

90. Die Cardenolide der Samen von *Strophanthus vanderijstii* STANER [1]¹⁾

3. Mitteilung [2]. Identifizierung und Konstitutionsermittlung der wasserlöslichen Glykoside

Glykoside und Aglykone, 255. Mitteilung [3]

von K. Brenneisen, J. v. Euw, Ch. Tamm und T. Reichstein

(22. II. 64)

In vorstehender Mitteilung [2] beschrieben wir die Trennung der wasserlöslichen Glykoside, die aus den Samen von *Strophanthus vanderijstii* STANER nach Einwirkung des wasserlöslichen Teils der in den Samen anwesenden Fermente erhalten wurden. Dank papierchromatographischen Methoden, teilweise in Kombination mit fermentativem Abbau (der zum Teil erst hier beschrieben wird), liessen sich insgesamt 19 Cardenolide nachweisen, die mit den Buchstaben G, H, J, K, L₁, L₂, L₃, M₁, M₂, M₃, M₄, M₅, O, P₁, P₂, Q₁, Q₂, Q₃ und R bezeichnet wurden. Von diesen wurden die Stoffe G, H, J, K, L₁, L₂, L₃ und M₁ in einheitlichen Kristallen isoliert, O und P₂ wurden in amorpher aber papierchromatographisch reiner Form erhalten. P₂ lieferte ferner ein krist. O-Acetylderivat. Auch M₂ und M₃ liessen sich als krist. O-Acetyl-derivate isolieren. Die übrigen Stoffe wurden nur in Form amorpher Gemische erhalten; ihr Bau liess sich trotzdem durch fermentativen oder chemischen Abbau teilweise erschliessen. Im folgenden wird über die Identifizierung sowie über die Versuche zur Konstitutionsermittlung berichtet.

Methodik. – Auf Grund der Wasserlöslichkeit war zu erwarten, dass einige der genannten Stoffe Di- oder Triglykoside darstellen. Aus diesem Grunde wurden zunächst Abbauversuche mit Schneckenferment²⁾ im Mikromaßstab durchgeführt. Die Kontrolle erfolgte im Papierchromatogramm³⁾, in Einzelfällen auch durch präparative Isolierung der Spaltstücke. Unter den benützten Bedingungen wird, soweit bekannt, nur endständig gebundene D-Glucose hydrolytisch abgespalten. Ein negatives Ergebnis spricht aber nicht unbedingt gegen das Vorliegen eines endständigen D-Glucopyranosyl-Restes⁴⁾. Zur Erkennung von gebundenen 2-Desoxyzuckern diente die Xanthhydrol-Reaktion [7], für endständig gebundene 2-Desoxyzucker auch die KELLER-KILIANI-Reaktion (Ausführung nach [8]). Zum Nachweis normaler Zucker wurden kleine Proben mit KILIANI-Mischung⁵⁾ energisch hydrolysiert und der wie üblich isolierte Zucker [10] im Papierchromatogramm untersucht⁶⁾. Zum Nachweis des Genins wurde bei Anwesenheit von 2-Desoxyzucker mild hydrolysiert⁷⁾ und das

1) Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 826.

2) Abbau von Cardenolid-Glykosiden mit dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke, *Helix pomatia* vgl. [4]. Wir haben ein nach [5] hergestelltes Trockenpräparat verwendet.

3) Nachweis der Gene und Monoglykoside vgl. Fig. 1–6 in vorstehender Mitteilung [2].

4) *Digitalinum verum* wird von Schneckenferment nur langsam zu Strospesid abgebaut [6].

5) Gemisch von 3,5 ml AcOH, 5,5 ml Wasser und 1 ml konz. HCl [9].

6) Zum Nachweis der Digitalose diente das System To-Bu-(1:1)/W, 40 Std., vgl. [11]. Für D-Glucose diente Bu/W, 48 Std., Entwicklung mit Anilinium-hydrogenphthalat nach [12].

7) Nach [13]; hier leicht modifiziert, vgl. Exp. Teil.

Bewiesener oder vermutlicher Bau der stark wasserlöslichen Cardenolid-Glykoside von Strophanthus vanderijstii^{a)}

Glykosid	Kristallisiert Spaltbarkeit mit Schneckenferment		Genin	Erster Zucker	Zweiter Zucker	Dritter Zucker
G = Sarnovid	+	-	Sarmentogenin	D-Digitalose	—	—
H = Periplogenin- β-D-glucosid	+	+	Periplogenin	D-Glucose	—	—
J = Callengosid	+	-	(C ₂₃ H ₃₄ O ₆) (?)	(Digitalose)	—	—
K = Bipindalosid	+	-	Bipindogenin	(Digitalose)	—	—
L ₁ = Kisantosid	+	-	(C ₂₃ H ₃₄ O ₆)	(Digitalose)	(Hexose ?)	—
L ₂	+					
L ₃	+					
M ₁ = Sargenosid	+	-	Sarmentogenin	D-Digitalose	D-Glucose	—
M ₂	-	+			((D-Glucose))	—
M ₃ = Odorotriosid-G	-	+	Digitoxigenin	D-Digitalose	D-Glucose	D-Glucose
M ₄ = Digluco- digitoxigenin	-	+	(Digitoxigenin)	((D-Glucose))	((D-Glucose))	—
M ₅ = Digluco- periplogenin	-	+	(Periplogenin)	((D-Glucose))	((D-Glucose))	—
O = Digluco- vandersosid	-	+	Periplogenin	D-Diginose	((D-Glucose))	((D-Glucose))
P ₁	-	+				
P ₂ = Digluco- sarmentocymarin	-	+	Sarmentogenin	D-Sarmentose	((D-Glucose))	((D-Glucose))
Q ₁ = Digluco- kwangosid	-	+	(Sarmentogenin)	(D-Diginose)	((D-Glucose))	((D-Glucose))
Q ₂ = Digluco- emicymarin	-	+	(Periplogenin)	(D-Digitalose)	((D-Glucose))	((D-Glucose))
Q ₃ = Gluco- kisantosid (?)	-	+	(C ₂₃ H ₃₄ O ₆)	(Digitalose)	(Hexose ?)	((D-Glucose))
R	-					

^{a)} Leeres Feld in dritter Kolonne bedeutet: Reaktion nicht ausgeführt. In Klammern: nur papierchromatographisch nachgewiesene Produkte. D-Glucose in Doppelklammern bedeutet, dass die Anwesenheit dieses Zuckers nur auf Grund der Spaltbarkeit mit Schneckenenzym erschlossen wurde.

Genin durch Papierchromatographie charakterisiert, womöglich auch präparativ isoliert. Waren nur normale Zucker vorhanden, so wurde mit HCl in Aceton nach MAN-NICH & SIEWERT [14] hydrolysiert^{b)} und das Genin wiederum durch Papierchromato-

^{b)} M₁ war in Aceton praktisch unlöslich, so dass diese Methode nicht angewendet werden konnte. Die Hydrolyse gelang mit 1-proz. HCl in Me.

graphie identifiziert. Zum Nachweis von 16-Hydroxycardenoliden diente die Fluoreszenzreaktion nach PESEZ [15]⁹⁾ (Resultate vgl. vorstehende Mitteilung [2], Tab. 3).

Aus dem Ausfall dieser Reaktionen, in Kombination mit den Spektren [2], Farbreaktionen mit H_2SO_4 , sowie den analytischen Daten ergaben sich die in der Tabelle zusammengestellten Ergebnisse und Schlussfolgerungen. Es war zunächst möglich, G, H, K, M_1 und M_3 (als krist. O-Acetylderivat) mit Glykosiden bekannter Konstitution zu identifizieren. Ferner zeigte es sich, dass es sich bei den anderen vermutlich um neue Glykoside handeln muss. J und L_1 scheinen für *Strophanthus vanderijstii* besonders typisch zu sein. Die Struktur dieser Stoffe ist unbestimmt, und es werden Trivialnamen für sie vorgeschlagen. Der Bau von M_4 , M_5 , O, P_2 , Q_1 und Q_2 ist weitgehend, derjenige von Q_3 teilweise abgeklärt, obwohl die meisten dieser Stoffe nicht rein erhalten werden konnten. Im folgenden werden die genannten Stoffe einzeln kurz besprochen.

