

223. Die Glykoside der Wurzeln von *Glossostelma carsoni* (N. E. BR.) BULLOCK¹⁾

Glykoside und Aglykone, 297. Mitteilung²⁾

von P. Reichstein, H. Kaufmann, W. Stöcklin und T. Reichstein

(5. IX. 67)

1. Botanische Angaben und Beschaffung des Ausgangsmaterials. - Im Rahmen einer systematischen Untersuchung der glykosidischen Inhaltsstoffe von Asclepiadaceen beschreiben wir hier die Analyse der Wurzeln von *Glossostelma carsoni* (N. E. BR.) BULLOCK [2]. Es ist dies eine im südöstlichen Teil des tropischen Afrika heimische Staude, die am nächsten mit *Glossostelma spathulatum* (K. SCHUM.) BULLOCK verwandt ist. Beide Pflanzen bewohnen weitgehend dasselbe Areal (auf ca. 6000–8000 Fuss Höhe) und sind früher (teilweise sogar von denselben Autoren) unter zahlreichen verschiedenen Namen beschrieben worden (vgl. Liste der Synonyma bei BULLOCK [2]). Unser Material ist von Herrn Dr. I. B. POLE EVANS gesammelt worden, einem der besten Kenner der afrikanischen Flora, dem beide Pflanzen genau bekannt waren, so dass für die richtige Bestimmung dieser nicht ganz leicht zu identifizierenden Pflanze Gewähr geboten ist. Nach BULLOCK [2] finden sich im Kew Herbarium Belege von *Glossostelma carsoni* aus folgenden Gegenden: «Northern and Southern Rhodesia, Nyasaland, Portuguese East Africa, the Katanga area of the Belgian Congo and from southern Tanganyika.» Herr Dr. POLE EVANS gab uns über die Ökologie (in lit. 6. 2. 1957) noch folgende aufschlussreiche Angaben: «I find that this plant is confined to high wooded country covered with *Brachystegia* trees and with a ground cover of grass and fern below. The root system is comparatively small and is in the form of a few spreading swollen roots or tubers which are quite superficial and confined mainly to the layer of humus from the fallen *Brachystegia* leaves. Nowhere have I seen the plants plentiful, but they are widely dispensed through the woodland»³⁾.

¹⁾ Auszug aus der Dissertation P. REICHSTEIN, Universität Basel 1967.

²⁾ 296. Mitteilung: J. v. EUW *et al.* [1].

³⁾ *Glossostelma spathulatum* bewohnt ausser dem für *G. carsoni* angegebenen Areal auch Angola. Für Süd-Rhodesien gibt POLE EVANS folgenden Kommentar (6. 2. 1957). «I find that in Southern Rhodesia *Glossostelma spathulatum* is confined to high open grassland country from 6000 to 8000 ft above sea level. Here it is very sparsely distributed in the grassland and once the grass is well grown up it is most difficult to detect. Furthermore most of the high country is now being ploughed up by tractors owned by large companies and is being planted to Wattle trees for the bark, so that before very long *Glossostelma spathulatum* will be almost a plant of the past in Southern Rhodesia. The root system consists of 3–4 spreading tubers (vgl. Abbildung bei MAULI *et al.* [3]) a little larger than those of *G. carsoni* and fairly easy to dig out.

The root material from both plants is very bitter and pungent and caused irritation to my eyes, nose and throat when I was cutting it up and drying it».

Die Bezeichnung «Wattle trees» wird nach POLE EVANS (16. 2. 1967) für verschiedene australische *Acacia*-Arten benützt, die zur Gewinnung von Tannin (aus der Rinde) kultiviert werden. In Süd-Afrika, Rhodesien und Ost-Afrika dient hierfür besonders *Acacia decurrens* var. *mollissima* (the Black Wattle).

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus total 1,62 kg getrockneter Wurzeln von *Glossostelma carsoni*, sowie Resultate bei der Prüfung im PC bzw. DC⁴⁾

Extrakt	Versuch I Probe a) 200 g Wurzeln		Versuch II Probe a) 760 g Wurzeln		Versuch III Probe b) 660 g Wurzeln		K ₉ Fe(CN) ₆ Reaktion ⁵⁾	Xanthylpro- Reaktion ⁶⁾	Tüpfelprobe Mit H ₃ PO ₄ ⁸⁾	Flecke im PC bzw. DC ⁹⁾ (gilt für Versuch I-II)
	Menge in g	in %	Menge in g	in %	Menge in g	in %				
Pe-Extrakt roh ¹⁰⁾	4,220	2,11	22,370	2,94	19,985	3,03	+	-	-	(α), β ₁ , β ₂ , γ ₁ , γ ₂ , δ ₁ , δ ₂ , φ ¹¹⁾
„ phenolfrei	-	-	-	-	19,490	2,96	+	-	-	
Ae-Extrakt roh ¹⁰⁾	0,963	0,48	5,400	0,71	2,093	0,32	+	+	-	{ (A), (B), (C), D, (E), F, G, (H), K, (δ), ε, (ξ), (η), θ, i, π ¹²⁾ }
„ phenolfrei	-	-	-	-	0,513	0,08	+	+	-	
Chf-Extrakt roh ¹⁰⁾	0,604	0,30	3,577	0,47	0,988	0,15	+	+	-	(E), (G), H, J, K, ((L, M, N, O, P, Q))
„ phenolfrei	-	-	-	-	0,433	0,07	+	+	-	
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt	2,387	1,19	8,410	1,11	12,2	1,85	+	+	-	R, (S), T, U, V, W, ((X, Y, Z, Z'))
Chf-Alk-(3:2)-Extrakt	2,831	1,42	3,160	0,42	10,0	1,53	+	+	-	W, ((X, Y, Z, Z'))

⁴⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw., vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

⁵⁾ Dies Reagens [6] gibt mit allen Butenoliden violette Flecke. Empfindlichkeit bei direktem Tüpfeln ca. 0,002 mg, im PC ca. 0,005 mg und im DC ca. 0,01 mg.

⁶⁾ Dies Reagens [7] gibt mit allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden eine rote Färbung. Empfindlichkeit im Glühröhr ca. 0,01 mg.

⁷⁾ Dies Reagens gibt mit fast allen Phenolen [8] blaue Flecke. Empfindlichkeit bei direktem Tüpfeln ca. 0,01 mg.

⁸⁾ Butenolide, die an C-16 eine OH-Gruppe besitzen, zeigen nach Behandlung mit H₃PO₄ [9] im UV-Fluoreszenz.

⁹⁾ Grosse römische Buchstaben = K₉EDDE-positive Flecke; griechische Buchstaben = Flecke, die mit K₉EDDE-Reagens keine violette Färbung geben und nur im DC nach Besprühen mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure (in Alk) und anschließendem Erhitzen auf 110° sichtbar wurden. Flecke im PC wurden nur mit K₉EDDE-Reagens sichtbar gemacht. Buchstaben in Klammern bedeuten schwache Flecke.

¹⁰⁾ Entfernung der Phenole durch Ausschütteln mit 2N NaOH bei 0°; nur bei Versuch III ausgeführt.

¹¹⁾ φ = Gemisch vieler, schlecht trennbarer Flecke.

¹²⁾ π = Fleck, der im PC mit der Front lief. Dieser Fleck entspricht vermutlich einem Gemisch vieler 2-Desoxy-acyl-glykoside, das evtl. auch Linoleon-, Sarcostin- und Metaplexigenin-Derivate enthalten hatte.

Fig. 1-4 sind Beispiele für Papierchromatogramme (PC), Fig. 5 und 6 für Dünnschichtchromatogramme (DC), alle schematisiert aber massgetreu¹⁸⁾. Vergleichsstoffe: Dtox = D-Digitoxose, Cym = D-Cymarose.

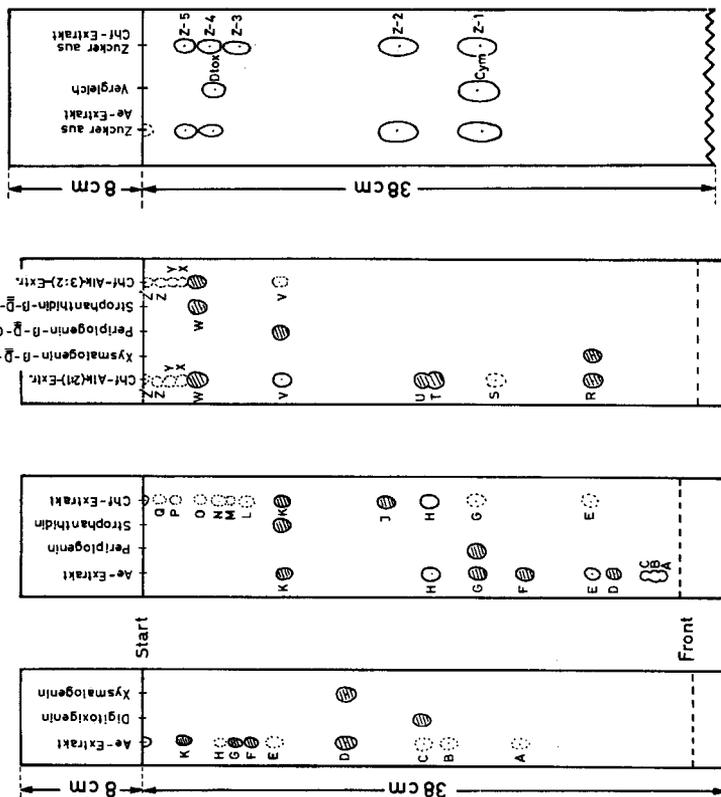


Fig. 1
Be-Chf-(7:5)
/Fmd
5 Std.¹³⁾

Fig. 2
Chf/Fmd
2 Std.¹³⁾

Fig. 3
To-Bu-(1:1)
/W¹⁴⁾
5 Std.¹³⁾

Fig. 4
To-Bu-(1:1)/W¹⁴⁾
8 Std.¹⁵⁾¹⁶⁾
Front abgetropft

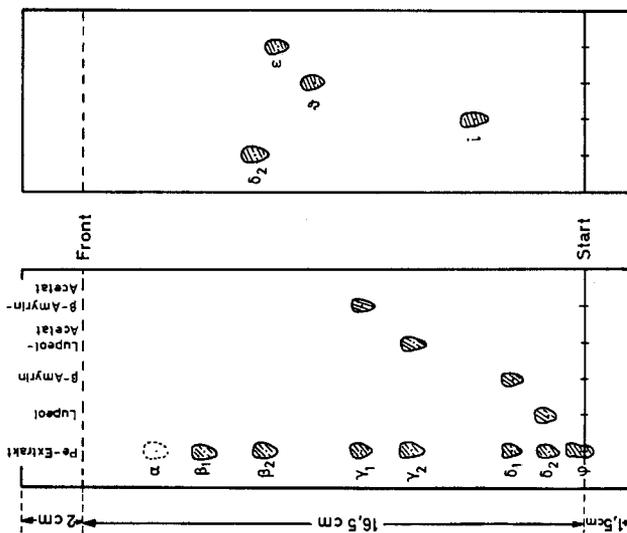


Fig. 6
Chf
ca. 40 Min.¹⁷⁾
SiO₂

Fig. 5
Be
ca. 40 Min.¹⁷⁾
SiO₂-AgNO₃

¹³⁾ Sichtbarmachung der Flecke durch Besprühen mit KEDDE-Reagens [6].

¹⁴⁾ Beladung des Papiers mit genau gewogener Menge Wasser (33% des Papiertrockengewichtes).

¹⁵⁾ Sichtbarmachung der Flecke durch Besprühen mit Vanillin-HClO₄ und Erwärmen auf 110° [10], dabei färben sich 2-Desoxyzucker und ihre Glykoside blaugrau.

¹⁶⁾ Der Fleck Z-3 wurde beim Entwickeln mit Vanillin-HClO₄ [10] mit brauner Farbe sichtbar, mit Anilinium-hydrogenphthalat [11] trat keine Färbung ein.

¹⁷⁾ Sichtbarmachung der Flecke durch Besprühen mit *p*-Toluolsulfonsäure (20% in Alk) und Erwärmen auf 110°.

