

Die Schreibmaschine des elektr. Rechenautomaten ergibt dann die Resultate, wie sie in Fig. 2 dem folgenden Schema nach dargestellt sind:

$$[M]_t \quad [L]_t \quad \Gamma H^6), \quad (c)$$

b) Konzentration der Teilchen  $M_q H_p L_n$ , wobei die zugehörigen Indices  $q$  und  $p$  am Anfang jeder Zeile stehen und  $n$  für die erste Kolonne 0 ist, für die zweite 1, usw.

$$\sum_{q,p,n} q [M_q H_p L_n]; \quad \sum_{q,p,n} n [M_q H_p L_n]; \quad [H]_t = \sum_{q,p,n} p [M_q H_p L_n], \quad (c)$$

$$-1 \xi [L]; \quad -1 g [M]; \quad 1 g \alpha_L. \quad (c)$$

Die ersten zwei Zahlen unter c) dienen zur Kontrolle der Berechnung und die dritte der Aufzeichnung der Titrationskurve.

Die Konzentrationen der Teilchen im betrachteten System für  $[L]_t = [M]_t = 1 \cdot 10^{-3}$  und  $pH = 2$  betragen somit:

$$[OH] = 1,097 \cdot 10^{-12}; \quad [H] = 1 \cdot 10^{-2}$$

$$[L] = 1,619 \cdot 10^{-21}; \quad [HL] = 2,947 \cdot 10^{-13}; \quad [H_2L] = 4,258 \cdot 10^{-9};$$

$$[H_3L] = 1,991 \cdot 10^{-8}; \quad [H_4L] = 1,948 \cdot 10^{-8}$$

$$[Fe(OH)_2] = 1,955 \cdot 10^{-10}; \quad [Fe(OH)] = 3,559 \cdot 10^{-9}; \quad [Fe] = 3,989 \cdot 10^{-8};$$

$$[Fe(OH)_2L] = 1,024 \cdot 10^{-16}; \quad [Fe(OH)L] = 2,629 \cdot 10^{-9};$$

$$[FeL] = 8,139 \cdot 10^{-4}; \quad [FeHL] = 1,860 \cdot 10^{-4}; \quad [Fe_2(OH)_2] = 1,958 \cdot 10^{-14}.$$

#### SUMMARY

The author develops a method permitting the calculation, using a digital computer, of the concentration of the different complex ions present in a solution containing known amounts of ligand and of metal ion at a given pH.

Zürich, Laboratorium für Anorganische Chemie  
der Eidg. Technischen Hochschule

### 105. Die Glykoside von *Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR.<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglykone, 227. Mitt.<sup>2)</sup>

von O. P. MITTAL, Ch. TAMM und T. REICHSTEIN

(7. III. 62)

Als *Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR.<sup>3)</sup>, *Daemia extensa* R. Br. oder *Pergularia daemia* (FORSSK.) CHIOV. wird ein Formenkreis von Pflanzen aus der Familie der *Asclepiadaceae* bezeichnet, die in den wärmeren Gebieten Indiens, Arabiens und Afrikas heimisch sind<sup>4)</sup>). Ob alle diese als Vertreter derselben Art zu betrachten

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. O. P. MITTAL, Basel 1958.

<sup>2)</sup> 226. Mitt.: M. S. BHARUCHA *et al.*, Helv. 45, 93 (1962).

<sup>3)</sup> Dies ist nach BULLOCK<sup>4)</sup> der gültige Name für die indische Pflanze, weitere Synonyma vgl. <sup>5)</sup>.

<sup>4)</sup> Wir danken Herrn A. A. BULLOCK, Herbarium der Royal Botanical Gardens, Kew (England), auch hier bestens für seine wertvollen Angaben.

<sup>5)</sup> W. T. THISELTON-DYER, Flora of Tropical Africa IV, 387, London 1904.

<sup>6)</sup> R. N. CHOPRA, S. L. NAYAR & J. C. CHOPRA, Glossary of Indian Medical Plants, p. 188, New Delhi 1956.

sind, ist aber unsicher. Herr BULLOCK<sup>4)</sup> schrieb uns auf Anfrage dazu (am 10. 11. 58) wie folgt:

«In reply to your letter of 6 November, I regret that I have not been able to get much further in my study of *Pergularia*.

All I can say at the moment is that *Daemia* (or more correctly, *Doemia*) of ROBERT BROWN is a nomenclatural synonym of *Pergularia* LINN. The plants which R. BROWN referred to *Pergularia* should now be called *Telosma*.

Similarly, *Pergularia daemia* (FORSSK.) CHIOV. is a nomenclatural synonym of *Daemia extensa* R. BR., but I cannot be at all sure that both the Indian and Rhodesian plant should be referred to this species.

On the whole it would appear that the Indian plant is correctly named, whilst the identity of the Rhodesian plant remains doubtful. Elucidation of the taxonomic problem awaits accurate and intensive field work, ...

In these circumstances it will be obvious that I cannot guess at specific distributions. Wherever the deciduous woodland gives way to a patch of evergreen forest (due to the presence of water near the surface, but not in river fringes) one may encounter *Pergularia* throughout Africa. In the horn of Africa, through Arabia, and east into Pakistan and India, it occurs in drier places. It appears that some four or five species may be involved in this very wide distribution, but I have so far failed to find the desired discontinuity in variation by which they can be distinguished.»

Da eine sichere botanische Identifizierung bzw. Differenzierung noch nicht möglich ist, werden wir die hier besprochenen und untersuchten Pflanzen nach ihrer Provenienz bezeichnen.

Die in Indien wachsende Pflanze wird in der Regenzeit grün und wächst in dieser Zeit sehr rasch. Die stark verzweigten Triebe schlingen und klettern meist auf Bäume und sind oft über 10 Meter lang (vgl. Fig. 1). Sie können sich aber auch auf dem Erdboden ausbreiten. Stengel und Blätter enthalten Milchsaft. Die Blüten sind weiss, oft mit einer grünen oder rötlichen Tönung. Die Früchte reifen hauptsächlich vom Januar bis März. In unversehrtem Zustand sind sie von einem weissen Flaum bedeckt (vgl. Fig. 2). Die Samen sind ca. 0,5–0,8 cm lang, oval-keilig und auf der runden Seite fein gekerbt (vgl. Fig. 4; der Schopf weisser Haare ist dort entfernt).

Die in Rhodesien wachsende Pflanze besitzt nach POLE-EVANS<sup>7)</sup> einen eigenartigen Geruch, der keiner anderen Asclepiadacee eigen ist.

*Pergularia extensa* (vor allem Blätter und Wurzeln) wird in Indien in der Volksmedizin schon lange gegen Bronchitis und als Emeticum verwendet. Die erste genauere pharmakologische Untersuchung erfolgte durch DUTTA und Mitarbeiter<sup>8)</sup>. Sie fanden, dass ein nicht näher charakterisiertes Glykosid aus *Pergularia extensa* auf den Uterus eine ähnliche Wirkung ausübt wie Pituitrin. Die erste uns bekannte chemische Untersuchung stammt von DUTTA & GHOSH<sup>11)</sup>. Sie analysierten die ganzen getrockneten Pflanzen und fanden neben einem bitteren Harz und drei anderen bitteren Bestandteilen, von denen einer glykosidischer Natur war, vier krist. aber nicht identifizierte «Sterole» (A–D). RAMAN & BARUA<sup>12)</sup> fanden im Petrolätherextrakt  $\alpha$ -Amyrin-acetat, Lupeol-acetat, Lupeol und  $\beta$ -Sitosterin. Eine recht genaue Untersuchung wurde von RAKHIT *et al.*<sup>13)</sup> durchgeführt. Neben den oben genannten

<sup>7)</sup> Privatmitteilung von Herrn Dr. I. B. POLE-EVANS vom 22. 4. 1957.

<sup>8)</sup> I. J. C. GUPTA, P. K. ROY & A. DUTTA, Indian J. med. Res. *34*, 181 (1946); Chem. Abstr. *41*, 6632 (1947).

<sup>11)</sup> A. DUTTA & S. GHOSH, J. Amer. pharmac. Assoc., Sci. Ed. *36*, 250 (1947); Chem. Abstr. *41*, 7675 (1947).

<sup>12)</sup> S. P. RAMAN & A. K. BARUA, J. Amer. pharmac. Assoc., Sci. Ed. *47*, 559 (1958); Chem. Abstr. *52*, 17621 b (1958).

<sup>13)</sup> S. RAKHIT, M. M. DHAR, N. ANAND & M. L. DHAR, J. sci. & ind. Res. (India) *18 B*, 422 (1959); Chem. Abstr. *54*, 17458 c (1960).