Besprechung der isolierten Stoffe¹⁰⁾. – G = *Sarnovid*. Dieser in grössten Mengen erhaltene Stoff wurde nach Mischprobe und Laufstrecke im Papierchromatogramm mit authentischem Material [16] identifiziert.

H = *Periplogenin-(3)- β -D-glucosid*. Der Stoff liess sich nur schwer von J (Callengosid) trennen, so dass nur eine kleine Menge Kristalle rein erhalten werden konnte. Auf Grund der Analysen, Farbreaktionen sowie der Reaktion mit Schneckenferment wurde vermutet, dass Periplogenin- β -D-glucosid vorliegt. Ein mit 4 mg Glykosid H durchgeführter fermentativer Abbau lieferte krist. Periplogenin; die D-Glucose liess sich papierchromatographisch nachweisen. Bei der Acetylierung lieferte H ein krist. O-Acetylderivat. – Periplogenin-(3)- β -D-glucosid ist von ELDERFIELD, UHLE & FRIED [17] schon 1947 teilsynthetisch bereitet worden. Der scheinbar verschiedene Smp. ist durch Kristallwassergehalt bedingt. Das Originalpräparat¹¹⁾ war bei direktem Vergleich nach Smp., Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen und Laufstrecken in Papierchromatogrammen mit H identisch. Die β -pyranoide Bindung folgt aus der molekularen Drehung sowie aus der Synthese.

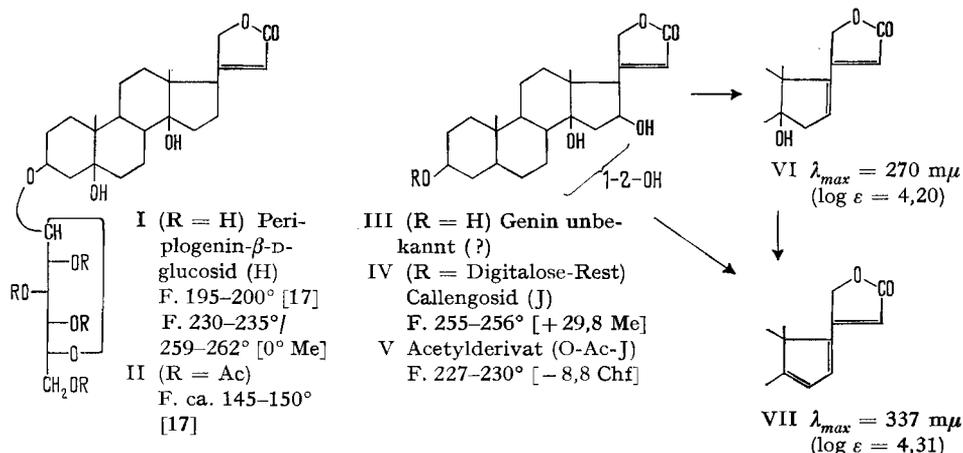
J = *Callengosid*. Soweit wir feststellen konnten, lag ein neuer Stoff vor, dessen Struktur noch unsicher ist. Die Analyse passte am besten auf $C_{30}H_{46}O_{10}$ mit einer Methoxylgruppe. Die Bruttoformel $C_{30}H_{46}O_{11}$ ist aber nicht auszuschliessen (siehe unten). Zu diesen Formeln passt, dass bei energischer Hydrolyse nur Digitalose als Zucker papierchromatographisch nachweisbar war.

Auch die Höhe des Maximums bei 217 $m\mu$ ist mit obigen Formeln gut verträglich. Das UV.-Absorptionsspektrum (Kurve J in Fig. 10, vorstehende Mitteilung [2]) zeigt ausserdem bei 265–285 $m\mu$ eine Schulter ($\log e = 2,06-1,80$), die vermutlich von einer

⁹⁾ Reaktion auch gut mit $SbCl_3$ auf Papier ausführbar, vgl. [13], Fussnote 36 und Einleitung Exp. Teil daselbst. Die Reaktion ist ebenso positiv bei 16-O-Acyl- sowie 16-Anhydro-gitoxigenin-Derivaten.

¹⁰⁾ Verhalten gegen Schneckenferment vgl. Tab. 1. In vorstehender Mitteilung [2] findet sich eine Zusammenstellung der vermutlichen Bruttoformeln, der Gruppenreaktionen sowie der Maxima im UV. in Tab. 3, Kurven der UV.-Spektren in Fig. 10–11 daselbst [2], Farbreaktionen mit H_2SO_4 in Tab. 4 [2].

¹¹⁾ Wir danken Herrn Dr. F. C. UHLE, Harvard Medical School, Boston USA, auch hier bestens für die Überlassung einer Probe des Originalpräparats.



kleinen Menge eines Carda-16,20:22-dienolids¹²⁾ herrührt. Dies ist leicht verständlich. Nach dem positiven Ausfall der Fluoreszenz-Reaktion nach PESEZ [15] (vorstehende Mitteilung [2], Tab. 3) dürfte Callengosid die Teilformel III besitzen. Dies liess sich weiter erhärten. Nach Behandlung mit konz. HCl bei 0° zeigte das erhaltene Rohprodukt im UV. ein Maximum bei 335 $\text{m}\mu$, $\log \epsilon = 3,88$ (Fig. 10 in vorstehender Mitteilung [2]). Dies ist charakteristisch für Carda-14,16-20:22-trienolide (Typus VII), die aus Gitoxigeninderivaten III in dieser Weise leicht entstehen [18]¹³⁾. Ferner ist bekannt, dass Gitoxigeninderivate III leicht in Anhydroverbindungen VI übergehen. Callengosid enthielt nach dem IR.-Spektrum (fest in KBr) keine O-Acetylgruppe. Bei der Acetylierung lieferte es aber ein krist. O-Acetylderivat, dessen Analyse auffallenderweise aber auch nach guter Trocknung nur auf eine sauerstoffreichere Formel $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{14}$ (oder $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_{15}$) bzw. auf ein Hydrat $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{13} + \text{H}_2\text{O}$ ($\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_{14} + \text{H}_2\text{O}$) passte¹⁴⁾.

Callengosid gibt mit H_2SO_4 eine sehr auffallende karminrote Färbung. Praktisch gleiche Färbung zeigte Adonitoxin [19] sowie 16 β -Hydroxystrophanthidin¹⁵⁾ und seine Glykoside. Beide enthalten auch eine Hydroxygruppe in 16-Stellung (entspr. Teilformel III). Ausserdem enthalten beide eine Aldehydgruppe an C-10. Da Callengosid nach dem UV.-Spektrum (Fig. 10 in vorstehender Mitteilung [2]) keine solche enthalten kann, dürfte ihm weder Adonitoxigenin noch 16 β -Hydroxystrophanthidin als Genin zugrunde liegen, wie dies ursprünglich vermutet wurde. Wir glauben daher, dass es ein noch unbekanntes Genin der Teilformel III enthält.

¹²⁾ Diese zeigen ein Maximum bei ca. 270 $\text{m}\mu$, $\log \epsilon = 4,20$, vgl. HERB. JÄGER *et al.* [13] und frühere Lit. daselbst.

¹³⁾ Dianhydro-gitoxigenin (Typ VII) zeigt ein Maximum bei 337,5 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,31$). Die gefundene Extinktion ($\log \epsilon = 3,88$) würde dafür sprechen, dass das Rohprodukt etwa 37% Trien VII enthalten hatte.

¹⁴⁾ Es besteht daher die Möglichkeit, dass Callengosid sich von einem Genin der Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_7$ ableitet, dass die Analyse des freien Glykosids falsch war und dass das O-Acetylderivat die Formel $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{14}$ oder $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_{15}$ besitzt.

