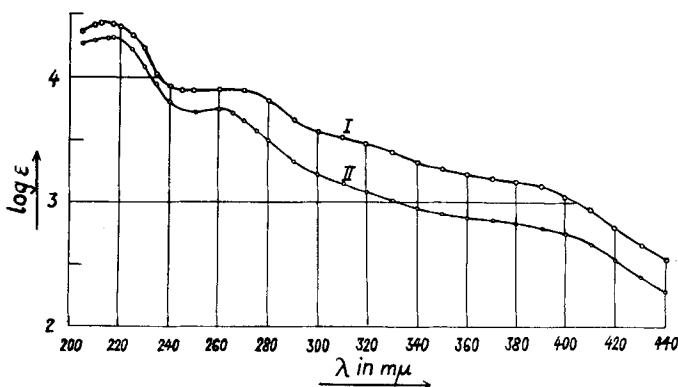
<sup>81)</sup> W. KLYNE, Biochem. J. **47**, xli (1950).

<sup>82)</sup> Mittelwert der bei folgenden vier Verbindungen gefundenen Werte: Oleandrigenin, Kryptograndosid A, Honghelosid A und Oleandrin.

Tab. 7. Berechnung der molekularen Drehung für Formel I (ohne Methoxylgruppe)

Stoff	$[M]_D$
Oleandrigenin . . . . .	gef. $-42^\circ \pm 9^\circ$ (Me) <sup>76</sup> )
$\alpha$ -Methyl-L-rhamnosid . . . . .	gef. $-112^\circ \pm ?$ (W) <sup>83</sup> )
Für Stoff der Formel I <sup>84</sup> ) . . . . .	ber. $-154^\circ$
Acoschimperosid P . . . . .	gef. $-211^\circ \pm 12^\circ$ (Me) <sup>89</sup> )

mit Schneckenferment zeigte, dass Digluco-P auch von diesem Enzympräparat glatt gespalten wird<sup>85</sup>). Nach Papierchromatogramm (Nr. 66 in Fig. 31) enthielt das Spaltprodukt aber nur Spuren P und vorwiegend Desacetyl-P. Auffallenderweise wird das

Fig. 44. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>73</sup>)

Kurve I<sup>74</sup>) = Acoschimperosid S nach Behandlung mit konz. HCl<sup>75</sup>). Maxima bei 214  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,44$ ) und 263  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,90$ ), ber. auf  $C_{30}H_{44}O_{10}$  (564,64).

Kurve II<sup>74</sup>) = Acoschimperosid N nach Behandlung mit konz. HCl<sup>75</sup>). Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,32$ ) und 260  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,76$ ), ber. auf  $C_{30}H_{44}O_9$  (548,66).

<sup>83</sup>) E. FISCHER, Ber. deutsch. chem. Ges. **27**, 2985 (1894); **28**, 1145 (1895). Berechnet man aber den molekularen Drehungsbeitrag des L-Rhamnosido-Restes aus anderen digitaloiden Glykosiden, die L-Rhamnose als Zucker enthalten, so ergibt sich dagegen ein Mittelwert von  $-186^\circ$ .

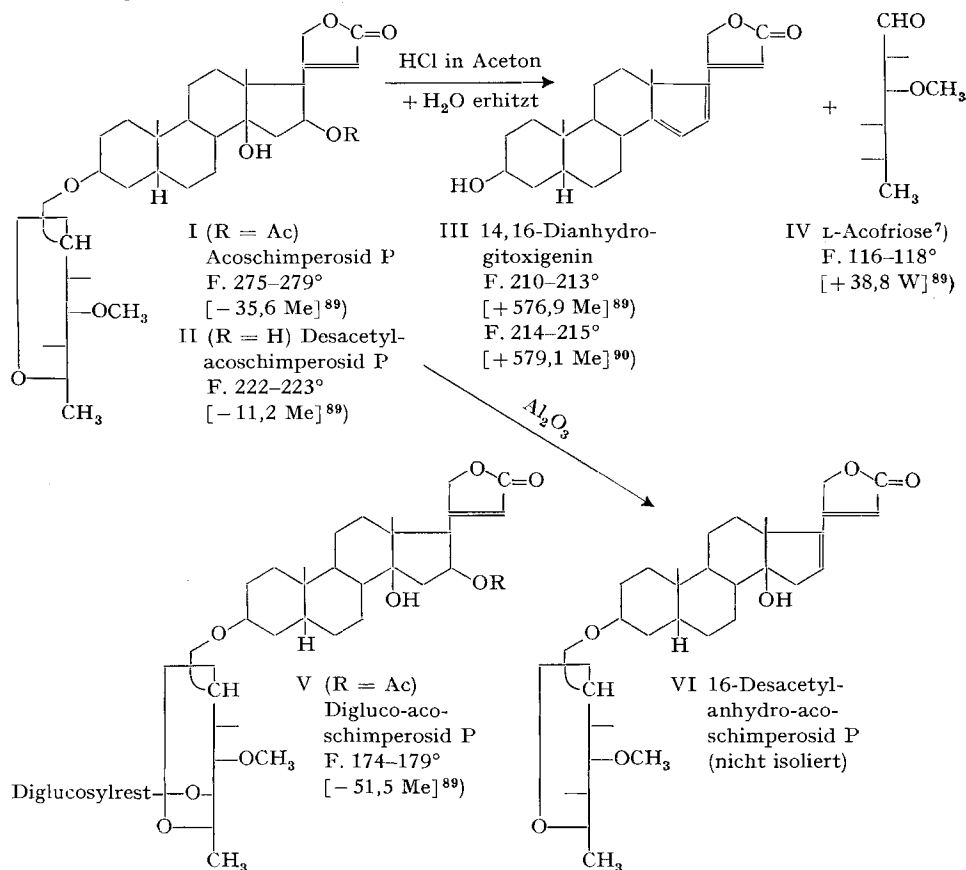
<sup>84</sup>)  $\alpha$ -Methylacofriosid ist nicht bekannt. Da die Methylierung des Zuckers in 3-Stellung keinen sehr grossen Einfluss auf die Drehung ausübt, wurde hier der für das L-Rhamnose-Derivat gefundene Wert benützt.

<sup>85</sup>) Diglykoside des Gitoxigenins und Oleandrigenins mit endständiger D-Glucose werden (zum Unterschied von den meisten anderen digitaloiden Di- und Triglykosiden ohne 16-ständige HO-Gruppe) von Strophanthobiase und Takaamylase (aus *Aspergillus oryzae*) gar nicht, wohl aber vom Ferment aus den Samen von *Adenium multiflorum* recht glatt gespalten. Über die Wirkung von Schneckenferment bestehen ungenügende Beobachtungen. In den bisher untersuchten Fällen trat immer Entacetylierung, meistens auch Abspaltung der Glucose ein. So wurde Mono-O-acetyl-digitalinum verum (acetyliert im Digitaloseanteil) mit Schneckenferment teilweise nur entacetyliert, zum grösseren Teil aber zu Strosposid gespalten<sup>86</sup>). Auch Cheirosid A (ein Uzarigeninderivat) war gegen Strophanthobiase beständig, liess sich aber mit dem Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum* glatt spalten<sup>87</sup>).

<sup>86</sup>) A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. **33**, 76 (1950); W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. **35**, 434 (1952).

<sup>87</sup>) J. A. MOORE, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **37**, 755 (1954).

Monosid P dagegen vom Schneckenferment nicht verändert<sup>57)88)</sup>. Die Analysen sowie das UV.-Spektrum sprechen dafür, dass Digl-P zwei Mol D-Glucose enthält, somit ein Triosid darstellt. Wie die Zucker gebunden sind, wurde nicht untersucht; am wahrscheinlichsten ist eine lineare Verknüpfung wie in Formel V angedeutet. Bei der enzymatischen Spaltung wäre dann mit der intermediären Bildung eines Biosids (Gluco-P) zu rechnen. Ein solches wurde bisher nicht beobachtet. Nach dem UV.-Spektrum (Kurve V in Fig. 40) enthielt unser Digl-P-Präparat noch eine kleine Menge (knapp 1%) Cardien-(16,20:22)-Derivat, wie dies bei Oleandringenin-Glykosiden sehr häufig vorkommt.



*Weitere enzymatische Spaltungen.* Um einen orientierenden Einblick in den Bau der stärker polaren Glykoside zu erhalten, wurden eine Reihe dieser Stoffe ebenfalls mit Enzymen behandelt. Meistens wurde Schneckenferment<sup>43)</sup> verwendet und im

<sup>88)</sup> Es muss daher beim Abbau von Digl-P entweder zuerst die Acetoxygruppe verseift werden, oder die Hydrolyse tritt doch erst auf der Monoglykosidstufe von P ein. Dann müsste P sofort weiter gespalten werden, sobald es sich bildet, so dass nie so viel entsteht, dass es auskristallisieren kann.

<sup>89)</sup> Exper. Teil dieser Arbeit.

<sup>90)</sup> O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 442 (1952), und frühere Lit. daselbst.

Mikromaßstab gearbeitet mit papierchromatographischem Nachweis der Spaltprodukte. Ergebnis vgl. vorletzte Spalte in Tab. 4.

*Kurze Besprechung der isolierten Stoffe* (vgl. auch Tab. 4)

*Acoschimperosid Q*<sup>91</sup>). Nach den Analysendaten und der allerdings sehr schwach positiven Tetranitromethan-Reaktion beim Di-O-acetyl-Q könnte der Stoff vielleicht eine isolierte Doppelbindung enthalten. Sie müsste sich dann aber an einer Stelle befinden, an der sie keinen merklichen Einfluss auf das UV.-Spektrum (vgl. Kurven IV und VI in Fig. 40) hat. Einwirkung von CrO<sub>3</sub> in Eisessig auf das krist. Di-O-acetyl-Q lieferte neben sauren Anteilen unverändertes Ausgangsmaterial. Energische saure Hydrolyse<sup>72</sup>) lieferte einen Zucker, der nach Papierchromatogramm (Nr. 74 in Fig. 35) mit L-Acofriose identisch sein dürfte. Einwirkung von konz. HCl bei 0°<sup>75</sup>) lieferte ein Rohprodukt, das im UV. ein Maximum bei 390 m $\mu$  zeigte (Kurve II in Fig. 39). Es bildet sich demnach ein konjugiertes System, das möglicherweise noch eine Doppelbindung mehr besitzt als III.

*Acoschimperosid N*. Das hier isolierte Material war identisch mit der früher beschriebenen Probe<sup>11</sup>). Beim Kochen mit Lauge verbrauchte es nur ein Äquivalent Alkali. Die Fluoreszenzreaktion nach PESEZ<sup>49</sup>) war positiv. Trotzdem scheint der Stoff keine 16-Hydroxygruppe zu enthalten, denn nach Behandlung mit konz. HCl bei 0° wurde das in Kurve II in Fig. 44 wiedergegebene Spektrum erhalten, welches das für Carda-14,16,20:22-trienolide typische Maximum bei 338 m $\mu$  nicht zeigt. Gegen Säure ist der Stoff sehr empfindlich. Einwirkung von HCl in Aceton nach MANNICH gab nach 3 Tagen ca. 30% der ber. Menge Zucker, der kristallisiert und mit L-Acofriose identifiziert wurde. Der «Genin»-Anteil (noch zuckerhaltig) lieferte im Papierchromatogramm 5 Flecke (Nr. 76 in Fig. 36), von denen zwei noch langsamer liefen als N. Nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> konnten wenig unverändertes N und wenig andere Kristalle erhalten werden. Letztere entsprachen im Papierchromatogramm (Nr. 77 in Fig. 36) dem am langsamsten laufenden der 5 genannten Flecke. Bei stärkerer Auflösung (vgl. Fig. 37) gaben sie aber einen Doppelfleck und wurden daher nicht weiter untersucht. Die wieder vereinigten Fraktionen wurden nochmals 12 Tage mit HCl in Aceton behandelt, wobei ein weiteres Quantum L-Acofriose resultierte. Das dunkel gefärbte chloroformlösliche Material lieferte auch nach Chromatographie keine Kristalle.

*Acoschimperosid P*. Die Konstitutionsaufklärung ist oben beschrieben.

*Acolongiflorosid G*. Das hier erhaltene Präparat war nach Drehung, Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm (Fig. 10) mit dem früheren Präparat identisch.

*Acolongiflorosid H*. Das hier erhaltene Präparat gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck. Dieser zeigte dieselbe Laufstrecke wie die Hauptkomponente des aus *A. longiflora*<sup>14</sup>) isolierten Materials. Letzteres war nicht ganz einheitlich<sup>69</sup>). Dies trifft auch für die aus *A. Friesiorum* isolierten Kristalle<sup>7</sup>) zu. Daraus erklären sich die teilweise verschiedenen Drehungen. Als Zucker enthält es L-Acofriose<sup>7</sup>).

<sup>91</sup>) Im System Fmd/Be-Chf-(4:7) zeigt Q genau dieselbe Laufstrecke wie Acoschimperosid O<sup>10</sup>). Eine Differenzierung gelingt im System Fmd/Be oder Fmd/Be-Chf-(9:1) nach ca. 25 Std. O wandert in diesen Systemen<sup>11</sup>) nur sehr wenig schneller als N, während Q eine merklich grössere Laufstrecke zeigt (vgl. Fig. 9).