¹⁸⁾ Ausführung von PC und DC sowie Abkürzungen für Lösungsmittel siehe Einleitung zum Exper. Teil.

Von dem entsprechend schwer zu beschaffenden Material hat er uns insgesamt die folgenden Proben zugesandt.

a) 1,05 kg in Scheiben geschnittene und getrocknete Wurzeln, gesammelt Ende 1956. Bonda Road, Inyanga distr. S. Rhodesia, entspr. Herbarmustern POLE EVANS Nr. 5046 und 5053, 23. 12. 1956.

b) Ca. 1,84 kg wie oben geschnittene Wurzeln aus der Umgebung von Melsetter, ca. Dez. 1960 und Jan. 1961.

c) 410 g getrocknete Blätter und Stengel aus der Umgebung von Melsetter wie Probe b).

d) Zwei ganze reife Früchte, Umgebung von Melsetter, ca. Jan. 1961.

Sie erreichten uns in ausgezeichnetem Zustand. Für die Analyse verwendet wurden die Proben a) und b).

2. Chemische Untersuchung. - Soweit uns bekannt liegt bisher nur die orientierende Prüfung von ABISCH & REICHSTEIN [4] vor. Danach enthalten die Wurzeln und Samen keine Alkaloide, wohl aber reichlich Glykoside, in denen viel Cardenolide und auch etwas 2-Desoxyzucker nachgewiesen werden konnten. Sehr ähnliche Resultate gaben die Wurzeln von *G. spathulatum*, wobei lediglich keine 2-Desoxyzucker (mit Hilfe der Xanthylprobe) festgestellt werden konnten.

2.1. Extraktion und Vortrennung der Extrakte. Zur Untersuchung wurden 1 kg von Probe a) und 660 g von Probe b) verwendet. Das Material wurde in 3 Portionen nach früher beschriebener Methode [5], jedoch ohne Reinigung mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$, extrahiert. Zur möglichen Vermeidung von Autoxydation wurde weitmöglichst in CO_2 -Atmosphäre gearbeitet. Tabelle 1 gibt die Ausbeuten an rohen Extrakten sowie Resultate der Prüfung in Papierchromatogrammen (PC) und Dünnschichtchromatogrammen (DC).

2.2. Untersuchung des Petrolätherextraktes (aus Probe a)). Obwohl dies Material keine Glykoside und auch keine Cardenolid-Genine enthielt, haben wir es orientierend geprüft, weil es in relativ grosser Menge vorlag. Das ganze Material (aus Versuch I und II) wurde zunächst durch Chromatographie an Al_2O_3 und an SiO_2 in drei Kristallisate (β , γ und δ) aufgetrennt, die aber noch Gemische darstellten. Jedes derselben konnte weiter durch Chromatographie an SiO_2 - AgNO_3 [12] in je zwei Komponenten zerlegt werden. In reinen Kristallen wurden hierauf 5 Stoffe (β_1 , γ_1 , γ_2 , δ_1 und δ_2) erhalten, deren Identifizierung bzw. Strukturermittlung aus Tab. 2 hervorgeht. Ein sechster Stoff (β_2) wurde nur in Form eines Mischkristallisates erhalten, das noch etwas β_1 enthielt. Durch Vergleich mit teilsynthetisch vorbereitetem Material konnte aber wahrscheinlich gemacht werden, dass β_2 mit dem noch nicht beschriebenen 3-O-Isovaleryl-lupeol (**6**) identisch ist.

2.3. Untersuchung des Ätherextraktes. Eine direkte Trennung erfolgte nur beim Material aus Probe a). Bei Probe b) wurde zwecks Prüfung auf Pregnanderivate zunächst sauer und dann alkalisch hydrolysiert. Das gesamte Material aus Probe a) (ca. 6,363 g) enthielt neben Cardenoliden auch KEDDE-negative Stoffe. Zur Trennung wurde wieder an Al_2O_3 und an SiO_2 chromatographiert, worauf sich die folgenden 5 krist. Cardenolide isolieren liessen: D (Xysmalogenin (**7**)), E (nicht identifiziert), F (nicht identifiziert, evtl. Derivat von Xysmalogenin- β -D-sarmentosid), G (Periplogenin (**9**)) und K (Strophanthidin (**11**)). Ferner wurden drei KEDDE-negative Kri-

stallisate ϵ , ϑ und ι erhalten, die im DC nur einen Fleck gaben, von denen ϵ aber nach Massenspektrum ein Gemisch von 4 Sterinen (β -Sitosterol, Stigmasterol, Campesterol und Cholesterol)^{18a)} darstellte. Ein ähnliches Gemisch aus drei Komponenten (β -Sitosterol, Stigmasterol und Cholesterol im Verhältnis 3:2:0,7) stellt nach LINDE *et al.* [13] « γ -Sitosterol» aus *Digitalis canariensis var. isabelliana* dar. Auch ϑ erwies sich im Massenspektrum als ein Gemisch von 4 Komponenten, denen vermutlich die Summenformeln $C_{27}H_{46}O_2$ (402), $C_{28}H_{48}O_2$ (416), $C_{29}H_{48}O_2$ (428) und $C_{29}H_{50}O_2$ (430) zukommen. Die entsprechenden Molekel-Ionen sowie die Bruchstücke $M - H_2O$ und $M - 2H_2O$ sind deutlich sichtbar. Daher besitzen alle diese 4 Stoffe die beiden Sauerstoffatome in Form von 2 Hydroxylgruppen, und es handelt sich bei diesem Gemisch möglicherweise um Monohydroxy-Derivate der im Kristallinat ϵ enthaltenen Sterinkomponenten (Cholesterol, Campesterol, Stigmasterol, β -Sitosterol und evtl. Raumisomeren). Substanz ι wurde nur in sehr geringer Menge isoliert und wurde nicht weiter untersucht.

Einige KEDDE-negative Fraktionen, die stark positive Xanthidol-Reaktionen zeigten, wurden mild sauer hydrolysiert, worauf sich im PC (in zwei Systemen)[14] vier Zucker nachweisen liessen (Fig. 4). Drei davon zeigten Laufstrecken wie Cymarose (Z-1), Oleandrose (Z-2) und Digitoxose (Z-4), der vierte (Z-5) lief etwas langsamer als Digitoxose, wurde aber nicht identifiziert. Die bei der Hydrolyse erhaltenen Geneine waren ein Gemisch vieler Stoffe, das nicht getrennt wurde.

2.4. *Untersuchung des Chloroformextraktes.* Auch hier wurde nur Probe a) direkt getrennt. Das Material zeigte im PC eine grosse Anzahl von Flecken (E-Q), von denen aber nur H, I und K stark waren. Es wurde an Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich diese drei Stoffe in reinen Kristallen isolieren liessen. H und I konnten nicht identifiziert werden, K war mit Strophanthidin (11) identisch.

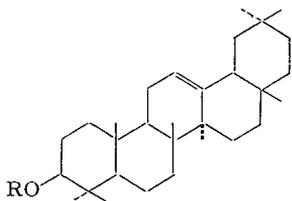
2.5. *Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes.* Dies stark polare Material enthielt nach PC (Fig. 3) 6 Stoffe (R, (S), T, U, V, W). Eine Probe davon wurde mit Schneckenferment¹⁹⁾ abgebaut, worauf sich im PC die Stoffe D (Xysmalogenin (7), F (vielleicht ein Derivat von Xysmalogenin- β -D-sarmentosid), G (Periplogenin (9)), H (nicht identifiziert) und K (Strophanthidin (11)) nachweisen liessen.

Eine weitere Probe (3 g) des Materials wurde direkt an SiO_2 chromatographiert, worauf sich die fünf folgenden Stoffe in Kristallen isolieren liessen: R (Xysmalogenin- β -D-glucosid = Xysmalomonosid (8) [18], [19]), T (nicht aufgeklärt), U (Glucosid von H), V (Periplogenin- β -D-glucosid (10) [22], [23]) und W (Strophanthidin- β -D-glucosid (12) [26]).

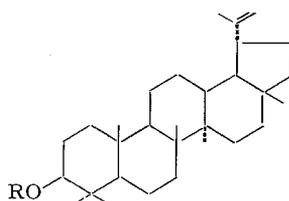
2.6. *Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extraktes.* Dies sehr stark polare Material zeigte im PC (Fig. 3) nur einen starken (W) sowie 5 schwache Flecke (V, X, Y, Z und Z'). Eine kleine Probe wurde wieder mit Schneckenferment abgebaut, worauf sich im PC nur K (Strophanthidin (11)) nachweisen liess. Eine grössere Probe (4,7 g) wurde direkt an feuchtem Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich eine reichliche Menge (ca. 1,2 g) reines W (Strophanthidin- β -D-glucosid (12)) in Kristallen isolieren liess.

^{18a)} In diesem Gemisch könnten noch weitere Isomere (z. B. Clionasterol) enthalten sein, was nicht geprüft wurde. Wir danken Herrn Dr. A. GEORG, Onex (Genève) auch hier bestens, dass er uns auf diese Möglichkeit aufmerksam machte.

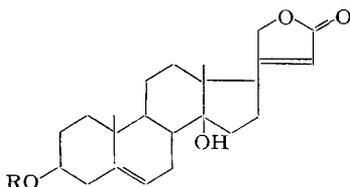
¹⁹⁾ Flüssiges Fermentpräparat aus dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*), bezogen von der Firma C. F. BOEHRINGER & SÖHNE GMBH, Mannheim.



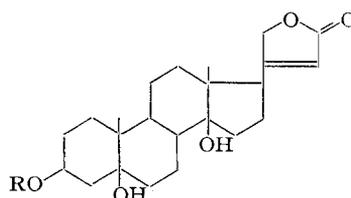
- 1 (R = H) β -Amyrin
Smp. 199,5–200° [+ 88,4 Chf] [15]
- 2 (R = Ac) 3-O-Acetyl- β -amyrin
Smp. 241° [+ 81,4 Chf] [15]
- 3 (R = COCH₂CH(CH₃)₂) 3-O-Isovaleryl- β -amyrin; Smp. 174–175°²⁰⁾



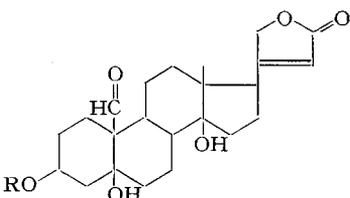
- 4 (R = H) Lupeol
Smp. 215° [+ 27,2 Chf] [15]
- 5 (R = Ac) 3-O-Acetyl-lupeol
Smp. 218° [+ 47,3 Chf] [15]
- 6 (R = COCH₂CH(CH₃)₂) 3-O-Isovaleryl-lupeol (nicht rein isoliert)



- 7 (R = H) Xysmalogenin
Smp. 230–248° [+ 19 Alk] [16]
Smp. 253–259° [+ 17 Me] [17]
- 8 (R = Glu) Xysmalogenin- β -D-glucosid
Smp. 256–258° [– 24,5 Py] [18]²¹⁾
Smp. 242–259° [– 29,9 Me-Chf-(1:1)] [19]



- 9 (R = H) Periplogenin
Smp. 185° [+ 30 Alk] [20] [21]
- 10 (R = Glu) Periplogenin- β -D-glucosid
Smp. 195–200° [22]
Smp. 230–235°/259–262° [\pm 0 Me] [23]²²⁾



- 11 (R = H) Strophanthidin
Smp. 169–170/232° [24]
Smp. 136–138/220–230° [+ 40,8 Alk] [25]
- 12 (R = Glu) Strophanthidin- β -D-glucosid
Smp. 234–236° [+ 21 W] [26]
Smp. 234–238° [+ 20,6 W] [+ 16,9 Me] [27]

Die Zahlen in langen eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht im angegebenen Lösungsmittel an (Abkürzungen siehe Exper. Teil).
Glu = β -D-Glucopyranosyl-Rest

2.7. *Orientierende Prüfung der Äther- und Chloroform-Extrakte auf KEDDE-negative Stoffe.* Hierzu wurde das Material aus Probe b) verwendet. Die Absicht war festzustellen, ob neben den Cardenoliden auch noch Pregnanderivate vorhanden sind, wie sie in vielen Asclepiadaceen angetroffen werden. Zu diesem Zweck wurde der Ätherextrakt aus Probe b) zunächst mild sauer hydrolysiert [28], wobei rohe Zucker und

²⁰⁾ Siehe Exper. Teil dieser Arbeit.