¹⁵⁾ 16 β -Hydroxystrophanthidin wurde erstmals von ROSENMUND & REICHSTEIN [19] aus *Adonis vernalis* isoliert (vgl. Verseifung des hochschmelzenden Acetats), erneute Isolierung und Konstitutionsermittlung durch PITRA & ČEKAN [20].

$K = \text{Bipindalosisid}$. Dieses Glykosid ist erstmals aus *S. vanderijstii* in Kristallen isoliert [2] und als krist. Tri-O-acetyl-Derivat charakterisiert worden. Auf Grund der Farbreaktionen und der Gruppenreaktionen ist vermutet worden, dass ihm Bipindogenin als Genin zugrunde liegt. Das Glykosid ist seither aus den Samen von *S. sarmentosus* isoliert [21] und seine Struktur abgeklärt worden [22].

$L_1 = \text{Kisantosid}$. Auch hier lag, soweit wir feststellen konnten, ein neuer Stoff vor, dessen Struktur und Bruttoformeln ganz unsicher sind. Wegen Materialmangel konnte nur eine Methoxylbestimmung ausgeführt werden. Auf Grund der positiven Fluoreszenzreaktion (vorstehende Mitt. [2], Tab. 3) dürfte Kisantosid auch eine 16-ständige HO- oder AcO-Gruppe (Typus III) enthalten. Obwohl Kisantosid von Schneckenferment nicht angegriffen wurde (s. Tabelle), besteht die Möglichkeit, dass es zwei Zucker enthält. Nach energischer saurer Hydrolyse wurden im Papierchromatogramm zwei Flecke erhalten, einer entsprechend Digitalose und ein zweiter entsprechend einer Hexose (vermutlich Glucose). Auch die Höhe des Maximums im UV. bei $217 \text{ m}\mu$ wäre mit der Bruttoformel eines Diglykosids $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{15}$ (Tab. 3, [2]) noch verträglich. Nach MANNICH-Spaltung wurde ein Genin (?) erhalten, das im Papierchromatogramm (R_f in To-Bu-(4:1)/W (35%) = 0,303) dieselbe Laufstrecke zeigte wie Sarmentosigenin A [23]. Dies ist aber Zufall, denn die Anhydrogenine α , β und γ , die bei analoger Behandlung von Sarmentosid A in reichlicher Menge entstehen [23] wurden hier nicht beobachtet; ausserdem gibt Sarmentosigenin A die Fluoreszenzreaktion nach PESEZ [15] nicht.

Glykoside L_2 und L_3 . Diese zwei Stoffe wurden nur in Spuren in Kristallen isoliert. Im Papierchromatogramm zeigten beide nahezu gleiche Laufstrecken wie L_1 . Die drei Stoffe unterscheiden sich aber deutlich durch ihre Schmelzpunkte und Farbreaktionen mit H_2SO_4 . Weitere Reaktionen konnten nicht ausgeführt werden.

$M_1 = \text{Sargenosid}$. Dieser Stoff wurde früher in den Samen von *Strophanthus sarmentosus* nachgewiesen [24] und in Form seines gut krist. Hexa-O-acetyl-Derivats isoliert; sein Bau als Glucosylsarnovid ist bis auf die genaue Stellung des Glucoserestes abgeklärt [24]. Hingegen ist das freie Glykosid hier erstmals in Kristallen erhalten worden.

Die Analysenwerte von krist. M_1 passten auf die Formel $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{14} + \text{H}_2\text{O}$ mit einer Methoxylgruppe. Acetylierung lieferte ein krist. O-Acetylderivat, bei dem es sich (vgl. unten) um ein Hexa-O-acetyl-Derivat handeln muss, dessen Analyse auf $\text{C}_{48}\text{H}_{68}\text{O}_{20} + \text{H}_2\text{O}$ passte. Die UV.-Spektren waren damit verträglich. M_1 wurde von Schneckenferment nicht oder höchstens spurenweise angegriffen. Nach energischer Hydrolyse mit KILIANI-Mischung⁵⁾ war im Papierchromatogramm aber neben Digitalose auch Hexose (vermutlich Glucose) nachweisbar. Eine Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [14] war nicht durchführbar, da M_1 in Aceton praktisch unlöslich ist. Nach mehrtägigem Stehen mit 1-proz. HCl in Methanol zeigte sich im Papierchromatogramm aber ein Fleck mit der Laufstrecke von Sarmentogenin.

Diese Resultate liessen vermuten, dass M_1 mit dem erwähnten Sargenosid [24] identisch sein könnte. Die Identität liess sich durch direkten Vergleich von O-Acetyl- M_1 mit Hexa-O-acetyl-sargenosid nach Mischprobe, Farbreaktionen und Laufstrecke im Papierchromatogramm (System von Fig. 7 in vorstehender Mitt. [2]) eindeutig beweisen. Es war ferner bekannt, dass in Hexa-O-acetyl-sargenosid bei milder alkalischer Verseifung zur Hauptsache nur die im Glucoseanteil haftenden Acetylgruppen

hydrolysiert werden, wobei in guter Ausbeute ein krist. Di-O-acetyl-Derivat entsteht [24]. Hexa-O-acetyl-M₁ gab bei solcher Behandlung ein Rohprodukt, das im Papierchromatogramm den Fleck des Di-O-acetyl-sargenosids (Rf = 0,79 in To-Bu-(2:1)/W) sehr stark zeigte. Es ist auffallend, dass Sargenosid mit Schneckenferment nicht (oder nur äusserst schwer) spaltbar ist, obwohl es einen endständigen β -D-Glucosylrest enthält. Das Ergebnis steht aber in Einklang mit früheren Beobachtungen [24], wonach Behandlung von Di-O-acetyl-sargenosid mit Schneckenferment eine teilweise Entfernung der Acetylgruppen bewirkt, ohne Abspaltung der D-Glucose. Auch mit Strophanthobiase aus den Samen von *Strophanthus kombé* sowie mit dem sonst sehr wirksamen Enzympräparat [25] aus den Samen von *Adenium multiflorum* liess sich Sargenosid nicht spalten [24]. *Digitalinum verum*, das dieselbe Zuckerkombination enthält wie Sargenosid, wird zwar von Strophanthobiase kaum und von Schneckenferment schwer angegriffen, vom Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum* [25] aber glatt gespalten [26].

Die Kombination D-Digitalose \leftarrow D-Glucose scheint in Cardenoliden relativ häufig zu sein.

Die weiteren Komponenten der M-Gruppe¹⁶⁾. Nach Abtrennung von krist. M₁ verblieb ein amorphes Gemisch, das vermutlich 5 Stoffe (M₁, M₂, M₃, M₄ und M₅) sowie noch ein nicht benanntes leicht hydrolysierbares Periplogenin-Glykosid enthielt, die im Papierchromatogramm alle fast gleiche Laufstrecken zeigten. Nach Acetylierung einer Probe eines solchen Gemisches liessen sich durch Chromatographie die krist. O-Acetyl-derivate von M₂ und M₃ isolieren (siehe unten). Dass im amorphen Gemisch noch mindestens zwei weitere Komponenten (M₄ und M₅) anwesend waren, liess sich durch enzymatischen Abbau erschliessen. Nach Behandlung mit Schneckenferment liessen sich im Papierchromatogramm neben Ausgangsmaterial (vermutlich M₁) die folgenden vier rascher wandernden Flecke nachweisen, von denen drei durch direkten Vergleich identifiziert werden konnten, während der vierte sich bisher keinem bekannten Stoff zuordnen liess:

a) Odorosid H (= Digitoxigenin- β -D-digitalosid), vermutlich entstanden aus M₃ (Odorotriosid G, siehe unten). Eine kleine Menge Odorosid H liess sich in Kristallen fassen und auch nach Mischprobe und Farbreaktionen identifizieren.

b) Periplogenin, vermutlich entstanden aus M₅. Auf Grund der Laufstrecke im Papierchromatogramm (M₅ läuft erheblich langsamer als Periplogenin- β -D-glucosid) muss es sich um ein Diglucosid handeln; beide Zucker müssen D-Glucose sein, um die enzymatische Spaltbarkeit zu erklären. M₅ dürfte demnach ein D-Glucosyl-D-glucosyl-periplogenin darstellen.

c) Digitoxigenin, vermutlich entstanden aus M₄. M₄ läuft im Papierchromatogramm erheblich langsamer als das bekannte Digitoxigenin- β -D-glucosid [17] und muss daher ebenfalls zwei D-Glucose-Reste enthalten. M₄ sollte demnach ein D-Glucosyl-D-glucosyl-digitoxigenin sein.

d) Ein nicht identifiziertes Cardenolid (vermutlich ein Monoglykosid), dessen Laufstrecke zwischen denjenigen von Sarnovosid (G) und von Periplogenin- β -D-glucosid (H) lag, vermutlich entstanden aus M₂ (diese Zuordnung ist aber unsicher).

