

- [12] W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 434 (1952).
 [13] J. A. MOORE, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 755 (1954).
 [14] N. SCHOORL, *Chem. Weekbl.* **72**, 481 (1915).
 [15] B. TOLLENS & H. ELSENER, *Kurzes Handbuch der Kohlenhydrate*, 4. Aufl., Leipzig 1935, p. 96.
 [16] H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953).
 [17] G. R. DUNCAN, *J. Chromatogr.* **8**, 37 (1962).
 [18] V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. nac. Cordoba* **32**, 439 (1945); M. PESEZ, *Ann. pharmac. franç.* **10**, 104 (1952).
 [19] A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, *Bull. Soc. chim. France* [5] **17**, 288 (1950); P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* **8**, 471 (1950).
 [20] K. B. JENSEN, *Acta pharmacol. toxicol.* **9**, 99 (1953); *Chem. Abstr.* **48**, 2322b (1954).
 [21] D. F. MOWERY, *Analyt. Chemistry* **29**, 1560 (1957).
 [22] C. MANNICH & G. SIEWERT, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **75**, 737 (1942).
 [23] H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **63**, 2866 (1930); Ausführung nach [24].
 [24] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1740 (1951).
 [25] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 883 (1948).
 [26] S. M. PARTRIDGE, *Nature* **164**, 443 (1949).
 [27] E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer Verlag 1962, Kapitel: D. WALDI, Steroide, p. 256ff; M. L. LEWBART, W. WEHRLI, H. KAUFMANN & T. REICHSTEIN, *Helv.* **46**, 517 (1963); M. BRENNER & A. NIEDERWIESER, *Experientia (Basel)* **17**, 237 (1961).
 [28] F. KORTE & H. SIEPER, *J. Chromatogr.* **13**, 90 (1964).
 [29] H. HALPAAP, *Chem.-Ing. Techn.* **35**, 488 (1963).
 [30] E. v. ARX & R. NEHER, *Helv.* **39**, 1664 (1956).

256. Die Glykoside von *Streblus asper* LOUR. 4. Mitteilung¹⁾ Strukturbestimmung einiger stark wasserlöslicher Glykoside

Glykoside und Aglykone, 261. Mitteilung²⁾
 von A. R. Manzetti und T. Reichstein

(15. X. 64)

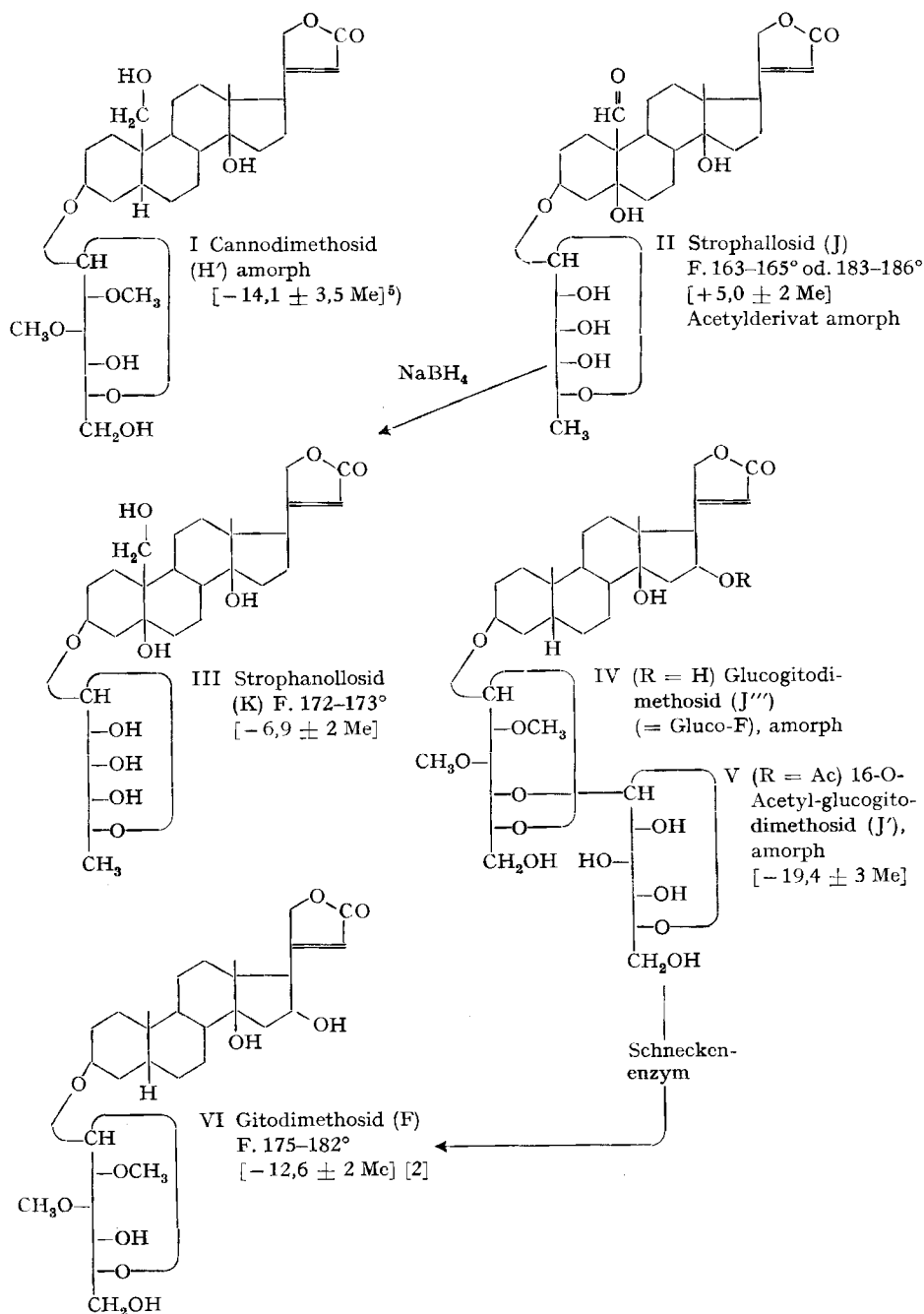
Aus der Wurzelrinde von *Streblus asper* LOUR. sind, ausser den früher [1] [2]³⁾ erwähnten chloroformlöslichen Stoffen, kürzlich [3] 13 stark wasserlösliche Cardenolidglykoside (H, H', J, J', J'', J''', K, K', a, b, f, g und M) isoliert worden, davon 4 (J, K, K' und M) in Kristallen, die andern in amorpher, aber papierchromatographisch⁴⁾ reiner Form. Substanz J (Strophallosid) ist inzwischen in etwas grösserer Menge auch aus den Samen von *Antiaris toxicaria* isoliert worden [5] [6] [7]. Die 12 andern Stoffe waren vermutlich neu; für H', J', J''', K, K', a und M wurden Trivialnamen vorgeschlagen. Es wird hier über die Konstitutionsermittlung der Stoffe H', J, J', J''', K,