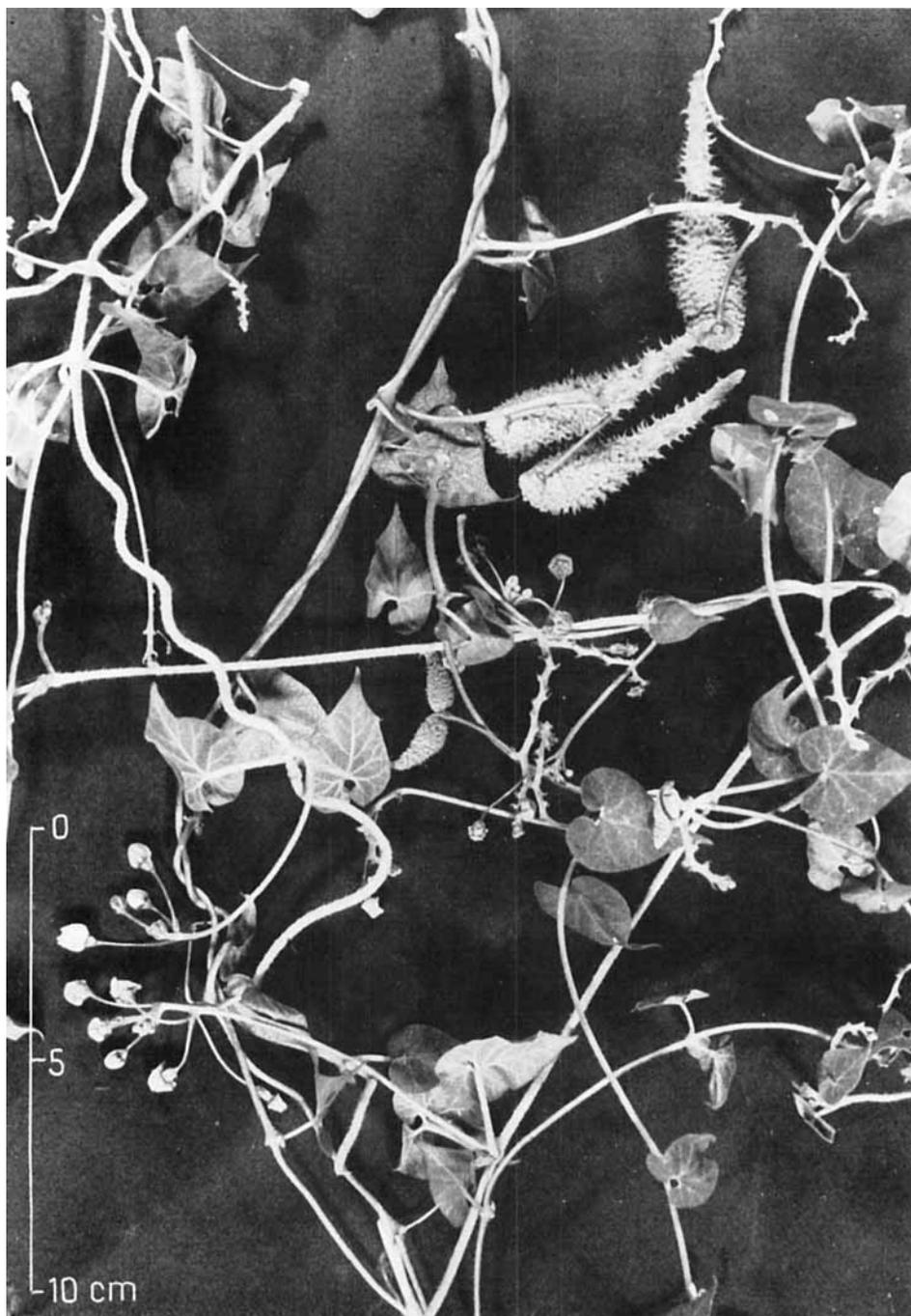


Fig. 1. *Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR. aus Indien  
Aufgenommen Ende Januar 1957 in der Umgebung von Delhi<sup>9)</sup>

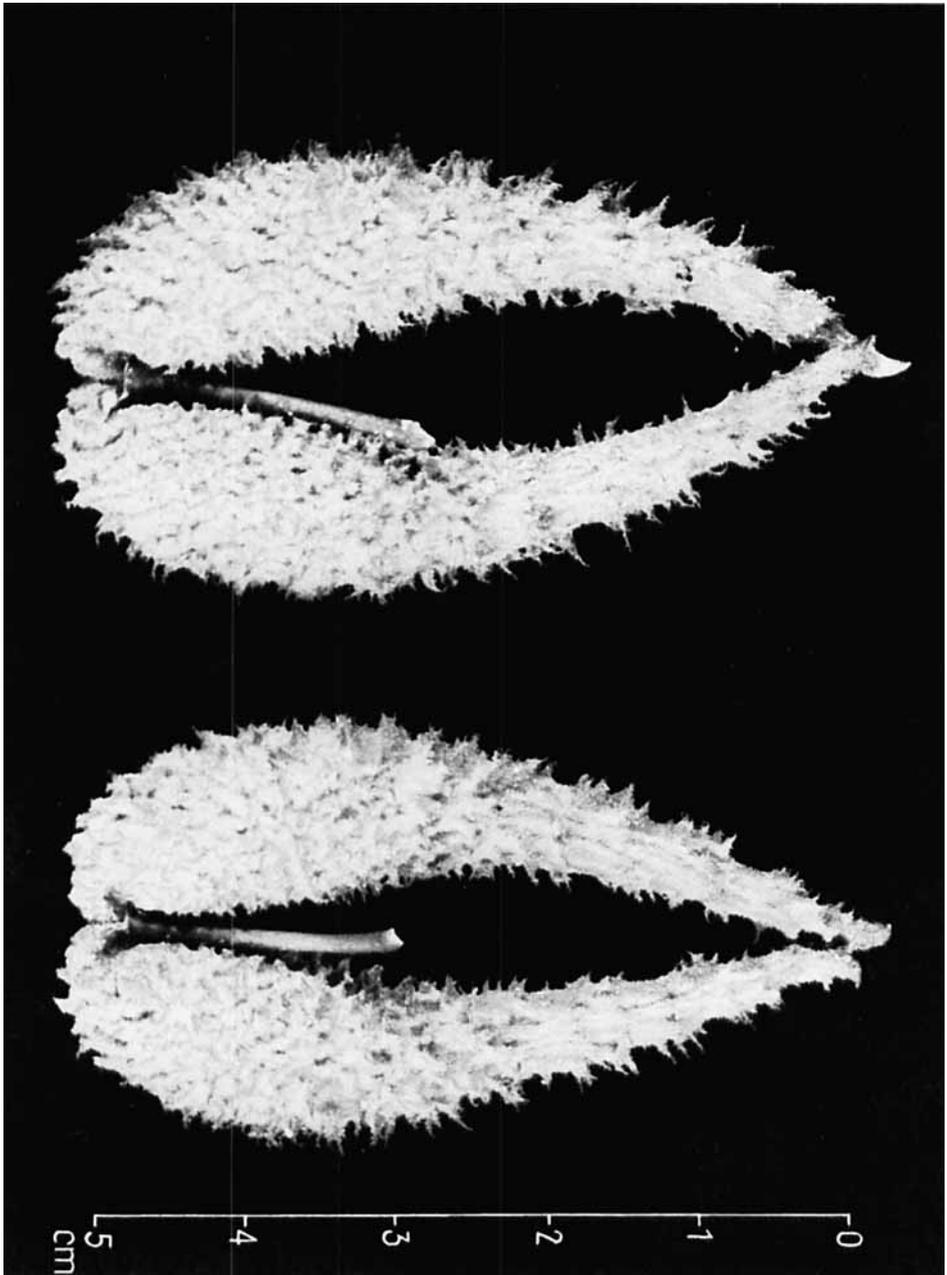


Fig. 2. *Zwei Früchte von Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR. *aus Indien*  
Aufgenommen Ende Januar 1957 in der Umgebung von Delhi<sup>9)</sup>

Stoffen isolierten sie *n*-Pentacosansäure, Hentriacontan,  $\beta$ -Amyrin-acetat,  $5\beta$ - $\Delta^{17}$ - und - $\Delta^{8:14}$ -Stigmasten- $3\alpha$ -ol sowie 3 weitere nicht identifizierte krist. Steroide. Aus dem Alkoholextrakt isolierten sie Betain sowie ein Peptid mit muskulotroper Wirkung, von dem 8 Aminosäuren identifiziert werden konnten. Über weitere chemische Untersuchungen ist uns nichts bekannt. Wir beschreiben im Folgenden unsere eigenen Resultate.



Fig. 3. Frucht von *Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR. aus Südrhodesien  
Gesammelt anfangs April 1958 im Sali Valley, Southern Rhodesia. Die meisten Pflanzen waren  
dieselbst am Absterben und trugen weder Blüten noch Früchte<sup>10)</sup>



Fig. 4. Samen von *Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR., von Haaren befreit  
a) Aus Indien; b) Aus Südrhodesien. Masstab in cm. Photo Dr. L. JENNY, Basel

<sup>9)</sup> Wir danken Herrn Dr. J. K. MAHESHWARI, Department of Botany, University of Delhi, India, für die botanische Identifizierung der Pflanze und für diese Aufnahme.

<sup>10)</sup> Briefliche Mitteilung von Herrn Dr. I. B. POLE-EVANS vom 9. 4. 1958.

**Beschaffung des Ausgangsmaterials.** – Zur Untersuchung standen uns die vier folgenden Proben zur Verfügung:

*Probe a.* 0,53 kg Holz, Stamm und Zweige, ca. 0,5–0,8 cm dick, aus Indien. Sie wurden vom Februar bis August 1956 in der Umgebung von Delhi von einem von uns (O. P. M.) und seinen Familienangehörigen gesammelt, sofort an der Luft getrocknet und im Oktober 1956 persönlich nach Basel gebracht.

*Probe b.* 2,63 kg von Flughaaren befreite Samen aus Indien. Diese wurden von den Familienangehörigen des einen von uns (O. P. M.) vom Dezember 1956 bis Februar 1957 ebenfalls in der Umgebung von Delhi gesammelt und an Ort und Stelle von den langen weissen Flughaaren befreit. Sie erreichten uns im April 1957 in einwandfreiem Zustand. Die Pflanzen, von denen das Material der Proben a und b stammte, wurden von Herrn Dr. MAHESHWARI bezeichnet, so dass die botanische Identität gesichert ist.

*Probe c.* 1,5 kg getrocknete Stengel mit Blättern aus Südrhodesien, gesammelt von Herrn Dr. I. B. POLE-EVANS<sup>14)</sup> am 14. 4. 1957 im Tal des Nyannayodi-Flusses in Südrhodesien. Sie erreichten uns am 27. 1. 58 in ausgezeichnetem Zustand.

*Probe d.* 7 ganze getrocknete Früchte aus Südrhodesien, gesammelt von Dr. I. B. POLE-EVANS<sup>14)</sup> anfangs April 1958 im Sali-Tal, Südrhodesien, und sofort per Flugpost nach Basel speditiert. Sie lieferten 0,9 g enthaarte Samen.