¹⁶⁾ Die Acetylierung, der fermentative Abbau sowie die milde saure Hydrolyse von M-Präparaten sind in vorstehender Mitteilung [2] beschrieben.

Schliesslich muss das M-Gemisch als sechsten Stoff (M_6 ?) wahrscheinlich noch ein leicht hydrolysierbares Periplogeninderivat (also vermutlich ein Derivat eines 2-Desoxyzuckers)¹⁷⁾ enthalten haben, denn M-Konzentrate, die im Papierchromatogramm nur den M-Fleck zeigten, gaben bei milder saurer Hydrolyse merkliche Mengen Periplogenin, das präparativ in Kristallen isoliert werden konnte. M_1 , M_3 , M_4 und M_5 geben bei dieser Behandlung kein Periplogenin. Sofern dies auch für M_2 zutrifft (was unsicher ist), muss das Periplogenin aus einem sechsten Glykosid (M_6) stammen.

O-Acetyl-M₂. Die Analysen und das UV.-Spektrum wären mit den Formeln $C_{56}H_{80}O_{25}$ oder $C_{58}H_{82}O_{26}$ (Hepta- oder Octa-O-acetyl-Derivat eines Triglykosides $C_{42}H_{66}O_{18}$) verträglich. Die Farbreaktion mit H_2SO_4 war auffallend, gab aber keinen deutlichen Hinweis auf ein bekanntes Genin.

O-Acetyl-M₃ = *Octa-O-acetyl-odorotriosid G* [28]. Analysen und UV.-Absorption passten auf die Formel $C_{58}H_{82}O_{26}$. Das Präparat erwies sich nach Smp., Drehung, Mischprobe, Farbreaktionen, Papierchromatogramm und IR.-Spektrum als identisch mit Octa-O-acetyl-odorotriosid G [28]. Odorotriosid G (als Octa-O-acetyl-Derivat isoliert) ist kürzlich von TURKOVIC auch aus den Samen [29a] und Blättern [29b] von *Nerium oleander* L. isoliert worden. Durch Verseifung erhielt er Kristalle, Smp. ca. 200–248°, $[\alpha]_D^{22} = +14,9^\circ$ in Alk, die er für das freie Odorotriosid G hält¹⁸⁾. Dieses Glykosid ist früher [28] nur in amorpher Form beschrieben worden. Es wurde aber gezeigt [28], dass es sich mit Schneckenferment unter Verlust von zwei Mol. D-Glucose leicht in Odorosid H (Digitoxigenin- β -D-digitalosid) abbauen lässt.

Glykosid O = *Diglucoosyl-vanderosid*. Dieser Stoff wurde nur in amorpher aber papierchromatographisch reiner Form isoliert. Auch das O-Acetylderivat kristallisierte bisher nicht. Glykosid O lieferte bei Einwirkung von Schneckenferment das bekannte Vanderosid (Periplogenin- β -D-diginosid) [27], das in Kristallen isoliert und nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm mit authentischem Material identifiziert wurde. Ferner liess sich Glykosid O auch bei milder Hydrolyse mit 0,05N H_2SO_4 leicht spalten. Erhalten wurde ein Gemisch von Periplogenin und Δ^{14} -Anhydroperiplogenin, das nach chromatographischer Trennung in Kristallen isoliert und ebenso identifiziert werden konnte.

Auf Grund seiner geringen Laufgeschwindigkeit im Papierchromatogramm (es läuft erheblich langsamer als H!) muss Glykosid O zwei D-Glucose-Reste enthalten. Es dürfte demnach ein 3-O-(D-Glucoosyl-D-glucoosyl- β -D-diginopyranosyl)-periplogenin darstellen. Dieselbe Zuckerkombination (gebunden an Sarverogenin) fand TURKOVIC [30] im i-Strophanthosid aus *Strophanthus intermedius* Pax.

Glykosid P₁. Dieser Stoff wurde nur in kleiner Menge in amorphen Konzentraten gewonnen, die noch etwas P_2 enthielten; über seine Struktur lässt sich nichts aussagen.

¹⁷⁾ Es könnte sich um ein Diglucoosyl-sarmentosyl-periplogenin gehandelt haben, da Periplogenin-sarmentosid (= Glykosid A von LICHT *et al.* [27]) in *S. vanderijstii* vorkommt. Diglucoosyl-sarmentosyl-periplogenin könnte im Pchr eine Laufstrecke wie M zeigen. Dagegen spricht nur, dass beim fermentativen Abbau von M mit Schneckenenzym kein Fleck beobachtet wurde, der wie Glykosid A läuft.

¹⁸⁾ Ein sicherer Beweis liegt nicht vor. Die genannte Drehung ist auffallend viel höher als beim Mono-O-acetyl-odorotriosid-G [28], das $[\alpha] = -170^\circ \pm 2^\circ$ in Me zeigt. Von der einzelnen Acetylgruppe im Digitalose-Anteil sollte man keine so starke Änderung der Drehung erwarten. Odorobiosid G und sein Mono-O-acetylderivat [28] zeigen auch praktisch gleiche Drehungen.

Glykosid P₂. Dieser Stoff wurde in grösserer Menge, ebenfalls amorph, aber papierchromatographisch einheitlich, gewonnen. Die fermentative Spaltung mit Schneckenenzym lieferte krist. Sarmentocymarin (= Sarmentogenin- β -D-sarmentosid) [31]. Auf Grund der Laufstrecke im Papierchromatogramm muss P₂ zwei zusätzliche Glucosereste enthalten und muss somit ein Diglucosyl-sarmentocymarin darstellen. Das aus P₂ erhaltene krist. O-Acetylderivat sollte demnach ein Octa-O-acetyl-Derivat sein und die Formel C₅₈H₈₂O₂₆ besitzen. Die Analyse und das UV.-Spektrum standen damit in Einklang.

Die Q-Gruppe. Vom Material, das nur den Q-Fleck zeigte, wurde wenig eines amorphen Konzentrats erhalten. Es muss mindestens 3 Komponenten enthalten haben, die im Papierchromatogramm fast dieselbe Laufstrecke zeigen, und die wir als Q₁, Q₂ und Q₃ bezeichnen. Dafür spricht das Ergebnis der fermentativen Spaltung [2]. Nach Einwirkung von Schneckenferment liessen sich im Papierchromatogramm die folgenden drei rascher wandernden Spaltstücke nachweisen:

- a) Emicymarin (= Periplogenin- β -D-digitalosid), entstanden aus Q₂.
- b) Kwangosid (= Sarmentogenin- β -D-diginosid) [27] [32], entstanden aus Q₁.
- c) Kisantosid (=Glykosid L₁, Struktur unbekannt), entstanden aus Q₃.

Auf Grund der Laufstrecke im Papierchromatogramm muss Q₁ zwei D-Glucose-Reste enthalten und dabei die Formel eines 3-O-(D-Glucosyl-D-glucosyl- β -D-diginopyranosyl)-sarmentogenins besitzen. Es enthält somit vermutlich dieselbe Zuckerkombination wie Glykosid O und i-Strophantosid. Dabei ist die Verknüpfung der Zucker unsicher.

