

In Südafrika wächst ausser *A. oppositifolia* noch die sehr nahe verwandte *A. oblongifolia* (HOCHST.) CODD [4] (früher meistens als *A. spectabilis* (SOND.) HOOK. F. oder als *A. venenata* var. *spectabilis* bezeichnet). Wir sandten Herrn Dr. CODD Herbarmaterial der Stammpflanzen unserer Samen, der die Bestimmung als *A. oppositifolia* bestätigte⁷⁾, so dass an der Identität nicht zu zweifeln ist.



Fig. 1. *Acokanthera oppositifolia* (LAM.) CODD. Aufgenommen von Herrn Dr. H. FRIEDE, Johannesburg, Südafrika, am Standort unseres Pflanzenmaterials bei Swartkopp, Kruegersdorp-District.

3. *Extraktion der Samen und Vortrennung der Extrakte.* Zur Untersuchung gelangten 1,08 kg trockene Samen (Probe b). Weichen mit Wasser, Extraktion, Reinigung mit $Pb(OH)_2$ und fraktioniertes Ausschütteln erfolgte nach früherer Vorschrift [11c]⁸⁾. Erhalten wurden die in Tabelle 1 genannten Ausbeuten an Extrakten.

Die verbliebene wässrige Phase gab hierauf mit KEDDE-Reagens [16] keine Violett-färbung mehr und wurde verworfen.

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus 1,08 kg Samen von *Acokanthera oppositifolia*

Art des Extraktes ⁹⁾	Menge		Flecke im PC ⁹⁾ 10)
	in g	in %	
Pe	2,8	0,26	—
Chf	35,7	3,30	1', 1'', (1), 2', 2, 3, 4, (5), (6), (7), (8)
Chf-Alk-(4:1)	3,75	0,35	2, (9), (10), (11), (12)
Chf-Alk-(2:1) nachgetrennt	0,5	0,046	9, 10, 11, 12, (13), 14, (15)
Chf-Alk-(3:2)	16,0	1,50	13, 14, 15, 16

⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. L. E. CODD, Pretoria, Südafrika, auch hier bestens für seine Hilfe.

⁸⁾ Zur Nachtrennung des zuerst erhaltenen rohen Chf-Alk-(2:1)-Extraktes wurde hier Chf-Alk-(4:1)- statt -(9:1)-Gemisch verwendet.

⁹⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil. In Klammern schwache Flecke, kursiv besonders starke Flecke.

¹⁰⁾ Entwickelt mit KEDDE-Reagens [16] oder mit 2,4,2',4'-Tetranitrodiphenyl-Reagens [17]. Mit diesen Reagentien geben alle Butenolide eine violette bzw. blaue Färbung. Empfindlichkeit im PC ca. 0,01 mg bzw. 0,005 mg. Bei direktem Auftropfen auf Papier etwa 5mal höher.

In den vier KEDDE-positiven Extrakten liessen sich (teilweise erst nach präparativer Anreicherung) durch Papierchromatogramme (PC) (vgl. Fig. 2–5) insgesamt 19 Cardenolide nachweisen¹⁰⁾, die mit den Zahlen 1', 1'', 1, 2', 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 und 16 bezeichnet wurden (vgl. Tabelle 1). Bisher sind nur der Chf- sowie der Chf-Alk-(3:2)-Extrakt präparativ getrennt worden. Die beiden anderen Chf-Alk-Extrakte wurden nur papierchromatographisch geprüft. Dabei zeigte Subst. 10 gleiche Laufstrecke wie Acobiosid A [15], und Subst. 9 lief gleich wie das erst kürzlich von KAPADIA aus *Acokanthera oblongifolia* (*A. spectabilis*) isolierte Acospectosid A [12b]¹¹⁾.