¹⁾ Auszug aus Diss. A. R. MANZETTI, Basel 1964.

²⁾ 260. Mitteilung, vgl. vorstehende Arbeit [3]³⁾.

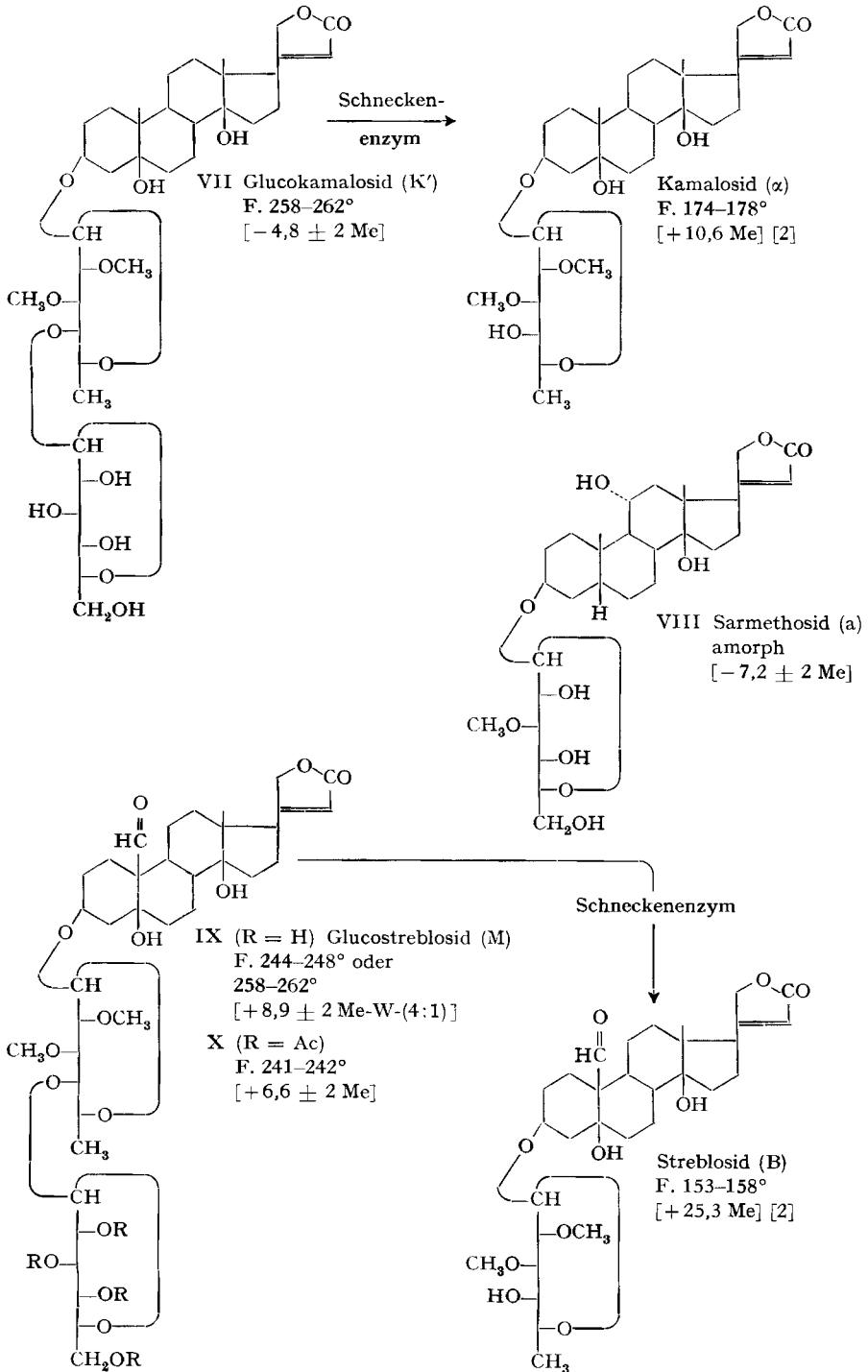
³⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2329.

⁴⁾ Die Entwicklung der Papierchromatogramme geschah mit KEDDE-Reagens [4]. Dieses gibt mit allen Butenoliden violette Flecke; Empfindlichkeit im Papierchromatogramm ca. 0,01 mg. Die amorphen Präparate, die mit diesem Reagens in verschiedenen Systemen nur *einen* Fleck gaben, dürften daher wahrscheinlich nur ein Cardenolid enthalten haben; es ist aber unsicher, wieviel andere Verunreinigungen anwesend waren, die mit KEDDE-Reagens keine Färbung gaben. Auf Grund der Intensität der Absorption im UV. bei 217 m μ dürfte dieser Anteil aber nicht sehr gross gewesen sein.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den verwendeten Lösungsmitteln⁵⁾ an.

⁵⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel etc. vgl. Einleitung zu Exper. Teil der vorstehenden Arbeit [3].



K', a und M berichtet. In den meisten Fällen war nur wenig Material vorhanden, so dass wir uns auf Identifizierung durch Papierchromatogramme und Dünnschichtchromatogramme beschränken mussten. In diesen Fällen ist die abgeleitete Struktur mit einer entsprechenden Unsicherheit behaftet. Dies ist einer der Gründe, warum wir die genannten neuen Trivialnamen vorgeschlagen haben.