Q₂ sollte aus demselben Grund ein Diglucosyl-emicymarin¹⁹⁾ darstellen, wobei die Verknüpfungsart der Zucker ebenfalls unbestimmt ist. Die Kombination der Zucker entspricht aber dem Odorotriosid G.

Q₃ ist vermutlich ein D-Glucosyl-kisantosid, dessen Struktur noch unbekannt ist.

Glykosid R. Dieser polarste Stoff war nur in sehr kleinen Mengen in den Extrakten anwesend und wurde nur papierchromatographisch nachgewiesen.

Diskussion der Resultate. - Von den hier besprochenen 19 Cardenoliden sind G und H teilweise bereits in den früher untersuchten [27] weniger polaren Anteilen (Chloroform-Extrakt) der Samen enthalten gewesen, aus denen aber nur G (Sarnovid) in reiner Form isoliert wurde [27]. Die Konstitution von G, H, K, M₁ und M₃ ist bis auf wenige Einzelheiten bewiesen, diejenige von M₄, M₅, O, P₂, Q₁ und Q₂ konnte sehr wahrscheinlich gemacht werden, obwohl von diesen Stoffen nur O und P₂ in papierchromatographisch einheitlicher wenn auch amorpher Form vorlagen.

Es ist bekannt, dass die Samen der meisten *Strophanthus*-Arten vorwiegend Di- und Triglykoside enthalten, bei denen eine 6-Desoxyhexose am Aglykon haftet, während eine HO-Gruppe derselben mit einem Glucosyl- oder Diglucosyl-Rest besetzt ist. Die Glucosereste lassen sich durch die in den Samen vorhandenen Fermente in der Regel weitgehend oder vollständig hydrolytisch abspalten.

¹⁹⁾ Ein Glucosyl-emicymarin ist das Emicin, das RUPPOL & TURKOVIC [33] aus den Samen von *Strophanthus preussii* ENGL. et PAX isolierten. Für einen Vergleich, um die Identität auszuschliessen, fehlte uns das Material.

Es ist daher auffallend, dass hier so viele Stoffe (H, M₁, M₂, M₃, M₄, M₅, O, P₂, Q₁, Q₂ und Q₃) mit endständig gebundenen Glucoseresten aufgefunden wurden, obwohl bei der Isolierung die Samenfermente zur Einwirkung gelangten ²⁰). Wie glauben daher, dass die hier isolierten Glucosederivate (vielleicht mit Ausnahme von H) nur Restmengen darstellen, die der enzymatischen Hydrolyse aus irgend einem Grunde entgangen sind, dass in den unfermentierten Samen vermutlich erheblich grössere Mengen derselben Stoffe, sowie weitere, ähnlich gebaute Substanzen anzutreffen sind. Auffallend ist das Vorkommen von Stoffen wie H, M₄ und M₅, die D-Glucose als einzigen Zucker enthalten und demgemäss vom Schneckenenzym bis zur Geninstufe gespalten wurden. Da in den Äther- und Chloroform-Extrakten früher [27] weder freies Digitoxigenin noch freies Periplogenin angetroffen wurden, scheinen die Samenfermente (wenigstens in der angewandten Form) zu der vollständigen Hydrolyse solcher Glucosederivate nicht fähig gewesen zu sein.

Wie in den früher [27] untersuchten schwächer polaren Anteilen überwiegen auch hier mengenmässig die Derivate von Periplogenin und Sarmentogenin. Daneben wurden aber auch wieder Digitoxigenin-Derivate angetroffen, die in den *Strophanthus*-Arten sonst selten vorkommen. Dagegen fanden wir in dem jetzt untersuchten Material keine Abkömmlinge des Uzarigenins, während in den schwach polaren Anteilen kleinere Mengen solcher Stoffe anwesend waren [27]. Von Interesse ist die Anwesenheit des Bipindogenin-Derivats K, das bisher nur in den Samen von *Strophanthus sarmentosus* gefunden wurde [21] ²¹). Neue Genine unbekannter Strukturen sind vermutlich im Callengosid (J) und im Kisantosid (L₁) enthalten.

Wie früher erwähnt [27], wurden in den Samen von *Strophanthus vanderijstii* eine besonders grosse Anzahl verschiedener Glykoside gefunden, die sich von einer Kombination von Geninen ableiten, wie sie bisher in keiner anderen *Strophanthus*-Art angetroffen wurde. Die relativ grösste Ähnlichkeit ist noch mit *S. sarmentosus* vorhanden. Das Auffinden von Bipindalosid (K) bedeutet einen weiteren für *S. sarmentosus* und *S. vanderijstii* gemeinsamen Stoff. Hingegen scheinen Derivate von Sarmentosigenin A, die in den Samen von *S. sarmentosus* und *S. tholloni* so reichlich vorkommen, in *S. vanderijstii* völlig zu fehlen.

Zur Beschaffung des Pflanzenmaterials standen uns Mittel aus den Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT in Bern) zur Verfügung. Einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit erhielten wir vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS. Es sei auch hier für diese Hilfe bestens gedankt. Ferner danken wir Herrn Dr. Ek. Weiss auch hier bestens für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

²⁰) Es ist allerdings zu berücksichtigen, dass hier nur der wasserlösliche Teil der Samenfermente zur Einwirkung gebracht wurde. Durch diese Prozedur tritt vermutlich eine merkliche Abschwächung der Fermente ein. Es ist aber auch möglich, dass die hier isolierten, relativ kleinen Mengen an Glucosederivaten die Glucose in einer Bindung enthalten, die von den Samenfermenten nur schwer, vom Schneckenferment aber leicht gespalten wird. D-Glucose, die auch vom Schneckenferment praktisch nicht abgespalten wird, enthält von den untersuchten Stoffen nur M₁ (Sargenosid).

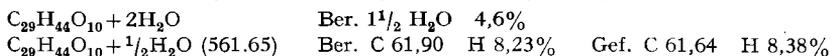
²¹) Kleine Mengen von Bipindalosid (K) können auch in den Samen von *S. tholloni* enthalten sein, obgleich der Stoff darin bisher nicht entdeckt wurde. Er ist aber aus dem Gemisch der Sarmentoside nur schwer isolierbar. Zwei andere Bipindogenin-Derivate, Bipindosid und Lokundjosid, wurden aber sowohl aus *S. tholloni* [34] wie aus *S. sarmentosus* [21] isoliert; ihre Struktur ist abgeklärt [22].

Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben, Abkürzungen sowie Ausführung der Hydrolysen im Mikromaßstab, vgl. vorstehende Mitteilung [2], ebenso Farb- und Gruppen-Reaktionen, papierchromatographisches Verhalten, sowie UV.-Spektren der isolierten Stoffe.

Beschreibung der isolierten Stoffe²²⁾. - *Glykosid G* = *Sarnovid* (= *Sarmentogenin-β-D-digitalosid*) [16]. Aus An-Ae farblose, kurze Prismen mit Doppel-Smp. 150–158°/215–224°, $[\alpha]_D^{25} = +7,6^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr identisch mit authentischem Material.

Glykosid H = *Periplogenin-(3)-β-D-glucosid (I)* [17]. Aus Me-W oder Me-An farblose, zu Drusen vereinigte feine Nadeln mit Doppel-Smp. 230–235°/259–262°, $[\alpha]_D^{25} = 0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Me). Der Stoff war methoxylfrei. Trocknung zur Analyse gab 4,8% Gewichtsverlust.