²¹⁾ Hier noch als Glykosid HPU 14 bezeichnet.

²²⁾ Unterschiedliche Smp. durch Kristallwassergehalt bedingt [23].

Tabelle 2. *Eigenschaften und Ausbeuten der aus 960 g getrockneter Wurzeln von Glossostelma carsoni (Probe a) isolierten Stoffe*

Buchstaben- Bezeichnung	Identifiziert mit oder erkannt als (in Klammern: nur auf Grund von PC oder DC)	Smp. [α] _D	KEDDE- Reaktion	Xanthhydr- Reaktion	Prüfung auf normale Zucker	Bewiesene (in Klammern: vermutete) Bruttoformel Molgewicht	Ausbeute an iso- lierten Kristallen in mg	Geschätzte totale, in 960 g Wurzeln vor- handene Menge	
								in mg	in %
β_1	3-O-Isovaleryl- β -amyrin	150– 155°	–	–	–	C ₃₅ H ₅₈ O ₂ (510,81)	60	3000	0,312
β_2	(3-O-Isovaleryl-lupeol)		–	–	–	(C ₃₅ H ₅₈ O ₂) 510,81	–	700	0,073
γ_1	3-O-Acetyl- β -amyrin	232– 234°	–	–	–	C ₃₂ H ₅₂ O ₂ 468,74	35	5100	0,530
γ_2	3-O-Acetyl-lupeol	216– 218°	–	–	–	C ₃₂ H ₅₂ O ₂ 468,74	38	5600	0,580
δ_1	β -Amyrin	183– 184°	–	–	–	C ₃₀ H ₅₀ O 426,70	17	430	0,045
δ_2	Lupeol	211– 213°	–	–	–	C ₃₀ H ₅₀ O 426,70	17	430	0,045
ϵ	β -Sitosterol ^{18a)} Stigmasterol Cholesterol Campesterol	142– 148°	–	–	–	C ₂₉ H ₅₀ O (414,69) C ₂₉ H ₄₈ O (412,67) C ₂₇ H ₄₆ O (386,64) C ₂₈ H ₄₈ O (409,66)	30	50	0,0052
ϑ	vermutlich Gemisch von: Hydroxy- β - Sitosterol Hydroxy- stigmasterol Hydroxy- cholesterol Hydroxy- campesterol	167– 172°	–	–	–	C ₂₉ H ₅₀ O ₂ (430,69) C ₂₈ H ₄₈ O ₂ (428,67) C ₂₇ H ₄₆ O ₂ (402,64) C ₂₈ H ₄₈ O ₂ (416,66)	3	20	0,0021
ι	nicht identifiziert	250– 252°	–	–	–		5	25	0,0026
C	(Digitoxigenin)		+	–	–	(C ₂₃ H ₃₄ O ₄) 374,50	–	10	0,0010
D	Xysmalogenin	220– 235°	+	–	–	C ₂₃ H ₃₂ O ₄ 372,49	9	50	0,0052
E	nicht identifiziert	229– 239°	+	+	–		0,5	25	0,0026

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Buchstaben- Bezeichnung	Identifiziert mit oder erkannt als (in Klammern: nur auf Grund von PC oder DC)	Smp. [α] _D	KEDDE- Reaktion	Xanthydrol- Reaktion	Prüfung auf normale Zucker	Bewiesene (in Klammern: vermutete) Bruttoformel Molgewicht	Ausbeute an iso- lierten Kristallen in mg	Geschätzte totale, in 960 g Wurzeln vor- handene Menge in mg	in %
F	nicht identifiziert	154– 156° [–14,7° Me]	+	+	–	(C ₃₆ H ₅₈ O ₁₁ , H ₂ O) 698,72	35	60	0,0062
G	Periplogenin	222– 228°	+	–	–	C ₂₃ H ₃₂ O ₅ 388,49	11	45	0,0047
H	nicht identifiziert	280– 288° [+8,1 Me]	+	–	–	(C ₂₅ H ₃₈ O ₇) 448,54	40	110	0,0115
J	nicht identifiziert	248– 258°	+	–	–	(C ₂₅ H ₃₄ O ₈) 462,52	10	50	0,0052
K	Strophanthidin	150– 155°/ 220– 230°	+	–	–	C ₂₃ H ₃₂ O ₆ 404,49	90	220	0,0230
R	Xysmalogenin- β -D-glucosid	263– 268°	+	–	+	C ₂₉ H ₄₂ O ₉ 534,63	10	110	0,0115
T	nicht identifiziert	275– 280°	+	–	–	(C ₂₆ H ₃₆ O ₈) 464,54	50	210	0,0220
U	(evtl. β -D-Glucosid von H)	175– 180°/ 235– 245°	+	–	+		12	290	0,0300
V	Periplogenin- β -D- glucosid	225– 230°/ 265– 280°	+	–	+	C ₂₉ H ₄₄ O ₁₀ 532,64	7	20	0,0021
W	Strophanthidin- β -D-glucosid [+12,5 Me]	226– 230°	+	–	+	C ₂₉ H ₄₂ O ₁₁ 566,63	1400	4400	0,4600
W'	Tetra-O-acetyl- strophanthidin- β -D-glucosid [+10,0 Chf]	140– 170°/ 230– 240°	+	–	+	C ₃₇ H ₅₀ O ₁₅ 734,77	–	–	–

rohe Genine erhalten wurden. Die Zucker zeigten im PC (Fig. 4) beim Entwickeln mit Vanillin-Perchlorsäure [10] 4 blaugraue Flecke. Drei davon zeigten Laufstreifen wie Cymarose (Z-1), Oleandrose (Z-2) und Digitoxose (Z-4). Beim vierten (Z-5) dürfte es sich um ein Disaccharid gehandelt haben. Wir vermuten, dass auch Sarmentose dabei

Tabelle 3. *Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ [33] (auf weisser Porzellan-Tüpfelplatte)*

Zeit in Min.	D Xymalogenin	F	G Periplogenin	H	J	K Strophanthidin	T	U
0'	hellrot	hellbraun	orange	gelbgrün	farblos	zitronengelb	schwach olive	grau
1'	hellrot	braun	orange	olive	orange	orangegelb	schwach gelborange	graulila
2'	hellrot	braun	orange/ Rand blau	schmutzig olive	orange	orangegelb	schmutzig gelbgrün	sepia
5'	orange	braun	orange/ Rand blau	dunkelolive/ Rand graublau	orange	goldorange	grün/ Rand lila	sepia
10'	orange	braun	orange/ Rand blau	dunkelgrün/ Rand graublau	orange	dunkelorange	grün/ Rand lila	sepia
15'	orange	braun	orange/ Rand blau	dunkelgrün/ Rand graublau	orangé	dunkelorange/ Rand gelb	dunkelgrün	sepia
30'	orange	braun	orangebraun/ Rand blau	blau (grün)	hellbraun	orangebraun	dunkelgrün	sepia
60'	braunorange	braun	blau (grün)	blau (grün)	schwach hellbraun	gelbgrün	dunkelgrün (blau)	sepia
120'	hellbraun/ Rand grün	dunkelbraun	ultramarinblau	blau	schwach hellbraun	hellgrün	dunkelgrün (blau)	schwach sepia
1 Tag	grünblau	violettgrau	ultramarinblau	blau	farblos	farblos	dunkelgrün (blau)	farblos

war, doch lässt sich diese im Gemisch mit Oleandrose und Cymarose in den verwendeten Systemen nicht sicher differenzieren (vgl. Glykosid F).

Die bei der Hydrolyse erhaltenen rohen Genine wurden noch alkalisch hydrolysiert, wobei Cardenolide zerstört und in alkalilösliche Verbindungen übergeführt wurden. Die so erhaltenen Neutralteile zeigten im DC zahlreiche Flecke, von denen drei nach Laufstrecke und Färbung mit Lineolon [29], Sarcostin [30] und Desacetylmetaplexigenin [32] übereinstimmten. Ein Versuch, aus dem Gemisch einen dieser Stoffe durch Chromatographie präparativ zu isolieren, misslang.

In gleicher Weise wurde auch der Chloroformextrakt aus Probe b) verarbeitet, doch liessen sich auch hier keine reinen Genine gewinnen. Die aus diesem Material erhaltenen Zucker gaben ausser den obengenannten vier Flecken noch einen weiteren Fleck (Z-3), der sich mit Vanillin-HClO₄ braun färbte.

2.8. *Zusammensetzung der isolierten Stoffe.* Tabelle 2 gibt eine Übersicht der Eigenschaften und Ausbeuten der isolierten Stoffe sowie eine rohe Schätzung²³⁾ der in den Wurzeln wirklich vorhandenen Menge. Tabelle 3 gibt die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄.

3. Besprechung der isolierten Stoffe. – Von den in reiner Form isolierten Substanzen konnten 10 (γ_1 , γ_2 , δ_1 , δ_2 , D, G, K, R, V und W) mit bekannten Stoffen identifiziert werden (vgl. Tabelle 2). Dies geschah durch direkten Vergleich mit authentischem Material nach Mischprobe, PC, DC, teilweise auch nach IR.-Spektrum sowie durch Herstellung von Derivaten. Der Stoff C war nur in sehr kleiner Menge anwesend, er wurde nicht rein isoliert, sondern nur nach PC als Digitoxigenin identifiziert. Das Kristallisat ϵ konnte, wie oben erwähnt, auf Grund des Gas-Chromatogramms als Gemisch von vier Sterinen (vgl. Tabelle 2)^{18a)} erkannt werden. Das Massenspektrum (Fig. 12) steht damit in bester Übereinstimmung. Auch das Präparat ϑ war auf Grund des Massenspektrums (Fig. 13) ein Gemisch von vier Stoffen, und zwar liegen vermutlich Abkömmlinge der vier genannten Sterole vor, die jeweils noch eine zusätzliche Hydroxylgruppe in unbekannter Stellung enthalten. Im Massenspektrum sind nämlich ausser den vier Molekelspitzen auch noch die um ein bzw. zwei Mol. H₂O ärmeren Partikel deutlich sichtbar. Die in sehr geringer Menge isolierten Stoffe ι und E sowie die beiden Triterpenderivate β_1 und β_2 werden im folgenden einzeln besprochen. Nur bei β_1 konnte die Struktur sicher, bei β_2 weitgehend abgeklärt werden. Die Untersuchung der Cardenolide F, H, I, T und U wird in der folgenden Mitteilung besprochen.

$\beta_1 = 3\text{-O-Isovaleryl-}\beta\text{-amyirin (3)}$. Der Stoff wurde zuerst als Mischkristallisat mit dem isomeren 3-O-Isovaleryl-lupeol (β_2) isoliert. Die chemische Natur wurde weitgehend an diesem Mischkristallisat ermittelt. Das Massenspektrum²⁴⁾ zeigte eine deutliche Molekelspitze bei m/e 510, eine schwache Spitze bei 408 ($M - 102$) sowie die für pentacyclische Triterpene charakteristische Spitze [34] bei 218. Im UV.-Spektrum war nur eine isolierte Doppelbindung sichtbar und im IR.-Spektrum (in KBr) eine

²³⁾ Die Schätzung beruht einerseits auf der isolierten Menge und andererseits auf der Intensität der Flecke im PC und DC. Bei den Aglykonen ist der glykosidisch gebundene Anteil nicht berücksichtigt.

²⁴⁾ Wir danken Herrn Dr. J. SEIBL, Organisch-chemisches Institut der ETH, Zürich, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums.