Von der Probe c wurde nur ein kleiner Teil zur Prüfung im Papierchromatogramm extrahiert. Auch die Probe d konnte der geringen Menge wegen nur in Papierchromatogrammen untersucht werden. Präparativ getrennt wurde bisher nur das Material aus Indien (Proben a und b).

**Extraktion der Droge.** – Die Extraktion der Stengel (Probe a) erfolgte analog früheren Vorschriften<sup>15) 16)</sup> nach vorangehender «Fermentierung»<sup>17)</sup>. Die Prüfung auf Alkaloide war negativ<sup>18)</sup>, die Prüfung auf Cardenolide mit KEDDE-Reagens<sup>19)</sup> war dagegen stark positiv. Die wie üblich<sup>15) 16)</sup> erfolgte Aufarbeitung gab die in Tabelle 1 genannten Ausbeuten an rohen Extrakten. Die drei KEDDE-positiven Extrakte (Ae-Extr., Chf-Extr. und Chf-Alk-(2:1)-Extr.) des Materials aus Indien wurden auch orientierend am isolierten Froschherz geprüft. Alle Extrakte wurden ferner in Papierchromatogrammen (Systeme der Figuren 5–8) untersucht. Die Resultate sind in Tabelle 1 eingesetzt.

Für die Untersuchung der Samen wurden als Vorprobe zuerst zwei kleine Portionen des Materials aus Indien (Probe b) wie üblich<sup>15) 24)</sup> mit und ohne Fermentierung aufgearbeitet. Dabei resultierten die in Tabelle 2 genannten Ausbeuten. Wie daraus ersichtlich, ist bei den Samen durch die Fermentierung ein weitgehender Abbau von stark polaren Glykosiden (unter Bildung ätherlöslicher Stoffe) eingetreten.

<sup>14)</sup> Wir danken Herrn Dr. I. B. POLE-EVANS auch hier bestens für dieses Material und seine zusätzlichen Angaben.

<sup>15)</sup> a) J. V. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1821 (1951); b) P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1740 (1951).

<sup>16)</sup> Kleine Abweichungen vgl. *Exper. Teil*.

<sup>17)</sup> Ob beim Weichen mit Wasser ein fermentativer Abbau stattgefunden hat, wurde nicht geprüft und ist sehr fraglich.

<sup>18)</sup> Geprüft mit MAYER's Reagens, vgl. M. FRANÇOIS & L. G. BLANC, *C. r. hebdom. Séances Acad. Sci.* **175**, 169 (1922); G. KLEIN, *Handbuch der Pflanzenanalyse IV/3*, 485, Wien 1933.

<sup>19)</sup> D. L. KEDDE, *Diss. Leyden* 1946; *Pharmac. Tijdschr.* **1947**, 169; Ausführungsform nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952). Dies Reagens gibt mit fast allen Cardenoliden eine blauviolette Färbung. Empfindlichkeit im Pchr. ca. 0,02 mg.

<sup>24)</sup> S. RAJAGOPALAN, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 1809 (1955).

Die Hauptmenge der Probe b wurde daher (in zwei Portionen) mit Fermentierung extrahiert. In gleicher Weise wurde auch die kleine Probe d aus Südrhodesien verarbeitet. Über die erhaltenen Ausbeuten orientiert Tabelle 3 (Diskussion der Resultate siehe weiter unten).

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus Stengeln<sup>20)</sup>

Art des Extraktes	530 g Probe a aus Indien = A-Extrakte				55 g Probe c aus Südrhodesien = D-Extrakte		
	in g	in %	Flecke im Pchr <sup>21)</sup>	Biol. Aktiv. <sup>22)</sup>	in g	in %	Flecke im Pchr <sup>21)</sup>
Pe	18,04	3,40	—		2,594	4,71	—
Ae <sup>23)</sup>	1,293	0,24	A, B, C, D, (E)	0,1	0,077	0,14	A, (C), (D)
Chf	1,925	0,36	B, C, D, (E)	0,2	0,099	0,18	C, F, D, (E)
Chf-Alk-(2:1)	2,197	0,41	L, (M), N, O, P	ca. 0,005	0,208	0,38	M, N, P

Tabelle 2. Ausbeuten an rohen Extrakten aus je 13,7 g Samenpulver (Probe b) nach Extraktion mit und ohne Fermentierung<sup>20)</sup>

Art des Extraktes	Ohne Fermentierung		Mit Fermentierung	
	in mg	in %	in mg	in %
Pe	3700	26,2	3700	26,2
Ae	1,0	0,007	33	0,24
Chf	14,6	0,106	15	0,109
Chf-Alk-(2:1)	102,6	0,744	52	0,379

**Präparative Trennungen.** – Im Folgenden wird die Untersuchung der Extrakte der indischen Pflanzen beschrieben. Die Pe-Extrakte (KEDDE-Reaktion negativ) wurden nicht untersucht, die Chf-Alk-(2:1)-Extrakte (also die stark polaren Anteile) wurden nur orientierend geprüft. Eine präparative Trennung erfolgte bei den Ae- und Chf-Extrakten.

**Untersuchung der Extrakte aus den Stengeln (A-Extrakte).** – Der Ae-Extrakt A zeigte im Papierchromatogramm bei Entwicklung mit KEDDE-Reagens 5 Flecke (A, B, C, D und E), von denen A am stärksten war. Nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> liess sich A in reinen Kristallen fassen. Auch eine Spur C-Kristalle wurde erhalten. Auf die Isolierung der Stoffe B, D und E wurde hier verzichtet.

Der Chf-Extrakt A zeigte im Papierchromatogramm vier Flecke (B, C, D und E), von denen D besonders stark war. Nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> wurde D in reinen Kristallen erhalten. Ausserdem kristallisierte eine kleine Menge eines Gemisches von C und E. Eine Trennung der Reste wurde nicht durchgeführt.

<sup>20)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

<sup>21)</sup> In Klammern schwache, kursiv starke Flecke.

<sup>22)</sup> Orientierende Prüfung am isolierten Froschherz. Wirkungsstärke im Vergleich mit Ouabain. Wir danken der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier für die Ausführung dieser Prüfung.

<sup>23)</sup> Gereinigt durch Verteilung zwischen 50-proz. Alk und Pe. Die Pe-löslichen Anteile sind im Gewicht des Pe-Extr. enthalten.

Tabelle 3. Ausbeute an rohen Extrakten aus Samen nach Fermentierung<sup>20)</sup>

Art des Extraktes	1337 g Samen aus Indien <sup>25)</sup> Probe b B-Extrakte			261 g Samen aus Indien <sup>26)</sup> Probe b C-Extrakte			0,9 g Samen aus Südrhodesien Probe d E-Extrakte		
	in g	in %	Flecke im Pchr. <sup>21)</sup>	in g	in %	Flecke im Pchr. <sup>21)</sup>	in mg	in %	Flecke im Pchr. <sup>21)</sup>
	Pe	358,0	26,77	—	68,38	26,2	—	139	15,9
Ae <sup>23)</sup>	2,749	0,20	C, F, H	0,37	0,14	C, F, H	3,7	0,42	H
Chf	6,547	0,49	C, F, H, I, K	0,66	0,26	C, F, H, I	1,8	0,20	(C), F, H <sup>27)</sup>
Chf-Alk-(2:1)	9,239	0,69	(H), L, M, N, O, P	1,048	0,40	(H), L, M, N, O, P	6,5	0,75	L, M, N, O, P

*Orientierende Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)Extraktes A.* Dieses Material zeigte im System von Fig. 7 fünf Flecke (L, M, N, O und P). 1,51 g davon (= 364 g Holz) wurden mit Takaamylase<sup>28)</sup> behandelt und anschliessend wie üblich fraktioniert ausgeschüttelt. Es resultierten die in Tabelle 4 genannten Ausbeuten (F-Extrakte). Es ist daraus ersichtlich, dass ein merklicher Abbau von stark polaren Glykosiden stattgefunden hat, wobei teilweise dieselben Stoffe (A, B, C, D und E) entstanden sind, wie sie schon in den Ae- und Chf-Extrakten-A gefunden wurden. Die pflanzeigenen Fermente der Stengel haben diesen Abbau somit nicht oder nur sehr unvollständig bewirkt.

Tabelle 4. Ausbeuten an Extrakten nach Fermentierung von 1,51 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. A

	Ae-Extr. F.	Chf-Extr. F.	Chf-Alk-Extr. F.
Menge in mg	49,1	77,0	474,7
Flecke im Pchr.	A, B, (D)	B, (C), D, E	(H), L, M, N, O, P

**Untersuchung der Extrakte aus den Samen.** – Der *Ae-Extrakt B* zeigte im Papierchromatogramm drei Flecke (C, F, H). Die Hauptmenge der Substanz C liess sich durch direkte Kristallisation fast rein gewinnen. Die eingedampften Mutterlaugen wurden an SiO<sub>2</sub> chromatographiert und gaben neben weiteren Mengen von C auch H in reinen Kristallen. Auf die Isolierung von F wurde hier verzichtet, da dieser Stoff aus dem Chf-Extr. B in reiner Form erhalten werden konnte. In gleicher Weise wurde der Ae-Extr. C getrennt.

Der *Chf-Extrakt B* zeigte im Papierchromatogramm fünf Flecke (C, F, H, I und K). Direkte Kristallisation gab Gemische, auch Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> lieferte keine

<sup>25)</sup> Bei dieser Portion wurde *keine* Reinigung mit Pb(OH)<sub>2</sub> durchgeführt.

<sup>26)</sup> Bei dieser Portion wurde wie üblich<sup>15)</sup> mit Pb(OH)<sub>2</sub> gereinigt. Vermutlich sind darum die Ausbeuten an Rohextrakten etwas geringer.