Der Stoff war gut löslich in Me, schwer löslich in Chf, An und Ae. ELDERFIELD *et al.* [17] fanden für synthetisches Material Smp. 195–200° und 2 Mol. Kristallwasser nach Trocknung bei 75° und 10 Torr. Das Originalpräparat¹¹⁾ zeigte jetzt auf unserem Block einen Doppel-Smp. 225→260°, die Mischprobe schmolz bei 260–263° (sintert wenig bei 230°). Die Farbreaktionen und die Laufstrecken im Pchr waren völlig gleich. Periplogenin zeigt $[\alpha]_D = +29,8^\circ \pm 2^\circ$ in Me, also eine molekulare Drehung $[\text{M}]_D = +117^\circ \pm 8^\circ$. Da H keine merkliche Drehung zeigte, ergibt sich als Drehungsbeitrag des D-Glucosylrestes $-117^\circ \bullet 20^\circ$, was für β-D-glucosidische Bindung spricht.

Tetra-O-acetyl-H (II). 2,4 mg Glykosid H vom Smp. 239–245° wurden in 0,15 ml abs. Py und 0,1 ml Ac₂O 30 Std. auf 32° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 2,9 mg neutrales Rohprodukt. Aus wenig feuchtem Me-Ae nach vier Monaten kleine Kristalldrusen, Smp. 122–145°. ELDERFIELD *et al.* [7] fanden Smp. ca. 145–150°, je nach Heizgeschwindigkeit, und 1,5 Mol. Kristallwasser nach Trocknung bei 75° und 10 Torr.

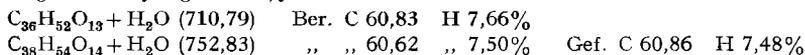
Abbau mit Schneckenferment: 4 mg Glykosid H vom Smp. 240–246° wurden in 1,2 ml W mit 20 mg Schneckenferment-Trockenpräparat und 1 Tropfen Toluol verschlossen 7 Tage bei 35° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 3,2 mg Chf-Extrakt. Aus An-Ae 1,4 mg Kristalldrusen, Smp. 231–238°; nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr identisch mit Periplogenin. In der wässrigen Phase wurde im Pchr nur ein Fleck entsprechend Glucose erhalten.

Glykosid J = *Callengosid* (Struktur unbekannt). Aus Me-An farblose kurze Prismen, Smp. 255–256°, $[\alpha]_D^{25} = +29,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2$ in Me). Der Stoff ist gut löslich in Me, schwer in Chf, An und Ae. Trocknung zur Analyse gab 1,86% Gewichtsverlust.



Behandlung mit konz. HCl: 3,1 mg Callengosid vom Smp. 249–254° wurden bei 0° mit 0,05 ml konz. HCl versetzt und 6 Std. unter CO₂ verschlossen bei 0° stehengelassen. Die leicht gelbliche Lösung wurde mit 0,5 ml W verdünnt und 3mal mit je 2 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig KHCO₃-Lösung und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 3,1 mg gelblichen Schaum. Dieser zeigte in Alk im UV. zwei Maxima bei 219 mμ (log ε = 4,04) und bei 335 mμ (log ε = 3,88), vgl. Fig. 10 von [2]. Dieses Rohprodukt enthielt dementsprechend mindestens 37% Carda-14, 16, 20:22-trienolid²³⁾.

O-Acetyl-callengosid = *O-Ac-J*. 8,5 mg Callengosid vom Smp. 249–254° wurden in 0,3 ml abs. Py und 0,2 ml (Ac)₂O 16 Std. auf 35° erwärmt. Die Aufarbeitung gab 13,2 mg neutrales Rohprodukt, aus An-Ae kleine farblose Blättchen, Smp. 227–230° (opak bei 130–150°), $[\alpha]_D^{25} = -8,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,8$ in Chf). Der Stoff war leicht löslich in Me, An und Chf, schwerer löslich in Ae. Trocknung zur Analyse gab 2,02% Gewichtsverlust.



Glykosid K = *Bipindalosid* (= *Bipindogenin-β-D-digitalosid*) [22]. Aus feuchtem An-Ae zu Drusen vereinigte farblose flache Nadeln, Smp. 167–169°, $[\alpha]_D^{25} = +15,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,3$ in Me).

²²⁾ Verhalten gegen Schneckenferment sowie Hydrolysen im Mikromaßstab und papierchromatographischer Nachweis der Spaltprodukte vgl. Theoretischer Teil.

²³⁾ Dianhydro-gitoxigenin zeigt in Alk zwei Maxima bei 222,5 mμ (log ε = 4,06) und bei 337,5 mμ (log ε = 4,31) [35]; vgl. auch TSCHESCHE [18].

Der Stoff war gut löslich in Me, mässig in An, schwer löslich in Chf und Ae. Trocknung zur Analyse gab 6,38% Gewichtsverlust.

$C_{30}H_{46}O_{10}$ (566,67) Ber. C 63,58 H 8,18 1 OCH₃ 5,48% Gef. C 63,03 H 8,38 OCH₃ 5,81%

Der Stoff war identisch mit dem aus *Strophanthus sarmentosus* isolierten Präparat [21]. Die molekulare Drehung von Bipindogenin beträgt $+123^\circ \pm 12^\circ$ (in 80-proz. Me) [36]. Als molekularer Drehungsbeitrag des Digitalosylrestes im Bipindalosid ergibt sich daraus der Wert -37° . Bei anderen β -D-Digitalosiden der Cardenolid-Reihe wurde im Mittel -44° gefunden.

Tri-O-acetyl-bipindalosid = *O-Ac-K*. 10 mg Bipindalosid aus *S. vanderijstii* vom Smp. 164–167° wurden in 0,3 ml abs. Py und 0,2 ml Ac₂O 16 Std. auf 35° erwärmt. Das neutrale Rohprodukt (10,5 mg) gab aus An-Ae farblose Blättchen, Smp. 285–287° (nach längerem Liegen 295–302°), $[\alpha]_D^{25} = +19,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,58$ in Chf). Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{36}H_{52}O_{13}$ (692,78) Ber. C 62,41 H 7,57% Gef. C 62,49 H 7,64%

Glykosid L₁ = *Kisantosid* (Struktur unbekannt). Aus W kleine farblose Prismen, Smp. 175–185°, $[\alpha]_D^{24} = +27,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,65$ in Me). Der Stoff war gut löslich in Me, schwer in An, Chf und Ae. Wegen Substanzmangel konnte nur eine Methoxylbestimmung ausgeführt werden.

$C_{36}H_{56}O_{15}$ (728,81) Ber. 1 OCH₃ 4,26% Gef. OCH₃ 5,92%

Glykosid L₂. Es wurden nur 0,5 mg Kristalle erhalten, Smp. 200–213°.

Glykosid L₃. 1,2 mg farblose Kristalle aus Me-An, Smp. 293–295°.

Glykosid M₁ = *Sargenosid* (= Glucosyl-sarنوید) [24]. Aus abs. Alk. feine farblose Nadeln, Smp. 186–187°, $[\alpha]_D^{25} = -25,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,73$ in Me). Der Stoff war gut löslich in Me, praktisch unlöslich in An, Chf und Ae. Trocknung zur Analyse gab 4,36% Gewichtsverlust.

$C_{36}H_{56}O_{14} + 3H_2O$ (766,84) Ber. 2H₂O 4,7%

$C_{36}H_{56}O_{14} + H_2O$ (730,82) Ber. C 59,16 H 8,00 1 OCH₃ 4,25% Gef. C 59,48 H 7,97 OCH₃ 4,52%

Spaltungsversuch mit Schneckenferment: 20 mg Sargenosid (*Glykosid M₁*) vom Smp. 186–187° wurden in 5 ml W gelöst mit 100 mg Schneckenferment-Trockenpräparat und 1 Tropfen Toluol verschlossen 6 Tage auf 35° erwärmt. Die Aufarbeitung gab 1,9 mg Chf-Extrakt und 16,5 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Der Chf-Extr. gab aus An-Ae 0,3 mg Kristalle, Smp. 296–299° (zersetzlich). Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. war mit dem Ausgangsmaterial identisch.