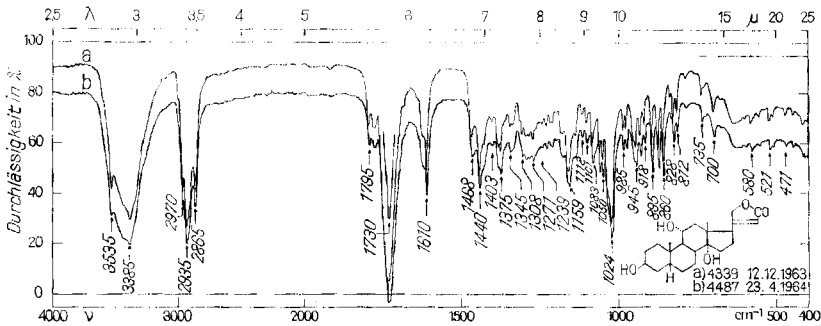


Fig. 1. IR-Absorptionsspektrum von Sarmetogenin

obere Kurve: Präp. AM 10, erhalten aus Sarmethosid (VIII), 0,85 mg fest in ca. 300 mg KBr; untere Kurve: authentisches Material aus *Strophanthus sarmetosus* var. *senegambiae*, 0,9 mg fest in ca. 300 mg KBr⁶⁾.

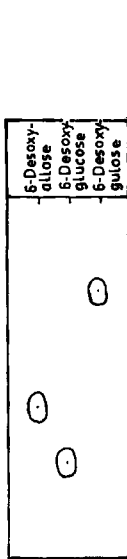


Fig. 2. Papierchromatographische Trennung von 6-Desoxyglucose, 6-Desoxygulose und 6-Desoxyallose mit dem System: Bu|Molybdätpuffer⁶⁾ Ausführung absteigend, Laufzeit 36 Std., Entwicklung mit PARTRIDGE-Reagens, vgl. Exper. Teil.

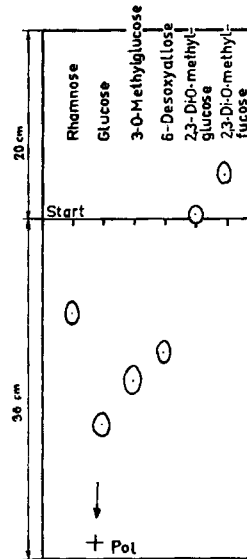


Fig. 3. Trennung der in den Cardenoliden von *Streblus asper* vorkommenden Zucker durch Elektrophorese in Boratpuffer (Spannung 1600 V, Stromstärke 75–80 mA, 3 Std.) Als Vergleich wurde Rhamnose aufgetragen.

⁶⁾ Aufgenommen von den Herren W. SCHWAB und CH. SENN auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

Methodik. Die Strukturermittlung geschah in allen Fällen durch saure Hydrolyse unter zwei verschiedenen Bedingungen. Da keine 2-Desoxyzucker nachweisbar waren (Xanthhydroprobe [8] war überall negativ), wurde jeweils eine kleine Probe mit KILIANI-Mischung [9] energisch hydrolysiert. Dabei werden die Zucker praktisch quantitativ freigesetzt, die Aglykone aber zerstört. In einer zweiten Probe wurde eine kleine Menge Glykosid mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT [10] hydrolysiert und die Spaltung durch Papierchromatogramme oder Dünnschichtchromatogramme verfolgt. Neben Ausgangsmaterial und meistens mehreren Anhydroderivaten gelang es fast stets, auch den Fleck des zugrunde liegenden, intakten Genins zu finden und zu identifizieren. Eine zusätzliche Kontrolle ergibt sich aus der Farbreaktion mit H_2SO_4 , die fast nur von der Geninkomponente abhängig ist, ferner aus dem Farbverlauf beim Erhitzen der mit *p*-Toluolsulfonsäure besprühten Dünnschichtchromatogramme. Sehr wertvolle Aufschlüsse lieferte schliesslich die Einwirkung von Schneckenenzym⁷⁾. Bei den Glucoderivaten J', J''', K' und M war es wenigstens teilweise möglich, den endständigen Glucosylrest damit fermentativ abzuspalten.

Besprechung der einzelnen Stoffe. – *H' = Cannodimethosid (I).* Die papierchromatographisch ermittelten Hydrolysenprodukte sowie die Farbreaktionen von *H'* sprechen dafür, dass dieser Stoff die Formel I besitzt, sich also aus Cannogenol⁸⁾ und 2,3-Di-O-methylglucose zusammensetzt. Es wäre erwünscht, dieses Ergebnis auch noch präparativ zu bestätigen. Dies war bisher leider nicht möglich.

J = Strophallosid (II). Für diesen Stoff ist Formel II gut begründet. Wie erwähnt, ist dieser Stoff in grösserer Menge inzwischen auch aus den Samen von *Antiaris toxicaria* isoliert worden. Mit dem dortigen Präparat konnte der Zucker auch präparativ isoliert und dabei gezeigt werden, dass es sich tatsächlich um die *D*-Form der 6-Desoxyallose handelt [5] [6] [7]. Der molekulare Drehungsbeitrag des Zuckerrestes (Gef. $A[\Phi]_D = -148^\circ$) in Strophallosid passt nur auf eine β -*D*-Bindung⁹⁾, was der Regel von KLYNE [14] entspricht.

J' = 16-O-Acetyl-glucogitodimethosid (V). Dieses nur in amorpher Form erhaltene Glykosid besitzt vermutlich die Formel V. Dies stützt sich auf folgende Befunde. Die Hydrolyse mit KILIANI-Mischung lieferte 2 Zucker mit Laufstrecken wie Glucose und 2,3-Di-O-methylglucose. Beim fermentativen Abbau mit Schneckenferment wurden aus *J'* zwei Monoglykoside (*J*₁' und *J*₂') erhalten, die durch präparative Dünnschichtchromatographie [15] getrennt wurden. Das langsamer laufende *J*₁' konnte kristallisiert werden. Es erwies sich nach Papierchromatogramm, Dünnschichtchromatogramm, Smp., Farbreaktion mit H_2SO_4 und Fluoreszenz mit H_3PO_4 im UV.-Licht als identisch mit Substanz F von KHARE *et al.* [2], für die wir jetzt den Namen Gitodi-

⁷⁾ Wir verwendeten ein nach HUBER *et al.* [11] bereitetes Trockenpräparat.