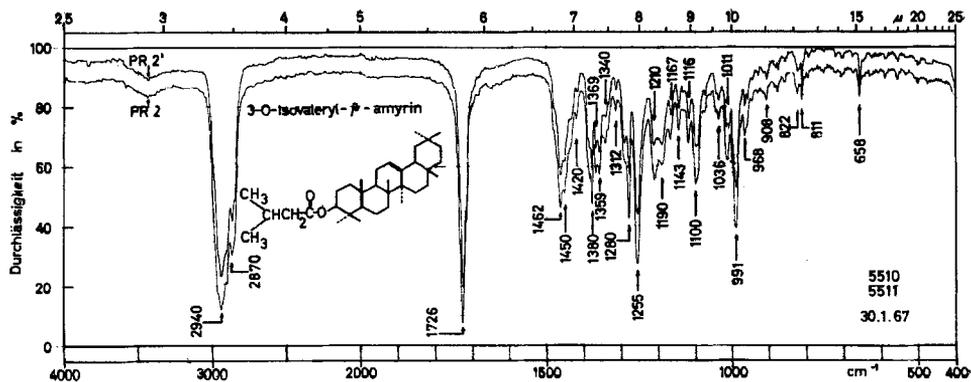


Fig. 7. IR-Absorptionsspektrum von 3-O-Isovaleryl- β -amyirin

Obere Kurve: synthetisches Vergleichsmaterial, 1,06 mg fest in ca. 300 mg KBr, untere Kurve (6% nach unten versetzt): Substanz β_1 isoliert aus *Glossostelma carsoni*, 0,87 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁵).

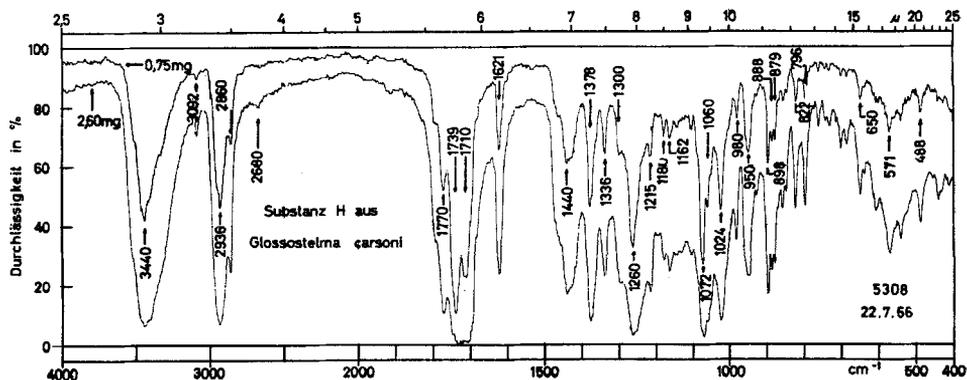


Fig. 8. IR-Absorptionsspektrum von Substanz H (Präp. PR-11), Smp. 280–288°, Struktur unbekannt, 0,75 bzw. 2,60 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁵).

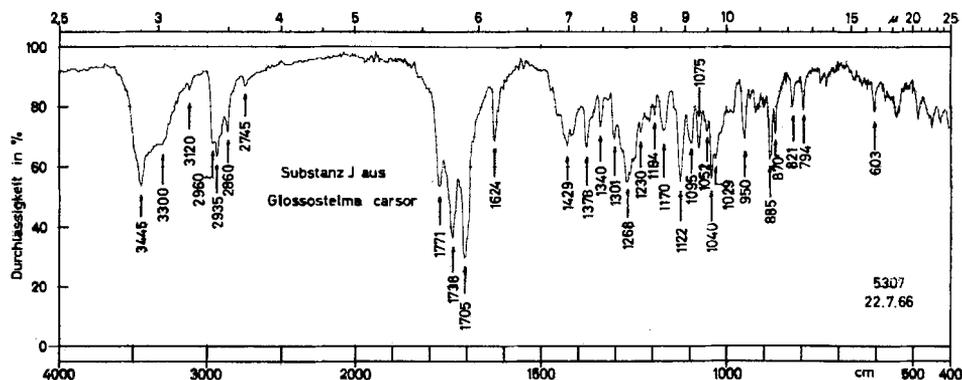


Fig. 9. IR-Absorptionsspektrum von Substanz J (Präp. PR-10), Smp. 248–258°, Struktur unbekannt, 0,75 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁵).

²⁵) Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER auf einem PERKIN-ELMER-Zweistrahl-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

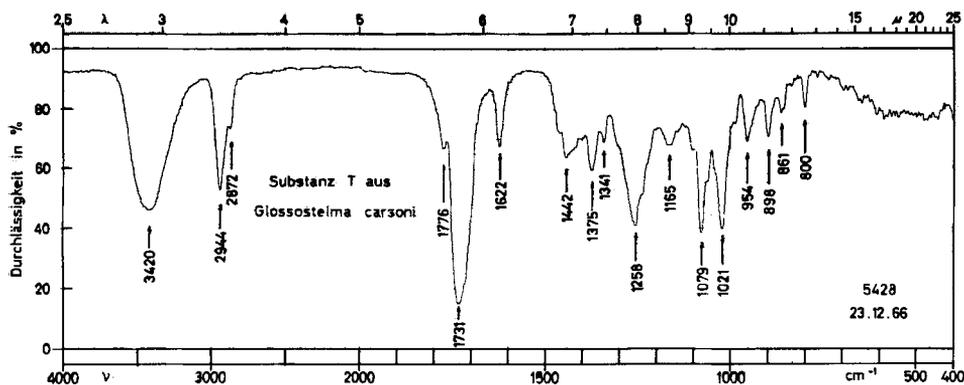


Fig. 10. IR.-Absorptionsspektrum von Substanz T (Präp. PR-20), Smp. 275–280°, Struktur unbekannt, 0,70 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁶⁾.

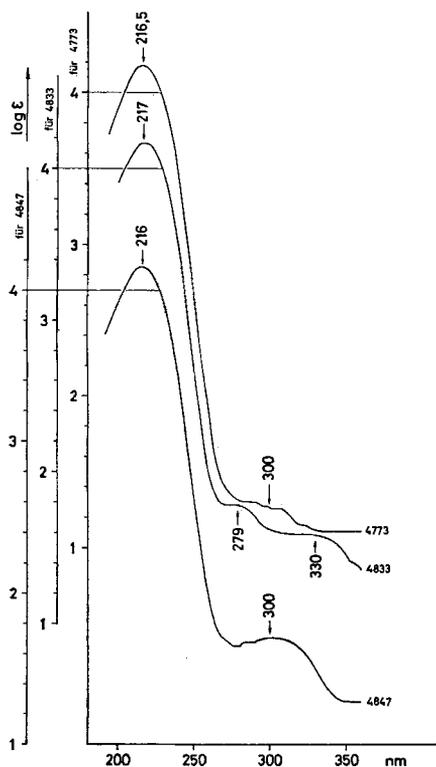


Fig. 11. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol²⁶⁾

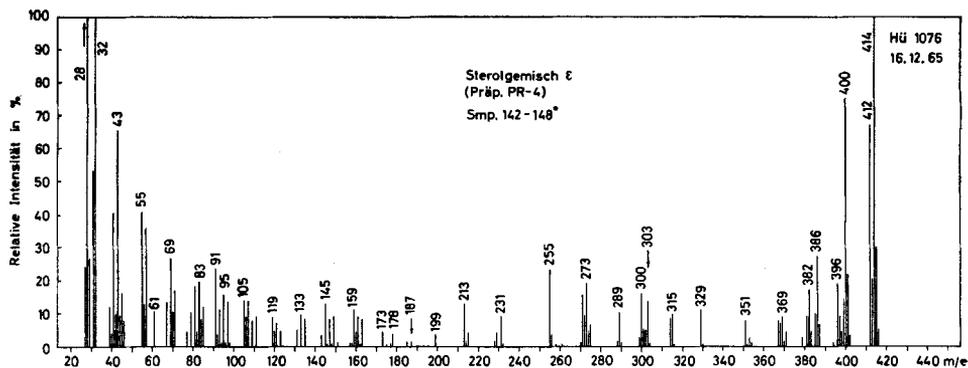
Kurve 4847: Genin I (Präp. PR-10), Smp. 248–258°, vermutliche Formel $C_{25}H_{34}O_8$ (462,52); $\log \epsilon$ bei 195 nm = 3,79; $\lambda_{max}^{Alk} = 216$ nm ($\log \epsilon = 4,16$); $\lambda_{max}^{Alk} = 300$ nm ($\log \epsilon = 1,70$).

Kurve 4833: Genin T (Präp. PR-20), Smp. 275–280°, vermutliche Formel $C_{25}H_{36}O_8$ (464,54); $\log \epsilon$ bei 195 nm = 3,77; $\lambda_{max}^{Alk} = 217$ nm ($\log \epsilon = 4,17$); $\lambda_{max}^{Alk} = 279$ nm ($\log \epsilon = 1,79$).

Kurve 4773: Genin H (Präp. PR-11), Smp. 280–288°, vermutliche Formel $C_{25}H_{36}O_7$ (448,54); $\log \epsilon$ bei 195 nm = 3,75; $\lambda_{max}^{Alk} = 216,5$ nm ($\log \epsilon = 4,18$).

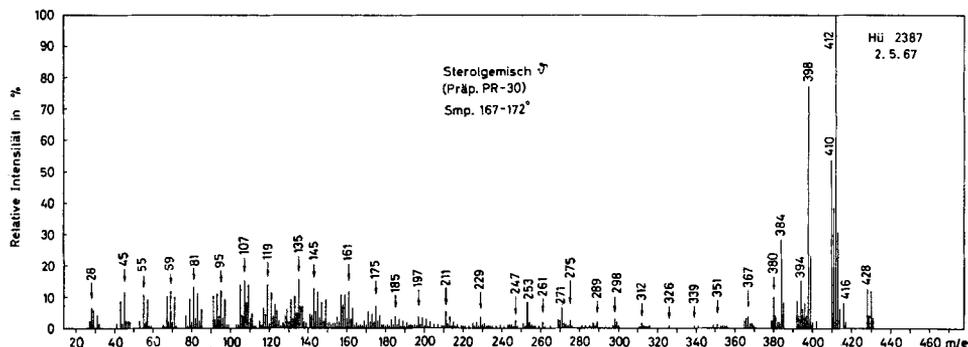
Estergruppe bei 1726 cm^{-1} sowie Banden einer Vinylgruppe (von Komponente β_2 stammend) bei 877 cm^{-1} . Nach energischer alkalischer Hydrolyse wurde ein Kristallat δ erhalten, das im DC nur einen Fleck, entsprechend β -Amyrin und Lupeol, zeigte. Auf SiO_2-AgNO_3 [11] liessen sich diese zwei Stoffe eindeutig nebeneinander

²⁶⁾ Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER, Spektallabor unseres Institutes, auf einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK2.

Fig. 12. Massenspektrum vom Sterolgemisch ϵ (Präp. PR-4)^{18a)}, Smp. 142–148°²⁷⁾.

Versuchswise Zuordnung:

	$C_{29}H_{50}O$ β -Sitosterol	$C_{29}H_{48}O$ Stigmasterol	$C_{28}H_{48}O$ Campesterol	$C_{27}H_{46}O$ Cholesterol
<i>M</i>	414	412	400	386
<i>M</i> – CH_3	399	397	385	371
<i>M</i> – H_2O	396	394	382	368
<i>M</i> – CH_3-H_2O	381	379	367	353
<i>M</i> – Seitenkette	273	273	273	273
<i>M</i> – Seitenkette – H_2O	255	255	255	255

Fig. 13. Massenspektrum vom Sterolgemisch δ (Präp. PR-30), Smp. 167–172°²⁷⁾.

Versuchswise Zuordnung:

	$C_{29}H_{50}O_2$	$C_{28}H_{48}O_2$	$C_{28}H_{46}O_2$	$C_{27}H_{46}O_2$
<i>M</i>	430	428	416	402
<i>M</i> – H_2O	412	410	398	384
<i>M</i> – $2H_2O$	394	392	380	366
<i>M</i> – Seitenkette	289	289	289	289
<i>M</i> – Seitenkette – H_2O	271	271	271	271
<i>M</i> – Seitenkette – $2H_2O$	253	253	253	253

²⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. H. HÜRZELER, Physiklabor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums. Es wurde mit einem ATLAS-Massenspektrometer Modell CH4, ausgerüstet mit Ofenionquelle TO4 und SEV-Auffänger, bei 70 eV aufgenommen.

nachweisen (Fig. 5). Hierauf wurde der Rest des ursprünglichen Mischkristallisates β ebenfalls an $\text{AgNO}_3\text{-SiO}_2$ präparativ getrennt, wobei sich reines β_1 in Kristallen und nicht ganz reines β_2 in amorpher Form isolieren liessen. Teilsynthetisch aus reinem β -Amyrin bereitetes 3-O-Isovaleryl- β -amyrin schmolz zwar etwas höher als das isolierte Produkt β_1 ; es war jedoch nach Misch-Smp., IR.-Spektrum und Laufstrecke im DC auf $\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$ mit diesem identisch. Das reine Produkt zeigte im IR.-Spektrum die Banden der Vinylgruppe nicht mehr.