*Acoschimperoside R1 und R2.* Diese zwei Stoffe wurden nur als Mischkristalliat erhalten. Nach Papierchromatogramm ist R2 identisch mit dem früher<sup>1)</sup> beschriebenen Präparat.

*Acoschimperosid S.* Diese nur in kleiner Menge in krist. Form isolierte Substanz zeigte im UV. ein Maximum bei 214  $\mu$ . Die geringe Verschiebung vom normalen Wert (217  $\mu$ ) ist vermutlich signifikant, doch ist dies nicht bewiesen. Auch dieser Stoff reagierte bei der Fluoreszenzprobe nach PESEZ<sup>51)</sup> positiv, war aber trotzdem kein Gitoxigeninderivat, denn nach Behandlung mit konz. HCl bei 0°<sup>75)</sup> zeigte das UV.-Spektrum (Kurve I in Fig. 44) keine selektive Absorption bei 338  $\mu$ . Die Kurve zeigte vielmehr weitgehende Ähnlichkeit mit derjenigen von analog behandeltem Acoschimperosid N (Kurve II in Fig. 44). Auch in der Färbung mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> besteht zwischen S und N eine gewisse Ähnlichkeit. Im Papierchromatogramm (Fig. 23) wandert S etwas langsamer als Panstrosid.

*Acoschimperosid T.* Auch dieser Stoff konnte bisher nur durch präparative Papierchromatographie rein erhalten werden, so dass nur sehr wenig davon zur Verfügung stand. Die Bruttoformel ist nicht sicher abgeklärt. Die bisherigen Resultate (insbesondere die UV.-Absorption) würden am besten auf ein Diglykosid C<sub>36</sub>H<sub>54</sub>O<sub>13</sub> passen. Die Analysenwerte wären auch mit C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>10</sub> + 1/2H<sub>2</sub>O verträglich. Eine Probe auf Beständigkeit gegenüber Schneckenferment konnte wegen Substanzmangel nicht ausgeführt werden.

*Acoschimperosid U.* Von diesem Stoff wurden nur so wenig Kristalle erhalten, dass er lediglich durch den Smp., das Papierchromatogramm (Nr. 4 in Fig. 5) und die sehr typische Färbung mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Tab. 5) charakterisiert werden konnte.

*Acoschimperosid V.* Dieser Stoff wurde nur in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form erhalten<sup>92)</sup>. Auch das O-Acetyl- und das O-Benzoyl-Derivat kristallisierten nicht. V liess sich mit Schneckenferment abbauen. Nach Papierchromatogramm entstand dabei D-Glucose (Nr. 54 in Fig. 27) sowie ein Gemisch von viel Acoschimperosid N und wenig Q (Nr. 59 in Fig. 28). V ist demnach zumindest ein Diglykosid. Da es im Papierchromatogramm viel rascher wandert als Digl-N (siehe unten), dürfte ein Triglykosid selbst dann ausgeschlossen sein, wenn die Molekel noch eine Acetylgruppe enthielte; auch die Höhe der Extinktion im UV.-Spektrum (Kurve V in Fig. 43) ist mit einem Triglykosid sehr schlecht, mit einem Diglykosid (C<sub>36</sub>H<sub>52-54</sub>O<sub>14</sub> = 708,7-710,79) aber sehr gut verträglich. Diese Resultate sprechen stark dafür, dass V ein Derivat von Acoschimperosid N ist, das ein zusätzliches Mol D-Glucose enthält<sup>93)</sup>. Dementsprechend liess sich nach Fermentierung einer etwas grösseren Menge V das entstandene N durch präparative Papierchromatographie auch in Kristallen isolieren. V und N zeigen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> weitgehend gleiche

<sup>92)</sup> Das isolierte Präparat von V gab, in Dosen von 0,25 mg aufgetragen, im Papierchromatogramm nur einen Fleck. KEDDE-negative Verunreinigungen wurden dabei nicht erfasst. Die bei 217  $\mu$  gefundene Extinktion ergibt, auf die Formel eines Diglykosids C<sub>36</sub>H<sub>52-54</sub>O<sub>14</sub> berechnet, ein  $\log \epsilon = 4,20$ . Demnach enthielt das Präparat höchstens kleine Mengen solcher Verunreinigungen.

<sup>93)</sup> Es könnte ausserdem noch ein Mol. Essigsäure als Acetoxygruppe gebunden enthalten, die mit dem Schneckenferment abgespalten wird. Ein Versuch, dies durch alkalische Verseifung zu entscheiden, gab kein eindeutiges Resultat. V verbraucht beim Kochen mit alkoholischem KOH 1,6 bzw. 1,7 Mol. Alkali. Bei der Unsicherheit der Acetoxybestimmung und da V nicht in kristallisierter Form vorlag, möchten wir auf Schlussfolgerungen vorläufig verzichten.

Farbreaktionen (vgl. Tab. 5), und beide geben im UV. ansteigende Endabsorption (Fig. 40 und 43). Die Bildung von Q beim fermentativen Abbau wäre am einfachsten zu erklären, wenn man annimmt, dass V ausser Gluco-N noch etwas Gluco-Q enthält und dass dieses im Papierchromatogramm gleich wandert wie Gluco-N<sup>94</sup>).

*Acoschimperosid W.* Dieser Stoff wurde ebenfalls nur in amorpher Form erhalten. Das beste Präparat enthielt nach Papierchromatogramm (Nr. 21 in Fig. 13) noch eine kleine Menge V. Dieses Präparat wurde mit Schneckenferment behandelt. Auffallenderweise entstanden nach Papierchromatogramm neben D-Glucose wieder viel N und wenig Q (Nr. 57 in Fig. 28), also genau dieselben Stoffe wie aus V. Eine sichere Erklärung für dieses Resultat lässt sich vorläufig nicht geben. Es besteht die Möglichkeit, dass V und W isomer sind und sich lediglich durch verschiedenen Bindungsort der zusätzlichen D-Glucose voneinander unterscheiden. Es ist aber auch möglich, dass das eine Spur weniger polare V eine Mono-O-acetyl-Verbindung von W darstellt. In jedem Fall ist anzunehmen, dass auch hier ein analoges Derivat von Q (Gluco-Q) in kleiner Menge beigemischt war und dass dieses im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke wie die Hauptkomponente von W besitzt<sup>95</sup>).

*Substanz FTh 25.* Dieses Glykosid wurde bisher ebenfalls nur in amorpher Form erhalten. Nach Papierchromatogramm (Nr. 23 in Fig. 14) enthielt das beste Präparat noch etwas V. Im UV. (vgl. Kurve II in Fig. 43) gab es ausser dem Maximum des Butenolidringes noch ein sehr starkes bei ca. 313 m $\mu$ . Wir vermuten, dass es von einer stark absorbierenden Verunreinigung herrührt. Das vorhandene Material (372 mg) wurde in präparativem Maßstab mit Schneckenferment behandelt. Neben D-Glucose (Nr. 55 in Fig. 27) entstand ein Gemisch von wenig N und Q (aus V stammend) sowie viel G und H (Nr. 60 in Fig. 29). Durch präparative Papierchromatographie liessen sich daraus die Acolongifloroside G und H in reinen Kristallen isolieren und durch Smp., Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen und Papierchromatographie eindeutig identifizieren. Auch dieses Resultat lässt sich nicht eindeutig erklären. Wir vermuten, dass Subst. FTh 25 ein Gemisch von zwei Diglykosiden (Gluco-G und Gluco-H) darstellt<sup>96</sup>), die im Papierchromatogramm in den verwendeten Systemen gleich laufen<sup>97</sup>). G und H sind in Wasser schwer löslich. Es konnte bisher nicht geprüft werden, ob sie selbst gegen Schneckenferment beständig sind.

*Substanz FTh 13.* Dieser Stoff konnte bisher nur als krist. O-Acetylderivat rein isoliert werden. Die besten amorphen Konzentrate waren Gemische, die neben wenig Y1 und eventuell Y2 noch mindestens einen weiteren unbekanntem KEDDE-positiven Stoff enthielten. Im System W/To-Bu-(1:1) gaben solche Konzentrate nur einen Fleck (entspr. Y1, Y2, FTh 13 etc. gemeinsam). Im System Chf-Me-W-(10:8:5) wurde die Auflösung in 3 Flecke (a, b, c, vgl. Fig. 18)<sup>29</sup>) erreicht, von denen c den Stoffen Y1 und Y2 entspricht. O-Acetyl-FTh 13 wurde aus Gemischen erhalten, die den c-Fleck nur sehr schwach zeigten; da die Ausbeute an Kristallen aber sehr schlecht war, ist eine sichere Zuordnung nicht möglich.

<sup>94</sup>) Ob diese Erklärung zutrifft, ist vorläufig ungewiss.

<sup>95</sup>) Die recht verschiedenen Farbreaktionen von V und W mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (während der ersten 30 Min.: V braunschwarz und W gelb) lassen sich mit dieser Annahme allerdings kaum erklären.

<sup>96</sup>) FTh 25 gibt mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eine ähnliche Färbung wie H, welche die viel schwächere Färbung von G verdeckt.

<sup>97</sup>) Auch die Monoglykoside G und H zeigen relativ ähnliche Laufstrecken.

Nach den Analysendaten dürfte im O-Acetyl-FTh 13 ein Derivat eines Diglykosids vorliegen. Das UV.-Spektrum (Kurve III in Fig. 41) steht damit in Einklang. O-Acetyl-FTh 13 reagiert bei der Fluoreszenzreaktion nach PESEZ<sup>51)</sup> positiv. Es zeigt mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sehr ähnliche Färbungen wie N (vgl. Tab. 5). Möglicherweise liegt ein Pentacetyl-gluco-N vor. Die Analyse passte einigermaßen auf diese Formel<sup>98)</sup>. Wodurch FTh 13 von V oder W verschieden ist, wäre in diesem Fall noch abzuklären.

*Acoschimperoside Y1 und Y2.* Das beste Präparat von Y1 (Kristalle aus Fr. 35–37)<sup>61)</sup> konnte noch nicht weiter untersucht werden. Wir vermuten, dass Y1 und Y2 isomer sind. Die 140 mg Kristalle (aus Fr. 38–41 von Tab. 16) Smp. 140–175°, die nach Farbreaktion<sup>99)</sup> ein Gemisch von Y1 und Y2 darstellten, wurden mit Schneckenferment behandelt, wobei weitgehende Spaltung eintrat. Der Zucker war nach Papierchromatogramm (Nr. 56 in Fig. 27) wieder D-Glucose. Das chloroformlösliche Material wurde an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, wobei sich die zwei in Tab. 8 genannten Kristallisate (11 mg und 12 mg) isolieren liessen<sup>100)</sup>. Beide Präparate zeigten im

Tabelle 8. Die zwei aus Y1 + Y2 mit Schneckenferment erhaltenen Kristallisate

Bezeichnung	Smp.	$[\alpha]_D$	Farbreaktion mit 84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
FTh 51 . . . .	211–240°	$-39,0^\circ \pm 6^\circ \text{ An}$	grün → grün <sup>101)</sup>
FTh 52 . . . .	246–252°	$-60,6^\circ \pm 4^\circ \text{ An}$	gelb → rosa <sup>101)</sup>

Papierchromatogramm (System Fmd/Be-Chf-(4:7), Nr. 63 und 64 in Fig. 30) dieselbe Laufstrecke (sehr wenig grösser als diejenige von P) (im System Fmd/Be laufen sie genau wie N). Ferner gaben sie fast identische UV.-Spektren (Fig. 41)<sup>102)</sup>. Sie unterschieden sich merklich in der Drehung und in der Farbreaktion mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Die Färbung von FTh 51 war dabei derjenigen von Y1<sup>101)</sup> äusserst ähnlich, und die Färbungen von FTh 52 und Y2 waren nahezu gleich<sup>101)</sup>. Wir glauben daher, dass FTh 51 Desgluco-Y1 darstellt und FTh 52 entsprechend Desgluco-Y2.

Es ist auffallend, dass die zwei Stoffe FTh 51 und FTh 52 in freiem Zustand bisher in den Samen *nicht* aufgefunden wurden<sup>103)</sup>. Die Analysen von Y2 (aus Fr. 43–46 in Tab. 16) passten gut auf die Formel C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>O<sub>19</sub> eines Triglykosids, auch die Höhe der Extinktion der kurzwelligen UV.-Bande (Fig. 41) steht damit in Einklang. Das Spektrum von Y2 zeigt ausserdem bei ca. 300 m $\mu$  ein flaches Maximum. Da dieses bei Präparat FTh 52 nicht auftritt, könnte es auch von einer stark absorbierenden Verunreinigung herrühren. Da die Analyse von FTh 52 auf C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>8</sub> (nicht auf

<sup>98)</sup> Sie passt noch besser auf C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>17</sub> (808,85), die aber kaum zu deuten ist.

<sup>99)</sup> Fr. 38 zeigte noch die Färbung von Y1 (hellgrün → grau), Fr. 41 gab aber schon die Färbung von Y2 (orange → rosa).

<sup>100)</sup> Die Einheitlichkeit dieser 2 Präparate ist nicht völlig sicher.

<sup>101)</sup> Vgl. Tab. 5.

<sup>102)</sup> In diesen fehlt das bei Acoschimperosid Y2 gefundene flache Maximum bei ca. 300 m $\mu$  (vgl. Fig. 41), letzteres ist daher vermutlich durch eine kleine Menge einer stark absorbierenden Verunreinigung verursacht.