<sup>27)</sup> In dem verwendeten System laufen H, I und K gleich; ob der H-Fleck hier auch I und K enthielt, konnte nicht mehr geprüft werden.

<sup>28)</sup> Ein Fermentpräparat aus *Aspergillus oryzae*, bezogen von der SCHWEIZERISCHEN FERMENT AG., Basel.

reinen Stoffe. Nach wiederholter Chromatographie an  $\text{SiO}_2$  liessen sich C, F und H in reinen Kristallen gewinnen. Subst. F wurde an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{SiO}_2$  leichter eluiert als C. Im Papierchromatogramm läuft C schneller als F. Auf die Isolierung von I und K in reiner Form wurde verzichtet. – Der *Chf-Extrakt C* verhielt sich gleich.

*Orientierende Untersuchung der Chf-Alk-(2:1)-Extrakte B und C.* Diese zwei Extrakte wurden nur in Papierchromatogrammen untersucht. Sie zeigten sechs Flecke (H, L, M, N, O und P, vgl. Fig. 7). Die relativen Laufstrecken dieser Substanzen, bezogen auf *al*-Dihydro-calotropagenin<sup>29)</sup> <sup>30)</sup> für das System Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd<sup>20)</sup> <sup>31)</sup>, sind in Tabelle 5 zusammengestellt.

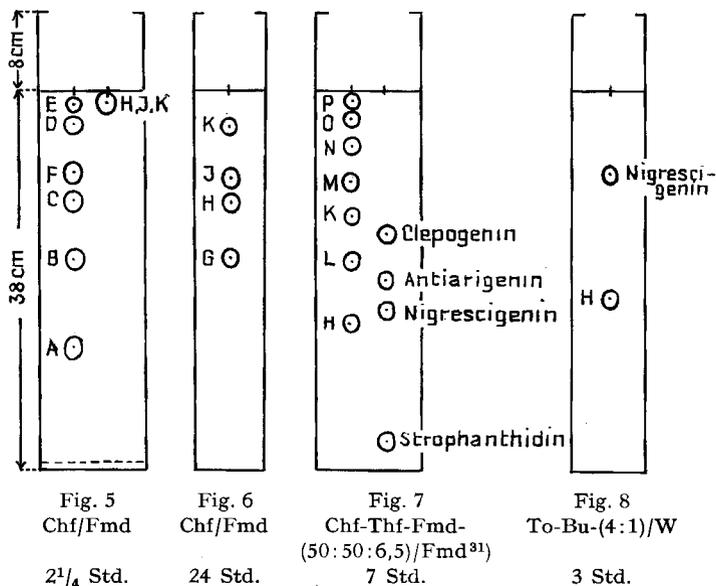


Fig. 5–8 sind Beispiele für die Kontrolle in Papierchromatogrammen, schematisiert aber massgetreu. Ausführung nach früheren Angaben<sup>31)</sup> <sup>32)</sup>. Imprägnierung des Papiers mit 35% des Papiergewichtes an ruhender Phase<sup>33)</sup>. Entwicklung mit KEDDE-Reagens<sup>19)</sup>. Von Extrakten wurden jeweils 0,25 mg aufgetragen, von reinen Kristallen jeweils 0,05 mg.

In Tabelle 6 sind die wichtigsten Eigenschaften und Reaktionen der fünf in reinen Kristallen isolierten Stoffe (A, C, D, F, H) zusammengestellt. Sie konnten alle mit bekannten Cardenoliden identifiziert werden (vgl. Tabellen 5 und 6). A und D wurden auch noch als krist. O-Acetylderivate charakterisiert. Die Identifizierung erfolgte

<sup>29)</sup> C. H. HASSALL & K. REYLE, *Chemistry & Ind.* 1956, 487; *J. chem. Soc.* 1959, 85.

<sup>30)</sup> Von HASSALL & REYLE<sup>29)</sup> als Dihydro-calotropagenin bezeichnet, was aber missverständlich ist. Wir verwenden die Vorsilbe *al*-Dihydro- für das Cardenolid mit reduzierter Aldehydgruppe und *en*-Dihydro- für das Cardenolid mit gesättigtem Lactonring.

<sup>31)</sup> F. KAISER, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).

<sup>32)</sup> a) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 108 (1951); b) H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 36, 357 (1953); c) E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 680 (1954).

<sup>33)</sup> B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 1570 (1960).

durch Mischproben, Papierchromatogramm und Farbreaktionen mit  $H_2SO_4$  (vgl. Tabelle 14). Von C, F und H wurden auch UV.- und IR.-Spektren aufgenommen (vgl. Tabelle 6 und Fig. 9–11). Durch Vergleich der Laufstrecken im Papierchromatogramm konnte ferner auch die Identität von B, I und K mit bekannten Cardenoliden (vgl. Tabelle 5) sehr wahrscheinlich gemacht werden. Die Natur der sieben anderen Stoffe (E, G, L, M, N, O, P) ist nicht aufgeklärt. Einige davon könnten D-Glucoside von Vertretern der Gruppe A-K sein. In Tabelle 7 sind die erhaltenen Ausbeuten zu-

Tabelle 5. *Relative Laufstrecken der in Pergularia extensa nachgewiesenen Cardenolide sowie von 4 Vergleichsstoffen in drei verschiedenen Systemen*

Bezeichnung der Flecke	Identifizierung	Relative Laufstrecken im System		
		Chf/Fmd 3 Std.	Chf/Fmd 24 Std.	Chf-Thf-Fmd- (50:50:6,5)/Fmd 7 Std.
A	Uzarigenin <sup>34)</sup> . . . . .	2,63		
B	Corotoxigenin <sup>35)</sup> . . . . .	1,50		
C	Calactin <sup>36)</sup> <sup>37)</sup> . . . . .	1,00		
D	Coroglaucigenin <sup>38)</sup> . . . . .	0,32		
E	—	0,09		
F	Calotropin <sup>36)</sup> <sup>37)</sup> . . . . .	0,84		
G	—		1,50	
H	Calotropagenin <sup>29)</sup> <sup>37)</sup> <sup>39)</sup> . . . . .	0,13	1,00	1,81
I	Calotoxin <sup>38)</sup> <sup>37)</sup> . . . . .		0,77	
K	<i>al</i> -Dihydro-calotropagenin <sup>29)</sup> <sup>37)</sup> <sup>39)</sup> . . . . .		0,32	1,00
L	—			1,33
M	—			0,73
N	—			0,45
O	—			0,23
P	—			0,09
Vergleichs- stoffe	Strophanthidin <sup>40)</sup> . . . . .			2,72
	Nigrescigenin <sup>41)</sup> . . . . .			1,70
	Antiarigenin <sup>42)</sup> . . . . .			1,46
	Clepagenin <sup>43)</sup> . . . . .			1,12

<sup>34)</sup> S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 32, 939 (1949).

<sup>35)</sup> O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 730 (1952), und frühere Lit. daselbst.

<sup>36)</sup> G. HESSE, L. J. HEUSER, E. HÜTZ & F. REICHENEDER, *Liebigs Ann. Chem.* 566, 130 (1950); G. HESSE, H. FASOLD & W. GEIGER, *ibid.* 625, 157 (1959); G. HESSE, H. HERTEL & K. MIX, *ibid.* 625, 174 (1959).

<sup>37)</sup> Wir danken Herrn Prof. G. HESSE, Erlangen, auch hier bestens für das authentische Vergleichspräparat.

<sup>38)</sup> A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 1073 (1952), und frühere Lit. daselbst.

<sup>39)</sup> G. HESSE, W. GEIGER & G. LETTENBAUER, *Liebigs Ann. Chem.* 625, 167 (1959), und frühere Lit. daselbst.

<sup>40)</sup> Aus Samen von *Strophanthus kombé*.

<sup>41)</sup> E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 1004 (1954).

<sup>42)</sup> R. P. MARTIN & CH. TAMM, *Helv.* 42, 696 (1959), und frühere Lit. daselbst.

<sup>43)</sup> R. TSCHESCHE, D. FORSTMANN & V. K. M. RAO, *Chem. Ber.* 91, 1204 (1958). — Wir danken Herrn Prof. R. TSCHESCHE, damals in Hamburg, auch hier bestens für das Präparat.

Tabelle 6. Wichtigste Eigenschaften der 5 in reinen Kristallen isolierten Stoffe<sup>20)</sup> 44)

Stoff	Smp. <sup>45)</sup> (krist. aus) [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	Analyse passt auf	KELLER- KILLIANI-R. <sup>46)</sup>	Xanthydrol- Reaktion <sup>47)</sup>	Zucker- prüfung <sup>48 b)</sup>	Fluoreszenz-R. <sup>48)</sup>	Prüfung auf Me-reduktins. <sup>48)</sup>	Absorptions- maximum im UV. <sup>50)</sup> in m $\mu$ (log $\epsilon$ )		IR.- Spek- trum
								Bute- nolid- region	Carbo- nyl- region	
A = Uzari- genin <sup>34)</sup>	244–258° (Me-Ae) [+ 12,2° ± 2° Alk]	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	–	–	–	–			
O-Acetyl-A	260–269° [+ 6,6 ± 2° Chf]									
C = Calactin <sup>36)</sup>	270–272° (An) [+ 70,4° ± 3° Me]	C <sub>29</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub>	–	–	–	–	+	217 (4,23)	310 (1,55)	Fig. 9
D = Coro- glaucigenin <sup>38)</sup>	248–256° (Me-Ae) [+ 25,8° ± 3° Me]		–	–	–	–	–			
Di-O-acetyl-D	216–220°									
F = Calo- tropin <sup>36)</sup>	234–240° (An) [+ 64,4° ± 2° Me]	C <sub>29</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub>	–	–	–	–	+	217 (4,25)	305 (1,55)	Fig. 10
H = Calotro- pagenin <sup>29)</sup> 39)	248–255° (Me-Ae) [+ 45,6° ± 2° Me]	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	–	–	–	–	–	216 (4,22)	310 (1,55)	Fig. 11

sammengestellt; es wird dort auch eine grobe Schätzung<sup>51)</sup> der in den verschiedenen Pflanzenteilen nachgewiesenen Cardenolide gegeben.