⁸⁾ Die zwei raumisomeren Stoffe, Cannogenol (5β -Derivat) und Coroglaucigenin (5α -Derivat) geben genau gleiche Farbreaktionen und verhalten sich im Papier- und Dünnschichtchromatogramm fast gleich, so dass deren Unterscheidung papierchromatographisch schwierig ist. Eine Trennung gelingt mit dem System *n*-Butylacetat-Fmd-W/Fmd (vgl. exper. Teil). Da alle ändern aus *Streblus asper* isolierten Cardenolide 5β -Konfiguration besitzen, ist es wahrscheinlich, dass wir es bei *H'* auch mit einem 5β -Cardenolid zu tun haben.

⁹⁾ Als molekularer Drehungsbeitrag des 6-Desoxy- β -*D*-allopyranosylrestes wurden in Gofrusid -194° und in Frugosid -193° gefunden [12]. LEVENE & COMPTON [13] fanden für amorphes 6-Desoxy- α -*D*-allopyranosid $[\alpha]_D^{25} = +54,2^\circ$ ($[\Phi]_D = +96^\circ$) und für krist. 6-Desoxy- β -*D*-allopyranosid $[\alpha]_D^{25} = -61,3^\circ$ ($[\Phi]_D = -109^\circ$).

methosid vorschlagen. In Übereinstimmung mit den früheren Befunden [2] dürfte sie die Formel VI besitzen. Die erneut durchgeführte Hydrolyse des Gitodimethosids VI nach MANNICH verläuft sehr langsam. Es bildet sich ein Gemisch von 4 KEDDE-positiven Stoffen; einer davon zeigt im Dünnschichtchromatogramm dieselbe Laufstrecke und beim Erhitzen mit p -Toluolsulfonsäure denselben Farbverlauf wie Gitoxigenin. Das amorphe Präparat von J_2' konnte durch Verseifung mit KHCO_3 in J_1' überführt werden. J_2' gab mit HCl in Aceton mehrere Stoffe; auf der Dünnschichtplatte wurde auch ein dem Oleandrogenin entsprechender Fleck sichtbar. Die genannten Resultate passen alle sehr gut auf die Formel V. Wir nehmen dabei an, dass bei der Einwirkung des Schneckenferments ausser der D -Glucose auch noch ein Teil der Essigsäure in 16-Stellung hydrolytisch abgespalten wurde.

$J''' = \text{Glucogitodimethosid (IV)}$. Die vorgeschlagene Formel stützt sich auf folgende Befunde: Bei der KILIANI-Spaltung wurden wieder 2 Zucker erhalten, mit Laufstrecken wie Glucose und 2,3-Di-O-methylglucose. Die fermentative Spaltung mit Schneckenenzym lieferte nur ein Monoglykosid, das in Kristallen erhalten werden konnte und das nach Papier- und Dünnschichtchromatogramm, Färbung mit H_2SO_4 und Fluoreszenz mit H_3PO_4 im UV. mit Gitodimethosid identisch war. Es lieferte bei der Spaltung nach MANNICH neben andern Flecken auch denjenigen des Gitoxigenins.

$K = \text{Strophanollosid (III)}$. Die vorgeschlagene Formel ist gut begründet, auch wenn der Nachweis der Spaltstücke nur durch Papier- und Dünnschichtchromatographie in verschiedenen Systemen erfolgte. Ausserdem konnte krist. Strophanollosid (K) (III) auch durch Reduktion von Strophallosid (J) (II) mit NaBH_4 erhalten werden. Der molekulare Drehungsbeitrag des 6-Desoxy- β - D -allopyranosylrestes im Strophanollosid (Gef. $[\Phi]_D = -193^\circ$) steht in ausgezeichnete Übereinstimmung mit den genannten Literaturwerten⁹⁾.

$K' = \text{Glucokamalosid (VII)}$. Die vorgeschlagene Formel ergibt sich aus folgenden Befunden: Nach Hydrolyse mit KILIANI-Mischung wurden 2 Zucker erhalten, mit Laufstrecken wie Glucose und 2,3-Di-O-methylfucose. Bei der MANNICH-Spaltung wurde ein Gemisch erhalten, das im Papier- und Dünnschichtchromatogramm neben zwei rascher laufenden Flecken auch denjenigen des Periplogenins zeigte. Auch die H_2SO_4 -Färbung von K' entsprach einem Periplogeninderivat. Schliesslich lieferte K' mit Schneckenferment ein Monoglykosid, das nach Papier- und Dünnschichtchromatogramm mit Kamalosid identisch war, dessen Struktur früher [2] bewiesen wurde. Kamalosid zeigt $[\Phi]_D = +60^\circ$ in Me. Aus der molekularen Drehung von Glucokamalosid ($[\Phi]_D = -26^\circ$) ergibt sich für den endständigen D -Glucosylrest ein molekularer Beitrag von -86° , was mit einer β - D -Bindung vereinbar ist, entspr. Formel VII.

$a = \text{Sarmethosid (VIII)}$. Dieses Glykosid wurde nur in amorpher Form erhalten, trotzdem ist seine Struktur gut gesichert. Nach Hydrolyse mit HCl in Aceton liess sich sowohl das Genin wie der Zucker in Kristallen gewinnen und eindeutig identifizieren. Danach besteht Sarmethosid aus Sarmentogenin und 3-O-Methyl- D -glucose. Auf Grund des molekularen Drehungsbeitrags des Zuckeranteils ($[\Phi]_D = -123^\circ$) dürfte auch hier das β - D -Pyranosylderivat vorliegen¹⁰⁾.

¹⁰⁾ IRVINE & SCOTT [16] fanden für das nicht ganz reine, amorphe 3-O-Methyl- α -methyl- D -glucopyranosid $[\Phi]_D = +206^\circ$ in Alk. HELFERICH & LANG [17] fanden für amorphes 3-O-Methyl- β -methyl- D -glucopyranosid $[\Phi]_D = -56^\circ$ in Wasser.