$\beta_2 =$ vermutlich 3-O-Isovaleryl-lupeol (6). Der Stoff wurde nicht rein isoliert, nur als amorphes Konzentrat. Teilsynthetisch wurde aus δ (= Gemisch von β -Amyrin und Lupeol) das Gemisch der 3-O-Isovaleryl-Derivate bereitet. Es zeigte im DC auf $\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$ zwei Flecke mit gleicher Laufstrecke wie β_1 und β_2 .

$\iota =$ nicht identifizierter Stoff. Von diesem Stoff wurden nur 5 mg isoliert. Auf Grund der Farbreaktion (Tabelle 2) liegt kein Zuckerderivat und kein Cardenolid vor, so dass es sich vielleicht um ein Pregnan-, Sterin- oder Triterpen-Derivat handelt. Eine weitere Untersuchung musste unterbleiben.

Glykosid E. Auch von diesem Stoff wurde nur ca. 0,5 mg isoliert. Auf Grund der Farbreaktionen (Tabelle 2) dürfte ein 2-Desoxyglykosid eines Cardenolid-Genins vorliegen.

4. Schlussfolgerung. – Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, liessen sich in den Wurzeln von *Glossostelma carsoni* vor allem vier Stoffgruppen nachweisen. Es sind die folgenden:

4.1. *Pentacyclische Triterpene.* Diese Stoffgruppe enthält neben β -Amyrin und Lupeol sowie ihren O-Acetylderivaten, die auch in anderen Asclepiadaceen nachgewiesen wurden, auch noch die zwei entsprechenden O-Isovalerylderivate, die bisher nicht bekannt waren.

4.2. *Sterole.* Neben β -Sitosterol, Campesterol, Stigmasterol und Cholesterol, die schon oft auch in anderen Pflanzen gefunden worden waren, wurde hier noch ein Mischkristallisat ϑ gefasst, das vermutlich aus Dihydroxysterolen besteht, die sich von den genannten vier Stoffen ableiten und eine zusätzliche HO-Gruppe an unbekannter Stelle enthalten.

4.3. *Cardenolide.* Vor allem Xysmalogenin, Periplogenin und Strophanthidin, daneben in kleinen Mengen eine Anzahl nicht identifizierter Genine (H, I und T), die vermutlich Acetylgruppen enthalten. Die genannten Genine liegen in den Wurzeln teilweise in freier Form, grösstenteils aber als β -D-Glucoside vor. Daneben sind auch kleine Mengen von 2-Desoxyglykosiden vorhanden. Hauptprodukt stellt das Strophanthidin- β -D-glucosid dar, das hier erstmals in freier Form in Kristallen direkt aus einer Pflanze isoliert wurde.

4.4. *Esterglykoside von Pregnanderivaten.* Diese sind nur in kleiner Menge anwesend und liegen offenbar vorwiegend als Glykoside von 2-Desoxyzuckern vor. Auf Grund von PC und DC handelt es sich um Derivate von Lineolon, Sarcostin und Desacetylmetaplexigenin, wie sie auch in anderen Asclepiadaceen vorkommen [35].

5. Vergleich mit den Stoffen aus *Glossostelma spathulatum* [3]. – Diese zwei nahe verwandten Pflanzen produzieren sehr ähnliche Stoffe. Ein genauer Vergleich ist zwar unmöglich, da die Aufarbeitung verschieden durchgeführt wurde. Die früher von MAULI *et al.* [3] aus *G. spathulatum* isolierten Substanzen A und C konnten jetzt

mit Xysmalogenin sowie mit unserem Genin H identifiziert werden. – In beiden Pflanzen war aber Strophanthidin- β -D-glucosid die Hauptkomponente.

Wir danken dem BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT, Bern, für einen Beitrag zur Beschaffung des Pflanzenmaterials, und dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Angaben. – Es wurden folgende *Abkürzungen* benützt: AcOH = Eisessig, Ac = Diäthyläther, Ac₂O = Essigsäureanhydrid, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, DC = Dünnschichtchromatogramm oder Dünnschichtchromatographie, Eg = Essigester, Fmd = Formamid, Fr = Fraktion(en), iPr = Isopropanol, Me = Methylalkohol, Pe = Petroläther, Pn = Pentan, PC = Papierchromatogramm oder Papierchromatographie, *p*-TsOH = *p*-Toluolsulfonsäure, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

Die *Schmelzpunkte* wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis $200^{\circ} \pm 2^{\circ}$, darüber ca. $\pm 3^{\circ}$. *Substanzproben* zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,05 Torr und 70–80° getrocknet. Die *Adsorptionschromatographien* wurden nach dem Durchlaufverfahren [36] an SiO₂ (MERCK, Korngrösse 0,05–0,20 mm) oder an Al₂O₃ (neutral, WOELM) durchgeführt. Ausführung der *Dünnschichtchromatogramme* an Kieselgel G MERCK oder Kieselgel G MERCK + AgNO₃ [12], der präparativen DC mit Fluoreszenz-Indikator nach TSCHESCHE *et al.* [37], der Tüpfelproben mit KEDDE-Reagens [6] auf Papier, der Zuckerprüfung [38], der Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄ [33] nach früheren Angaben. Zur PC wurde WHATMAN-Nr. 1-Papier verwendet. Sichtbarmachung der Flecke auf Papier mit KEDDE-Reagens [6] oder mit SbCl₃-Lösung (22% in Chf) [39] und Erwärmen auf 110°, im DC mit KEDDE-Reagens [6] oder mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk und anschliessendem Erhitzen auf 110°. *Gas-Chromatographie der Säuren*: Apparat: AEROGRAF Hy-FI 600 B, Säule: 10% Neopentylglykolsuccinat + 2% H₃PO₄ auf Ziegelmehl (Firebrick) 60/80 mesh, 5' × 1/8", *t* = 120° [40]. Die Verhältniszahlen bei Lösungsmittelgemischen beziehen sich auf Volumenteile.

2. Extraktion und Trennungen. – 2.1. *Extraktion der Wurzeln.* 200 g in der Schlagmühle gemahlene Wurzeln der Probe a) von *Glossostelma carsoni* (N. E. BR.) BULLOCK wurden in 800 ml mit CO₂ durchspültem W eingeweicht und nochmals 30 Min. mit CO₂ durchspült. Hierauf wurde mit 20 ml To versetzt und verschlossen 24 Std. im Kühlraum stehengelassen. Die wässrige Suspension wurde mit 800 ml Alk versetzt, 30 Min. unter gelegentlichem Rühren auf 60° erwärmt und über Kieselgur (Celite 535) abgenutscht. Der Rückstand wurde mit 600 ml 75-proz. Alk versetzt und obiger Vorgang wiederholt. Diese Prozedur wurde noch 5mal mit je 600 ml 96-proz. Alk wiederholt. Die vereinigten Extrakte wurden im Umlaufverdampfer auf ca. 600 ml eingengt. Dieses Konzentrat wurde 5mal mit je 400 ml Pe, dann 6mal mit je 400 ml Ae ausgeschüttelt. Die Ae-Auszüge wurden 2mal mit je 40 ml W, einmal mit 40 ml 2N Na₂CO₃-Lösung und noch 2mal mit je 40 ml W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Rotationsverdampfer eingedampft. Die wässrige Phase wurde nun 6mal mit je 400 ml Chf extrahiert (hierbei entstanden lästige Emulsionen, die sich nur sehr langsam wieder trennten) und mit denselben Waschwassern wie oben gewaschen. Dieser Vorgang wurde mit Chf-Alk-(2:1) und Chf-Alk-(3:2) wiederholt.

Bei der 2. Extraktion wurden 760 g gemahlene Wurzeln der Probe a) und bei der 3. Extraktion 660 g gemahlene Wurzeln der Probe b) verwendet. Ausbeuten an den div. Extrakten siehe theor. Teil, Tabelle 1.

2.2. Auftrennung des Pe-Extraktes (s. Tab. 4).

Die Fr 3–4 (697 mg) wurden an 690 g SiO₂ (S-4)²⁸⁾ chromatographiert. Die hierbei erhaltenen Fr 1–26 (263 mg) und 32–38 (28 mg) wurden nicht weiter untersucht. Die Fr 27–31 (390 mg), eluiert mit 250 ml Be, enthielten zur Hauptsache β . Umkristallisieren aus Pe lieferte Mischkristallinat β , Smp. 134–142°. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus An sank der Smp. auf 128–130°; dies Präparat war aber immer noch ein Gemisch. Ein Teil des Rohproduktes (85 mg) wurde an SiO₂-AgNO₃ (S-8, Tabelle 5) getrennt.

Verseifung von Substanz β (PR-2). 15 mg Subst. β wurden in 3 ml iPr gelöst und 1,5 ml 5-proz. methanolische KOH-Lösung zugegeben. Die Lösung musste 6 Std. unter Rückfluss kochen, bis

Tabelle 4. (S-7)²⁸⁾. Chromatographie von 5 g Pe-Extrakt an 250 g Al₂O₃ (Akt. III)

Fr-Nr.	Elutionsmittel 250 ml/Fr	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Anzahl oder Art der Flecke im DC	weitere Verarbeitung
1–2	Pe	34	α, β	keine
3–4	Pe	697	$(\alpha), \beta, (\gamma)$	Chromat. S-4
5	Pe-Be-(1:1)	1940	$(\beta), \gamma$	Chromat. S-5
6–9	Pe-Be-(1:1)	281	ca. 10	keine
10–11	Be	436	$\delta, (\epsilon)$	Chromat. S-6
12–15	Chf-Me-(4:1)	608	viele	keine

die Verseifung quantitativ verlaufen war. Hierauf wurde zur Trockne eingedampft, mit W versetzt und mit Chf ausgeschüttelt. Waschen, Trocknen und Eindampfen gab 10 mg Rückstand, der aus Ae-Me kristallisiert wurde, Smp. 175–180°. Das Produkt war nach DC mit δ identisch. – Die wässrige Lösung wurde mit 2N H₂SO₄ angesäuert und mit Ae ausgeschüttelt. Der Geruch von Isovaleriansäure konnte deutlich wahrgenommen werden; Nachweis im Gas-Chromatogramm (siehe Einleitung zum Exp. Teil).

Tabelle 5. (S-8). Chromatographie von 85 mg β (Fr 27–31, S-4) an 70 g SiO₂ + 30 g AgNO₃; Elutionsmittel Be, 10 ml/Fr

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl oder Art der Flecke im DC	
1–2	3	viele	keine
3–6	68	β_1	krist. An-Me Smp. 150–155°
7–8	19	β_1, β_2	keine
9–12	9	viele	keine

Partialsynthese von 3-O-Isovaleryl- β -amyrin. 33 mg β -Amyrin²⁸⁾, Smp. 192–197°, wurden in 0,6 ml Py gelöst und auf –20° abgekühlt. 0,3 ml Isovaleriansäurechlorid wurde zugegeben und 24 Std. bei 20° stehengelassen. Es wurde in Ae aufgenommen, mit 2N HCl, 10-proz. KHCO₃-Lösung und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft, wobei 203 mg rotbraunes Öl anfiel. Durch Chromatographie an SiO₂ mit Be konnten 23 mg Ester erhalten werden. Kristallsation aus An-Me gab feine Nadeln vom Smp. 174–175°.