**Diskussion der Resultate.** – Wie aus den Tabellen 1 und 3 ersichtlich, gaben die Pflanzen aus Südrhodesien ähnliche Resultate wie die aus Indien. Merkliche

44) + = positive, – = negative Reaktion. Leeres Feld = nicht bestimmt.

45) Bestimmt auf KOFLER-Block, korrigiert.

46) Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 31, 883 (1948).

47) V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. nac. Cordoba* 32, 439 (1945); P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* 8, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* 10, 104 (1952). Diese Reaktion ist zum Nachweis von 2-Desoxyzuckern sehr geeignet.

48) Fluoreszenzreaktion zum Nachweis von 16-Hydroxy-, 16-Acetoxy- oder 16-Dehydro-cardenoliden:

a) Mit 85-proz. H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> auf Porzellanplatte oder im Röhrchen nach PESEZ, vgl. A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, *Bull. Soc. chim. France* [5], 17, 288 (1950), sowie P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* 8, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* 8, 746 (1950).

b) Mit Trichloressigsäure auf Papier. K. B. JENSEN, *Acta pharmacol. toxicol.* 9, 99 (1953); vgl. L. FAUCONNET & K. KREIS, *Pharmac. Acta Helv.* 32, 253 (1957); D. KUTTER & L. FAUCONNET, *ibid.* 34, 277 (1959).

c) Mit SbCl<sub>3</sub> auf Papier. HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 977 (1959).

48) Prüfung auf Methylreduktinsäure nach G. HESSE, F. REICHENEDER & H. EYSENBACH, *Liebigs Ann. Chem.* 537, 67 (1939).

50) Aufgenommen von den Herren G. ROTZLER und K. STICH auf einem UNICAM-SP-500-Spektrophotometer mit Elektronen-Vervielfacher 1-P-28.

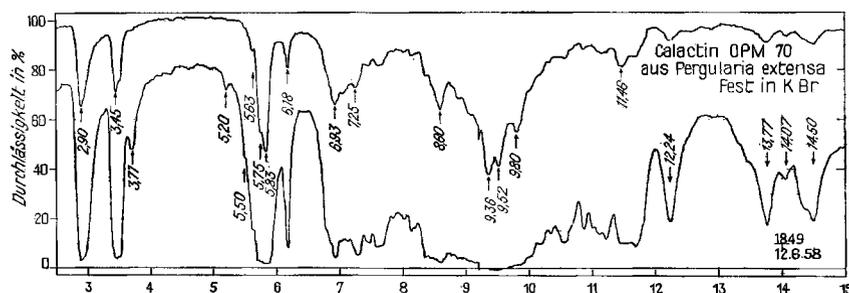
51) Grobe Schätzung, soll nur die ungefähre Grössenordnung geben, auf Grund der Ausbeuten, der Kristallisierbarkeit und der Stärke der Flecke im Papierchromatogramm.

Tabelle 7. Ausbeuten der in Kristallen isolierten Stoffe sowie Schätzung<sup>51)52)</sup> der in den Pflanzenteilen wirklich enthaltenen Mengen

Stoff	530 g getrocknetes Holz Probe a aus Indien			1337 g Samen Probe b aus Indien		
	Krist. isoliert		Gesch. Gehalt in %	Kristalle isoliert		Gesch. Gehalt in %
	in mg	in %		in mg	in %	
A = Uzarigenin . . . . .	74	0,014	0,03	—	—	—
B = Corotoxigenin <sup>58)</sup> . . . . .	—	—	0,015	—	—	—
C = Calactin . . . . .	7	0,0013	0,015	2062,6	0,154	0,5
D = Coroglaucigenin . . . . .	37,6	0,007	0,03	—	—	—
E = nicht identif. <sup>59)</sup> . . . . .	—	—	0,01	—	—	—
F = Calotropin . . . . .	—	—	—	307,7	0,023	0,1
G = nicht identif. <sup>58)</sup> . . . . .	—	—	—	—	—	0,001
H = Calotropagenin . . . . .	—	—	—	193,1	0,014	0,04
I = Calotoxin <sup>53)</sup> . . . . .	—	—	—	—	—	0,01
K = <i>al</i> -Dihydro- calotropagenin <sup>53)</sup> . . . . .	—	—	—	Spur Gemisch I + K	—	0,005

quantitative und einige qualitative Unterschiede sind aber erkennbar. So waren im Holz (Tabelle 1) die Stoffe B, L und O nur im indischen Material, und F nur im afrikanischen nachweisbar. In den Samen war bei den indischen Pflanzen C (= Calactin) das Hauptprodukt und bei den afrikanischen F (= Calotropin).

Die in *Pergularia extensa* aufgefundenen Cardenolide zeigen die grösste Ähnlichkeit mit denjenigen aus *Calotropis procera* R. Br. Insbesondere wurden Calactin und Calotropin, die bei der thermischen Spaltung Methylreduktinsäure liefern<sup>36)</sup>, bisher noch nicht in andern Pflanzen aufgefunden. — Bei *Calotropis procera* findet sich aber die Hauptmenge dieser zwei Stoffe im Milchsaft<sup>36)</sup>. In den Samen<sup>24)</sup> liess sich bestenfalls nur sehr wenig Calotropin und gar kein Calactin nachweisen, dafür enthielten sie

Fig. 9. IR.-Absorptionsspektren von Calactin, Smp. 245–255°, aus *Pergularia extensa*, fest in KBr<sup>54)</sup>

Obere Kurve 0,64 mg pro Pastille. Untere Kurve (10% nach unten verschoben) 4,17 mg pro Pastille

<sup>52)</sup> Dort wo nur ein Teil der Extrakte zur Isolierung verwendet wurde, haben wir die Ausbeute auf die ganzen 530 g Holz, resp. 1337 g Samen umgerechnet.

<sup>53)</sup> Nur papierchromatographisch nachgewiesen.

viel Frugosid (ein Glykosid des Coroglaucigenins) und teilweise Spuren von Corotoxinogenin. Bei *Pergularia* fanden sich Calactin und Calotropin vorwiegend in den Samen, das Holz enthielt reichlich Uzarigenin und Coroglaucigenin.

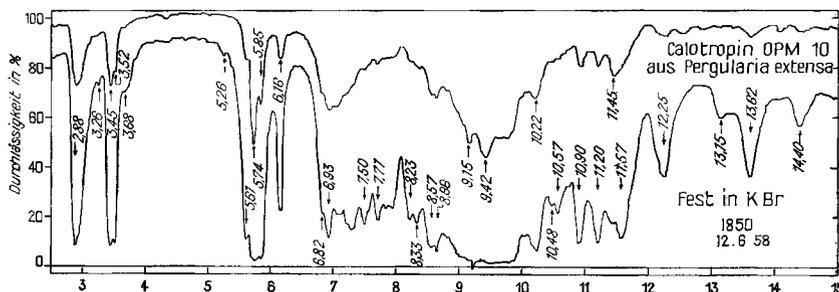


Fig. 10. IR.-Absorptionsspektren von Calotropin, Smp. 234–240°, aus *Pergularia extensa*, fest in KBr<sup>54)</sup>

Obere Kurve 0,46 mg pro Pastille  
 Untere Kurve (um 10% nach unten verschoben) 4,17 mg pro Pastille

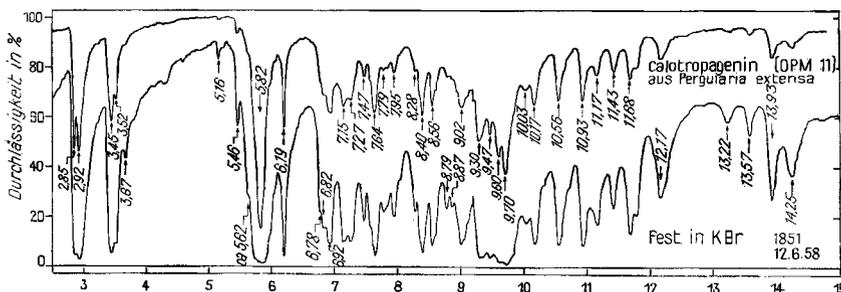


Fig. 11. IR.-Absorptionsspektren von Calotropagenin, Smp. 248–255°, aus *Pergularia extensa*, fest in KBr<sup>54)</sup>

Obere Kurve 0,81 mg pro Pastille  
 Untere Kurve (um 10% nach unten verschoben) 3,85 mg pro Pastille

In den Fig. 9–11 sind die IR.-Spektren von Calactin, Calotropin und Calotropagenin wiedergegeben. Beim Calactin und Calotropagenin (Fig. 9 und 11) ist die CH-Schwingung der Aldehydgruppe bei 3,68  $\mu$  sehr deutlich, beim Calotropin (Fig. 10) nur als schwache Zacke sichtbar. Dies lässt vermuten, dass die Aldehydgruppe wenigstens in den ersten zwei Stoffen weitgehend in freier Form (nicht als Halbacetal) vorliegt. Von den üblichen Banden der Butenolidgruppe (ca. 3,25; 5,50; 5,75 und 6,18  $\mu$ ) ist nur die letztgenannte überall deutlich. Die sonst sehr starke 5,75- $\mu$ -Bande ist nur in Fig. 10 deutlich, in Fig. 9 nur als kleine Zacke und in Fig. 11 kaum erkennbar. Dafür tritt überall eine CO-Bande bei ca. 5,83  $\mu$  auf.

In Fig. 7 und Tabelle 5 sind am Schluss die Laufstrecken von vier Geninen angegeben, die ähnliche Polarität wie H, L und K zeigen. Wie ersichtlich, lassen sie sich aber von diesen differenzieren.