$M = \text{Glucostreblösid (IX)}$. Die KILIANI-Hydrolyse gab zwei Zucker mit Laufstrecken wie Glucose und 2,3-Di-O-methylfucose. Die MANNICH-Hydrolyse lieferte wie üblich ein Gemisch, aus dem sich aber nach Chromatographie das Genin präparativ in Kristallen isolieren und mit Strophanthidin identifizieren liess. Durch Behandlung mit Schneckenferment wurde M teilweise abgebaut. Neben Glucose entstand ein Monosid, das präparativ in Kristallen isoliert und mit Streblösid identifiziert wurde, dessen Struktur früher [2] bewiesen wurde. Streblösid zeigt $[\Phi]_D = +146^\circ$ in Me. Aus der molekularen Drehung von Glucostreblösid $[\Phi]_D = +66^\circ$ ergibt sich für den endständigen D-Glucosylrest ein molekularer Beitrag von -80° , was mit einer β -D-Bindung vereinbar ist, woraus sich Formel IX ergibt. Glucostreblösid lieferte ein krist. Tetra-O-acetylderivat X. Die analytischen Werte von IX und X passen gut auf die genannten Formeln.

Die Glykoside J'' , b , f und g wurden nur nach KILIANI gespalten und die Zucker durch Elektrophorese und im Papierchromatogramm nachgewiesen. J'' enthielt nur 3-O-Methylglucose, bei b und f konnten 3-O-Methylglucose und Glucose nachgewiesen werden. Glykosid g enthält neben Glucose einen zweiten, rascher laufenden Zucker, über den wegen Substanzmangels noch nichts ausgesagt werden kann.

Diskussion der Resultate. – Die hohe Wasserlöslichkeit kommt dadurch zustande, dass diese Genine entweder mit einem Zucker (6-Desoxy-D-allose, 3-O-Methyl-D-glucose) verknüpft sind, der als Pyranosid noch drei freie HO-Gruppen enthält, oder dann mit einem stärker methylierten Zucker (2,3-Di-O-methyl-D-glucose, 2,3-Di-O-methyl-D-fucose), der aber noch einen weiteren D-Glucopyranoylrest (mit 4 freien HO-Gruppen) trägt. 3-O-Methyl-D-glucose wurde hier erstmals in einem natürlichen Cardenolid gefunden.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Experimentelle Bedingungen sowie Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. vorstehende Arbeit [3].

Nachweis der Zucker. Dieser erfolgte durch Papierchromatographie und Elektrophorese. Für die Papierchromatographie (Ausführung absteigend) wurden die folgenden 3 Systeme verwendet:

1. Bu/W, Beladung des Papiers (WHATMAN Nr. 1) mit 40% W, Dauer 24–30 Std. Gibt groben Aufschluss über die Polarität des Zuckers. Unterscheidung zwischen 2,3-Di-O-methylglucose und 2,3-Di-O-methylfucose.
2. Mek-Bu-(1:1)/Boratpuffer [18], Papier WHATMAN Nr. 7, Dauer 40–50 Std. Unterscheidung von 3-O-Methylglucose und 6-Desoxyallose.
3. Bu/Molybdatpuffer (siehe unten). Dauer 30–40 Std. Dieses System ist zur Differenzierung von 6-Desoxyglucose, 6-Desoxygulose und 6-Desoxyallose gut geeignet, vgl. Fig. 2. Diese 3 Zucker zeigen in den Systemen 1. und 2. dieselben Laufstrecken.

Molybdatpuffer. BOURNE *et al.* [19] beschreiben die Trennung von Zuckern durch Elektrophorese in Molybdatpuffer. Die Zucker, welche 3zählige Komplexe zu bilden vermögen, werden selektiv abgetrennt. Diese Methode lässt sich auf Papierchromatogramme übertragen. 10,3 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$ in 700 ml W lösen, mit H_2SO_4 auf pH = 5,0 (pH-Meter) stellen und mit W auf 750 ml auffüllen. Gewogenes Papier (WHATMAN Nr. 7) mit Puffer imprägnieren, zwischen Filterpapier auspressen, Zucker auf Startpunkt auftragen und Papier an der Luft hängen lassen, bis Papiergewicht 150% des ursprünglichen Trockengewichts beträgt.

Papierelektrophorese der Zucker [20]. Diese Methode ist eine zusätzliche Kontrolle für die Resultate, die durch Pchr gefunden wurden. Verwendeter Puffer: 19,08 g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 10 \text{H}_2\text{O}$ und 4,0 g NaOH wurden in 1000 ml W gelöst (ergibt pH $\sim 10,4$). Papier (SCHLEICHER & SCHÜLL 2040b,

180 × 570 mm) mit obigem Puffer imprägniert und zwischen Gummiwalzen ausgepresst. Der Gehalt an Puffer betrug dann 150% des Trockengewichts des Papiers. Die in Puffer gelösten Zucker aufgetragen und 4–5 Std. bei 1600–1700 V elektrophoresiert; als Stromstärke ergab sich 75–80 mA. Das flach zwischen zwei Kunststoffolien und zwei planparallelen Aluminiumblöcken liegende Papier wurde beidseitig (oben und unten) gekühlt. Wie bei der Pchr wurden auch hier die Zucker mit PARTRIDGE-Reagens [21] sichtbar gemacht, s. Fig. 3.

Für den *Nachweis der Gemine* im Pchr dienten die Systeme Chf/Fmd und Be-Chf-(7:5)/Fmd. Zur Unterscheidung von Cannogenol und Coroglaucigenin, welche durch die erwähnten Systeme nicht getrennt werden können, diente das System Butylacetat-W-Fmd/Fmd von MATTOX & LEWBART [22]. Entwicklung mit KEDDE-Reagens [4]. Für den Nachweis der Gemine im Dchr dienten die Systeme Chf-Me-(9:1) und Est mit W gesättigt (Platte wurde nicht mit W imprägniert). Entwicklung mit *p*-Toluolsulfonsäure (20 g in 100 ml Alk gelöst).