4. *Trennung des Chloroform-Extraktes*. Aus diesem Material liessen sich zunächst durch direkte Kristallisation 24 g reines Acovenosid A (Subst. 2) abtrennen. Die eingedampfte Mutterlauge (11,7 g) wurde einer Verteilungschromatographie [18] im System Benzol-Tetrahydrofuran-(4:1)/Formamid an Cellulose (Säule bereitet nach TRABERT [19]) unterworfen, worauf sich ausser einer weiteren Menge von Acovenosid A noch die Stoffe 1', 1'', 2', 3, 4, 6, 7 und 8 in Kristallen isolieren liessen. Damit waren von den 11 nachgewiesenen Stoffen 9 in reiner Form erhalten worden. Die Stoffe 1 (= Acovenosid B) und 5 (nicht identifiziert) waren nur in Spuren anwesend und wurden nicht isoliert.

5. *Trennung des Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extraktes*. Von diesem Material wurden 9,5 g (entspr. 640 g Samen) ebenfalls durch Verteilungschromatographie getrennt, wobei Wasser an Kieselgur [18] als ruhende und Benzol-Butanol-Gemische als bewegliche Phase verwendet wurden. Dabei liessen sich die vier nachgewiesenen Stoffe (13, 14, 15 und 16) in Kristallen isolieren. Die Subst. 14 wurde bei der Chromatographie zum grössten Teil zusammen mit Subst. 15 eluiert; durch fraktionierte Kristallisation konnten aber beide getrennt werden.

6. *Die isolierten Stoffe*. Tabelle 2 gibt eine Übersicht der Ausbeuten der in Kristallen isolierten Glykoside sowie eine Schätzung der wirklich in den Samen vorhandenen Mengen für alle KEDDE-positiven Stoffe. Von den isolierten Substanzen konnten die Stoffe 2', 2, 3, 14, 15 und 16 mit bereits bekannten Glykosiden identifiziert werden, wobei Subst. 15 (= Acolongiflorosid K) hier erstmals in Kristallen erhalten wurde. Die Stoffe 1'', 4, 6 und 13 waren sicher neu und haben Trivialnamen erhalten (vgl. Tabelle 2); ihre Struktur ist weitgehend gesichert (vgl. Tabelle 4 und folgende Mitteilung [21]). Die Stoffe 1', 7 und 8 sind vermutlich auch neu, doch konnten sie wegen Substanzmangel nicht genau untersucht werden. Die Stoffe 5, 9, 10, 11 und 12 wurden nur papierchromatographisch nachgewiesen (vgl. letzte Kolonne Tabelle 2). Tabelle 3 gibt die wichtigsten Eigenschaften und die gesicherten oder mutmasslichen Bruttoformeln der in Kristallen isolierten Glykoside und ihrer O-Acetyl-Derivate (soweit bereitet). In Tabelle 5 sind die Farbreaktionen mit H₂SO₄ zusammengestellt.

7. *Strukturermittlungen durch saure Hydrolyse*. Keines der isolierten Glykoside gab eine positive Xanthidrolreaktion¹²⁾. Kleine Proben wurden daher einer energi-

¹¹⁾ Wir danken Herrn Prof. G. J. KAPADIA, Howard University, Washington D.C., bestens für die Überlassung von Vergleichsmaterial.

¹²⁾ Diese Reaktion ist bei allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden positiv [22].

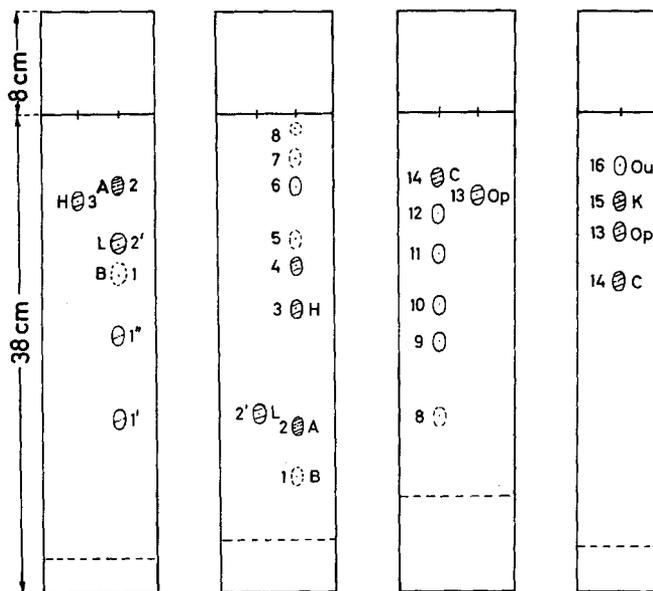


Fig. 2

Be-Thf-(4:1)/Fmd
2 Std.