<sup>103)</sup> Alle anderen mit Schneckenferment abbaubaren Di- oder Triglykoside gaben Stoffe, die auch als solche in den Samen enthalten waren. Trotzdem ist es sehr gut möglich, dass FTh 51 und FTh 52 auch in den Samen vorhanden waren. Sie müssten dann im Chf-Extrakt vorliegen. Dieser enthielt aber grosse Mengen von N und P, welche sehr ähnliche Laufstrecken wie FTh 51 und FTh 52 zeigten, so dass kleine Mengen der letzteren leicht übersehen werden können.

$C_{30}H_{46}O_9$ ) passte, glauben wir, dass Y2 eher die Formel  $C_{42}H_{66}O_{18}$  besitzt und dass die analysierte Probe noch nicht völlig trocken war. Dieser Formel würde dann ein Aglykon  $C_{23}H_{34}O_4$  entsprechend der Bruttoformel von Digitoxigenin zugrunde liegen. Da die Farbreaktionen mit 84-proz.  $H_2SO_4$  von Y2 und Thevetin (einem Triosid des Digitoxigenins) sehr weitgehend übereinstimmen, könnte Y2 vielleicht ein Derivat des Digitoxigenins darstellen.

*Digluco-acoschimperosid P.* Die Konstitution dieses Stoffes wurde weiter oben besprochen.

*Digluco-acoschimperosid N.* Dieses Glykosid wurde durch Schneckenferment in D-Glucose und Acoschimperosid N gespalten. Erstere wurde nur papierchromatographisch (Fig. 26) nachgewiesen, während N auch präparativ isoliert wurde. Andere Glykoside liessen sich im Chf-Extrakt auch papierchromatographisch (Nr. 67 in Fig. 31) nicht nachweisen. Nach den Analysen und nach dem UV.-Spektrum (Fig. 40) lag im Digl-N ein Triglykosid  $C_{42}H_{62-64}O_{19}$  vor. Beim Kochen mit Lauge verbrauchte es nur 1 Mol. Alkali, war somit acetylfrei.

*Acoschimperosid Z.* Dieser stark polare, methoxylfreie Stoff enthielt ca. 5% Asche<sup>104</sup>), möglicherweise handelt es sich um das Salz einer Carbonsäure. Nach dem Verhalten bei der Acetylierung enthält Z eine relativ schwer acetylierbare HO-Gruppe (wie Acovenosid A und Ouabain)<sup>15)24</sup>). Nur sehr energische Acetylierung lieferte ein einheitliches O-Acetylderivat (Nr. 45 in Fig. 22), das bisher nicht kristallisierte.

*Substanz FTh 28.* Dieser Stoff wurde nur in amorpher Form, mit Z verunreinigt, erhalten, aber als krist. O-Acetyl-Verbindung isoliert. Letztere zeigte im UV. neben dem normalen Maximum bei  $217 m\mu$  ein zweites bei ca.  $270 m\mu$  (Kurve III in Fig. 40), was vermutlich von einer Beimischung eines Cardadien-(16,20:22)-olids (entspr. Formel VI) herrührt. Behandlung von O-Acetyl-FTh 28 mit konz. HCl bei  $0^\circ$  lieferte ein Rohprodukt, das im UV. ein starkes Maximum bei ca.  $385 m\mu$  gab (Kurve I in Fig. 39). O-Acetyl-FTh 28 verhielt sich dabei also wie Q und dürfte eine ähnliche Gruppierung enthalten wie dieses.

*Acoschimperosid  $\psi$ -K.* Dieser vermutlich methoxylhaltige Stoff wurde nur in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form (Nr. 26 in Fig. 16) erhalten. Er zeigte dabei genau dieselbe Laufstrecke wie das ebenfalls bisher nur in amorpher Form erhaltene Acolongiflorosid K<sup>14</sup>). Gegen Schneckenferment ist  $\psi$ -K resistent, stellt somit wahrscheinlich ein Monoglykosid dar. Nach dem UV.-Spektrum (Kurve  $\psi$ -K in Fig. 43, berechnet auf die Formel  $C_{30}H_{46}O_{12} = 598,72$ ) war das Präparat nur ca. 80-proz. Beim Kochen mit KOH wurden 1,19 Mol. Lauge verbraucht. Acetylierung mit Acetanhydrid in Py bei  $36^\circ$  lieferte genau wie bei K ein Gemisch<sup>105</sup>), das im Papierchromatogramm (Nr. 78 in Fig. 38) zwei Flecke gab, die aber beide etwas schneller liefen als die beiden entsprechenden aus K erhaltenen Flecke (Nr. 80 und 81 in Fig. 38). Beim Kochen mit reinem Acetanhydrid wurde O-Acetyl- $\psi$ -K erhalten, das nur noch den schnelleren Fleck (Nr. 79 in Fig. 38) gab. Es konnte auch nach

<sup>104</sup>) Kation nicht bestimmt.

<sup>105</sup>) K liefert bei Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin bei  $20-37^\circ$  ein Gemisch von zwei Acetylderivaten. Das langsamer laufende entspricht dem früher<sup>14</sup>) beschriebenen krist. O-Acetylderivat von K und stellt ein partiell acetyliertes Produkt dar. Durch Kochen mit Acetanhydrid geht es in das schneller laufende Derivat über.



Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nicht kristallisiert werden. Auch Subst.  $\gamma$  aus *Strophanthus Tholloni*<sup>15)</sup> zeigt im Papierchromatogramm fast dieselbe Laufstrecke wie K und  $\psi$ -K, lässt sich von diesem aber ebenfalls durch Acetylierung differenzieren<sup>11)</sup>.

*Ouabain*. Das hier isolierte Produkt war nach Smp., Mischprobe, Drehung und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material.

Es wurde schon bei anderen *Acokanthera*-Arten beobachtet, dass in dieser Gattung die Samen und das Holz im wesentlichen dieselben Glykoside enthalten<sup>106)</sup>, nur sind die Samen viel reicher und auch sonst für eine genaue Untersuchung viel besser geeignet. Bei der hier untersuchten Form wurde eine ähnliche Übereinstimmung gefunden. Es ist zugleich erstmals eine möglichst vollständige Analyse der digitaloiden Lactone einer *Acokanthera* durchgeführt worden. Die hier untersuchte Form ist, wie schon früher hervorgehoben, chemisch dadurch gekennzeichnet, dass sie sehr viel Ouabain und gar kein Acovenosid A enthält; auch die besondere Kombination der Nebenglykoside ist für sie charakteristisch.

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

### Experimenteller Teil

Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis  $200^\circ$  etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Drehungsbestimmung und für die Lactontitration wurden 1 Std. bei 0,05 Torr und  $60^\circ$  getrocknet, zur Analyse 5 Std. (sofern nichts anderes vermerkt) bei  $110^\circ$  und 0,01 Torr über  $\text{P}_2\text{O}_5$ , bei freien Glykosiden mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in  $\text{Chf-Ae}$ , Waschen mit 2-n.  $\text{HCl}$  (bei  $\text{CrO}_3$ -Oxydationen mit 2-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), Sodalösung und W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen. Ausführung der Adsorptionschromatographie<sup>107)</sup> an alkalifreiem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>108)</sup> oder Silicagel<sup>109)</sup>, der Verteilungschromatographie<sup>21)</sup>, der präparativen Papierchromatographie<sup>22)</sup>, des Acetoxyl-Tests<sup>48)</sup>, der Lactontitration<sup>15)</sup>, der KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>49)</sup>, der Zuckerprüfung<sup>50)</sup>, der Tetranitromethanprobe<sup>110)</sup>, der Prüfung auf 16-Hydroxy- (oder Acyloxy-)Gruppen (oder 16-Doppelbindung) durch Behandlung mit konz.  $\text{HCl}$  unter  $\text{CO}_2$  bei  $0^\circ$  und anschließende Bestimmung des UV.-Spektrums<sup>75)</sup> nach früheren Angaben. Die Papierchromatographie wurde mit einigen Änderungen<sup>111)</sup> nach früheren Angaben<sup>112)113)114)115)</sup>

<sup>106)</sup> Bei anderen Pflanzen wurden oft grosse Unterschiede zwischen Samen und vegetativen Teilen beobachtet.

<sup>107)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Trans. Farad. Soc. **1945**, Nr. 7, 305.

<sup>108)</sup> Bereitet nach J. VON EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944), aber Reaktivierung nur bei  $175$ – $185^\circ$ .

<sup>109)</sup> Silicagel engporig 0,15–0,3 mm, gekörnt «für Chromatographie», bezogen von Dr. BENDER & Dr. HOBEIN AG., Zürich 42.

<sup>110)</sup> K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. **35**, 98 (1954).

<sup>111)</sup> Bei W/To-Bu-Systemen wurde nach Einhängen des Papiers in den Trog sofort mit der Chromatographie begonnen. Bei Fmd-Systemen wurde das Papier nach H. HEGEDÜS *et al.*<sup>21)</sup> mit Fmd-An-(1:3) imprägniert. Bei BUSH-Systemen<sup>19)</sup> wurde das Papier mit der ruhenden Phase imprägniert, zwischen Filterpapier mit der Gummirolle schwach abgepresst und dann sofort in den gut gedichteten Trog gehängt. Nach ca. 24 Std. wurden nach Abheben des Deckels die Substanzen mittelst Pipette auf das Papier gebracht. Nach weiteren 2 Std. wurde durch einen in den Trogdeckel eingebauten Tropftrichter die bewegliche Phase in den Trog gegeben und so die Chromatographie eingeleitet.

<sup>112)</sup> O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **34**, 108 (1951).

<sup>113)</sup> E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. **37**, 680 (1954).

<sup>114)</sup> A. JEANES, C. S. WISE & R. J. DIMLER, Anal. Chemistry **23**, 415 (1951).

<sup>115)</sup> A. B. SVENDSEN & K. B. JENSEN, Pharmac. Acta Helv. **25**, 241 (1950); K. B. JENSEN, Acta pharmacol. toxicol. **9**, 99 (1953).

durchgeführt; wo nichts anderes vermerkt, auf WHATMAN-Nr. 1-Papier,  $t = 20^\circ$ . Die Entwicklung geschah mit KEDDE-Reagens<sup>116</sup>) bei Butenoliden und mit Anilinphtalat<sup>117</sup>) bei Zuckern. Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: Ae = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = Butanol-(1), Chf = Chloroform, D = Dioxan, AcOH = Eisessig, (Ac)<sub>2</sub>O = Acetanhydrid, Est = Äthylacetat, Fmd = Formamid (entsäuert)<sup>112</sup>), Isopr = Isopropanol, Me = Methanol, Pgl = Propylenglykol, Pe = Petroläther, Pn = Pentan, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. Ac- bedeutet  $\text{CH}_3\text{CO-}$  und Bz =  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO-}$ , ML = Mutterlauge.

*Ausführung des fermentativen Abbaus im Mikromaßstab.* 2–4 mg Glykosid wurden mit doppelter Menge Enzympräparat (Trockenpulver) in 1 ml W gelöst, mit 0,1 ml To versetzt und verschlossen 5 Tage bei  $35^\circ$  stehengelassen. Dann wurde mit 5 ml abs. Alk versetzt und durch wenig gereinigte Kieselgur (Hyflo Super Cel) filtriert. Das Filtrat wurde mit einer Spur Octanol versetzt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 0,2 ml W aufgenommen, zweimal mit je 2 ml Chf und anschließend zweimal mit je 2 ml wassergesättigtem Chf-Alk-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt (Trennung mit Kapillarpipette). Die eingedampften Extrakte wurden gewogen und dienen zur Papierchromatographie. Im Chf-Extr. war jeweils vorwiegend das evtl. gebildete Monoglykosid enthalten, im Chf-Alk-(2:1)-Extr. das unveränderte Ausgangsmaterial oder andere stark polare Stoffe. Die verbliebene wässrige Phase diente zum Nachweis der abgespaltenen Glucose; für das Papierchromatogramm wurden ca.  $\frac{1}{5}$ – $\frac{1}{10}$  der erhaltenen Zuckerpulverlösung (entspr. ca. 0,4 mg ursprüngliches Glykosid) verwendet.

*Ausführung der Fluoreszenzreaktion nach PESEZ<sup>51</sup>) zur Prüfung auf Gitoxygenin- und 16-Anhydro-gitoxygenin-Derivate.* Ca. 0,1 mg Substanz wurden auf einer Porzellan-Tüpfelplatte unter der UV.-Lampe mit einem Tropfen 85-proz.  $\text{H}_3\text{PO}_4$  versetzt. Der Test gilt hier als positiv, wenn dabei nach höchstens 5 Sek. eine intensive Fluoreszenz entstand.

*Extraktion der Samen* (ausgeführt im Juni 1954). Die am 28. 5. 54 erhaltenen Samen wogen 1,54 kg und wurden bis zur Verarbeitung bei  $0^\circ$  aufbewahrt. 1,53 kg wurden wie bei *Acokanthera venenata*<sup>6</sup>), Methode c (Seite 494), angegeben mit W und hierauf fünfmal mit je 2 l wässrigem Alk von steigendem Prozentgehalt (60–95%) extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden wie bei v. EUW & REICHSTEIN<sup>9</sup>) beschrieben mit  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  gereinigt und bei pH = 6 im Vakuum auf 1 l eingeeengt. Dann wurde fünfmal mit je 1,2 l Chf und anschließend fünfmal mit je 0,8 l Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt, wobei die Auszüge nach dem Gegenstromprinzip mit 1 l W, 500 ml W, 100 ml 2-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 100 ml W gewaschen wurden. Die ausgeschüttelte Lösung wurde mit den beiden ersten Waschwässern vereinigt und nach Abtrennung eines durch Alk-Zusatz erhaltenen KEDDE-negativen Niederschlags im Vakuum bei pH = 6 zur Trockne eingedampft. Der Rückstand (26,2 g) wurde in 100 ml halbgesättigter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung aufgenommen und zwölfmal mit 0,6 l Chf-Alk-(3:2) extrahiert. Der ursprüngliche Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (15,82 g) wurde nachträglich in 100 ml W gelöst und sechsmal mit je 300 ml Chf-Alk-(9:1) ausgeschüttelt. Es wurden die in Tab. 1 genannten Ausbeuten erhalten.