Präparative Dünnschichtchromatographie [15]. Glasplatten 10 × 20 cm, Kieselgel MERCK H₂₅₄, 1 mm dick aufgetragen und getrocknet. Substanz (ca. 8–10 mg pro Platte) in 0,1–0,2 ml Chf-Alk-(2:1) gelöst auf Startlinie aufgetragen, dann 2½ Std. im System Chf-Me-(89:11) aufsteigend entwickelt. Am oberen Rand der Platte Wattebausch aufgepresst [23]. Platte bei 20° getrocknet. Zonen im UV. als dunkle Streifen lokalisiert, ausgekratzt und mit Me extrahiert, Extrakte im Vakuum eingedampft, Rückstand in Chf-Alk-(2:1) aufgenommen, mit wenig W gewaschen, getrocknet und eingedampft.

Hydrolyse mit KILIANI-Mischung zum Nachweis der Zucker. 2 mg Glykosid wurden in 0,1 ml KILIANI-Mischung [9]¹¹⁾ 1 Std. auf 100° erhitzt, mit 0,2 ml W verdünnt und im CO₂-Strom bei 45° zur Trockne eingedampft. Dann wurde nochmals mit 0,1 ml W versetzt und wie oben eingedampft. Es wurde mit 0,5 ml W aufgenommen und 4mal mit je 1 ml Chf ausgeschüttelt. Die zurückbleibende wässrige Phase wurde im Vakuum eingedampft. Der meist fast neutrale Rückstand diente zur Prüfung auf Zucker im Pchr und Elektroferogramm.

Hydrolyse mit HCl-Aceton nach MANNICH & SIEWERT [10]. 2 mg Glykosid wurden in 0,2 ml 1-proz. HCl-Aceton-Mischung¹²⁾ gelöst und verschlossen bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Nach 2, 4 und 6 Tagen wurden je 0,01 ml der Lösung direkt im Pchr oder Dchr auf Cardenolide (KEDDE-Reagens) und teilweise auch auf Zucker (Anilinhydrogenphthalat) geprüft.

Fermentativer Abbau mit Schneckenferment. 2 mg Glykosid wurden in 0,2 ml 0,01M Acetatpuffer vom pH = 5,4 gelöst, mit der Lösung von 2 mg Schneckenferment-Trockenpräparat [11] in 0,2 ml desselben Puffers vermischt und nach Zugabe von 3 Tropfen Toluol, unter CO₂ 8–15 Tage verschlossen auf 36° erwärmt. Dann wurde das Ferment mit 5 ml abs. Alk ausgefällt, durch ein mit wenig gewaschener Kieselgur (Hyflo Super Cel) gedichtetes Filter entfernt und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 0,5 ml W aufgenommen und die Lösung je 3mal mit je 2 ml Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Extrakte wurden eingedampft und die Rückstände im Pchr und Dchr geprüft.

H' = *Cannodimethosid* (I). Spaltstücke durch Pchr und Dchr nachgewiesen.

J = *Strophallosid* (II). Bei unserem Präparat wurden die Spaltstücke nur durch Pchr und Dchr nachgewiesen. Die Hydrolyse in präp. Maßstab ist bei MÜHLRADT *et al.* [5] [6] [7] beschrieben. Reduktion siehe unten bei K.

J' = *16-O-Acetyl-glucogitodimethosid* (V). Spaltstücke nur durch Pchr und Dchr nachgewiesen. Zum präparativen Abbau mit Schneckenferment wurden 30 mg amorphes *J'* in 2,5 ml Acetatpuffer mit 30 mg Fermentpulver in 2,5 ml Puffer und 0,1 ml To vermischt und unter CO₂ 12 Tage auf 37° erwärmt. Die Aufarbeitung gab 17,5 mg Chf-Extrakt und 3,5 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Der letztere bestand nach Pchr zum grössten Teil aus Ausgangsmaterial *J'* und wenig *J'''*. Der Chf-Extrakt zeigte zwei Flecke, *J*₁' und *J*₂'. Das Gemisch wurde durch präp. Dchr getrennt und lieferte 5 mg rohes *J*₁' sowie 4,3 mg rohes *J*₂'. Ersteres gab aus Me-Ae 2 mg farblose Kristalle, mit Smp. 213–215°; nach Mischprobe, H₂SO₄-Färbung, Fluoreszenz im UV. mit H₃PO₄ und Pchr identisch mit Gitodimethosid (VI) (= Substanz F von KHARE *et al.* [1] [2])¹³⁾.

¹¹⁾ 3,5 ml Eisessig, 5,5 ml Wasser und 1 ml konz. HCl.

¹²⁾ 0,1 ml konz. HCl mit 10 ml Aceton frisch gemischt.

¹³⁾ KHARE *et al.* [1] [2] fanden Smp. 175–182°. Das Vergleichspräparat zeigte aber den Smp. 216–220°.

Ent-O-acetylierung von J₂'. 1 mg amorphes J₂' in 0,1 ml Me wurde mit 1 mg KHCO₃ in 0,1 ml W versetzt und 3 Tage bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung mit Chf gab 0,8 mg Rohextrakt. Dieser zeigte im Dchr neben wenig Ausgangsmaterial (J₂') den Fleck von J₁' (= Gitodimethosid, VI).

J^{'''} = *Glucogitodimethosid (IV)*. Spaltstücke nur durch Pchr und Dchr nachgewiesen. Der Abbau mit Schneckenferment wurde präparativ ausgeführt. 6,6 mg amorphes Präparat J^{'''} wurden wie oben behandelt und gaben 2,5 mg Chf-Extr. sowie 2 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Letzterer enthielt noch Ausgangsmaterial, das nicht mehr untersucht wurde. Ersterer lieferte aus Me-Ae 1 mg farblose Körner, Smp. 213–221°. Nach Pchr, Mischprobe, H₂SO₄-Färbung und Fluoreszenz im UV. mit H₃PO₄ identisch mit Gitodimethosid (VI).