<sup>54)</sup> Aufgenommen von den Herren G. ROTZLER und K. STICH mit einem PERKIN-ELMER double beam IR.-Spektrophotometer Mod. 21 mit NaCl-Prisma.

Der eine von uns (O. P. M.) dankt dem MINISTRY OF EDUCATION, GOVERNMENT OF INDIA, auch hier bestens für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichte. Ferner danken wir dem BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT, Bern, für einen Beitrag an die Materialkosten aus Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung. Herrn Dr. E. WEISS danken wir für seine Hilfe bei der Korrektur des Manuskripts.

### Experimenteller Teil

Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis  $200^\circ \pm 2^\circ$ , darüber  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Bestimmung der opt. Drehung und zur Aufnahme der UV.- und IR.-Spektren wurden 1 Std. bei  $60\text{--}70^\circ$  und  $0,02$  Torr getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 5 Std. bei  $110^\circ$  und  $0,01$  Torr über  $P_2O_5$ , mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf oder Chf-Ae (1:4), je zweimal Waschen mit  $2N$  HCl,  $2N$   $Na_2CO_3$  und Wasser, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum. Die Adsorptionschromatographie wurde nach der Durchlaufmethode<sup>55)</sup> an alkalifreiem  $Al_2O_3$ <sup>56)</sup> oder  $SiO_2$ <sup>57)</sup> ausgeführt. Die Papierchromatographie<sup>31)32)</sup>, KEDDE-Reaktion<sup>19)</sup> und Farbreaktionen mit  $H_2SO_4$ <sup>46)</sup> nach früheren Angaben.

Es wurden die folgenden Abkürzungen benützt:  $(Ac)_2O$  = Acetanhydrid, AcOH = Eisessig, Ae = Diäthyläther, Alk = 96-proz. Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Di = Dioxan, Fmd = Formamid, Fr = Fraktion(en), Me = Methanol, ML = eingedampfte Mutterlauge, Pchr. = Papierchromatographie und Papierchromatogramm(c), Pe = Petroläther, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser. Verhältniszahlen beziehen sich, wo nichts anderes erwähnt, auf Volumteile.

### Untersuchung des Holzes

*Probe a.* 530 g getrocknete Stengel aus Indien wurden zerkleinert und portionsweise im «Turmix» mit insgesamt 2000 ml W fein gemahlen. Der Brei wurde mit 20 ml To versetzt und 2 Tage unter  $CO_2$  verschlossen bei  $37^\circ$  stengelassen. Dann wurde mit 2000 ml Alk vermischt und 16 Std. bei  $40^\circ$  stengelassen. Es wurde durch gewaschenes Kieselgur (Celite 535)<sup>58)</sup> abgenutscht und der Rückstand noch 8mal mit wässrigem Alk von steigender Konzentration, zuletzt mit 96-proz. Alk analog bei  $40^\circ$  extrahiert. Der verbliebene Rückstand war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum bei  $50^\circ$  auf 1000 ml eingengt, mit 1000 ml Alk versetzt und 4mal mit je 2000 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Auszüge wurden 2mal mit je 1000 ml 50-proz. Alk im Gegenstrom geschüttelt, getrocknet und eingedampft. Von den vereinigten wässrig-alkoholischen Lösungen (2850 ml) wurden 60 ml zur Prüfung auf Alkaloide verwendet (vgl. unten). Die Hauptmenge wurde wie üblich<sup>18)</sup> mit  $Pb(OH)_2$  gereinigt und bei pH = 6 im Vakuum auf 500 ml eingengt. Dann wurde wie üblich mit Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) erschöpfend ausgeschüttelt. Der rohe Ae-Extrakt wurde in 20 ml 70-proz. Me aufgenommen und 3mal mit je 20 ml Pe gewaschen. Die Pe-Lösungen wurden im Gegenstrom 3mal mit je 10 ml 70-proz. Me geschüttelt. Nach Trocknen und Eindampfen gaben sie noch 70 mg Pe-lösliches Material. Die Ausbeuten (A-Extrakte) vgl. Tabelle 1. In gleicher Weise wurde *Probe c* aus Süd-Rhodesien extrahiert (D-Extrakte).

*Prüfung auf Alkaloide.* 60 ml der oben genannten, von Fett befreiten, wässrig-alkoholischen Lösung (= 11,2 g Holz) wurden im Vakuum auf 25 ml eingengt, mit fester  $K_2CO_3$  bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt und 4mal mit 20 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Auszüge wurden 2mal mit  $2N$  HCl und 2mal mit W gewaschen, getrocknet und eingedampft; der Rückstand wog 0,804 g. Die HCl-Auszüge und Waschwässer wurden mit  $K_2CO_3$  bis zur alkalischen Reaktion auf Phenolphthalein versetzt und erneut mit Chf ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und getrockneten Chf-Extrakte hinterliessen beim Eindampfen 10,9 mg Rückstand. Dieser gab mit MAYER'S Reagens<sup>18)</sup> keine Fällung.

<sup>55)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Discuss. Farad. Soc. 7, 305 (1949).

<sup>56)</sup> WOELM neutral auf Aktivitätsstufe 2–3 abgeschwächt.

<sup>57)</sup> Silicagel «zur Chromatographie», Korngrösse 0,15–0,3 mm.

<sup>58)</sup> Produkt der JOHNS-MANVILLE INTERNATIONAL CORPORATION, New York.

Tabelle 8. *Chromatographie von 0,77 g Ae-Extr. A an 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fr.- Nr.	Lösungsmittel je 100 ml pro Fr.	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im Pchr. <sup>21)</sup>	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr. <sup>21)</sup>
1	Be-Chf-(75:25)	31,5	negativ	—	—	—
2	„ „ „ „	48,6	A	13,4	239–247°	A
3	„ „ -(50:50)	31,1	—	8,8	246–257°	A
4	„ „ „ „	26,8	A	4,8	253–258°	A
5–7	„ „ „ „	45,0	A, B	—	—	—
8	„ „ „ „	9,2	—	—	—	—
9–14	Chf	117	B	—	—	—
15–21	Chf-Me-(99,5:0,5) bis -(99:1)	88,3	D	—	—	—
22–26	Chf-Me-(98:2) bis -(95:5)	41,1	(E)	—	—	—
27–34	Chf-Me-(90:10) bis -(60:40)	78,7	C, (D)	—	—	—
35	Gemisch*) + 0,5% AcOH	11,1	C, (D)	—	—	—
36	„ „ „ „	73,2	C	7	206–211°	C
37–40	„ „ +1-2% „ „	12,8	C	—	—	—

\*) Gemisch gleicher Mengen Chf, Me und Äthylacetat.

*Untersuchung des Ae-Extrakts A.* 0,776 g des gereinigten Ae-Extr. A (= 310 g Holz aus Indien) wurde an 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Vgl. Tabelle 8.

Wie ersichtlich, war die Trennung relativ gut. Es wurde aber nur A (27 mg) und wenig C in Kristallen erhalten. Die anderen Fraktionen enthielten offenbar noch relativ viel KEDDE-negatives Material. Unter Berücksichtigung der Stärke der Flecke im Pchr. erlaubt die Tabelle eine relativ gute Schätzung der vorhandenen Mengen. Eine weitere Trennung dieses Materials erfolgte nicht.

*Untersuchung des Chf-Extrakts A.* 1,570 g Chf-Extr. A (= 420 g Holz aus Indien) wurden an 50 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, vgl. Tabelle 9.

Tabelle 9. *Chromatographie von 1,57 g Chf-Extr. A an 50 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fr.- Nr.	Lösungsmittel je 160 ml pro Fr.	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.
1–2	Be-Chf-(20:80)	51,7	negativ	—	—	—
3	Chf	19,3	—	—	—	—
4–7	„ „ „ „	64,4	B, D	24,8	228–246°	B, D
8–9	„ „ „ „	20,9	—	—	—	—
10	„ „ „ „	11,2	D	2,0	245–256°	D
11–12	Chf-Me-(99,5:0,5)	42,2	D	18,3	233–245°	D
13–14	„ „ -(99:1)	94,1	D	10,4	245–256°	D
15–17	„ „ -(98:2)	66,8	—	—	—	—
18–20	„ „ -(95:5)	106,3	C, E	—	—	—
21–23	„ „ -(90:10)	62,3	C, E	—	—	—
24–27	„ „ -(75:25)	137,1	C, (E)	2,0	246–252°	C, E
28–30	„ „ „ „	69,8	C, (E)	—	—	—
31	„ „ -(60:40)	12,7	—	—	—	—

Oszonprobe nach Hesse *et al.*<sup>49)</sup> bei Kristallgemisch aus Fr. 24–27 positiv. Eine weitere Trennung wurde mit diesem Material nicht durchgeführt.

*Orientierende Prüfung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts A.* 1,54 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. A (= 364 g Holz aus Indien) wurden in 150 ml W aufgenommen, die trübe Lösung mit 3 g Takaamylase<sup>28)</sup> versetzt, nach gründlicher Durchmischung 1 ml To zugegeben und unter CO<sub>2</sub> verschlossen 5 Tage bei 37° unter öfterem Durchschütteln stehengelassen. Dann wurde mit 1000 ml abs. Alk versetzt und durch eine dünne Schicht gewaschenes Kieselgur (Celite 535)<sup>58)</sup> filtriert. Das leicht trübe Filtrat wurde im Vakuum auf 30 ml eingengt, mit 300 ml abs. Alk versetzt und nochmals filtriert. Die klare Lösung wurde im Vakuum auf 30 ml eingengt, mit 100 ml W versetzt und im Vakuum ganz vom Alk befreit. Dann wurde je 3mal mit Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt und wie üblich gewaschen. Ausbeuten vgl. Tabelle 4.

### Untersuchung der Samen

*Vorversuche.* 290 g enthaarte Samen (Probe b aus Indien) wurden fein gemahlen und bei 20° erschöpfend mit Pe entfettet. Es resultierten 76,06 g Pe-Extr. (verworfen) und 211 g entfettetes Samenpulver.