*Untersuchung des Chf-Extraktes.* Die 22,7 g Material gaben aus An-Ae 6,89 g farblose Drusen, Smp. 224–235°.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Färbung schwarz. Nach Papierchromatogramm (Nr. 1 in Fig. 3) Gemisch von viel N und Q mit weniger G, H und V/W. Da die Trennung durch Kristallisation nicht gelang, wurden die Kristalle mit dem ML-Rückstand vereinigt und 20,75 g dieses Gemisches an 650 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 1,8 l der in Tab. 9 genannten Lösungsmittel.

*Trennung der Gruppe A.* Die Fr. 1–3 von Tab. 9 wurden vereinigt (14,35 g). 5,0 g davon wurden einer Verteilungschromatographie im System B5 von BUSH<sup>19</sup>) unterworfen. Ruhende Phase war Me-W-(1:1), gesättigt mit Be, auf gereinigter Kieselgur (Hyflo-Super Cel), als bewegliche Phase diente Be, gesättigt mit Me-W-(1:1). Zur Sättigung der beweglichen Phase wurden immer dieselben 4 l Me-W-(1:1)-Gemisch verwendet. Ihr Me-Gehalt verringerte sich im Lauf der ganzen Chromatographie dabei um ca. 10%. Die fertige Säule<sup>21</sup>) enthielt 3 kg beladene Kieselgur, Schichthöhe 114 cm. Vor Aufbringen der Substanz wurde 24 Std. mit der beweglichen Phase gewaschen. Die 5 g Substanz wurden in einer Mischung von 70 ml Chf und 35 ml D<sup>118</sup>) gelöst, mit 20 g gereinigte Kieselgur vermischt und im Vakuum bei  $50^\circ$  getrocknet. Das so

<sup>116</sup>) I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).

<sup>117</sup>) S. M. PARTRIDGE, *Nature* **164**, 443 (1949).

<sup>118</sup>) Das Dioxan sollte das Auskristallisieren der Substanz verhindern.

Tabelle 9. *Chromatographie von 20,75 g Chf-Extr. an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		Gruppe
		Menge in mg	Flecke im Papierchromatogramm <sup>119)</sup> 120) 121)	
1	Chf	6610	Q, N, P	} A
2-3	Chf-Me-(99,5:0,5)	8180	Q, N, P	
4-6	Chf-Me-(99,5:0,5)	2140	Q, N, P, G, H	} B
7-9	Chf-Me-(99,5:0,5)	810	G, H, (Q, N, P, STU)	
10	Chf-Me-(99:1)	240	G, H, (STU)	
11-12	Chf-Me-(99:1)	345	G, H, STU	} C
13	Chf-Me-(80:20)	1270	H, R1 R2, STU	
14-16	Chf-Me-(50:50)	540	(H)R1 R2, STU	
17-22	Gemisch <sup>122)</sup> + 5% AcOH	3600	(R1 R2, STU), V, W	D
Total		23735		

erhaltene Pulver wurde mit 20 ml schwerer Phase homogenisiert, dann mit wenig der beweglichen Phase auf die Säule gegeben. Die Durchlaufgeschwindigkeit für Fr. 1-54 betrug 35 ml/Std., später 60 ml/Std. Fr. 1-66 wurden zu je 200 ml abgenommen, Fr. 67-76 zu je 450 ml; Temperatur  $23^\circ \pm 3^\circ$ . Es wurden die in Tab. 10 angegebenen Fraktionsgruppen erhalten (vgl. auch Fig. 1).

Tabelle 10. *Verteilungschromatographie von 5 g Chf-Extr.*

Fraktionsnummer	Eindampfrückstand	
	Menge in mg	Papierchromatogramm
1-20	149	KEDDE-negativ
21-27	512	Q
28-33	811	Q+N
34-47	2040	N
48-59	191	N+P
60-76	1089	P

Nach Beendigung der Chromatographie wurde die oberste Schicht entfernt und neue 5 g Gemisch auf derselben Säule chromatographiert, wobei ein ähnliches Resultat erhalten wurde.

Die Fr. 21-27 (Tab. 10) gaben aus An 357 mg reines Q in farblosen Blättchen, Smp. 248-250° (Nr. 12 in Fig. 9).

Die Fr. 34-47 (Tab. 10) gaben aus An 1,175 g und der ML-Rückstand aus An-Ae noch 143 mg reines N, Smp. 237-245° (Nr. 11 in Fig. 9).

Die Fr. 60-76 (Tab. 10) gaben aus An 800 mg reines P vom Smp. 269-276° (Nr. 10 in Fig. 9).

*Trennung der Gruppe B (von Tab. 9).* Dieses Material (3,15 g) wurde nochmals an 100 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren dienten je 300 ml der in Tab. 11 genannten Lösungsmittel.

<sup>119)</sup> System: Fmd/Be-Chf-(4:7).

<sup>120)</sup> In Klammern sehr schwache Flecke (entspr. Spuren). Sind die Buchstaben nicht durch Kommas getrennt, so bedeutet dies, dass die betr. Stoffe im verwendeten System nicht aufgetrennt werden, sondern in einem Fleck erscheinen. Es ist daher nicht sicher, dass alle so erwähnten Stoffe wirklich anwesend waren.

<sup>121)</sup> Die Smp. der hier erhaltenen Kristallisate geben wenig Anhaltspunkte über die Einheitlichkeit. Die Bestimmung unterblieb daher.

<sup>122)</sup> Gemisch gleicher Mengen Chf-Me-Est.

Tabelle 11. *Chromatographie von 3,15 g der Gruppe B an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Papierchromatogramm <sup>119)</sup> 120) 121)
1-3	Chf	339	Q, N, P
4-5	Chf	291	Q, N, P, G, H
6-11	Chf-Me-(99,75:0,25)	858	Q, N, P, G, H
12-16	Chf-Me-(99,5:0,5)	421	G, H
17-22	Chf-Me-(99:1)	724	G, H
23-24	Chf-Me-(98:2)	279	G, H, (STU)
25-27	Chf-Me-(96:4)	132	G, H, STU
28	Chf-Me-(80:20)	27	nicht geprüft
29	Gemisch <sup>122)</sup> + 3% AcOH	20	nicht geprüft
Total		3091	

Die Fr. 13, 17, 21 und 24 (Tab. 11) wurden einzeln aus Me kristallisiert. Die erhaltenen Kristalle zeigten Smp. zwischen 280 und 290° und waren nach Papierchromatogramm reines G. Sie wurden vereinigt (115 mg) und aus Me umkristallisiert und gaben 85 mg reines G vom Smp. 287–293°.

Alles verbliebene Material der Fr. 13–24 wurde vereinigt (1,30 g) und gab aus Me 271 mg Kristalle (viel G + wenig H). Die ML lieferte beim Einengen 232 mg Kristalle (etwa gleich viel G wie H enthaltend). Die restliche ML wurde ganz eingedampft und gab aus An-Ac 70 mg Kristalle (viel H + wenig G). Von diesen wurden 34 mg auf 9 Bogen Papier im System Fmd/Be-Chf-(4:7) präparativ aufgetrennt. Die ausgeschnittenen H-Zonen lieferten 22 mg Extrakt. Aus An-Ac 16 mg Kristalle, Smp. 246–249°; nach Umkristallisieren aus An-Ac 14 mg reines H, Smp. 251–252°.

*Trennung der Gruppe C (von Tab. 9).* Dieses Material (2,15 g) wurde an 70 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 200 ml der in Tab. 12 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 12. *Chromatographie von 2,15 g der Gruppe C an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Papierchromatogramm <sup>119)</sup> 120)
1-2	Chf	20	nicht untersucht
3	Chf-Me-(99,5:0,5)	3	nicht untersucht
4	Chf-Me-(99:1)	338	G, H, STU
5-10	Chf-Me-(98:2)	1074	G, H, R1/R2, STU
11-13	Chf-Me-(96:4)	348	(G, H), R1/R2, STU
14-15	Chf-Me-(92:8)	188	STU
16	Chf-Me-(80:20)	72	STU
17-20	Chf-Me-(50:50)	100	STU
21-26	Gemisch <sup>122)</sup> + 3% AcOH	115	STU
Total		2258	

Die Fr. 1–3 wurden nicht untersucht.

Die Fr. 4–13 wurden vereinigt (1760 mg) und nochmals an 60 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, wobei die Fr. 1'–28' erhalten wurden. Dabei liessen sich in den Fr. 3'–4' noch 246 mg Material abtrennen, das im Papierchromatogramm nur die Flecke G und H gab. Die folgenden Fr. 5'–28' (1,38 g) gaben die Flecke G, H, R1/R2 und STU. Sie wurden mit den Fr. 14–26 von Tab. 12 vereinigt (1,85 g). Davon wurden 1,42 g einer Verteilungschromatographie an Säule Nr. 2<sup>21)</sup> im System Pgl-W-(1:1)/Chf unterworfen. Schichthöhe 69 cm, Durchlaufgeschwindigkeit 20 ml/Std. Das Material (1,42 g) wurde direkt in 15 ml mobiler Phase auf die Säule gegeben. Es wurden 16 Fr. verschiedener Grösse aufgefangen (Tab. 13).

Tabelle 13. *Grobe Verteilungschromatographie von 1,42 g Gemisch aus Gruppe C*

Fraktionsnummer	Volumen Eluat in ml	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Papierchromatogramm
1-2	200	23	nicht untersucht
3-8	410	685 braun	G, H, R1/R2
9-16	2315	628 farbl.	STU

Die Fr. 1-2 (Tab. 13) wurden nicht untersucht.

Die Fr. 3-8 (Tab. 13) wurden zur Anreicherung von R1/R2 nochmals an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die dabei mit Chf-Me-(98:2) eluierten Fraktionen (97 mg) wurden durch präparative Papierchromatographie im System Fmd/Be-Chf-(4:7) getrennt und lieferten 25 mg Mischkristallisat R1/R2 in gallertigen Kugeldrusen (Nr. 3 in den Fig. 4 und 23).

Zur Entfernung von Pgl waren alle oben genannten Fraktionen in Chf gelöst und mit W gewaschen worden. Die vereinigten Washwässer gaben beim Ausschütteln mit Chf-Alk-(2:1) weitere 74 mg Material, das nach Papierchromatogramm nur STU enthielt. Dieses wurde mit den Fr. 9-16 vereinigt (695 mg) und sorgfältig an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Zum Eluieren dienten je 70 ml der in Tab. 14 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 14. *Chromatographie von 695 mg STU-Konzentrat an  $Al_2O_3$* 

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand Menge in mg	Erste Kristalle		Krist. aus ML	
			Menge in mg	Papierchromatogr. <sup>123)</sup>	Menge in mg	Papierchromatogr. <sup>123)</sup>
1-2	Chf	78	—		—	—
3	Chf-Me-(99:1)	178	77	S (R1R2, U)	—	—
4	Chf-Me-(99:1)	105	58	S (R1R2, U)	—	—
5	Chf-Me-(99:1)	33	22	S, U	—	—
6	Chf-Me-(99:1)	17	8,5	S, U	—	—
7	Chf-Me-(98:2)	37	13,5	S, T, (U)	11	S, U
8	Chf-Me-(98:2)	36	13	S, T, (U)	12,5	S, U
9	Chf-Me-(98:2)	17	8	S, T, (U)	6	S, U
10	Chf-Me-(98:2)	12	5,5	S, T, (U)	4,5	S, T (U)
11	Chf-Me-(96:4)	50	27	S, T, (U)	11	S, T (U)
12	Chf-Me-(96:4)	28	9	S, T, (U)	7	S, T (U)
13	Chf-Me-(96:4)	12	6	S, T, (U)	—	—
14	Chf-Me-(92:8)	28	12	T	11	T
15-16	Chf-Me-(92:8)	17	7	T, U	—	—
17	Chf-Me-(92:8)	7	amorph	nicht gepr.	—	—
18	Chf-Me-(80:20)	9	amorph	nicht gepr.	—	—
19-22	Gemisch <sup>122)</sup> + 1% AcOH	31	amorph	nicht gepr.	—	—
Total		695				

Alle Fr. wurden einzeln in An-Ae zur Kristallisation angesetzt. Fr. 1-3 blieben amorph, 3 und 4 gaben keine definierte Kristallform, alle andern lieferten Nadeldrusen.

Die Krist. aus Fr. 3 (Smp. 180-197°) und 4 (Smp. 201-238°) enthielten nur wenig S, R1/R2 und U (nur beim Auftragen von mehr als 0,05 mg wurden Flecke erhalten); vermutl. enthielten sie viel KEDDE-negatives Material; sie wurden nicht weiter verwendet.