Saure Hydrolyse mit 1-proz. HCl in Me: 2 mg Sargenosid wurden in 0,2 ml 1 proz. HCl in Me gelöst und 7 Tage bei 20° stehengelassen. Nach Zusatz von 0,2 ml W wurde das Me im Vakuum entfernt und die wässrige Lösung 2mal mit je 2 ml Chf ausgeschüttelt. Die mit KHCO₃ und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 1,2 mg Rückstand. Dieser zeigte im Pchr (To-Bu-(8:1)/W, 6 Std.) einen starken Fleck entsprechend Sargentogenin, einen sehr schwachen, langsameren Fleck und noch einen starken stationären Fleck (Ausgangsmaterial). Spaltung mit KILIANI-Mischung und Nachweis der Zucker vgl. Theoretischer Teil.

Hexa-O-acetyl-Sargenosid = *O-Ac-M₁*. 7,9 mg Sargenosid vom Smp. 186–187° wurden in 0,3 ml abs. Py mit 0,2 ml Ac₂O 35 Std. auf 35° erwärmt. Das neutrale Rohprodukt (9,8 mg) gab aus An-Ac 7,5 mg feine, farblose, wollige Nadeln, Smp. 278–280°, $[\alpha]_D^{23} = -6,5 \pm 3^\circ$ ($c = 0,65$ in Chf). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr identisch mit authentischem Material aus *Strophanthus sarmentosus* [24]. Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{48}H_{68}O_{20} + H_2O$ (983,04) Ber. C 58,64 H 7,17% Gef. C 58,62 H 7,26%

Partielle Verseifung: 2 mg Hexa-O-acetyl-sargenosid (*O-Ac-M₁*) aus *S. vanderijstii* vom Smp. 278–280° wurden in 5 ml Me gelöst, mit der Lösung von 20 mg KHCO₃ in 2 ml W versetzt und 7 Tage bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum vom Me befreit und mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Das Rohprodukt (1,6 mg) zeigte im Papierchromatogramm (To-Bu-(2:1)/W, 4 Std.) nur einen starken Fleck (Rf = 0,78) entspr. krist. Di-O-acetyl-sargenosid. Genau gleich verhielt sich Hexa-O-acetyl-sargenosid aus *S. sarmentosus*.

*Glykosid M₂*¹⁶⁾. Dieser Stoff wurde nur in Form eines krist. O-Acetylderivats rein erhalten. Das freie Glykosid lag nur in Gemischen, besonders mit M₃, M₄ und M₅ und einem leicht hydrolysierbaren Periplogeninderivat, vor. Acetylierung, milde saure Hydrolyse sowie fermentativen Abbau von Fr. 22 aus Chromatographie (15 die viel M₂ enthält) siehe [2]. Wir vermuten, dass es sich bei dem Stoff, der im rohen M-Gemisch enthalten ist und der beim Abbau mit Schneckenferment das unbekannte Produkt (Nr. 4 in Fig. 5 [2]) lieferte, um M₂ handelt, dessen krist. O-Acetylderivat im folgenden beschrieben wird. Ein sicherer Beweis fehlt aber bisher.

O-Acetyl-M₂. Aus Me-W farblose Blättchen, aus An-Pn feine Nadeln, Smp. ca. 155–162° (sehr zähflüssig, daher Endpunkt oft undeutlich), $[\alpha]_D^{22} = -20,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf). Gewichtsverlust bei Trocknung 2,08%.

$C_{56}H_{80}O_{25}$ (1153,20)	Ber. C 58,32	H 6,99%	
$C_{55}H_{82}O_{26}$ (1195,24)	Ber. „ 58,28	„ 6,92%	Gef. C 58,16 H 6,91%

Glykosid M₃¹⁶, *vermutlich = Odorotriosid G*. Auch dieser Stoff wurde in freier Form nicht rein isoliert, sondern nur in Gemischen mit M_1 – M_5 und dem leicht hydrolysierbaren Periplogeninderivat. Es ist die Komponente, die beim fermentativen Abbau Odorosid H liefert und bei der Acetylierung das krist. O-Ac- M_3 .

O-Ac-M₃ = Octa-O-acetyl-odorotriosid G [28]. Aus An-Pn feine farblose Nadeln, Smp. 230–233°, $[\alpha]_D^{25} = -18,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,63$ in Chf). Der Stoff war gut löslich in Me und Chf. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm (System von Fig. 7 [2]) sowie IR-Spektrum (in CH_2Cl_2) identisch mit authentischem Material [28]. Trocknung zur Analyse gab 2,31% Gewichtsverlust.

$C_{88}H_{82}O_{26}$ (1195,24)	Ber. C 58,28	H 6,92%	Gef. C 58,42	H 7,06%
--------------------------------	--------------	---------	--------------	---------

Partielle Hydrolyse: 2 mg O-Ac- M_3 vom Smp. 230–233° wurden mit $KHCO_3$ hydrolysiert, genau wie oben bei O-Ac- M_1 beschrieben. Das neutrale Rohprodukt zeigte im Pchr (To-Bu-(1:1)/W, 9 Std.) zwei Flecke. Der raschere lief genau wie krist. Mono-O-acetyl-odorotriosid-G [28], das durch eine solche partielle Hydrolyse von Octa-O-acetyl-odorotriosid-G erhalten wird. Der zweite lief nur halb so schnell.

Glykoside M₄ und M₅¹⁶. Das Vorhandensein dieser Stoffe in den M-Gemischen wurde nur durch fermentativen Abbau nachgewiesen.

Glykosid O, vermutlich = Diglucosyl-vanderosid. Dieser Stoff wurde nur in amorpher aber papierchromatographisch reiner Form als farbloses Harz erhalten (aus Fr. 15–28 von Chromatographie 19 [2]). Das O-Acetylderivat kristallisierte bisher nicht.

Hydrolyse mit Schneckenferment: 12,5 mg papierchromatographisch reines Glykosid O (Fr. 16 von Chromatographie 19, vorstehende Mitt. [2]) wurden in 3 ml W mit 65 mg Schneckenferment-Trockenpräparat und 1 Tropfen To 5 Tage bei 35° stengelassen. Die Aufarbeitung gab 7,1 mg Chf-Extr. und 2,3 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr.; der letztere zeigte nur noch schwache KEDDE-Reaktion und wurde nicht untersucht. Der Chf-Extr. gab aus Me-Ae farblose Blättchen, Smp. 223–226°. Die KELLER-KILIANI-Reaktion war positiv. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm (System Be-Chf-(8:1)/Fmd, 6 Std.) identisch mit authentischem Vanderosid [27].

Milde saure Hydrolyse: 130 mg Glykosid O (30 mg Fr. 12–14 von Chromatogramm 19, die noch eine Spur P_1 enthielten sowie 100 mg Fr. 18–28 von Chromatogr. 19, die nur den O-Fleck zeigten [2]) wurden mit 0,05N H_2SO_4 nach Vorschrift [37] hydrolysiert. Die Aufarbeitung gab 45 mg Chf-Ae-Extrakt und 76 mg rohen Zuckersirup (nicht untersucht). Der Chf-Ae-Extrakt gab aus An-Ae 12 mg krist. Periplogenin, die ML nach Chromatographie an Al_2O_3 noch 19 mg Periplogenin und 5 mg Anhydro-periplogenin, Smp. 210–212°. Total 31 mg Periplogenin in farblosen Prismen, Smp. 239–241°; nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr identisch mit authentischem Material.

Glykosid P₁. Wurde nicht rein isoliert, nur als amorphes Gemisch mit P_2 .

Glykosid P₂, vermutlich = Diglucosyl-sarmentocymarin. Der Stoff wurde nur in amorpher aber papierchromatographisch reiner Form isoliert (Fr. 14–26 von Chrom. 20 [2]).