Isolierung von Substanz γ . 1,65 g Fr 5 von S-1 (Tabelle 4) wurden an 90 g Al₂O₃ (Akt. III) chromatographiert (S-5). Die erhaltenen Fr 1–5 (890 mg) und 9–19 (690 mg) wurden nicht weiter verarbeitet. Die Fr 6–8 (431 mg mit Pe eluiert) bestanden aus der Substanz γ (Präp. PR-1) und wurden aus Pe kristallisiert und aus An umkristallisiert; Smp. 211–214°. Auch hier handelte es sich um Mischkristalle, die weiter aufgetrennt werden konnten (S-9, Tabelle 6).

Verseifung von Substanz γ (PR-1). Die Verseifung (6 mg) wurde gleich wie oben bei Subst. β ausgeführt. Sie war aber schon nach 15 Min. beendet. Es wurde analog aufgearbeitet, wobei 3 mg einer Substanz anfiel, die im DC gleich lief wie Subst. δ . – Zum Nachweis der Säure wurde die alkalische Lösung eingedampft, der Rückstand mit W versetzt und die wässrige Lösung mit Chf ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung wurde eingedampft und bis zur neutralen Reaktion mit Amberlite IR-120 (H-Form) versetzt. Im Gas-Chromatogramm wurde Essigsäure identifiziert.

²⁸⁾ S-1, S-2 usw. bedeutet Säulenchromatogramm Nr. 1, Nr. 2 usw.

²⁹⁾ Wir danken Herrn Prof. Dr. O. JEGGER, Org.-chem. Institut der ETH, Zürich, für die Überlassung dieses Präparates.

Tabelle 6. (S-9). *Chromatographie von 90 mg Subst. γ (Fr 6-8, S-5) an 50 g SiO_2 + 15 g AgNO_3 ; Elutionsmittel Be, 10 ml|Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl oder Art der Flecke im DC	
1-9	17	(β), γ_1 , (δ)	keine
10-11	26	γ_1	15 mg Krist., Smp. 232-234°
12	6	γ_1 , γ_2	keine
13-14	38	(γ_1), γ_2	12 mg Krist., Smp. 216-218°
15-18	4	γ_2 , δ , ϵ	keine

Um noch mehr Subst. δ (Präp. PR-3) (siehe Fr 10-11, Tabelle 4) zu erhalten, wurden nochmals 5 g Pe-Extrakt an 250 g Al_2O_3 (Akt. II) (S-2) chromatographiert. Hierbei fielen 1271 mg Substanz δ an, die aber noch 3 weitere Flecke enthielten (Fr 18-19, S-2), so dass nochmals an 60 g Al_2O_3 (Akt. III) (S-3) chromatographiert werden musste. Die hier erhaltene Fr 4, zur Hauptsache Subst. δ (400 mg), wurde nun zusammen mit 350 mg der Fr 10-11 (Tabelle 4) an 750 g SiO_2 (S-6) chromatographiert. Die hierbei erhaltenen Fr 55-56 (mit Chf-Me-(97:3) eluiert) enthielten 420 mg Subst. δ , die aber immer noch nicht ganz rein war und nochmals an 420 g SiO_2 (S-7) chromatographiert wurde. Die nun anfallenden Fr 26-30 (319 mg mit Chf-Me (97:3) eluiert) enthielten reines δ . Es kristallisierte aus Ae-Me (Smp. 170-174°). Beim Umkristallisieren aus An sank auch hier der Smp. auf 161-163°, d. h., dass es sich hier ebenfalls um Mischkristalle handelt. Im DC läuft Substanz δ wie β -Amyrin und Lupeol. Diese Substanz δ wurde früher schon isoliert [41] und mit «Scandol» bezeichnet. Es stellte sich heraus, dass dieses «Scandol» ein Gemisch von Lupeol und β -Amyrin ist [42]. Wir fanden nun, dass «Scandol» und seine Ester im DC und im Säulenchromatogramm mit SiO_2 + AgNO_3 trennbar sind [12]. Die Fr 26-30 (S-7) konnten nun weiter aufgetrennt werden (siehe Tabelle 7).

Tabelle 7. (S-10). *Chromatographie von 55 mg Subst. δ (Fr 26-30, S-7) (= «Scandol») an 50 g SiO_2 + 15 g AgNO_3 ; Elutionsmittel Chf, 5 ml|Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl oder Art der Flecke im DC	
1-30	7	viele	keine
31-39	17	δ_1	11 mg Krist., Smp. 183-184°
40-41	13	δ_1 , δ_2	keine
42-43	17	δ_2	9 mg Krist., Smp. 211-213°
44-46	2	-	keine

Acetylierung von Substanz δ (Präp. PR-3). 5 mg Subst. δ wurden in 0,1 ml Py gelöst, mit 0,05 ml Ac_2O versetzt und bei 35° während 24 Std. stehengelassen. Die Reaktion verlief quantitativ. Aus An kristallisierten Nadeln vom Smp. 205-210°, die im DC wie Subst. γ liefen.

2.3. Auftrennung des Ae-Extraktes.

780 mg der Fr 9-12 wurden an 600 g SiO_2 chromatographiert (S-12) (Elutionsmittel Chf, 80 ml|Fr). Nur die hier erhaltenen Fr 49-50 (328 mg), die 7 Flecke enthielten, wurden an 320 g SiO_2 mit Chf (30 ml|Fr) chromatographiert (S-13). Die hierbei erhaltenen Fr 79-83 (260 mg), mit den Flecken (δ), ϵ , ζ , η wurden durch präparative DC aufgetrennt (siehe Tabelle 9).

Tabelle 8. (S-17). *Chromatographie von 6,2 g Ae-Extrakt an 1000 g SiO₂; Elutionsmittel Chf-iPr-(95:5), -(9:1), -(1:1), 500 ml/Pr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		KEDDE-Reaktion	Xanthhydrol-Reaktion	weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl und Art der Flecke im PC oder DC			
1-4	71	viele	-	-	keine
5-8	2171	viele	-	-	keine
9-12	847	(γ), δ , ϵ , ζ , η , φ^{11})	-	-	siehe S-12
13-17	414	10, (A), (B), (C), D, E, (K)	+	+	s. Tabelle 10
18-26	573	viele, (C), (E), π^{12})	(+)	+	s. Tabelle 12
27-36	919	8, (D), F, (G), (H), (K)	+	+	s. Tabelle 13
37-39	121	F, (G), F, (H), (K)	+	+	s. Tabelle 15
40-46	160	(F), G, (H)	+	+	s. Tabelle 16
47-48	39	ca. 7	+	/	keine
49-55	510	ca. 9, K, ι , π^{12})	+	/	s. Tabelle 17
56-60	209	viele	+	/	keine

Tabelle 9. *Präparative Dünnschichtchromatographie von 230 mg Fr 79-83 (S-13) an 75 g Kieselgel G, mit Fluoreszenzindikator [37], (aufgeteilt auf 5 Platten à 20 × 20 cm); Fließmittel Chf*

Zone	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
	mg	Flecke im DC	
A	32	(γ), δ	keine
B	30	ϵ	14 mg Krist., Smp. 142-148°
C	6	ϵ , ζ	keine
D	21	(δ), (ϵ), ζ	keine
E	108	ϵ , ζ , η	keine

Tabelle 10. (S-14). *Chromatographie von 400 mg Fr 13-17 (Tabelle 8) an 45 g Al₂O₃ (Akt. III); 50 ml/Pr*

Fr-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		KEDDE-Reaktion	Xanthhydrol-Reaktion	weitere Verarbeitung
		mg	Anzahl und Art der Flecke im PC			
1-4	Be	36	viele	-	/	keine
5-8	Be-Chf-(9:1)	2	viele	-	/	keine
9-12	Be-Chf-(4:1)	3	viele	-	/	keine
13-17	Be-Chf-(2:1)	13	viele	-	/	keine
18-20	Be-Chf-(1:1)	19	(C)	+	-	3 mg ϑ , Smp. 167-172°
21-23	Be-Chf-(1:2)	24	5, (A), (B), D, (E)	+	/	keine
24-25	Be-Chf-(1:4)	26	D, (E)	+	(+)	9 mg D, Smp. 220-235°
26-27	Be-Chf-(1:4)	12	4	+	/	keine
28-30	Be-Chf-(1:9)	29	3, E	+	+	0,5 mg E, Smp. 229-239°
31	Be-Chf-(1:9)	8	3	(+)	+	keine
32-37	Chf	95	1	-	+	milde saure Hydrolyse
38-50	Chf-Me-(9:1)	73	viele	-	+	keine

Die KEDDE-negativen Fr 32–37 gaben im PC und DC nur *einen* Fleck. Wie die milde saure Hydrolyse bewies, handelt es sich jedoch um ein Gemisch.

Milde saure Hydrolyse von Fr 32–37. 6 mg Substanz wurden nach Vorschrift [28] hydrolysiert und gaben 3,3 mg Genine und 1 mg Zucker. Eine Wiederholung mit 20 mg gab 9 mg Genine und 3 mg Zucker. Die Genine gaben im PC 2 Flecke, im DC sogar 12 Flecke. Auf eine Trennung wurde verzichtet. Das Zuckergemisch gab im PC 4 Flecke. Durch PC (Fig. 4) [14] und Papierelektrophorese [43] konnten Cymarose, Oleandrose und Digitoxose identifiziert werden. Beim vierten Fleck, mit kleinerer Laufstrecke als Digitoxose, handelt es sich vermutlich um ein 2-Desoxydisaccharid.

Milde saure Hydrolyse des Ae-Extraktes (aus Probe b). 475 mg Extrakt wurden in 20 ml Me und 20 ml 0,1N H_2SO_4 wie oben hydrolysiert. Die Aufarbeitung gab 345 mg rohe Genine, die nach UV. keine Benzoesäure-Derivate enthielten, sowie 60 mg Zucker (Identifizierung der Zucker siehe theor. Teil).

Alkalische Hydrolyse der erhaltenen Genine. 200 mg Genine wurden in 7 ml 5-proz. methanolischer KOH in N_2 -Atmosphäre 5 Std. unter Rückfluss gekocht, 5 ml W zugegeben und auf 4 ml eingengt. Die alkalisch-wässrige Suspension wurde mit Chf, dann mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt, die organischen Phasen mit W gewaschen, getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden 80 mg Chf-lösliche Anteile und 60 mg Chf-Alk-lösliche Anteile. Die verbleibende alkalische Phase wurde mit 80-proz. H_3PO_4 bis zur kongo-sauren Reaktion angesäuert und mit Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Lösung wurde mit W gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (Säuren und Lactone) wog 10 mg und wurde nicht weiter untersucht.

Tabelle 11. (S-15). *Chromatographie von 55 mg Chf-Alk-löslichen Anteilen aus der alkalischen Hydrolyse des Ae-Extraktes an 55 g SiO_2 ; Elutionsmittel Chf-Me-(9:1), 10 ml/Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		Bemerkungen
	mg	Anzahl der Flecke im DC	
1–18	24	viele	nicht weiter untersucht
19	2	1	läuft wie Desacetylmethaplexigenin, gleiche Farbe mit <i>p</i> -TsOH
20–22	2	3	nicht weiter untersucht
23–25	2	1	läuft wie Sarcostin, gleiche Farbe mit <i>p</i> -TsOH
26–35	22	viele	nicht weiter untersucht

Die 80 mg Chf-löslichen Anteile aus obiger alkalischer Hydrolyse wurden auch chromatographiert (S-16). Es wurden aber keine reinen Fraktionen erhalten und die Flecke konnten auch im DC nicht identifiziert werden.

Tabelle 12. (S-17). *Chromatographie von 310 mg Fr 18–26 der Tabelle 8 (S-11) an 31 g Al_2O_3 (Akt. I); 30 ml/Fr*

Fr-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		KEDDE-Reaktion	weitere Verarbeitung
		mg	Anzahl und Art der Flecke im PC		
1–11	Be-Chf-(4:1)	37	6	–	keine
12–19	Be-Chf-(2:1)	42	9	+	keine
20–24	Be-Chf-(1:2)	27	5, (C), (E), (D)	+	keine
25–31	Be-Chf-(1:4)	84	1	–	milde saure Hydrolyse
32–39	Chf-Me-(98:2)	27	6	+	keine
40–60	Chf-Me-(4:1)	58	viele	–	keine

Fr 25–31 liefen im DC gleich wie die Fr 62–37 (Tabelle 10). 58 mg davon wurden mild-sauer hydrolysiert und lieferten 33 mg rohe Genine. Nach DC bestanden sie aus sehr vielen Komponenten. Ein Versuch zur Trennung an SiO_2 gab keine reinen Stoffe.