Die Kristalle von Fr. 5-6 und diejenigen aus den ML der Fr. 7-9 zeigten nur die Flecke S und U. Sie wurden vereinigt (60 mg) und durch präp. Papierchromatographie im System Fmd/

<sup>123)</sup> System Fmd/Chf.

Chf auf 18 Bogen WHATMAN Nr. 4 Papier<sup>124</sup>) getrennt. Die U-Zonen (9 mg Extrakt) gaben aus An-Ae 5 mg krist. U in Tafeln, Smp. 246–250°. Die S-Zonen (20 mg Extrakt) gaben aus An-Ae 15 mg krist. S in feinen Nadelbüscheln, Smp. 247–249°.

Die Kristalle der Fr. 7–12 und diejenigen aus den ML der Fr. 10–12 gaben vorwiegend die Flecke S und T mit Spur U. Sie wurden vereinigt (95 mg) und auf 45 Bogen WHATMAN Nr. 4 Papier wie oben getrennt. Die S-Zonen (50 mg Extrakt) gaben aus An-Ae 29 mg krist. S, Smp. 247–249°. Die T-Zonen (43 mg Papierextrakt) gaben aus An-Ae 21 mg krist. T in Nadeln, Smp. 248–251°.

Die Kristalle der Fr. 14 gaben im Papierchromatogramm nur den T-Fleck; sie zeigten aber Smp. 245–275°, auch die Färbung mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (braun → blau) war von derjenigen des obigen T-Präparats verschieden. Sie wurden nicht weiter untersucht, ebenso wurden die Kristalle der späteren Fr. nicht untersucht.

*Trennung der Gruppe D (von Tab. 9).* Dieses Material (3,6 g) wurde in Chf-Alk-(2:1) gelöst und einmal mit 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sowie zweimal mit W gewaschen. Sodalösung und Waschwasser wurden noch mit 3 Portionen Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten und im Vakuum eingedampften Extrakte lieferten 3,30 g Rückstand (hellbraun). 3,2 g davon wurden an 96 g Silicagel chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 320 ml der in Tab. 15 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 15. *Chromatographie von 3,2 g der Gruppe D an SiO<sub>2</sub>*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Papierchromatogramm (vgl. Fig. 13)
1–2	Chf-Me-(98:2)	12	
3	Chf-Me-(96:4)	166	
4–7	Chf-Me-(92:8)	469	
8–9	Chf-Me-(88:12)	253	
10	Chf-Me-(88:12)	568	V
11	Chf-Me-(88:12)	594	
12	Chf-Me-(88:12)	505	V, W
13	Chf-Me-(88:12)	278	
14	Chf-Me-(88:12)	154	V, W
15	Chf-Me-(88:12)	117	
16	Chf-Me-(88:12)	75	(V), W
17–18	Chf-Me-(88:12)	70	
19–24	Chf-Me-(85:15) bis Chf-Me-(60:40)	134	
Total		3395	

Fr. 10 gab nur den V-Fleck und Fr. 16 vorwiegend den W-Fleck. Diese zwei Fraktionen wurden zur Untersuchung von V und W verwendet.

*Untersuchung des Chf-Alk-(9:1)-Extrakts.* Dieses Material wurde nur papierchromatogr. untersucht (vgl. Theoret. Teil).

*Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts.* 8 g von diesem Material wurden der Verteilungschromatographie unterworfen. Es wurde Säule Nr. 4<sup>21</sup>) verwendet mit 1,05 kg W an 1,3 kg gereinigter Kieselgur<sup>21</sup>) als ruhender Phase. Dieses Material wurde in wassergesättigtem Be-Bu-(3:1) aufgeschlemmt in die Säule gefüllt und ergab eine Schichthöhe von 117 cm. Die 8 g Subst. wurden in 19 ml W gelöst mit 24 g Kieselgur vermischt und mit etwas mobiler Phase aufgeschlemmt auf die Säule gegeben und gepresst (Schichthöhe 2 cm). Durchlaufgeschwindigkeit 65–70 ml/Std. Fraktionsgrößen 1–53: 540 ml, die weiteren 675 ml. Ergebnis vgl. Fig. 2 und Tab. 16.

<sup>124</sup>) Bei gleichem Trenneffekt zeigten die Stoffe auf WHATMAN Nr. 4 etwa doppelte Wandergeschwindigkeit als auf Nr. 1.

Tabelle 16. Verteilungschromatographie von 8 g *Chl-Alb*-(2:1)-Extr.

Fraktionsnummer	Bewegliche Be-Bu-Phase	Gruppe	Eindampfrückstand		
			Menge in mg	Papierchromatogramm	
				System	Flecke
1-4	-(3:1)		52	nicht untersucht	
5-8	-(3:1)	I	482	Fmd/Chf	FTh 25, (V) (Nr. 23 in Fig. 14)
9-23	-(3:1) -(2:1)		298	nicht untersucht	
24-32	-(2:1)	IIa	481	W/To-Bu-(1:1) W-Me-Chf	FTh 13/Y (wie in Fig. 17) a, b, c in Fig. 18
33-34	-(2:1)		82	W/To-Bu-(1:1)	FTh 13/Y (wie in Fig. 17)
35-46	-(2:1)	IIb	697	W/To-Bu-(1:1) W-Me-Chf	FTh 13/Y (wie in Fig. 17) c (wie in Fig. 18)
47-49	-(2:1)		102	nicht untersucht	
50-61	-(2:1)	III	938	W/To-Bu-(1:1)	Digl-P (wie in Fig. 17)
62-78	-(2:1)	IV	1888	W/To-Bu-(1:1)	Digl-P, Digl-N und Z (wie in Fig. 17)
79-90	-(2:1)	V	1458	W/To-Bu-(1:1)	Digl-N und Z (z. B. Nr. 35 in Fig. 17)
91-99	-(2:1) -(1:1)		97	nicht untersucht	
100-108	-(1:1)	VI	377	W/To-Bu-(1:1)	Z und FTh 28 (Nr. 32, 33, 34 und 36 in Fig. 17)
109-118	-(1:1) -(2:3)		146	nicht untersucht	
119-127	-(2:3)	VII	577	W/To-Bu-(1:1)	$\psi$ -K, Nr. 26 in Fig. 16
128-Rest	Alk		1073	W/To-Bu-(1:1)	Ouabain, ( $\psi$ -K) wie in Fig. 17
Total			8748		

*Gruppe I.* Ein Teil (372 mg) der Fr. 5–8 (Tab. 16) = 482 mg amorphes braunes Material (rohe Subst. FTh 25) dienen zur enzymatischen Spaltung.

*Gruppe IIIa.* Die Fr. 24–32 gaben keine Kristalle und wurden in 2 Portionen acetyliert.

*Erste Acetylierung:* Die Fr. 25–26 (101 mg) wurden mit 1 ml Py und 0,8 ml (Ac)<sub>2</sub>O 19 Std. auf 36° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 130 mg Rohprodukt, das an 6,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(4:6) und -(2:8) eluierten Anteile (31 mg) gaben aus Me-Ae 15 mg rohe Kristalle von O-Acetyl-FTh 13, Smp. 248–252°; Papierchromatogramm vgl. Fig. 21 (der Stoff neigt zu Schwanzbildung, es dürfen nur kleine Mengen aufgetragen werden).

*Zweite Acetylierung:* 300 mg der vereinigten Fr. 24 und 27–32 (Tab. 16) wurden wie oben behandelt. Das rohe Acetylierungsprodukt lieferte nach Chromatographie aus 2 Fraktionen (40 mg) wieder 13 mg krist. O-Acetyl-FTh 13, Smp. 251–254°, das nach Farbreaktionen und Papierchromatogramm mit obigem Präp. identisch war.

*Zwischenfraktionen 33–34.* Die Fr. 33–34 blieben amorph und wurden nicht weiter untersucht.

*Gruppe IIb.* Die Fr. 35–37 (155 mg) gaben aus Isopropanol 75 mg krist. Acoschimperosid Y1<sup>61</sup>), Smp. nach 8 Tagen ca. 160 → 180°<sup>125</sup>).

Die Fr. 38–41, Tab. 16 (255 mg) lieferten aus Isopropanol 140 mg krist. Gemisch von Y1 und Y2<sup>99</sup>). Sie zeigten die obere Schmelzpunktsgrenze bei 175°, Tröpfchenbildung ab ca. 140°<sup>125</sup>), und dienen zur enzymatischen Spaltung.

Die Fr. 43–46 (208 mg) gaben aus Isopropanol 124 mg krist. Acoschimperosid Y2, Smp. nach 3 Wochen 180–190°<sup>125</sup>).

*Gruppe III.* Die Fr. 51–52 und 55–60 (zusammen 668 mg Material) gaben aus Isopropanol 425 mg Digl-P vom Smp. 176–180°. Die Fr. 53–54 (111 mg) dienen zur Acetylierung (siehe bei Digl-P).

*Gruppe IV.* Auf die Trennung dieser Gruppe wurde verzichtet.

*Gruppe V.* Die Fr. 79–90 (Tab. 16) gaben aus W zunächst 570 mg gallertige Kristalle. Umkristallisieren aus W, dann aus Isopropanol gab 530 mg Digl-N in Kugeldrusen, Smp. 167–175°. Die vereinigten ML-Rückstände lieferten nach 8tägigem Stehen aus Isopropanol noch 580 mg Digl-N, Smp. 166–172° (total 1,11 g). Die verbliebenen ML-Rückstände (218 mg) wurden an 6 g Silicagel in 9 Fraktionen zerlegt. Die dabei mit Chf-Me-(4:1) bis Chf-Me-(7:3) eluierten Fraktionen (196 mg) gaben aus Me-Ae 30 mg krist. Z, Smp. 235–237°. Die ML-Rückstände dieser Fraktionen (166 mg) gaben im Papierchromatogramm alle einen sehr starken Z-Fleck und dienen zusammen mit den ML-Rückständen des Umkristallisierens obigen Z-Präparats für die Acetylierung (siehe bei Z). Die schlechte Ausbeute an krist. Z rührt vielleicht daher, dass die Kristalle das Salz einer Carbonsäure darstellen.

*Gruppe VI.* Die Fr. 100–108 (Tab. 16) gaben keine Kristalle. 300 mg davon wurden mit 3 ml Py und 2,25 ml (Ac)<sub>2</sub>O 20 Std. auf 35° erwärmt. Das neutrale Rohprodukt (328 mg nach Verlust von 60 mg durch Unfall) wurde an 9 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Be-Chf-(3:2) und -(2:3) eluierten Anteile (124 mg) gaben aus Me-Ae 38 mg krist. O-Acetyl-FTh 28 vom Smp. 160–162° (Ausbeute auf ganze Menge umgerechnet 45 mg).

*Gruppe VII.* Die Fr. 119–127 (Tab. 16) zeigten im Papierchromatogramm nur den Fleck von  $\psi$ -K. Von Fr. 120 (72 mg) wurden 62 mg acetyliert (siehe bei  $\psi$ -K). Die Fr. 119 und 121–127 wurden vereinigt (500 mg) in 7 ml 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gelöst und fünfmal mit je 50 ml mit W gesättigtem Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom dreimal mit je 5 ml W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (420 mg) wurde als Präp.  $\psi$ -K bezeichnet.

*Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extrakts.* Die ersten 9 Auszüge (12,75 g) gaben aus 95-proz. Alk 6,90 g krist. Ouabain, Smp. 188–195°. Die restlichen Auszüge (1,92 g) blieben amorph. Die amorphen Anteile enthielten nach Papierchromatogramm nur  $\psi$ -K und Ouabain. Sie wurden nicht weiter getrennt.

<sup>125</sup>) Die aus Isopropanol erhaltenen Kristalle zeigen sehr unscharfe Smp. (Kristall-Isopropanol). Es bilden sich kugelförmige Tröpfchen, die sich mit steigender Temperatur vermehren, bis sich schliesslich alles in einer sirupösen Masse verflüssigt. Beim Liegen verwittern die Kristalle und zeigen die Tröpfchenbildung erst bei viel höherer Temperatur.



**Beschreibung der isolierten Stoffe** (Reaktionen etc. vgl. Tab. 4 und 5. Biolog. Prüfung Tab. 6).

*Acoschimperosid Q.* Aus An rechteckige Blättchen, Smp. 247–248°,  $[\alpha]_D^{24,5} = -69,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,154$  in Me),  $[\alpha]_D^{23,5} = -77,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,085$  in D). Gewichtsverlust bei Trocknung 2,0% (OAB).

$C_{30}H_{46}O_9$ (550,73)	Ber. C 65,43	H 8,42	-OCH <sub>3</sub> 5,63%
$C_{30}H_{44}O_9$ (548,65)	Ber. „ 65,67	„ 8,08	„ 5,66%
	Gef. „ 65,82	„ 8,26	„ 5,47%

Die Fluoreszenzreaktion nach PESEZ<sup>51</sup>) war negativ. Hingegen lieferte die Behandlung mit konz. HCl bei 0°<sup>75</sup>) ein Präparat mit einem deutlichen Maximum bei 390 m $\mu$  (Kurve II in Fig. 39).

*Di-O-acetyl-Derivat von Q.* 69 mg krist. Q wurden in 1,1 ml Py und 0,8 ml (Ac)<sub>2</sub>O 43 Std. bei 20° stehengelassen. Das Rohprodukt (84 mg) gab aus Ae 70 mg farblose Nadeln. Nach Umkristallisieren 61 mg, Smp. 217–221°,  $[\alpha]_D^{26} = -51,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,070$  in Me).