K = *Strophanollosid (III)*. Die Spaltstücke wurden nur durch Pchr und Dchr nachgewiesen. Dagegen wurde die Teilsynthese aus J präparativ durchgeführt. 45 mg Strophallosid (J) (Präparat MÜHLRADT, gewonnen aus den Samen von *Antiaris toxicaria*) in 5,5 ml 80-proz. Alk bei -20° mit der Lösung von 22 mg NaBH₄ in Alk versetzt, mit Essigsäure auf pH = 8 gestellt und 5 Std. bei 0° stehengelassen. Dann wurde mit H₂SO₄ auf pH = 4 gebracht und im Vakuum auf 1 ml eingengt. Dann wurde nochmals mit 2 ml Me versetzt und erneut im Vakuum eingengt, und dies noch zweimal wiederholt, worauf keine Borsäure mehr nachweisbar war. Ausschütteln mit Chf-Alk-(2:1), Waschen, Trocknen und Eindampfen gab 45 mg amorphes Rohprodukt. Es wurde an 1,5 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Chf-Me-Gemischen eluierten Anteile (34 mg) gaben aus Me-W 22 mg farblose Nadeln, Smp. 172–175°, $[\alpha]_D^{24} = -8,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,93$ in Me). Nach Pchr, Dchr, Mischprobe und Färbung mit H₂SO₄ identisch mit dem aus *Streblus asper* isolierten Strophanollosid (K).

K' = *Glucokamalosid (VII)*. Die Spaltstücke wurden nur durch Pchr und Dchr identifiziert, ebenso das mit Schneckenferment erhaltene Kamalosid.

a = *Sarmethosid (VIII)*. 30 mg amorphes Sarmethosid wurden in 3 ml 1-proz. HCl-Aceton 4 Tage bei 20° stehengelassen, worauf die Spaltung nach Kontrolle im Dchr weit vorgeschritten war. Nach Zusatz von 3 ml W wurde im Vakuum auf 3 ml eingengt, mit 3 ml Me versetzt und 1/2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach erneutem Einengen im Vakuum auf 2 ml wurde mit Chf, dann mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben 21 mg rohen Chf-Extrakt und 2 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (letzterer wurde nicht untersucht). Die verbliebene wässrige Phase wurde mit Anionenaustauscher (Amberlite IR 4b) neutralisiert, durch eine Spur gewaschene Tierkohle filtriert und das klare Filtrat im Vakuum eingedampft; erhalten 6,5 mg roher Zucker.

Nachweis des Sarmetogenins. Die 21 mg Chf-Extrakt gaben aus Me-Ae 12 mg farblose Prismen, Smp. 256–259°, $[\alpha]_D^{23} = +20,5^\circ \pm 2,5^\circ$ ($c = 0,87$ in Me). Nach Dchr, Pchr, Mischprobe, Farbreaktionen und IR.-Spektren (vgl. Fig. 1) identisch mit authentischem Sarmetogenin.

Identifizierung des Zuckers. Die 6 mg roher Zucker (gelbliches Harz) zeigten im Pchr nur einen Fleck mit Laufstrecke wie 3-O-Methylglucose. Zur Reinigung wurde das Material mit 5,5 mg aus zweitem Versuch (aus 20 mg Sarmethosid) vereinigt und das Ganze (12 mg) nach WHISTLER & DURSO [24] an 1,5 g gereinigtem Kieselgur-Kohle-Gemisch chromatographiert (je 2,5 ml pro Fr). Die mit W-Alk-(98:2) eluierten Anteile (5 mg farbloses Glas) gaben aus Me-An 2,5 mg farblose Körner, Smp. 152–156°, $[\alpha]_D^{25} = +102^\circ$ (extrapoliert nach 0 Min.) $\rightarrow +52^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,17$ in W)¹⁴. Nach Mischprobe und Pchr identisch mit authentischer 3-O-Methyl-D-glucose.

M = *Glucostreblösid (IX)*. Die KILIANI-Hydrolyse wurde nur im Mikromaßstab mit Nachweis der zwei Zucker im Pchr und Elektropherogramm durchgeführt.

Präparative Hydrolyse nach MANNICH. 60 mg Glucostreblösid vom Smp. 244–248° wurden in 20 ml An gelöst, mit 0,2 ml konz. HCl versetzt und 25 Tage unter CO₂ im Dunkeln bei 20° stehengelassen. Aufarbeitung wie oben gab 71 mg Chf-Extrakt und 6 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Letzterer wurde nicht untersucht. Der Chf-Extrakt wurde an 2,5 g Al₂O₃ (Aktivität IV) chromatogra-

¹⁴) Gemessen mit Polarimeter mit photoelektrischer Ablesung. Wir danken Herrn Dr. F. BURKHARDT c/o F. HOFFMANN-LA-ROCHE & Co. AG., Basel, auch hier bestens für die Ausführung dieser Messung. Authentische 3-O-Methyl-D-glucose zeigt nach ANDERSON *et al.* [25] $[\alpha]_D^{17} = +104,3^\circ \rightarrow +55,3^\circ$ (nach 19 1/2 Std., $c = 1,33$ in W).

phiert. Die mit Chf und Chf-Me-Gemischen eluierten Anteile (14,7 mg) zeigten im Pchr nur *einen* Fleck und gaben mit Me-W 6 mg farblose Kristalle, Smp. 135–137°. Nach Pchr, Mischprobe und Farbreaktionen identisch mit authentischem Strophanthidin.

Präparativer Abbau mit Schneckenferment. 150 mg Glucostreblösid vom Smp. 244–248° wurden in 22 ml 0,01 M Acetatpuffer vom pH = 5,5 gelöst, mit 2,5 ml frisch gewonnenem Hepatopankreassaft aus Weinbergschnecken, sowie mit 0,25 ml To versetzt, im Vakuum eingeschmolzen und 13 Tage auf 37° erwärmt. Aufarbeitung wie oben gab 77 mg Chf-Extrakt und 53 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Der letztere besteht nach Pchr vorwiegend aus Ausgangsmaterial, enthält aber noch Verunreinigungen aus dem rohen Ferment. Dieser Teil wurde nicht weiter untersucht. Die ausgeschüttelte wässrige Phase zeigte im Pchr den Fleck der Glucose. – Der rohe Chf-Extrakt wurde an 7 g Al₂O₃ (Akt. III) chromatographiert. Die mit Be-Chf sowie mit Chf-Me-Gemischen eluierten Anteile (49,6 mg farbloser Schaum) gaben aus Me-W 16,5 mg farblose Nadeln, Smp. 141–143°, $[\alpha]_D^{24} = +27,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,6$ in Me). Nach Pchr, Mischprobe und Farbreaktionen identisch mit Streblösid.