Fig. 3

Chf/Fmd
2 $\frac{1}{2}$ Std.

Fig. 4

To-Bu-(1:1)/W
6 Std.

Fig. 5

Bu/W
13 Std.

Fig. 2-5 sind Beispiele für Papierchromatogramme⁹⁾, schematisiert, aber massgetreu. Ausführung absteigend auf WHATMAN-Papier Nr. 1 nach früheren Angaben [18] [20]¹⁰⁾. Die stationäre Phase betrug 30% des Papiergewichts. Bei reinen Substanzen wurde jeweils 0,02 mg aufgetragen, bei Gemischen meistens 0,1 mg. – Die Umkehrung der Subst. 13 und 14 in den Systemen von Fig. 4 und 5 ist charakteristisch.

schen sauren Hydrolyse mit KILIANI-Mischung¹³⁾ unterworfen und der abgespaltene Zucker im PC untersucht. Die Resultate sind aus Tabelle 4 ersichtlich. In einigen Fällen wurde auch eine Hydrolyse mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT [24] durchgeführt und das dabei gewonnene rohe Genin im PC geprüft (vgl. Tabelle 4). In den Figuren 6-10 sind die IR.-Spektren der Substanzen 1'', 2', 3, 4 und 6 wiedergegeben und in den Figuren 12-17 die Massenspektren von 1'', 2', 2, 3 und 4 sowie zum Vergleich dasjenige von Acovenosigenin A (3). Im folgenden werden die in Kristallen isolierten Stoffe noch einzeln besprochen.

Glykosid 1'. Da insgesamt nur 6 mg isoliert wurden, konnte die Struktur nur teilweise aufgeklärt werden. Nach UV.-Spektrum enthielt die Substanz ausser dem Butenolidring keine zusätzliche Doppelbindung. Im IR.-Spektrum (in CH₂Cl₂) ist neben den Banden des Butenolidringes (5,65; 5,73 und 6,17 μ) keine weitere Carbonylbande sichtbar. Nach energischer saurer Hydrolyse [23] liess sich als Zucker im PC Acofriose nachweisen. Glykosid 1' läuft im PC (System von Fig. 2) zwischen Mono-O-acetyl-solanosid und Solanosid (= Digitoxigenin- α -L-acofriosid) [33]. Auf Grund dieser Polarität im PC und nach UV.-Spektrum wäre es möglich, dass Gly-

¹³⁾ Mischung von 3,5 ml Eisessig, 5,5 ml Wasser und 1,0 ml konz. HCl [23].

Tabelle 2. Ausbeuten an Kristallen¹⁴⁾ sowie Schätzung der tatsächlich vorhandenen Menge aller nachgewiesenen Cardenolide in 1,08 kg Samen von *Acokanthera oppositifolia*⁹⁾

Subst. Nr.	Bekannt	Neu	Bezeichnung und evtl. Identifizierung	Kristalle isoliert, Menge in mg ¹⁴⁾	Schätzung der in 1,08 kg Samen wirklich vorhandenen Menge ¹⁵⁾		Relative Laufstrecken im PC ¹⁶⁾ in:				
					in mg	in %	I Be-Thf- (4:1)/Fmd	II Chf/Fmd	III To-Bu- (1:1)/W	IV Bu/W	
1'				6	115	0,011	1,895				
1''		+		24	115	0,011	1,377				
1		+	Oppovenosid		10	0,001	1,880				
2'		+	Acovenosid B		520	0,048	1,543				
2		+	Acofriosid L	195	25000	2,41	0,444				
3		+	Acovenosid A	234	670	0,062	1,00				
4		+	Acolongiflorosid H	295	490	0,045	0,544				
5		?	Oppofriosid		10	0,001	0,790				
6		+	Acotalosid	24	60	0,006	0,652				
7		?		0,5	25	0,002	0,376				
8		?		3	25	0,002	0,239				
9	?		Acospectosid A (?)		60	0,006	0,083			1,596	
10	?		Acobiosid A (?)		60	0,006				1,192	
11		?			60	0,006				1,00	
12		?			60	0,006				0,743	
13		+	Opposid	303	60	0,006				0,519	
14		+	Acovenosid C	1166	760	0,070				0,428	1,338
15		+	Acolongiflorosid K	2820	1500	0,139				0,333	1,667
16		+	Ouabain	52	3600	0,333				1,00	1,00
					200	0,019					0,608