Hydrolyse mit Schneckenferment: 14 mg papierchromatographisch reines P_2 (Fr. 18 von Chromatographie 20 [2]) wurden in 3,5 ml W mit 70 mg Schneckenferment-Trockenpräparat und 1 Tropfen To 5 Tage bei 35° stengelassen. Die Aufarbeitung gab 8,4 mg Chf-Extr. und 2,4 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Letzterer war KEDDE-negativ (verworfen). Der Chf-Extr. gab aus An-Ae farblose Prismen, Smp. 203–206°, KELLER-KILIANI-Reaktion: positiv. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Laufstrecke im Pchr (To-Bu-(8:1)/W, 6 Std.) identisch mit Sarmentocymarin.

O-Ac-P₂, vermutlich = Octa-O-acetyl-diglucosyl-sarmentocymarin. 28 mg papierchromatographisch reines P_2 (Fr. 20 von Chrom. 20 [2]) wurden in 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml Ac_2O 20 Std. auf 35° erwärmt. Das Rohprodukt (35 mg) gab aus An-Ae-(1:5) 26 mg farblose flache Nadeln, Smp. 207–237°, $[\alpha]_D^{27} = 28,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf).

$C_{58}H_{82}O_{26}$ (1195,24)	Ber. C 58,28	H 6,92	1 OCH_3 2,60%	Gef. C 57,94	H 6,97	OCH_3 3,05%
--------------------------------	--------------	--------	-----------------	--------------	--------	---------------

Die Glykoside Q_1 , Q_2 und Q_3 . Es wurden nur 3,1 mg eines Konzentrats erhalten, das nur den Fleck Q zeigte. (Fr. 22 von Chromatographie 21 [2]). Hydrolyse mit Schneckenferment vgl. vorhergehende Mitteilung [2].

MANNICH-Spaltung im Mikromaßstab: 1 mg Glykosid Q (Fr. 18 von Chrom. 21, die noch wenig P_1 enthielt [2]) wurde einer MANNICH-Spaltung nach Vorschrift unterworfen. Der erhaltene Chf-Extrakt zeigte im Pchr (Be-Chf-(2:1)/Fmd) die Flecke von Periplogenin und Anhydroperiplogenin; im Chf-Alk-(2:1)-Extr. war in diesem System nur ein stationärer Fleck (vermutlich Ausgangsmaterial) sichtbar.

Glykosid R. Dieser Stoff ist nur papierchromatographisch nachgewiesen worden.

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

SUMMARY

Five crystalline cardenolides (G, H, K, M_1 and O-acetyl- M_3) isolated from the seeds of *Strophanthus vanderijstii* could be identified with known glycosides. Probable structural formulae, based on results of enzymatic and chemical hydrolysis, were suggested for seven new cardenolides (M_4 , M_5 , O, P_2 , Q_1 , Q_2 and Q_3). Trivial names were given to two other new crystalline compounds, callengoside (J) and kisanoside (L_1), which seem to be components characteristic of *S. vanderijstii*. Their structure is still unknown, each may contain a new genin. Both contain digitalose, and kisanoside perhaps an additional unit of hexose.

Institut für Organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Auszug aus Diss. K. BRENNEISEN, Basel 1959.
- [2] 2. Mitteilung: K. BRENNEISEN, J. v. EUW, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 47, 799 (1964).
- [3] 254. Mitteilung vorstehend [2].
- [4] M. FRÈREJACQUE, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 225, 695 (1947).
- [5] H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 46 (1951).
- [6] K. MOHR & T. REICHSTEIN, Pharmaceut. Acta Helv. 24, 246 (1949); A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 33, 76 (1950); W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 434 (1952).
- [7] M. PESEZ, Ann. pharmaceut. franç. 10, 104 (1952) und frühere Lit. daselbst.
- [8] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).
- [9] H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 2866 (1930).
- [10] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).
- [11] M. T. KRAUSS, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, J. Chromatogr. 3, 63 (1960).
- [12] S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).
- [13] HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 977 (1959).
- [14] C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. 75, 737 (1942).
- [15] A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, Bull. Soc. chim. France [5] 77, 288 (1950); P. BELLET, Ann. pharmaceut. franç. 8, 471 (1950).
- [16] F. REBER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1477 (1951).
- [17] R. C. ELDERFIELD, F. C. UHLE & J. FRIED, J. Amer. chem. Soc. 69, 2235 (1947).
- [18] R. TSCHESCHE, Ber. deutsch. chem. Ges. 70, 1554 (1937); R. TSCHESCHE & R. PETERSEN, Chem. Ber. 86, 574 (1953); H. HEGEDÜS & T. REICHSTEIN, Helv. 38, 1133 (1955).
- [19] H. ROSENKUND & T. REICHSTEIN, Pharmaceut. Acta Helv. 17, 176 (1942); A. KATZ & T. REICHSTEIN, *ibid.* 22, 437 (1947); R. TSCHESCHE & R. PETERSEN, Chem. Ber. 86, 574 (1953).
- [20] J. PITRA & Z. ČEKAN, Coll. czechoslov. chem. Commun. 26, 1551 (1961).
- [21] B. FECHTIG, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 727 (1960).
- [22] B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 1570 (1960).
- [23] EK. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 41, 736 (1958).

- [24] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 1560 (1952).
 [25] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 1993 (1950).
 [26] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 76 (1950).
 [27] H. LICHTI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **39**, 1933 (1956).
 [28] A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 687 (1952).
 [29] I. TURKOVIC, a) *J. Pharmac. Belg.* **14**, 263 (1959); b) *ibid.*, p. 447.
 [30] I. TURKOVIC, *Bull. Acad. roy. Méd. Belgique* [6], **79**, 55 (1954).
 [31] W. A. JACOBS & M. HEIDELBERGER, *J. biol. Chemistry* **81**, 765 (1929).
 [32] O. SCHINDLER, *Helv.* **39**, 65 (1956).
 [33] E. RUPPOL & I. TURKOVIC, *J. Pharmac. Belg.* **10**, 221 (1955).
 [34] EK. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **40**, 980 (1957).
 [35] O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 442 (1952).
 [36] B. FECHTIG, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 1448 (1959).
 [37] S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **32**, 939 (1949).

91. Massenspektrometrie und ihre Anwendung auf strukturelle und stereochemische Probleme. LII [1]¹⁾

Vinca-Alkaloide, 28. Mitteilung [2]

Über die Struktur und massenspektrometrische Fragmentierung von Vindolinin

von C. Djerassi, M. Cereghetti²⁾, H. Budzikiewicz, M. M. Janot, M. Plat und J. Le Men

(22. II. 64)

Vor kurzem [3] wurde von uns für das *Vinca*-Alkaloid Vindolinin [4] [5] die Struktur I oder II vorgeschlagen. Solchen Strukturen kommt ein bedeutendes biogenetisches Interesse zu, liegt doch damit erstmals ein Alkaloid mit Aspidospermin-ähnlichem Gerüst vor, das nicht aus der Gattung *Aspidosperma* isoliert wurde. Inzwischen sind weitere Beispiele für das Vorkommen Aspidospermin-artiger Strukturen in verschiedenen *Apocynaceae*-Arten bekannt geworden [6].

Unser Strukturvorschlag beruhte ausschliesslich auf der Analyse der NMR.- und Massenspektren des Alkaloids und einer Anzahl einfacher Umwandlungsprodukte desselben. Keines der Kohlenstoffatome wurde im klassischen Sinne «gefasst», da kein Versuch gemacht wurde, die Substanz zu bekannten Fragmenten abzubauen. Anhand der Daten unserer früheren Mitteilung [3] liess sich nicht zwischen den Formeln I und II unterscheiden, obgleich I mit einer 11–20-Bindung auf Grund der NMR.-Spektren eine gewisse Bevorzugung verdiente.

Wir berichten nun hier über einige Experimente, die definitiv das Vorliegen einer 11–20-Bindung festlegen. Gleichzeitig wurden deuteriummarkierte Derivate zugänglich, die den Verlauf der wichtigsten massenspektrometrischen Fragmentierungsmöglichkeiten dieses Molekeltypus aufklären.

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 836.

²⁾ Postdoctorate Research Fellow 1962–1963. Gegenwärtige Adresse: Chemische Forschungsabteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co., A.G., Basel