Tabelle 13. (S-18). *Chromatographie von 400 mg Fr 27–36 der Tabelle 8 an 400 g SiO_2 ; Elutionsmittel Chf-Me-(95:5), 50 ml|Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand			weitere Verarbeitung
	mg	Flecke im PC		
		KEDDE-positiv	KEDDE-negativ	
1–36	98	(H)	4	keine
37	55	(H)	3	keine
38–42	178	F, (G), (H)	3	s. S-19, Tabelle 14
43–70	49	viele	viele	keine

Tabelle 14. (S-19). *Chromatographie von 170 mg Fr 38–42 der Tabelle 13 an 200 g SiO_2 ; Elutionsmittel Chf-Me-(97:3), 20 ml|Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		KEDDE-Reaktion	weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl und Art der Flecke im PC		
1–56	20	viele	–	keine
57–75	46	1, (3 schwache)	–	keine
76–79	12	H, (3 schwache)	+	keine
80	5	viele	+	keine
81–88	25	F, G, H	+	keine
89–95	12	F, G, H	+	keine
96–127	31	F, (G), (H)	+	F krist., Smp. 154–156°
128–140	22	viele	+	keine

Tabelle 15. (S-20). *Chromatographie von 45 mg Fr 37–39 der Tabelle 8 an 4 g Al_2O_3 (Akt. III); 10 ml|Fr*

Fr-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand			weitere Verarbeitung
		Menge in mg	Anzahl und Art der Flecke im PC		
			KEDDE-positiv	KEDDE-negativ	
1–8	Chf-Be-(3:2)	8	keine	viele	keine
9–12	Chf-Be-(4:1)	3	F, G	keine	keine
13–16	Chf-Be-(9:1)	8	F	keine	F krist., Smp. 150–155°
17–20	Chf	3	F, G, H, (K)	keine	keine
21–24	Chf-Me-(9:1)	8	keine	1	keine (krist. nicht)
25–30	Chf-Me-(1:1)	11	keine	viele	keine

Tabelle 16. (S-21). Chromatographie von 130 mg Fr 40-46 der Tabelle 8 an 7 g Al_2O_3 (Akt. III); 50 ml/Fr

Fr-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand			weitere Verarbeitung
		mg	Anzahl und Art der Flecke im PC		
			KEDDE-positiv	KEDDE-negativ	
1-8	Chf-Be-(7:3)	20	viele	viele	keine
9-11	Chf-Be-(4:1)	13	G	keine	G krist., Smp. 222-228°
12-16	Chf	10	(F), G, (H)	keine	keine
17	Chf-Me-(9:1)	11	keine	2	keine
18-22	Chf-Me-(4:1)	9	keine	viele	keine
23-25	Chf-Me-(1:1)	43	keine	viele	keine
	+ 5% AcOH				

Tabelle 17. (S-22). Chromatographie von 450 mg Fr 49-55 der Tabelle 8 an 40 g Al_2O_3 (Akt. II); 50 ml/Fr

Fr-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand			weitere Verarbeitung
		mg	Anzahl und Art der Flecke im PC		
			KEDDE-positiv	KEDDE-negativ	
1-5	Chf	50	keine	6	keine
6	Chf-Me-(99:1)	46	K	keine	K krist., Smp. 143-150°/220-230°
7-8	Chf-Me-(99:1)	14	K, (L), (M)	4	keine
9-12	Chf-Me-(98:2)	21	(K), (L)	2	keine
13-15	Chf-Me-(95:5)	24	(L)	(3), ι	ι krist., Smp. 250-252°
16-18	Chf-Me-(93:7)	13	keine	2	keine
19-34	Chf-Me-(70:30)	49	(L), (M)	viele	keine
35-55	Chf-Me-(1:1)	196	keine	viele	keine
	+ 5% AcOH				

2.4. Trennung des Chf-Extraktes.

Tabelle 18. (S-23). Chromatographie von 3,9 g Chf-Extrakt an 250 g Al_2O_3 (Akt. III); 50 ml/Fr

Fr-Nr.	Elutionsmittel	Eindampfrückstand			weitere Verarbeitung
		mg	Anzahl und Art der Flecke im PC		
			KEDDE-positiv	KEDDE-negativ	
1-2	Chf-Be-(1:1)	184	keine	viele	keine
3-8	Chf-Be-(3:2)	67	keine	3	keine
9-17	Chf-Be-(9:1)	36	E	4	keine
18-22	Chf	54	E, G	7	keine
23	Chf-Me-(99:1)	45	I	keine	10 mg Krist., Smp. 248-258°
24	Chf-Me-(99:1)	103	H, (I)	keine	40 mg krist. H., Smp. 280-288°
25-26	Chf-Me-(98:2)	39	H, K	8	keine
27	Chf-Me-(98:2)	75	(H), K, (L)	keine	15 mg krist. K, Smp. 150-155°/220-225°
28-29	Chf-Me-(98:2)	192	(H), K, (L), (N)	1	keine
30-52	Chf-Me-(2:1)	357	(H-Q)	viele	keine
53-54	Chf-Me-(1:1)	964	keine	viele,	keine
	+ 5% AcOH			z. T. Phenole	

Milde saure Hydrolyse des Chf-Extraktes (aus Probe b). 430 mg Extrakt wurden nach früheren Angaben mild sauer hydrolysiert und lieferten 280 mg rohes Acylgenin-Gemisch und 30 mg Zucker.

Alkalische Hydrolyse. 260 mg des obigen Acylgenin-Gemisches wurden alkalisch hydrolysiert (siehe Ae-Extrakt) und lieferten 66 mg Chf-lösliche und 61 mg Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile. Beide Anteile zeigten im DC so viele Flecke, dass von einer Auftrennung abgesehen werden musste.

2.5. Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes. – Probefermentierung. 10 mg Extrakt wurden in 1 ml Me-W-(1:1) gelöst, das Me im Vakuum entfernt und die Lösung mit 0,1 ml wässrigem Schneckenferment-Präparat¹⁹⁾ versetzt. Die Lösung wurde 3 Tage bei 35° stehengelassen. Das PC zeigte dann fast keine Ausgangssubstanz mehr. Als Hauptfleck wurde Strophanthidin festgestellt.

Tabelle 19. (S-24). *Chromatographie von 3 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt an 2 kg SiO₂; Elutionsmittel Chf-Me-(85:15), 150 ml|Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl und Art der Flecke ⁹⁾ im PC	
1–27	148	viele	keine
28–76	603	R, (S), T, U, (V)	siehe Tabelle 20
77–88	192	U, V, W	keine
89–90	15	V	7 mg krist. V, Smp. 225–230°/265–280°
91–95	180	(V), W, (X), (Y)	keine
96–119	669	W, (X)	250 mg krist. W, Smp. 221–225°
120–160	653	W, (X), (Y), (Z), (Z')	keine

Fermentierung von Fr 28–76 (Tabelle 19). 18 mg wurden mit Schneckenferment 3 Tage stehengelassen. Die wässrige Lösung wurde zur Trockne eingedampft und mit Chf ausgeschüttelt. Es wurden 8 mg Genine erhalten, die im PC (System von Fig. 2) die Flecke D, (F), G, H und (K) zeigten. Die Zucker zeigten im PC als Hauptfleck Glucose und sehr schwach noch Glucomethylose.

Um die Fr 28–76 von den Phenolen zu befreien, wurde an Al₂O₃ (Akt. III) chromatographiert, worauf noch 280 mg Glykosidgemisch zurückblieb, das weiter aufgetrennt wurde (Tabelle 20).

Tabelle 20. (S-25). *Chromatographie von 280 mg vorgereinigter Fr 28–76 der Tabelle 19 an 250 g SiO₂; Elutionsmittel Chf-Me-(9:1), 25 ml|Fr*

Fr-Nr.	Eindampfrückstand		weitere Verarbeitung
	mg	Anzahl und Art der Flecke ⁹⁾ im PC	
1–52	78	viele	keine
53–70	62	T, (R), (S)	50 mg krist. T, Smp. 275–280°
71–77	8	R, S, T, U	keine
78–83	12	R, (S), (U)	10 mg krist. R, Smp. 263–268°
84–95	24	R, U	keine
96–98	14	U, (R), (S)	12 mg krist. U, Smp. 175–180°/235–245°
99–130	96	S, U, (V)	keine

2.6. Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extraktes. Auch hier wurde eine Probe mit Schneckenferment abgebaut, worauf im PC ausschliesslich Strophanthidin festgestellt werden konnte. 4,7 g wurden zweimal an Al₂O₃ (Akt. III) mit Chf-Me-(1:1) chromatographiert, worauf 1,2 g kristalline Substanz W vom Smp. 226–230° isoliert werden konnte.

3. Beschreibung der isolierten Stoffe. – Substanz $\beta_1 = 3\text{-O-Isovaleryl-}\beta\text{-amyrin (3)}$ (aus *Glossostelma carsoni*). Aus An farblose Nadeln, Smp. 150–155°.

$\text{C}_{35}\text{H}_{58}\text{O}_2$ (510,81) Ber. C 82,29 H 11,44% Gef. C 82,20 H 11,41%

(Analyse des Gemisches von Subst. β_1 und β_2 .)

Verseifung liefert β -Amyrin und Isovaleriansäure.

3-O-Isovaleryl-}\beta\text{-amyrin (3)} (synthetisch). Aus An farblose Nadeln, Smp. 174–175°. Misch-Smp. mit Substanz β_1 : 165–170°. Gleiches IR.-Spektrum und gleiche Laufstrecke im DC ($\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$).

Substanz $\gamma_1 = 3\text{-O-Acetyl-}\beta\text{-amyrin (2)}$. Aus An farblose Nadeln, Smp. 232–234°. Smp. von auth. 3-O-Acetyl- β -amyrin²⁹⁾: 241–242°; Misch-Smp. 237–238°.

$\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ (466,74) Ber. C 81,99 H 11,18% Gef. C 81,97 H 11,10%

(Analyse des Gemisches von Subst. γ_1 und γ_2 .)

Im DC ($\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$) gleiche Laufstrecke wie 3-O-Acetyl- β -amyrin. Verseifung liefert β -Amyrin.

Substanz $\gamma_2 = 3\text{-O-Acetyl-lupeol (5)}$. Aus An farblose Nadeln, Smp. 216–218°, Analyse siehe Subst. γ_1 . Identifiziert durch Smp., Misch-Smp., DC (mit AgNO_3), Verseifung zu Lupeol und Acetylierung von Lupeol zu γ_2 .

Substanz $\delta_1 = \beta\text{-Amyrin (1)}$. Aus An-Me Nadeln, Smp. 183–184°.

$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ (426,70) Ber. C 84,44 H 11,81% Gef. C 82,80 H 11,77%

(Analyse des Gemisches von Subst. δ_1 und δ_2 .)

Identifiziert durch DC ($\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$) und Acetylierung zu 3-O-Acetyl- β -amyrin.

Substanz $\delta_2 = \text{Lupeol (4)}$. Aus An-Me Nadeln, Smp. 211–213°. Identifiziert durch Smp., Misch-Smp., DC ($\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$) und Acetylierung zu 3-O-Acetyl-lupeol.

Substanz ϵ . Krist. Sterolgemisch (Präp. PR-4). Aus Ae-Me Plättchen, Smp. 142–148°. Zeigt im DC (Fig. 6) gleiche Laufstrecke und Färbung wie Stigmasterol. Nach Gas-Chromatogramm³⁰⁾ liegt ein Gemisch von Campesterol, Stigmasterol, β -Sitosterol^{18a)} und Cholesterol vor. Auf die Bestimmung der Anteile der Komponenten wurde verzichtet. Massenspektrum siehe Fig. 12. Die Molekel-Ionen zeigen die folgenden relativen Intensitäten: β -Sitosterol (37,1), Stigmasterol (24,9), Campesterol (27,9) und Cholesterol (10,1).