¹⁴⁾ Wenn zur Isolierung nur ein Teil der Extrakte verwendet wurde, so ist die Ausbeute hier auf die ganze vorhandene Menge umgerechnet.

¹⁵⁾ Schätzung auf Grund der erhaltenen Ausbeuten und der Stärke der Flecke im Papierchromatogramm.

¹⁶⁾ Stationäre Phase jeweils gleich 30% des Papiergewichts. Die ungefähren Rf-Werte der Bezugssubstanzen betragen: Acovenosid B (1) in System I ca. 0,36; Acolongiflorosid H (3) in System II ca. 0,48; Acobiosid A (10) in System III ca. 0,50; Acolongiflorosid K (15) in System IV ca. 0,27. Die Rf-Werte sind jedoch nicht so gut reproduzierbar wie die relativen Laufstrecken.

Tabelle 3. Die wichtigsten Eigenschaften der in Kristallen isolierten Stoffe sowie der daraus bereiteten O-Acetylderivate

Substanz	Gef.	Lit.	Gesicherte oder vermutliche Bruttoformel	Methoxy- Gr. ¹⁷⁾	Fluores- zenz-R. ¹⁸⁾	Xanthy- drol-R. ¹⁸⁾	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Alk}}$ in nm ($\log \epsilon$) ¹⁹⁾	Weitere Be- stimmungen ²⁰⁾
	Smp. [α] _D	Smp. [α] _D						
1'	221–230°	–	C ₃₀ H ₄₆ O ₈ (?) (534,7)				217 (4,22)	IR.
1'' Oppovenosid	222–225° [–56,7 ± 2 Me]	–	C ₃₀ H ₄₄ O ₈ (548,7)	(1)			208 (4,27)	IR.
1 Acovenosid B	–	251–253° [–71,4 ± 2 Dj] [1]	C ₃₃ H ₄₈ O ₁₀ (592,7)	1			217 (4,21)	IR.
2' Acofriosid L	264–268° [–57,3 ± 2 Me]	248–253° [–54,1 ± 2 Me] [9b]	C ₃₀ H ₄₄ O ₈ (532,7)	1			204 (4,31)	DZ = 1,91
Di-O-acetyl- acofriosid L	215–218° [–38,2 ± 2 Me]	225–230° [–35,8 ± 3 An] [9b]	C ₃₄ H ₄₈ O ₁₀ (616,7)	1				IR.
2 Acovenosid A	162–164°/ 222–223°	160–163°/230–232° oder 222–223°	C ₃₆ H ₄₆ O ₉ (550,7)	1			217 (4,21)	IR.
Tri-O-acetyl- acovenosid A ²¹⁾	196–200° [–62,0 ± 2 An]	202–204° [–63,9 ± 2 An] [1]	C ₃₆ H ₅₂ O ₁₂ (676,8)	1				IR.
3 Acolongi- flosid H	250–254° [–42,0 ± 2 Me]	249–255° [–42,8 ± 2 Me] [9b]	C ₃₀ H ₄₄ O ₉ (548,7)	1			204 (4,28)	DZ = 1,97 [9b]
O-Acetyl- acolongiflosid H	209–212° [–29,0 ± 2 Me]	211–217° [–30,6 ± 2 Me] [8] [–34,4 ± 3 An] [9b]	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₁ (632,7)	1			206 (4,22)	DZ = 1,92
4 Oppofriosid	272–276° [–46,0 ± 2 Chf]	–	C ₃₀ H ₄₆ O ₉ + 2 H ₂ O (586,7)	1			218 (4,14)	IR.