1) *Vorversuch ohne Fermentierung.* 10 g entfettetes Samenpulver (= 13,75 g Samen) wurden mit 50 ml Alk 45 Min auf 70° erwärmt, dann wurde durch eine dünne Schicht gewaschenes Kieselgur (Celite 535<sup>58)</sup>) filtriert. Der Rückstand wurde noch 2mal gleich, dann noch 9mal mit Alk fallender Konzentration (zuletzt 50-proz.) bei 70° extrahiert. Der verbliebene Rückstand war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die wässrig-alkoholischen Auszüge wurden im Vakuum unter CO<sub>2</sub> auf 25 ml eingengt, mit 25 ml Alk versetzt und 3mal mit Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Auszüge gaben wenig grünes Öl (verworfen). Die wässrig-alkoholische Phase wurde wie üblich<sup>15 a)</sup> mit Pb(OH)<sub>2</sub> gereinigt, dann bei pH = 6 auf 20 ml eingengt und fraktioniert mit Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Ausbeuten vgl. Tabelle 2.

2) *Vorversuch mit Fermentierung.* 10 g entfettetes Samenpulver wurden mit 60 ml W angeeigt, mit 0,6 ml To versetzt und unter CO<sub>2</sub> verschlossen 4 Tage bei 37° stehengelassen. Dann wurde mit 60 ml Alk versetzt, auf 50° erwärmt und durch eine dünne Schicht gewaschenes Kieselgur filtriert. Der abgehobene Samenbrei wurde noch 14mal mit Alk steigender Konzentration bei 50° extrahiert. Weitere Verarbeitung wie oben gab die in Tab. 2 genannten Ausbeuten. Die restlichen 190 g entfettetes Samenpulver (= 261 g Samen aus Indien) wurden genau gleich (mit Fermentierung) extrahiert; Ausbeuten Tab. 3 (C-Extrakte).

*Extraktion der Hauptmenge.* 2340 g Samen (Probe b aus Indien) wurden wie oben mit Pe entfettet und lieferten 565 g grünes Öl (verworfen) sowie 1750 entfettetes Samenpulver. Von letzterem wurden 1000 g (= 1337 g Samen) mit Fermentierung extrahiert. Auf Pb(OH)<sub>2</sub>-Reinigung wurde hier verzichtet, sonst gleich verfahren wie bei Vorversuch 2). Ausbeuten vgl. Tab. 3 (B-Extrakte).

Tabelle 10. *Chromatographie von 1,87 g ML des Ae-Extr. B an 55 g SiO<sub>2</sub>*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel je 200 ml pro Fr.	Eindampfrückstand					Weitere Verarbeitung
		roh		Kristalle			
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	
1–17	Chf	673,8	negativ	—	—	—	verworfen
18–20	Chf-Me-(99:1)	62,4	„	—	—	—	
21	„ „ „	26,5	C, F	—	—	—	nicht getrennt
22	„ „ -(98:2)	78,0	C, F	2	ca. 230°	C, (F)	
23–25	„ „ „	279,6		182,8	231–241°	C, (F)	} Endpr.
26	„ „ „	20,4		—	—	—	
27–28	„ „ „	45,1	H	19,5	248–250°	H	} Endpr.
29–30	„ „ -(95:5)	166,9	H	62,7	247–251°	H	
31–32	„ „ „	76,4		—	—	—	

*Untersuchung der Ae-Extrakte.* – 1) Der Ae-Extr. B (2,749 g) gab aus Me-Ae 701,4 mg krist. C (= Calactin), nach Pchr. rein. Die ML (1,87 g) wurde in Chf gelöst und an 55 g SiO<sub>2</sub>, das mit 8 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> überschichtet war, chromatographiert (Tab. 10).

2. Der Ae-Extr. C (370 mg) gab aus Me-Ae 147 mg C (Calactin), das noch wenig F enthält. 63,3 mg davon wurden auf 20 Papierblättern im System Be-Chf-(3:7)/Fmd präparativ getrennt<sup>59)</sup> (Entwicklungszeit 15 Std.). Die Eluate der C-Zonen gaben nach Chromatographie an SiO<sub>2</sub> 37,4 mg weissen Schaum und aus Me-Ae 17,3 mg reines C in farblosen Blättchen, Smp. 240–248°. Die Eluate der F-Zonen lieferten nach Chromatographie an SiO<sub>2</sub> 10,8 mg Rohprodukt, das im Pchr. noch die beiden Flecke C und F zeigte. Auf eine Trennung wurde verzichtet.

Tabelle 11. Chromatographie von 3,31 g Kristallgemisch aus Chf-Extr. B an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Fr.-Nr.	Lösungsmittel 330 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	Weitere Verarbeitung
1–3 4–9	Chf-Be-(90:10) Chf	16,4 810,7	C, F	Gruppe I, nicht getrennt
10–28	Chf bis Chf-Me-(99:1)	1177	C, F, (H)	Gruppe II Chromatogr. an SiO <sub>2</sub> , Tab. 12
29–38	Chf-Me-(98:2) bis -(95:5)	584	C, (H), (I), (K)	Gruppe III Chromatogr. an SiO <sub>2</sub> , Tab. 13
39–42	Chf-Me-(95:5) bis -(90:10)	48		Gruppe IV, nicht getrennt
Total		2576,1		

Tabelle 12. Chromatographie von 1,177 g Kristallgemisch Gr. II von Tabelle 11 an 36 g SiO<sub>2</sub>

Fr.-Nr.	Lösungsmittel 120 ml pro Fr.	Eindampfrückstand					Weitere Verarbeitung
		roh		Kristalle			
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	
1–14	Chf	16,8	negativ	—	—	—	verworfen nicht getrennt
15–23	„	187,4	F, (C)	—	—	—	
24	Chf-Me-(99,5:0,5)	72,2	F, C	—	—	—	„
25–31	„ „ „	612,0	C, (F)	704,5	248–257°	C, (F)	Endpr.; ML zur nochmaligen Chromatogr.
32–36	„ „ -(99:1)	226,6	C				
37	„ „ „	16,4	C, (H)	—	—	—	nochmalige Chromatogr.
38–39	„ „ -(98:2)	23,3	C, H	—	—	—	
40–41	„ „ -(96:4)	25,3	H usw.	—	—	—	Endpr.; ML zur nochmaligen Chromatogr.
42	„ „ „	10,3	„ „	4,0	251–256°	H	
43–46	„ „ -(90:10)	13,3	„ „				

Die Kristalle aus Fr. 25–36 waren fast reines C, enthielten nur eine Spur F.

<sup>59)</sup> E. v. ARX & R. NEHER, Helv. 39, 1664 (1956).

*Untersuchung der Chf-Extrakte.* – Der *Chf-Extr. B* (6,543 g) gab aus Me-Ae 3,31 g Kristalle, Smp. 228–235°, die im Pchr. noch die Flecke C, F, H, I und K zeigten. Die ganze Kristallmenge wurde an 100 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Aktivitätsstufe 2)<sup>60)</sup> chromatographiert, wobei jedoch nur eine sehr geringe Trennung eintrat. Das Eluat wurde in vier Gruppen zusammengefasst (Tab. 11), von denen nur die Gruppen II und III weiter getrennt wurden, vgl. Tab. 12 und 13.

Tabelle 13. *Chromatographie von 0,584 g Kristallgemisch Gr. III von Tabelle 11 an 17,5 g SiO<sub>2</sub>*

Fr.- Nr.	Lösungsmittel je 60 ml pro Fr.	Eindampfrückstand					Weitere Verarbeitung
		roh		Kristalle			
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	
1–16	Chf	20,1	(F)	—	—	—	} nochmalige Chromatogr.
17	„	11,9	C, (F)	—	—	—	
18–21	„	69,4	C, (F)	48,3	—	C, (F)	
22–35	Chf-Me-(99,5:0,5) bis -(99:1)	442,1	C	377,1	243–250°	C	} ML für noch- malige Chrom.
36–37	Chf-Me-(99:1)	13,7	C, H	—	—	—	
38	„ „ -(98:2)	9,1	—	—	—	—	} nochmalige Chromatogr.
39–44	„ „ -(98:2) bis -(90:10)	40,0	H, I, K	—	—	—	

Die Kristalle aus Fr. 22–35 waren sehr reines C. Von den ML der 3,31 g Kristalle aus dem *chf-Extr. B* wurden 2,85 g an 80 g SiO<sub>2</sub>, das mit 5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> überschichtet war, chromatographiert. Fraktionen je 300 ml.

Die Fr. 1–15 (208 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1)) waren ein amorphes Gemisch (nicht getrennt).

Fr. 16 (411,4 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gab aus Chf-Pe 307,7 mg krist. F, Smp. 221–230°, nach Pchr. rein.

Die Fr. 17–18 (1107,9 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gaben aus Methanol-Äther 809,5 mg Kristallgemisch F (C) (nicht getrennt).

Fr. 19 (105,7 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gab analog noch 43,7 mg Kristallgemisch C (F) (nicht getrennt).

Fr. 20 (33 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gab aus Me-Ae 4,8 mg reines C.

Fr. 21 (13,4 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) blieb amorph.

Die Fr. 22–24 (321,8 mg, eluiert mit Chf-Me-(95:5)) gaben aus An-Ae 106,9 mg fast reine Subst. H, die noch ein wenig I enthielt.

Die Fr. 25–30 (232 mg, eluiert mit Chf-Me-(90:10)) enthielten nach Pchr. H, I und K. Sie wurden nicht getrennt.

Der *Chf-Extr. C* gab aus Me-Ae 284,4 mg Kristalle, die ebenfalls an SiO<sub>2</sub> chromatographiert wurden und ganz analoge Resultate lieferten.