Substanz θ . Krist. Sterolgemisch (Präp. PR-30). Aus An Nadeln, Smp. 167–172°. Laufstrecke im DC vgl. Fig. 6. Massenspektrum siehe Fig. 13. Die Molekel-Ionen zeigen die folgenden relativen Intensitäten: 430 (33,4), 428 (34,5), 416 (24,6) und 402 (7,6). Vermutlich Hydroxyderivate der im Sterolgemisch ϵ vorkommenden Stoffe.

Substanz ι . Aus An Nadeln, Smp. 250–252°. Laufstrecke im DC vgl. Fig. 6.

Substanz $D = \text{Xysmalogenin (7)}$ (Präp. PR-6). Aus Me-Ae Prismen, Smp. 220–235°. Identifiziert durch Misch-Smp., Laufstrecken im PC und DC ($\text{SiO}_2\text{-AgNO}_3$) und Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 . Nach gleichen Kriterien identisch mit Subst. A von MAULI *et al.* [3].

Substanz E (Präp. PR-7). Krist. aus Me-Ae-Pe, Smp. 229–239°. Nach Xanthhydrolyse wahrscheinlich ein 2-Desoxyglykosid. Laufstrecke im PC vgl. Fig. 1 und 2. Nicht weiter untersucht, da nur 0,5 mg isoliert.

Substanz F (Präp. PR-8). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 154–156°, $[\alpha]_D = -14,7^\circ \pm 3^\circ$ ³¹⁾ ($c = 0,24$ in Me).

$\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (698,72)³²⁾ Ber. C 63,32 H 8,56% Gef. C 63,49 H 8,32%³³⁾

Laufstrecke im PC vgl. Fig. 1 und 2, Farbreaktion vgl. Tabelle 3.

Substanz $G = \text{Periplogenin (9)}$ (Präp. PR-9). Aus An-Me, Smp. 222–228°. Identisch mit auth. Periplogenin nach Smp., Misch-Smp., Farbreaktion (vgl. Tabelle 3) und Laufstrecke im PC (vgl. Fig. 1 und 2).

³⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. Ek. WEISS bestens für die Bestimmung der Zusammensetzung dieses Gemisches. Aufnahmebedingungen wie bei [44].

³¹⁾ Wir danken Frl. Dr. R. REUBKE und Herrn P. BADER, Analyt. Labor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, bestens für die Bestimmung dieser Drehung. Dazu diente ein lichtelektrisches CARL-ZEISS-Präzisionspolarimeter 0,005°.

³²⁾ Hypothetische Formel.

³³⁾ Wir danken Herrn Dr. H. WAGNER, Mikroanalyt. Labor, J. R. GEIGY AG, Basel, für die Ausführung dieser Ultramikroanalyse. Es diente dazu ein C, H, N-Analyser PERKIN-ELMER.

Substanz H (Präp. PR-11). Aus Me-Ae Prismen, Smp. 280–288°, $[\alpha]_D^{23} = +8,08 \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me).

$C_{25}H_{36}O_7$ (448,54)³² Ber. C 66,94 H 8,09% Gef. C 66,45 H 8,25%³³

IR.-Spektrum vgl. Fig. 8, UV.-Spektrum vgl. Fig. 11, Farbreaktion vgl. Tabelle 3, Laufstrecken im PC vgl. Fig. 1 und 2.

Substanz I (Präp. PR-10). Aus Me-Ae Prismen, Smp. 248–258°.

$C_{25}H_{34}O_8$ (462,52)³² Ber. C 64,92 H 7,41% Gef. C 64,15 H 7,66%³³

IR.-Spektrum vgl. Fig. 9, UV.-Spektrum vgl. Fig. 11, Farbreaktion siehe Tabelle 3, Laufstrecken im PC vgl. Fig. 1 und 2.

Substanz K = Strophanthidin (11) (Präp. PR-12). Aus Me-Ae Prismen, Smp. 150–155°/220–230°. Identisch mit auth. Strophanthidin nach Misch-Smp., PC (Fig. 2) und Farbreaktion (Tab. 3).

Substanz R = Xysmalogenin- β -D-glucosid = Xysmalomonosid [19] (8) (Präp. PR-18). Krist. aus Me-Ae, Smp. 263–268°. Abbau mit Schneckenferment gibt Xysmalogenin. Identisch mit auth. Material nach Misch-Smp. und Laufstrecke im PC (vgl. Fig. 3).

Substanz T (Präp. PR-20). Aus Me-Ae, Smp. 275–280°.

$C_{25}H_{38}O_8$ (464,54)³² Ber. C 64,63 H 7,81% Gef. C 65,24 H 7,96%³³

Mit Schneckenferment nicht abbaubar. IR.-Spektrum vgl. Fig. 10, UV.-Spektrum vgl. Fig. 11, Farbreaktion vgl. Tabelle 3, Laufstrecke im PC vgl. Fig. 3.

Substanz U (Präp. PR-22). Aus Me-Ae, Smp. 175–180°/235–245°. Abbau mit Schneckenferment gibt im PC Fleck H. Laufstrecke im PC vgl. Fig. 3.

Substanz V = Periplogenin- β -D-glucosid (10). Aus Me-Ae, Smp. 225–230°/265–280°. Identisch mit auth. Material nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im PC (vgl. Fig. 3) und Abbau mit Schneckenferment zu Periplogenin.

Substanz W = Strophanthidin- β -D-glucosid (12). Krist. aus Me-Ae, Smp. 226–230°. $[\alpha]_D^{24} = +12,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). Identisch mit auth. Material, nach Smp., Misch-Smp., IR.-Spektrum, Laufstrecke im PC (vgl. Fig. 3) und Tetra-O-acetyl-Derivat.

Substanz W' = Tetra-O-acetyl-strophanthidin- β -D-glucosid. 50 mg Substanz W wurden in 0,5 ml Py gelöst, mit 0,4 ml Ac_2O versetzt und 3 Tage lang bei 35° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft und aus Me-Ae kristallisiert. Smp. 140–170°/230–240°, $[\alpha]_D^{25} = +10,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Chf). Identisch mit auth. Material, nach Smp., Misch-Smp., Drehung und Laufstrecke im PC und DC.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor unseres Institutes ausgeführt.

SUMMARY

Pentacyclic triterpenes, sterols, cardenolides and pregnane derivatives could be identified in extracts from roots of *Glossostelma carsoni* (N.E.BR.) BULLOCK. From the first group, the following substances could be isolated in crystalline form: β -amyrin, lupeol, their 3-O-acetyl derivatives, and 3-O-isovaleryl- β -amyrin. The sterols were isolated in the form of two mixed but crystalline fractions. The less polar fraction was shown to be a mixture of β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, and cholesterol (stereoisomers are not excluded); the more polar fraction is probably a mixture of monohydroxy derivatives of the four above mentioned sterols.

Of the cardenolides, the following could be isolated: xysmalogenin, periplogenin, strophanthidin, the cardenolides E, F, H, I and T of unknown structure, as well as the β -D-glucosides of xysmalogenin, periplogenin, strophanthidin and probably of H (= Substance U). Digitoxigenin could only be identified through paper chromatography. The pregnane derivatives, which were present as ester glycosides, yielded after acidic followed by alkaline hydrolysis the genins lineolon, sarcostin and deacetylmetaplexigenin, and the 2-deoxy sugars cymarose, oleandrose and digitoxose, all of which were identified only through paper and thin layer chromatography.

Institut für organische Chemie der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. v. EUW, L. FISHelson, J. A. PARSON, T. REICHSTEIN & M. ROTHSCHILD, *Nature* 274, 35 (1967).
- [2] A. A. BULLOCK, Notes on African Asclepiadaceae 1. *Kew Bulletin* 7, 405 (1952).
- [3] R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 305 (1957).
- [4] E. ABISCH & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 2090 (1962).
- [5] a) P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 45 (1952); b) H. MUHR, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 403 (1954).
- [6] D. L. KEDDE, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).
- [7] M. PESEZ, *Ann. pharmaceut. franc.* 70, 104 (1952); vgl. auch R. TSCHESCHE, G. GRIMMER & F. SEEHOFER, *Chem. Ber.* 86, 1235 (1953).
- [8] G. M. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARDNER, *Nature* 170, 249 (1952).
- [9] A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, *Bull. Soc. chim. France* [5] 17, 288 (1950).
- [10] A. P. MACLENNAN, H. M. RANDALL & D. W. SMITH, *Analyt. Chemistry* 31, 2020 (1959).
- [11] S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 443 (1949).
- [12] B. DE VRIES, *Chem. Ind.* 1962, 1049; vgl. auch Übersichtsartikel G. JURRIENS, *La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse* 1965, 116.
- [13] H. LINDE, N. ERGENC & K. MEYER, *Helv.* 49, 1246 (1966).
- [14] O. RENKONEN & O. SCHINDLER, *Helv.* 39, 1490 (1956).
- [15] ELSEVIER'S ENCYCLOPAEDIA OF ORGANIC CHEMISTRY, Vol. 14, 526; Vol. 14 Suppl., 939 S, Elsevier, New York und Amsterdam 1940 und 1952.
- [16] R. TSCHESCHE & K.-H. BRATHGE, *Chem. Ber.* 85, 1042 (1952).
- [17] J. POLONIA, H. KURITZKES, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1437 (1959).
- [18] W. SCHMID, H. P. UEHLINGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 72 (1959).
- [19] Dissertation G. R. DUNCAN, Basel 1962.
- [20] E. LEHMANN, *Arch. Pharm.* 235, 157 (1897).
- [21] P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 30, 2143 (1947); 37, 622 (1948).
- [22] R. C. ELDERFIELD, F. C. UHLE & J. FRIED, *J. Amer. chem. Soc.* 69, 2235 (1947).
- [23] K. BRENNEISEN, J. v. EUW, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 47, 799 (1964); 47, 814 (1964).
- [24] F. FEIST, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 37, 534 (1898).
- [25] T. REICHSTEIN & H. ROSENEMUND, *Pharmac. Acta Helv.* 15, 150 (1940).
- [26] F. C. UHLE & R. C. ELDERFIELD, *J. org. Chemistry* 8, 162 (1943).
- [27] R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 284 (1957).
- [28] S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 32, 939 (1949).
- [29] E. ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1014 (1959).
- [30] J. W. CORNFORTH & J. C. EARL, *J. chem. Soc.* 1939, 737.
- [31] K. A. JAEGGI, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 46, 694 (1963).
- [32] H. MITSUHASHI, Y. SHIMIZU, T. NOMURA, T. YAMADA & E. YAMADA, *Chem. pharmaceut. Bull. (Japan)* 11, 1198 (1963).
- [33] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 883 (1948).
- [34] C. DJERASSI, H. BUDZIKIEWICZ & J. M. WILSON, *Tetrahedron Letters* 1962, 263; H. BUDZIKIEWICZ, J. M. WILSON & C. DJERASSI, *J. Amer. chem. Soc.* 85, 3688 (1963).
- [35] T. REICHSTEIN, *Naturwissenschaften* 54, 53 (1967).
- [36] T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, *Discuss. Farad. Soc.* 7, 305 (1949).
- [37] R. TSCHESCHE, G. BIERNOTH & G. WULFF, *J. Chromatogr.* 12, 342 (1963).
- [38] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1740 (1951).
- [39] R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* 34, 2278 (1951).
- [40] L. D. METCALFE, *Nature* 188, 142 (1960); B. R. BAUMGARDT, *Dep. Bull. Nr. 1, Dep. of Dairy Science, Univ. of Wisconsin, Madison*, June 1964.
- [41] D. L. COOK, L. M. PARKS, M. F. W. DUNKER & A. H. UHL, *J. Amer. pharmaceut. Assoc.* 33, 15 (1944); *Chem. Abstr.* 38, 1543 (1944).
- [42] E. J. COREY, S. PROSKOW & L. M. PARKS, *J. Amer. pharmaceut. Assoc.* 46, 183 (1957); *Chem. Abstr.* 51, 8374 (1957).
- [43] U. EPPENBERGER, H. KAUFMANN, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, *Helv.* 49, 1492 (1966).
- [44] L. SAWLEWICZ, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 504 (1967).