$C_{34}H_{50}O_{11}$ (634,74)	Ber. C 64,33	H 7,94	O 27,73%
$C_{34}H_{48}O_{11}$ (632,72)	Ber. „ 64,54	„ 7,65	„ 27,82%
	Gef. „ 64,48	„ 7,85	„ 27,96%

*Dehydrierungsversuch von Di-O-acetyl-Q.* 20,5 mg Di-O-acetyl-acoschimperosid Q (Smp. 217–221°) wurden in 0,5 ml reinstem AcOH gelöst, mit 0,2 ml 2-proz. CrO<sub>3</sub>-AcOH-Lösung (= 4 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 3 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Nach Zusatz von 1 Tropfen Me wurde noch 16 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 16 mg Neutralprodukt und 7,3 mg saure Anteile (aus Sodalösung). Letztere blieben amorph. Das neutrale Material gab aus Ae 7 mg Kristalle vom Smp. 217–221°. Mischprobe mit Ausgangsmaterial ebenso.

*Acoschimperosid N.* Aus Me-Ae farblose Körner, Smp. 239–240°,  $[\alpha]_D^{24} = -107,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,245$  in Me). Lactontitration: 13,595 mg Subst. verbr. 0,90 ml 0,03-n. KOH (OAB).

$C_{30}H_{42}O_9$ (546,65)	Gef. Äquiv.-Gew. 504 entspr. 1,08 Mol KOH
----------------------------	---

Die Kristalle waren nach Mischprobe, Drehung, Papierchromatogramm und H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Färbung identisch mit dem früher<sup>11</sup>) beschriebenen Präparat. Die Fluoreszenz-Reaktion nach PESEZ<sup>51</sup>) war positiv, hingegen wurde mit konz. HCl bei 0° ein Präparat erhalten, das nur die in Kurve II in Fig. 44 wiedergegebene Absorption zeigte.

*Acoschimperosid P.* Aus An farblose hexagonale Plättchen, Smp. 275–279° (Zers.),  $[\alpha]_D^{24} = -35,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,165$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 0,39% (OAB)<sup>126</sup>). Lactontitration: 16,161 mg Subst. verbr. 1,87 ml 0,03-n. KOH (OAB).

$C_{32}H_{48}O_{10}$ (592,70)	Ber. O 26,98%	Äq.-Gew. 296,35
	Gef. „ 26,79%	„ 288 (2,06 Mol. KOH)

*Di-O-acetyl-P<sup>1</sup>*). 29 mg P (Smp. 269–276°) wurden in 0,75 ml abs. Py und 0,5 ml (Ac)<sub>2</sub>O 4 Tage bei 22° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 36 mg neutrales Rohprodukt. Auch dieses Präparat kristallisierte bisher nicht.

*Desacetyl-acoschimperosid P.* 50 mg P (Smp. 269–276°) wurden in 16 ml Me gelöst, mit 325 mg KHCO<sub>3</sub> in 6,5 ml W versetzt und 5 Tage bei 20° stehengelassen. Abdampfen des Me im Vakuum und Ausschütteln mit Chf gab 44 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 32 mg gallertige Drusen, Smp. 215–222°. Nach zweimaligem Umkristallisieren Smp. 222–223°,  $[\alpha]_D^{24} = -11,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,017$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 2,8% (OAB); ber. für C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>9</sub> + H<sub>2</sub>O 3,17%.

$C_{30}H_{46}O_9$ (550,73)	Ber. C 65,43	H 8,42%	Gef. C 65,19	H 8,59%
----------------------------	--------------	---------	--------------	---------

*Acolongiflorosid G.* Aus Me farblose Stäbchen, Smp. 287–293°,  $[\alpha]_D^{24} = -21,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,089$  in Me). Das Präp. war nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit den früher beschriebenen Präparaten<sup>14</sup>)<sup>7</sup>).

*Acolongiflorosid H.* Aus An-Ae farblose Körner, Smp. 251–253°,  $[\alpha]_D^{22} = -39,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,031$  in Me). Dieses Präparat war nach Mischprobe identisch mit dem früheren<sup>14</sup>) und zeigte im Papierchromatogramm einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie die Hauptkomponente des alten Materials<sup>14</sup>)<sup>69</sup>).

*Mischkristallisat der Substanzen R1 und R2.* Aus An-Ae gallertige Kugeldrusen, Smp. 214 bis 216°.

<sup>126</sup>) Zwei gut stimmende CH-Bestimmungen liegen bereits vor<sup>1</sup>).

*Acoschimperosid S.* Aus An farblose Nadeln, Smp. 249–250°,  $[\alpha]_D^{21} = -57,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,937$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 4,85; 4,40% (OAB); ber. für  $C_{30}H_{44}O_{10} + H_2O$  3,10%.

$C_{30}H_{44}O_{10}$ (564,64)	Ber. C 63,82	H 7,85	O 28,33	$-OCH_3$ 5,47%
	Gef. „ 63,57	„ 7,89	„ 28,81	„ 5,38%

*Acoschimperosid T.* Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 250–251°,  $[\alpha]_D^{21} = -36,1^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,858$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 1,8; 1,0% (OAB).

$C_{36}H_{54}O_{13}$ (694,79)	Ber. C 62,23	H 7,84	O 29,94	$-OCH_3$ 4,46%
$C_{30}H_{46}O_{10} + \frac{1}{2}H_2O$ (575,68)	Ber. „ 62,58	„ 8,22	„ 29,20	„ 5,40%
	Gef. „ 62,56	„ 8,45	„ 29,82	„ 5,64%

*O-Acetyl-Derivat von T.* 0,3 mg Acoschimperosid T wurden mit 0,1 ml Py und 0,08 ml  $(Ac)_2O$  96 Std. bei 20° stehengelassen. Das Rohprodukt war papierchromatographisch einheitlich und gab aus An Nadeln vom Smp. 246–249°.

*Substanz U.* Aus An-Ae farblose Tafeln, Smp. 246–250°.

*Acoschimperosid V* (568 mg Fr. 10 von Tab. 15 aus Gruppe D isoliert) wurde als farbloser Schaum erhalten. Fermentative Spaltung siehe unten. Lactontitration: 16,540 mg verbr. 1,25 ml 0,03-n. KOH. Äquival.-Gew. Gef. 441.

Ber. auf $C_{36}H_{52}O_{14}$ (708,78)	entspricht dies 1,61 Mol. KOH
Ber. auf $C_{38}H_{54}O_{15}$ (750,81)	entspricht dies 1,70 Mol. KOH

*O-Acetyl-acoschimperosid V.* 76 mg von obigem Präparat wurden mit 1,2 ml Py und 0,9 ml  $(Ac)_2O$  102 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 95 mg fast farblosen Schaum, der bisher nicht kristallisierte.

*O-Benzoyl-acoschimperosid V.* 32 mg Acoschimperosid V wurden in 0,8 ml Py gelöst, mit 0,2 ml Benzoylchlorid versetzt und 4 Std. bei 0°, dann 19 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 0,3 ml Me versetzt und nochmals 2 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 44 mg Rohprodukt, das an 1,2 g  $Al_2O_3$  chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(1:2) eluierten Anteile lieferten 40 mg farblosen Schaum, der bisher nicht kristallisierte.

*Acoschimperosid W* (75 mg Fr. 16, Tab. 15, aus Gruppe D isoliert) wurde ebenfalls als farbloser Schaum erhalten, der noch wenig V enthält. Fermentative Spaltung siehe unten.

*O-Acetyl-acoschimperosid W.* 20 mg von obigem Präparat wurden mit 0,6 ml Py und 0,45 ml  $(Ac)_2O$  93 Std. bei 20° stehengelassen. Das Rohprodukt (24 mg) kristallisierte bisher nicht.

*Subst. FTh 25* (482 mg, Gruppe I, Tab. 16), hellbraunes amorphes Material, diente zur fermentativen Spaltung (siehe unten).

*Subst. O-Acetyl-FTh 13.* Aus Me-Ae farblose Stäbchen, Smp. 256–257°,  $[\alpha]_D^{23} = -91,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,914$  in An). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung (OAB).

$C_{46}H_{84}O_{19}$ (920,97)	Ber. C 59,99	H 7,01	$-OCH_3$ 3,37%
$C_{40}H_{56}O_{17}$ (808,85)	Ber. „ 59,39	„ 6,97	„ 3,84%
	Gef. „ 59,52; 59,02	„ 7,13; 7,11	„ 3,89%

*Acoschimperosid Y1*<sup>61</sup>) (75 mg aus Fr. 35–37, Tab. 16). Aus Isopropanol kugelige Drusen, Smp. nach 8 Tagen 160 → 180°<sup>125</sup>),  $[\alpha]_D^{23} = -41,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,13$  in Me).

*Gemisch von Acoschimperosid Y1 und Y2* (140 mg Kristalle aus Fr. 38–41, Tab. 16). Aus Isopropanol farblose Kugeldrusen, Smp. 140 → 175°<sup>125</sup>). Das Material diente zur enzymatischen Spaltung.

*Acoschimperosid Y2* (124 mg Kristalle aus Fr. 43–46, Tab. 16). Aus Isopropanol Kugeldrusen, Smp. frisch ca. 130 bis ca. 180°. Nach dreiwöchigem Liegen (im Präparatenglas) Smp. ca. 180–190°<sup>125</sup>),  $[\alpha]_D^{22} = -47,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,939$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung (8 Std.) 6,5; 8,4% (OAB).

$C_{42}H_{66}O_{18}$ (858,95)	Ber. C 58,72	H 7,74	O 33,53	$-OCH_3$ 3,61%
$C_{42}H_{66}O_{19}$ (874,95)	Ber. „ 57,65	„ 7,60	„ 34,74	„ 3,55%
	Gef. „ 57,94	„ 7,62	„ 35,01	„ 3,81%

*O-Acetyl-acoschimperosid Y2.* 67 mg der Fraktion 42, Tab. 16 (Kristalle und ML-Rückstände, nach Farbreaktion aus Y2 bestehend) wurden mit 1 ml Py und 0,75 ml  $(Ac)_2O$  20 Std. auf 36°

erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 85 mg neutrales Rohprodukt<sup>127)</sup>, das auch nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nicht kristallisierte.

*Digluco-acoschimperosid P.* Aus Isopropanol farblose Kugeldrusen, Smp. 174–179°,  $[\alpha]_D^{23} = -51,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,978$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung (12 Std.) 7,75; 9,60% (OAB). Lactontitration: 15,058 mg Subst. verbr. 1,11 ml 0,03-n. KOH.

$\text{C}_{44}\text{H}_{68}\text{O}_{20}$	Ber. C 57,63	H 7,47	$-\text{OCH}_3$ 3,38%	Äq.-Gew. 458,49
(916,98)	Gef. „ 58,39	„ 7,82	„ 4,10%	„ 452 (2,02 Mol. KOH)

*O-Acetyl-digluco-acoschimperosid P.* 111 mg rohes Digluco-P (Fr. 53–54 von Tab. 16 bei 50° und 12 Torr getrocknet) wurden in 1,75 ml abs. Py und 1,25 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  18 Std. bei 36° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 125 mg neutrales Rohprodukt, das an 7,5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  in 25 Fraktionen zerlegt wurde. Keine davon kristallisierte.

*Digluco-acoschimperosid N.* Aus Isopropanol farblose Kugeldrusen<sup>128)</sup>, Smp. 171–174°,  $[\alpha]_D^{23} = -94,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,936$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung (18 Std.) 12,0; 4,0%. Lactontitration: 14,860 mg Subst. verbr. 0,65 ml 0,03-n. KOH (OAB).

$\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{19}$ (872,93)	Ber. C 57,78	H 7,39	O 34,83	$-\text{OCH}_3$ 3,55%
$\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{19}$ (870,92)	Ber. „ 57,92	„ 7,18	„ 34,90	„ 3,56%
	Gef. „ 58,25	„ 7,59	„ 34,52	„ 4,11%
	Gef. Äq.-Gew. 762	(1,14 Mol. KOH)		

*O-Acetyl-digluco-acoschimperosid N.* 80 mg Digl-N vom Smp. 171–174° wurden in 2 ml Py und 1,6 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  21 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 105 mg rohes O-Acetyl-Derivat, das auch nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nicht kristallisierte. Tetranitromethan-Reaktion schwach positiv (unsicher).

*Acoschimperosid Z.* Aus Me-Ae farblose Würfel, Smp. 237–239°,  $[\alpha]_D^{24} = -34,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,942$  in W), Gewichtsverlust bei Trocknung 7,3; 2,2% (OAB).

$\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_{11}$	Ber. C 61,25	H 7,80	$-\text{OCH}_3$ 0%
(568,64)	Gef. <sup>129)</sup> „ 61,00; 61,15	„ 8,33; 8,55	„ 0% Asche 6,41; 3,66%

*O-Acetyl-acoschimperosid Z.* 136 mg vereinigte ML-Rückstände von Z<sup>130)</sup> wurden mit 0,5 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  2 Std. auf 130° erhitzt<sup>131)</sup>. Das Rohprodukt (190 mg) gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck (Nr. 45 in Fig. 22). Es lieferte auch nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  keine Kristalle.