### Beschreibung der isolierten Stoffe

*Subst. A* = *Uzarigenin* aus *Pergularia extensa*. Aus Me-Ae farblose, vierkantige Prismen, Smp. 244–258°,  $[\alpha]_D^{25} = +12,2 \pm 2^\circ$  ( $c = 1,12$  in Alk). Nach Mischprobe, Pchr. und Farbreaktionen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> identisch mit authentischem *Uzarigenin*.

C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (374,5) Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,63 H 9,51%

*Acetylderivat*. 27,1 mg Subst. A wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,3 ml (Ac)<sub>2</sub>O 18 Std. auf 37° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 26,3 mg Rohprodukt. Aus Chf-Pe 16,5 mg hexagonale oder rhombische Blättchen. Nach Umkristallisieren 13,9 mg, Smp. 260–269°,  $[\alpha]_D^{25} = +6,6 \pm 2^\circ$

<sup>60)</sup> H. BROCKMANN & H. SCHODDER, Ber. deutsch. chem. Ges. 74, 73 (1941); G. HESSE, I. DANIEL & G. WOHLLEBEN, Angew. Chem. 64, 103 (1952).

( $c = 1,36$  in Chf). Nach Mischprobe und Farbreaktionen identisch mit authentischem 3-O-Acetyluzarigenin.

*Subst. C = Calactin aus Pergularia extensa.* Aus Me-Ae farblose sechseckige Blättchen, aus An kleine Prismen, Smp. 270–272°,  $[\alpha]_D^{25} = +70,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,79$  in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr. identisch mit authentischem Calactin aus *Calotropis procera*. UV.- und IR.-Spektren sowie Prüfung auf Zucker usw. vgl. Theoret. Teil. Der Stoff blieb unverändert bei Behandlung mit Schneckenerment, mit 0,5N  $H_2SO_4$  und 5-proz.  $KHCO_3$  in wässrigem Methanol bei 20°. Gewichtsverlust bei Trocknung 2,68%. Der Stoff war N- und S-frei.

$C_{29}H_{40}O_9$  (532,6) Ber. C 65,39 H 7,57 O 27,04% Gef. C 65,19 H 7,98 O 27,61%

Chloroformverbindung aus Chf-Pe: Smp. 234–246°, Gewichtsverlust bei Trocknung 1,1%.

$C_{29}H_{40}O_9 + 1/2 CHCl_3$  Ber. C 59,80 H 6,84 O 24,3 Cl 9,06%  
(592,3) Gef. „ 58,96 „ 7,19 „ 23,8 „ 10,32%

Acetyl- und Benzoyl-Derivat blieben auch nach Chromatographie amorph.

*Subst. D = Coroglaucigenin aus Pergularia extensa.* Aus Me-Ae feine, farblose, verfilzte Nadeln, Smp. 248–256°,  $[\alpha]_D^{25} = +25,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,78$  in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr. identisch mit authentischem Coroglaucigenin.

*Acetylderivat.* 4 mg Subst. D wurden wie oben acetyliert. Das Rohprodukt gab aus Alk-Ae farblose rechteckige Blättchen, Smp. 216–2220°. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr. (System: Be-Fmd, 2 $\frac{1}{2}$  Std.) identisch mit authentischem Di-O-acetyl-coroglaucigenin.

*Subst. F = Calotropin aus Pergularia extensa.* Aus An farblose, zu Rosetten vereinigte Blättchen, Smp. 234–240°,  $[\alpha]_D^{25} = +64,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,06$  in Me). UV.-, IR.-Spektren und Reaktionen vgl. Theoret. Teil. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr. identisch mit authentischem Calotropin aus *Calotropis procera*. Gewichtsverlust bei Trocknung 2,2%.

$C_{29}H_{40}O_9$  (532,6) Ber. C 65,39 H 7,57 O 27,04% Gef. C 65,12 H 7,75 O 27,23%

*Subst. H = Calotropagenin aus Pergularia extensa.* Aus Me-Ae farblose Würfel, Smp. 248–255°,  $[\alpha]_D^{25} = +45,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,06$  in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr. identisch mit authentischem Calotropagenin. UV.-, IR.-Spektren und Reaktionen vgl. Theoret. Teil.

$C_{23}H_{32}O_8$  (404,5) Ber. C 68,29 H 7,97% Gef. C 68,09 H 8,03%

Tabelle 14. Farbreaktionen mit 84-proz.  $H_2SO_4$  (R = Rand)

Zeit in Min.	Subst. C = Calactin	Subst. F = Calotropin	Subst. H = Calotropagenin
1	zitronengelb	zitronengelb	gelb
2	gelb	gelb	gelb
5	gelborange	gelborange	dunkelgelb
10	orange	orange	dunkelgelb
15	orange, violetter R	orange, violetter R	dunkelgelb, violetter R
30	violett	violett	violett
60	blass rosa	blass rosa	blass rosa
120	fast farblos	fast farblos	fast farblos

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor des Instituts ausgeführt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Stengel von *Pergularia extensa* (JACQ.) N. E. BR. aus Indien enthielten zahlreiche Cardenolide. In reinen Kristallen wurden daraus Uzarigenin (A) und Coroglaucigenin (D) isoliert. Papierchromatographisch liessen sich 8 weitere Cardenolide (B, C, E, L, M, N, O, P) nachweisen. Von diesen zeigten B und C gleiche Laufstrecken wie Corotoxigenin und Calactin. Die Samen derselben Pflanze aus Indien lieferten

Calactin (C), Calotropin (F) und Calotropagenin (H) in Kristallen. Papierchromatographisch waren 8 weitere Cardenolide (G, I, K, L, M, N, O, P) nachweisbar. Von diesen zeigten I und K Laufstrecken wie Calotoxin und *al*-Dihydro-calotropagenin.

Bei *Pergularia* aus Südrhodesien liessen sich papierchromatographisch in den Stengeln A, C, D, E, F, M, N und P, und in den Samen C, F, H, L, M, N, O und P nachweisen.

Organisch-chemisches Institut der Universität Basel

## 106. Reduktiver Abbau von Calactin zu einem Trihydroxy-lacton $C_{23}H_{36}O_5$ (Desoxo-dihydrocalotropagenin?) und Vergleich desselben mit Hydrierungsprodukten von Digoxigenin und Sarmetogenin<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglykone, 228. Mitteilung<sup>2)</sup>

von O. P. MITTAL, Ch. Tamm, Ek. Weiss und T. Reichstein

(7. III. 62)

Aus dem Milchsaft von *Calotropis procera* R. BR. (*Asclepiadaceae*) konnten HESSE und Mitarb. <sup>3)4)5)</sup> fünf krist. glykosidische Giftstoffe isolieren, nämlich Calactin, Calotoxin, Uscharin, Voruscharin und Uscharidin. Aus den Stengeln und Blättern derselben Pflanze wurden Calotropin und Calotropagenin erhalten<sup>6)</sup>. Das Letztere stellt das gemeinsame Aglykon der sechs anderen Stoffe dar<sup>4)7)</sup>. Für Calotropagenin,  $C_{23}H_{32}O_6$ , ist von HASSALL & REYLE<sup>8)</sup> Formel I vorgeschlagen worden. Nach HESSE und Mitarb. <sup>9)10)</sup> könnte sich die im Ring C angenommene Hydroxylgruppe aber auch in 11-Stellung befinden, so dass sie vorläufig Formel II vorziehen<sup>11)</sup>. Diese Formel ist aber keineswegs bewiesen, sondern stützt sich vor allem auf folgende Befunde:

Calotropagenin und die oben genannten Derivate zeigen digitalisartige Wirkung<sup>4)</sup>. Sie liefern bei der Dehydrierung mit Selen unter anderem den DIELS'schen Kohlen-

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. O. P. MITTAL, Basel 1958.

<sup>2)</sup> 227. Mitteilung: O. P. MITTAL, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 907 (1962).

<sup>3)</sup> G. HESSE, F. REICHENEDER & H. EYSENBACH, *Liebigs Ann. Chem.* 537, 67 (1939).

<sup>4)</sup> G. HESSE, L. J. HEUSER, E. HÜTZ & F. REICHENEDER, *Liebigs Ann. Chem.* 566, 130 (1950).

<sup>5)</sup> G. HESSE & G. LETTENBAUER, *Angew. Chem.* 69, 392 (1957).

<sup>6)</sup> G. HESSE & F. REICHENEDER, *Liebigs Ann. Chem.* 526, 252 (1936).

<sup>7)</sup> G. HESSE & G. LETTENBAUER, *Liebigs Ann. Chem.* 623, 142 (1959).

<sup>8)</sup> C. H. HASSALL & K. REYLE, *Chemistry & Ind.* 1956, 487; *J. chem. Soc.* 1959, 85.

<sup>9)</sup> W. GEIGER, G. HESSE, G. LETTENBAUER & H. SCHILDKNECHT, *Naturwiss.* 44, 328 (1957).

<sup>10)</sup> G. HESSE, W. GEIGER & G. LETTENBAUER, *Liebigs Ann. Chem.* 625, 167 (1959).

<sup>11)</sup> 11 $\alpha$ - und 12 $\beta$ -Hydroxycardenolide lassen sich durch die Fluoreszenzreaktion mit Trichloroessigsäure- $\alpha$ -Chloramin T<sup>12)</sup> nach JENSEN<sup>13)</sup> unterscheiden. Sarmetogenin (XI) gibt eine gelbe und Digoxigenin (VIII) eine hellblaue Fluoreszenz. Calotropagenin liefert ebenfalls eine hellblaue Färbung<sup>13)</sup>, was für die 12-Stellung (Formel I) spricht.

<sup>12)</sup> K. B. JENSEN, *Acta pharmacol. toxicol.* (Kopenhagen) 9, 99 (1953); K. B. JENSEN & K. TENNÖE, *J. Pharmacy Pharmacol.* 7, 334 (1955).

<sup>13)</sup> Ausgeführt von C. JUSLÉN.