Glykoside J^m, b, f und g. Nur Zucker im Pchr nachgewiesen.

SUMMARY

Tentative structures are derived for eight water-soluble cardenolide glycosides from the root bark of *Streblus asper* LOUR. They are mainly based on identification by paper and thin layer chromatography of the products obtained after acid hydrolysis in micro scale, using both 'KILIANI' and 'MANNICH' conditions. In derivatives containing D-glucose as β -D-glucopyranosidic end group this sugar could be split off by prolonged treatment with snail enzyme. In a few cases it was possible to perform hydrolysis in preparative scale and to show that the isolated sugar component belonged to the D-series. Strophalloside (J) could be reduced to strophanolloside (K) with NaBH₄.

The following structures could so be deduced for the 8 glycosides in which the sugars are probably always bound as β -D-pyranosides to the hydroxyl group in 3-position of the steroid:

H' = Cannodimethoside (cannogenol + 2,3-di-O-methyl-D-glucose)

J = Strophalloside (strophanthidin + 6-deoxy-D-allose)

J' = 16-O-Acetyl-glucogitodimethoside (oleandrogenin + 2,3-di-O-methyl-D-glucose + D-glucose)

J^m = Glucogitodimethoside (gitoxigenin + 2,3-di-O-methyl-D-glucose + D-glucose)

K = Strophanolloside (strophanthidol + 6-deoxy-D-allose)

K' = Glucokamaloside (periplogenin + 2,3-di-O-methyl-D-fucose + D-glucose)

a = Sarmethoside (sarmentogenin + 3-O-methyl-D-glucose)

M = Glucostreblösid (strophanthidin + 2,3-di-O-methyl-D-fucose + D-glucose)

Some of the proposed structures need confirmation by preparative isolation of the hydrolysis products. So far this was not possible.

Institut für Organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] M. P. KHARE, S. S. BHATNAGAR, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 1515 (1962).
- [2] M. P. KHARE, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 1534 (1962).
- [3] A. R. MANZETTI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 47, 2303 (1964).

- [4] D. L. KEDDE, Diss. Leiden 1946; Pharmac. Weekblad 82, 741 (1947); Ausführung nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).
- [5] P. MÜHLRADT, Diss. Basel 1964.
- [6] P. MÜHLRADT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 47, 2164 (1964).
- [7] P. MÜHLRADT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Liebig's Ann. Chem. (im Druck).
- [8] V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, Rev. Univ. nac. Cordoba 32, 439 (1945); M. PESEZ, Ann. pharmac. franç. 10, 104 (1952).
- [9] H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 2866 (1930); Ausführung nach P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).
- [10] C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. 75, 737 (1942).
- [11] H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 68 (1951).
- [12] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 1073 (1952).
- [13] P. A. LEVENE & J. COMPTON, J. biol. Chemistry 116, 169 (1936).
- [14] W. KLYNE, Biochem. J. 47, xli (1950).
- [15] H. HALPAAP, Chem.-Ing.-Techn. 35, 488 (1963).
- [16] J. C. IRVINE & J. P. SCOTT, J. chem. Soc. 103, 571 (1913).
- [17] B. HELFERICH & O. LANG, J. prakt. Chem. [2] 132, 321 (1932).
- [18] M. T. KRAUSS, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, J. Chromatogr. 3, 63 (1960).
- [19] E. J. BOURNE, D. H. HUTSON & H. WEIGEL, J. chem. Soc. 1960, 4252; 1961, 35.
- [20] R. CONSDEN & W. M. STANIER, Nature 169, 783 (1952); A. B. FOSTER, Advances Carbohydrate Chem. 12, 81 (1957).
- [21] S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).
- [22] V. R. MATTOX & M. L. LEWBART, Arch. Biochem. Biophysics 76, 362 (1958).
- [23] M. L. LEWBART, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, Helv. 46, 508 (1963).
- [24] R. L. WHISTLER & D. F. DURSO, J. Amer. chem. Soc. 72, 677 (1950); ausgeführt nach W. J. WHELAN, J. M. BAILEY & P. J. P. ROBERTS, J. chem. Soc. 1953, 1293.
- [25] C. G. ANDERSON, W. CHARLTON & W. N. HAWORTH, J. chem. Soc. 1929, 1329.

257. Die Glykoside von *Pachypodium lealii* WELWITSCH und *Pachypodium saundersii* N. E. BR.¹⁾

Glykoside und Aglykone, 262. Mitteilung [1]¹⁾

von U. Meyer, Ek. Weiss und T. Reichstein

(15. X. 64)

Die Gattung *Pachypodium* (*Apocynaceae*) ist im südlichen Afrika und in Madagaskar heimisch und umfasst vorwiegend succulente Steppengewächse von teilweise respektablen Ausmassen. Thonner [2] gibt erst 10 Arten, während PICHON [3] deren 20 aufführt. Abbildungen von *P. lealii* WELW. und *P. namaquanum* WELW. geben WATT & BREYER-BRANDWIJK [4], p. 92–93, Abbildung von *P. saundersii* vgl. Fig. 1, eine weitere Abbildung von *P. lealii* vgl. Fig. 2. Einige sollen als Bitterstoffe (Bereitung von Bier) [4] benützt werden und *P. lealii*²⁾ soll für die Bereitung eines Pfeilgiftes verwendet worden sein [4] [5], das ein stark digitalisartig wirksames Herzgift «Pachypodiin» enthält. HELLY [5] beschreibt aber nur die Wirkung des fertigen, aus

¹⁾ Auszug aus Diss. URS MEYER, Basel 1964. – Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2356.

²⁾ K. HELLY [5] spricht von *P. Sealii* (ohne Autornamen), was eine Verwechslung mit *P. lealii* WELWITSCH sein dürfte.