*Subst. O-Acetyl-FTh 28.* Aus Me-Ae Tafeln oder Kugeldrusen, Smp. 163–165°,  $[\alpha]_D^{22} = -33,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,900$  in An). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung (OAB).

$\text{C}_{58}\text{H}_{82}\text{O}_{28}$ (1227,24) <sup>132)</sup>	Ber. C 56,76	H 6,74	O 36,50	$-\text{OCH}_3$ 2,53%
$\text{C}_{62}\text{H}_{86}\text{O}_{31}$ (1327,31) <sup>133)</sup>	Ber. „ 56,10	„ 6,53	„ 37,37	„ 2,34%
	Gef. „ 55,66	„ 6,87	„ 37,26	„ 2,93%

Das Präparat enthielt nach UV.-Spektrum (Kurve III in Fig. 40) vermutlich einige % Cardien-(16,20:22)-olid-Derivat.

*Acoschimperosid  $\psi$ -K.* Farbloses Glas. Lactontitration: 19,260 mg verbr. 1,31 ml 0,03-n. KOH. Gef. Äquiv.-Gew. 490. Auf  $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$  (598,67) ber. entspricht dies 1,22 Mol. Trocknung 1 Std. 60° 0,02 Torr.

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_{12}$ (598,67)	Ber. $-\text{OCH}_3$ 5,18%	Gef. $-\text{OCH}_3$ 5,03%
--	----------------------------	----------------------------

<sup>127)</sup> Das Präparat zeigte in mehreren Formamidsystemen Schwanzbildung, so dass die Einheitlichkeit unsicher ist.

<sup>128)</sup> Auch diese verwittrern beim Liegen. Unter dem Mikroskop betrachtet, erscheinen sie dann als perlmutterglänzende Schuppen.

<sup>129)</sup> Bei Abzug der Asche von der jeweiligen Einwaage.

<sup>130)</sup> 0,05 mg dieses Materials gaben im Papierchromatogramm noch einen sehr starken Z-Fleck und nur diesen.

<sup>131)</sup> Mit  $(\text{Ac})_2\text{O}$  in Py bei 36° lieferte Z nach 20 Std. ein Produkt, das im Papierchromatogramm 2 Flecke gab. Mit  $(\text{Ac})_2\text{O}$  allein bei 130° wurde ein Präparat erhalten, das nur den schneller laufenden der beiden Flecke gab.

<sup>132)</sup> Octa-acetat von Triglycosid  $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{20}$  entspr. Monoglykosid  $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$ .

<sup>133)</sup> Deca-acetat von Triglycosid  $\text{C}_{42}\text{H}_{66}\text{O}_{21}$  entspr. Monoglykosid  $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_{11}$ .

*O-Acetyl-acoschimperosid*  $\psi$ -K. 62 mg der Fr. 120, Tab. 16 (entspr. Gruppe VII)<sup>134</sup>) wurden mit 1 ml Py und 0,8 ml (Ac)<sub>2</sub>O 17 Std. auf 36° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 63 mg neutrales Rohprodukt (und aus der Sodalösung 19 mg saure Anteile, vermutlich im Ausgangsmaterial enthalten). Das neutrale Material gab im Papierchromatogramm (Nr. 78 in Fig. 38) zwei Flecke. Es liessen sich auch nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> keine Kristalle erhalten. Acetylierung mit (Ac)<sub>2</sub>O bei 135° im Mikromaßstab gab nur die rascher laufende Komponente.

*O-Benzoyl-acoschimperosid*  $\psi$ -K. 40 mg Acoschimperosid  $\psi$ -K (durch Ausschütteln mit Sodalösung gereinigt) wurden in 1 ml Py bei 0° mit 0,25 ml Benzoylchlorid versetzt und 17 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 0,3 ml Me versetzt und noch 2 Std. stehengelassen. Die Aufarbeitung lieferte 140 mg rohes Neutralprodukt, das an 3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Es liessen sich keine Kristalle erhalten.

*Ouabain*. Die rohen Kristalle wurden aus W, dann aus Me-Ae umkristallisiert und gaben 5,09 g längliche Blättchen, Smp. 198–206°,  $[\alpha]_D^{26} = -41,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,029 in Me). Nach Farb-reaktionen und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material aus Samen von *Strophanthus gratus*.

*Abbau von Acoschimperosid P*. P blieb bei Fermentierung (Mikromaßstab) sowohl mit dem Enzym aus *Adenium multiflorum* wie mit Schneckenferment<sup>57</sup>) unverändert.

*Bildung von Cardien-(16,20:22)-olid an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*. a) *Mit Di-O-acetyl-P*. 5 mg amorphes Di-O-acetyl-P<sup>1</sup>) wurden in 1 ml Be-Pe-(1:1) gelöst und mit 1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>135</sup>) vermischt 2 Tage verschlossen stehengelassen. Dann wurde mit Chf eluiert. Das eingedampfte Eluat diente zur Aufnahme des UV.-Spektrums (vgl. Kurve V in Fig. 39).

b) *Mit freiem P*. 5 mg Acoschimperosid P (Smp. 269–276°) wurden in 1 ml Chf gelöst wie bei a) behandelt. Das erhaltene Eluat zeigte im UV. das in Kurve IV, Fig. 39, wiedergegebene Spektrum.

*Energische saure Hydrolyse von P*. 145 mg Acoschimperosid P (Smp. 268–276°) wurden in 1,2 ml AcOH gelöst, mit 1,89 ml W und 0,34 ml konz. HCl versetzt, wobei Kristalle ausfielen, und 25 Min. auf 100° erhitzt. Die Kristalle waren nach ca. 5' gelöst. Nach Abkühlen schieden sich ölige Tröpfchen aus. Es wurde mit 20 ml W versetzt und im Vakuum bei 70° auf 10 ml eingeeengt. Nach Zusatz von 15 ml W wurde wieder eingeeengt und dies noch dreimal wiederholt. Dann wurde mit Chf ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen 104 mg neutralen Rückstand.

Die verbliebene wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden mit W auf 50 ml verdünnt und unter Schütteln mit gereinigtem Anionenaustauscher<sup>136</sup>) in der HO<sup>-</sup>-Form versetzt, bis die Lösung ein ph = ca. 6 zeigte. Es wurde filtriert, mit W gewaschen und die vereinigten Filtrate im Vakuum eingedampft. Es resultierten 39 mg Zuckersirup. Dieser gab aus An-Ae (Impfen) 30 mg krist. L-Acofriose, Smp. 95–113°. Umkristallisieren lieferte 16 mg reines Material, Smp. 116–118°,  $[\alpha]_D^{26} = +38,8^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,028 in W nach  $\frac{1}{4}$ -15 Std.). Nach Mischprobe und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material<sup>7</sup>).

95 mg des Chf-Auszugs wurden an 3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 10 ml der in Tab. 17 genannten Lösungsmittel.

Die Kristalle der Fr. 2–6 wurden aus An-Pn erhalten, diejenigen von Fr. 11 aus An-Ac.

Dianhydrogitoxigenin befand sich vorwiegend in den Fr. 4–6, war aber noch von der gelben Verunreinigung (KEDDE-negativ) begleitet, die im Papierchromatogramm (System Fmd/Be-Cyclohexan-(1:1)) etwas schneller lief. 12 mg der Kristalle von Fr. 5 wurden auf 4 Bogen WHATMAN Nr. 1 Papier präparativ getrennt. Die KEDDE-positiven Zonen gaben 9 mg Rohprodukt, aus An-Pn 6 mg farbloses 14,16-Dianhydro-gitoxigenin, Smp. 209–212°,  $[\alpha]_D^{25} = +510,3^\circ \pm 6^\circ$  (c = 0,38 in Me)<sup>137</sup>). UV.-Spektrum vgl. Kurve VI in Fig. 39.

<sup>134</sup>) Rohe Fraktion, nicht mit Sodalösung gereinigt.

<sup>135</sup>) Käufliches aktiviertes Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nach BROCKMANN (E. MERCK, Darmstadt), nicht von Alkali befreit, wurde verwendet.

<sup>136</sup>) Wir verwendeten Dowex I, ein Produkt der DOW CHEMICAL INTERNATIONAL Ltd. bezogen von THEODOR CHRIST AG., Basel.

<sup>137</sup>) Dieses Präparat war nicht völlig rein und zeigte vermutlich deswegen eine zu tiefe Drehung. Nach SCHINDLER & REICHSTEIN<sup>90</sup>) zeigt 14,16-Dianhydro-gitoxigenin  $[\alpha]_D^{22} = +579,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,116 in Me). C. MANNICH & W. SCHNEIDER, Arch. Pharmaz. **279**, 223 (1941), fanden +573° (Lösungsmittel?), während H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. **53**, 240 (1920), den Wert +443° (c = 0,187 in 95-proz. Alk) angibt.

Tabelle 17. *Chromatographie von 95 mg Spaltprodukt aus P an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand				
		Roh Menge in mg	Kristalle			KEDDE- Reaktion
			Menge in mg	Habitus, bei Kristallen Smp.		
1	Pe-Be-(2:8)	2,5	–	amorph		
2	Be	9	7	gelbe Nadeln, 203–209°		–
3	Be-Chf-(9:1)	8	6,5	gelbe Nadeldrusen 198–206°		–
4	Be-Chf-(9:1)	16	12	gelbe Sterndrusen 175–200°		+
5	Be-Chf-(9:1)	25	15	hellgelbe Kugeldrusen 203–211°		+
6	Be-Chf-(9:1)	9	5	hellgelbe Kugeldrusen 193–203°		+
7	Be-Chf-(9:1)	3	–	amorph		
8	Be-Chf-(7:3)	3	–	amorph		
9–10	Be-Chf-(1:1)	5	–	amorph		
11	Chf	3,5	2	Pyramiden 193°		+
12–13	Chf-Me-(98:2)	6	–	amorph		
14–15	Chf-Me-(1:1)	0				

*Dehydrierung von P und anschliessende saure Hydrolyse.* 150 mg P (Smp. 269–276°) wurden in 4 ml reinstem AcOH gelöst und mit 2,6 ml 2-proz. CrO<sub>3</sub>-AcOH-Lösung (entspr. 52 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und 3 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Es wurde mit 5 ml Me versetzt und noch 10 Std. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung ohne Waschen mit Soda-lösung gab 152 mg rohes Oxydationsprodukt. Dies wurde wie oben mit KILIANI-Mischung erhitzt und gab 102 mg Chf-Extrakt. Vorsichtige Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> lieferte 17,5 mg mit Be eluierte Anteile, daraus (aus An-Pn) 12 mg gelbliche Nadeln, Smp. 207–209° (KEDDE-negativ). Zwei mit Be-Chf-(9:1) eluierte Fraktionen (31 mg) gaben aus An-Pn 18 mg rohes Dianhydrogigitoxigenin. Nach Umkristallisieren 16 mg Nadeldrusen, Smp. 210–213°,  $[\alpha]_D^{21} = +576,9^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,986 in Me). Nach Mischprobe identisch mit authentischem Material.

*Spaltung von Acoschimperosid P mit HCl in Aceton nach MANNICH & SEWERT<sup>79</sup>.* 60 mg P (Smp. 269–276°) in 12 ml An wurden mit 0,12 ml konz. HCl versetzt und im Dunkeln 18 Tage bei 20° stehengelassen. Aufarbeitung wie in analogen Fällen<sup>7)</sup> gab 60 mg Chf-lösliches Material und höchstens Spuren von Zucker. Der Chf-Extr. wurde an 3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 6 ml der in Tab. 18 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 18. *Chromatographie von 60 mg Spaltprodukt aus P an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Menge roh in mg	Habitus, bei Kristallen Smp.	Papier- chromatogramm bei Krist.
1	Be-Chf-(1:4)	8,5	amorph	–
2	Be-Chf-(1:4)	3,5	Krist. 228–231°	wie Oleandri- genin
3	Be-Chf-(1:4)	1	amorph	–
4–15	Chf-Me-(99:1)	33	Hexagon. Plättchen 260–269°	P
16–17	Chf-Me-(98:2)	2,5	amorph	–
18–19	Chf-Me-(98:2)	4,8	Kugeldrusen 222–228°	Desac-P
20	Chf-Me-(96:4)	3	Kugeldrusen 226–233°	Desac-P
21–24	Gemisch <sup>122</sup> ) + 2% AcOH	0	–	–

Fr. 2 gab aus An-Ae 1 mg Kristalle, die im Papierchromatogramm (System Fmd/Be-Chf-(4:7)) gleich liefen wie Oleandrigenin. Die Identität ist aber recht fraglich. Die folgenden Fraktionen lieferten als Kristalle nur P (21 mg) und Desacetyl-P (5,5 mg).

*Präp. Abbau von Digluco-acoschimperosid P mit dem Enzym aus den Samen von Adenium multiflorum.* 70 mg Digl-P (Smp. 174–179°) wurden in 13 ml W gelöst, mit 170 mg Enzympräparat<sup>71)</sup> und 1 ml To versetzt und nach gutem Vermischen unter gelegentlichem Umschwenken unter CO<sub>2</sub> 19 Tage bei 36° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf ca. 6 ml eingeengt, mit 40 ml abs. Alk versetzt und durch wenig gewaschenes Kieselgur filtriert. Die Fällung wurde einmal in wenig W aufgenommen und nochmals mit abs. Alk gefällt. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum bei 50° eingedampft, der Rückstand in 10 ml W aufgenommen und zweimal mit 50 ml Chf, dann noch zweimal mit je 30 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 41 mg Chf-Extr. und 15 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Die wässrige Phase diente zum Nachweis der D-Glucose im Papierchromatogramm (Nr. 53 in Fig. 26). Die 41 mg Chf-Extr. gaben im Papierchromatogramm (Nr. 69 in Fig. 33) nur einen Fleck entspr. P. Kristallisation aus An-Ae lieferte 36 mg Acoschimperosid P in hexagonalen Plättchen; Smp. 269–276° (Zers.),  $[\alpha]_D^{26} = -38,8^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,030 in Me). Auch der Misch-Smp. und die Farbreaktionen waren gleich wie bei authentischem Material.

Die 14 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. zeigten im Papierchromatogramm nur den Fleck von Digl-P.

*Papierchromatographischer Nachweis der L-Acofriose in Q.* 2 mg Acoschimperosid Q (Smp. 246–248°) wurden wie bei der Zuckerprüfung<sup>50)</sup> behandelt. Die mit Chf ausgeschüttelte saure wässrige Phase gab im Papierchromatogramm (Nr. 74 und 72 in Fig. 35) nur einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie L-Acofriose.

*Abbau von Acoschimperosid N mit HCl in Aceton.* 160 mg Acoschimperosid N wurden in 30 ml An gelöst, mit 0,3 ml konz. HCl versetzt und 3 Tage im Dunkeln unter CO<sub>2</sub> bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung nach früherer Vorschrift<sup>7)</sup> gab 164 mg rohen Chf-Extr. Die saure wässrige Phase wurde wie oben (bei Spaltung von P mit HCl in An) angegeben behandelt und gab 8 mg Zuckersirup; daraus aus An-Ae 7,5 mg rohe krist. L-Acofriose, Smp. 101–113°.

Die 164 mg Chf-Extr. wurden an 5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographisch in 20 Fraktionen zerlegt. Dabei gaben die mit Chf eluierten Fr. 5–9 zusammen 25 mg krist. unreines Acoschimperosid N. Die Fr. 18–19 (7 mg, eluiert mit Chf-Mc-(95:5)) lieferten aus An-Ae 6,3 mg farblose Stäbchen, Smp. 259–260°. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Reaktion wie N. Im Papierchromatogramm (Fig. 37) gaben diese Kristalle 2 nahe beieinander liegende Flecke. Die anderen Fraktionen gaben keine Kristalle.

Ausser den 6,3 mg Kristallen aus Fr. 18–19 wurden alle Fraktionen wieder vereinigt und das Ganze nochmals mit 20 ml An und 0,2 ml konz. HCl 11 Tage stehengelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 106 mg Chf-Extr. (lieferte auch nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> keine Kristalle) und 11 mg Zuckersirup. Aus letzterem 8,5 mg krist. L-Acofriose, Smp. 111–116°. Diese wurden mit den obigen 7,5 mg vereinigt. Umkristallisieren gab 9,5 mg reinen Zucker, Smp. 111–113°,  $[\alpha]_D^{24} = +36,6^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,89 in W nach 15 Std.); nach Mischprobe und Papierchromatogramm identisch mit authentischem Material.

*Präp. Abbau von Acoschimperosid V mit Schneckenferment.* 157 mg amorphes Acoschimperosid V (Fr. 10 von Tab. 15) wurden mit 340 mg Schneckenferment-Trockenpulver<sup>43)</sup> in 20 ml W und 0,5 ml To unter CO<sub>2</sub> 5 Tage bei 36° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Abbau von Digl-P gab 122 mg Chf-Extr. Die wässrige Phase diente zum papierchromatogr. Nachweis der D-Glucose (Nr. 54 in Fig. 27). Die 122 mg Chf-Extr. zeigten im Papierchromatogramm (Nr. 59 in Fig. 28) den N-Fleck (stark) und den Q-Fleck (schwach). Sie gaben aus An-Ae 88 mg Kristalle, nach Papierchromatogramm (wie Nr. 59 in Fig. 28) viel N+ wenig Q. 44 mg dieser Kristalle wurden auf 9 Bogen WHATMAN Nr. 1 Papier im System Fmd/Be-Chf-(9:1) präp. getrennt (Laufzeit 20 Std.). Die ausgeschnittenen N-Zonen gaben 34 mg Extr. Aus An-Ae 24 mg krist. N, Smp. 239–240°,  $[\alpha]_D^{25} = -112,0^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,3 in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit N.

*Präp. Abbau von Subst. FTh 25 mit Schneckenferment.* 372 mg amorphe rohe Subst. FTh 25 (vereinigte Fr. 5–8 von Tab. 16) wurden mit 700 mg Schneckenferment-Trockenpulver<sup>43)</sup>, 40 ml W und 1 ml To unter CO<sub>2</sub> 5 Tage bei 36° stehengelassen. Aufarbeitung wie oben gab 288 mg Chf-Extr. Die wässrige Phase diente zum papierchromatogr. Nachweis der D-Glucose (Nr. 55 in Fig. 27). Die 288 mg Chf-Extr. wurden an 9 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographisch in 12 Fraktionen zerlegt. Die Fr. 1–2 (65 mg, eluiert mit Chf) zeigten im Papierchromatogramm nur die Flecke N

und Q, sie wurden nicht weiter untersucht. Die Fr. 3–10 (158 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me bis zu 2% Me-Gehalt) zeigten im Papierchromatogramm nur die Flecke G und H. 115 mg davon wurden auf 18 Blättern WHATMAN Nr. 1 Papier im System Fmd/Be-Chf-(4:7) präp. getrennt, Laufzeit 6 Std. Die ausgeschnittenen G-Zonen lieferten 34 mg Extrakt, aus An-Ac 28 mg krist. Acolongiflorosid G in Nadeln, Smp. 286–288° (opak bei 145°),  $[\alpha]_D^{24} = -17,2^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,979 in Me). Nach Mischprobe, Papierchromatogramm und Färbungen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> identisch mit authentischem G. Die ausgeschnittenen H-Zonen gaben 56 mg Extrakt. Aus An-Ae 22 mg krist. Acolongiflorosid H; nach Umkristallisieren Smp. 251–253°,  $[\alpha]_D^{24} = -39,0^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,979 in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Papierchromatogramm identisch mit authentischem H.

*Präp. Abbau des Gemisches der Acoschimperosid Y1 und Y2 mit Schneckenferment.* 140 mg Kristalle aus Fr. 38–41, Tab. 16, wurden mit 280 mg Schneckenferment-Trockenpulver<sup>43</sup>) in 15 ml W und 0,5 ml To unter CO<sub>2</sub> 4 Tage bei 36° fermentiert. Die Aufarbeitung wie oben gab 92 mg Chf-Extr. (es wurde kein Chf-Alk-Extr. gemacht). Die wässrige Phase diente zum papierchromatogr. Nachweis der D-Glucose (Nr. 56 in Fig. 27). Die 92 mg Chf-Extr. wurden an 3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 10 ml der in Tab. 19 genannten Lösungsmittel.

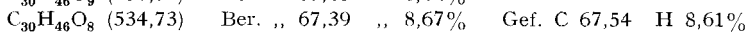
Tabelle 19. *Chromatographie von 92 mg Chf-Extr. aus Fermentierung von Y1 + Y2*

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand			
		Roh		Kristalle aus An-Ae	
		Menge in mg	Menge in mg	Habitus und Smp.	Färbung mit 84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
1	Be-Chf-(2:8)	1	–	nicht untersucht	
2	Chf	12	11	Würfel u. Nadeln, 216–219°	grün → grün
3	Chf	21	17,5	Würfel u. Nadeln, 244–251°	graugrün → grau
4	Chf	9	7	Nadeln, 247–250°	gelb → rosa
5	Chf	5	3	Nadeln, 246–252°	gelb → rosa
6	Chf-Me-(99:1)	9	5	Nadeln, 226–242°	gelb → rosa
7	Chf-Me-(99:1)	3	amorph	–	
8–9	Chf-Me-(98:2)	3,5	amorph	–	
10	Chf-Me-(50:50)	7	amorph	–	

Die Kristalle aus Fr. 2 gaben nach Umkristallisieren 7 mg *Präparat FTh 51*, Smp. 211–240°,  $[\alpha]_D^{23} = -39,0^\circ \pm 6^\circ$  (c = 0,326 in An). UV.-Spektrum Kurve I in Fig. 41. Papierchromatogramm Nr. 63 in Fig. 30.

Die Kristalle aus Fr. 3 (vermutl. Gemisch) wurden nicht untersucht.

Die Kristalle der Fr. 4–6 wurden vereinigt (12 mg) und gaben nach Umkristallisieren 9 mg *Präparat FTh 52*, Smp. 246–252°,  $[\alpha]_D^{23} = -60,6^\circ \pm 4^\circ$  (c = 0,58 in An). UV.-Spektrum vgl. Kurve II in Fig. 41. Papierchromatogramm Nr. 64 in Fig. 30. Gewichtsverlust bei Trocknung 3,5% (OAB).



*Präp. Abbau von Digluco-acoschimperosid N mit Schneckenferment.* 50 mg krist. Digluco-acoschimperosid N vom Smp. 168–172° wurden mit 100 mg Schneckenferment-Trockenpulver<sup>43</sup>) in 13 ml W und 0,5 ml To unter CO<sub>2</sub> 5 Tage bei 35° fermentiert. Die Aufarbeitung gab 35 mg Chf-Extr. Die wässrige Phase diente zum papierchromatogr. Nachweis der D-Glucose (Nr. 51 in Fig. 26). Der Chf-Extr. gab aus An-Ae 25 mg krist. N, Smp. 239–244°,  $[\alpha]_D^{25} = -108,7^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,989 in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm identisch mit authentischem N.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor (Leitung E. THOMMEN) des Instituts ausgeführt. Die Lactontitrationen besorgte Herr E. FLURY.

### Zusammenfassung

Eine genaue Analyse der Glykoside der Samen derjenigen Form von *Acokanthera Schimperii* (A.DC.) BENTH. et HOOK. (entspr. Herbarmuster Nr. B 9342), welche die Wa-Giriama zur Bereitung von Pfeilgift benützen, wird angegeben. Die Trennung wurde papierchromatographisch kontrolliert. Diese Form zeichnet sich speziell durch hohen Gehalt an Ouabain und völliges Fehlen von Acovenosid A aus. Ausser dem Ouabain wurde die Anwesenheit von mindestens 21 weiteren Glykosiden festgestellt. Von diesen insgesamt 22 Stoffen wurden 16 (Q, N, P, G, H, R1 + R2, S, T, U, Y1, Y2, Digl-P, Digl-N, Z und Ouabain) in Kristallen (R1 + R2 nur in Form eines Mischkristallisats) erhalten; von zwei weiteren (FTh 13 und FTh 28) wurden krist. O-Acetylderivate gewonnen. Die vier restlichen (V, W, FTh 25 und  $\psi$ -K) wurden nur in amorpher, aber papierchromatographisch einheitlicher oder nahezu einheitlicher Form isoliert. Ausser Ouabain und den zwei Acolongiflorosiden G und H, die schon bekannt waren, und den zwei Acoschimperosiden N und P, von denen N bereits aus einer andern Form von *A. Schimperii* (aus Erythräa) und beide aus dem Holz der hier untersuchten Pflanze isoliert wurden, dürfte es sich vermutlich um neue Stoffe handeln. Die Konstitution von P wurde vollständig, diejenige von Digl-P weitgehend aufgeklärt. Durch fermentativen Abbau wurde festgestellt, dass mindestens sieben der isolierten Stoffe (nämlich V, W, FTh 25, Y1, Y2, Digl-P und Digl-N) Di- oder Triglykoside darstellen, die sich mit geeigneten Glucosidasen zu D-Glucose und Monoglykosiden abbauen liessen. Ausser bei Y1 + Y2 wurden dabei Monoglykoside erhalten, die auch in freiem Zustand in den Samen enthalten waren. Die amorphen Präparate V, W und FTh 25 waren nach den Resultaten des fermentativen Abbaus wahrscheinlich nicht einheitlich, obwohl sie im Papierchromatogramm nur einen Fleck gaben. Sie bestanden vermutlich aus je 2 Komponenten mit sehr ähnlichen Eigenschaften, insbesondere gleichen Laufstrecken im Papierchromatogramm. Die Einheitlichkeit von Y1 und Y2 ist nicht sicher bewiesen.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

## 2. Die Katalase-Aktivität im Schwanzgewebe der Larve von *Xenopus laevis* DAUD.<sup>1)</sup>

von **H. P. von Hahn**

(17. X. 58)

Von allen bisher an Organen tumortragender Tiere untersuchten Enzymsystemen zeigt die Katalase der Leber und der Niere von Säugetieren die stärkste Veränderung gegenüber dem normalen Aktivitätsniveau. So ist sie z. B. in der Leber tumortragender Ratten auf etwa 5% der normalen Aktivität reduziert<sup>2)</sup>. Wie neuere Unter-

<sup>1)</sup> Ausgeführt mit Unterstützung der Eidgenössischen Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes. Herrn Prof. F. E. LEHMANN möchte ich für seine wertvollen Ratschläge und sein reges Interesse an dieser Arbeit herzlich danken. Herrn H. W. LEHMANN danke ich für umfangreiche technische Assistenz.

<sup>2)</sup> Siehe Übersicht bei J. P. GREENSTEIN, *Biochemistry of Cancer*, Academic Press Inc., Publ., New York N. Y. 1954.