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Substanz	Gef.	Lit.	Gescherte oder vermutliche Bruttoformel	Methoxy- Gr. ¹⁷⁾	Fluores- zenz-R. ¹⁸⁾	Xanthy- drol-R. ¹⁸⁾	λ_{max}^{alk} in nm (log ϵ) ¹⁹⁾	Weitere Be- stimmungen ²⁰⁾
	Smp. [α] _D	Smp. [α] _D						
6 Acotalosid	253–260° [–0,9 ± 3 Chf]	–	C ₂₉ H ₄₄ O ₉ + H ₂ O (554,7)	(–)	–	–	217 (4,14)	IR.
7	170–192° roh	–	–	–	–	–	–	–
8	234–240°	–	C ₃₀ H ₄₆ O ₁₀ (?) (566,7)	–	–	–	218 (4,13)	–
13 Opposid	292–295° [–51,4 ± 2 Me]	–	C ₃₉ H ₄₄ O ₁₁ (568,6)	(–)	–	–	217 (4,25)	IR.
14 Acovenosid C	201–203° [–67,0° ± 2 80proz. Me]	201–203° [–64,9° ± 3 80proz. Me] [15]	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₉ (874,9)	1	–	–	–	IR.
15 Acolongi- florosid K	224–232° [–53,2 ± 2 Me]	ebenso [27]	C ₃₉ H ₄₄ O ₁₂ (584,6)	–	–	–	–	IR.
Hexa-O-acetyl- acolongiflorosid K	295–298° [–55,5 ± 2 Chf]	ebenso [27]	C ₄₁ H ₅₆ O ₈ (836,9)	–	–	–	–	–
16 Onabain	183–188° [–41,0 ± 2 Me]	187–188° [–30,8 W] [28]	C ₃₉ H ₄₄ O ₁₂ (584,6)	–	–	–	–	–

¹⁷⁾ Bestimmung nach ZEISEL oder (in Klammern) aus der papierchromatographisch bestimmten Art des Zuckers erschlossen (vgl. Tabelle 4).

¹⁸⁾ Fluoreszenzreaktion nach BELLET [25] mit H₃PO₄ im Glühröhrchen oder mit SbCl₃ auf Papier nach JÄGER *et al.* [26]. Diese Reaktion ist bei 16-Hydroxy-, 16-Acyloxy- und 16-Dehydro-Cardenoliden positiv.

¹⁹⁾ Berechnet auf die angegebene Bruttoformel.

²⁰⁾ IR. = IR.-Spektrum gemacht. DZ. = aufgenommene Menge H₂ in Mol bei Hydrierung mit Pt in AcOH.

²¹⁾ Erstmals beschrieben als Acovenosid-B-acetat [1].

Tabelle 4. *Bewiesener oder vermullicher Bau der in Kristallen isolierten Cardenolidglykoside aus Acokanthera oppositifolia*²²⁾

Glykosid	Genin	Zucker	Lit.
1'	?	(Acofriose)	²³⁾
1'' Oppovenosid (10 ?)	(Acoflorogenin (7 ?))	(Acovenose)	²³⁾
1 Acovenosid B	1-O-Acetyl-acovenosigenin A	L-Acovenose (18)	[14]
2' Acofriosid L (2)	Canarigenin (1) [29]	L-Acofriose (19)	[9b]
2 Acovenosid A (4)	Acovenosigenin A (3)	L-Acovenose (18)	[6]
3 Acolongiflorosid H (8 ?)	(Acoflorogenin (7 ?))	L-Acofriose (19)	[9b] ²³⁾
4 Oppofriosid (5)	(Acovenosigenin A (3))	(Acofriose)	²³⁾
6 Acotalosid (6)	(Acovenosigenin A (3))	(6-Desoxytalose)	²³⁾
13 Opposid (12 ?)	Gratogenin (11 ?) [30]	6-Desoxy-L-talose (20)	[21]
14 Acovenosid C	Acovenosigenin A (3)	L-Acovenose (18) + 2 D-Glucose	[15]
15 Acolongiflorosid K (16)	Ouabagenin (15)	6-Desoxy-L-talose (20)	[27]
16 Ouabain (17)	Ouabagenin (15)	L-Rhamnose (21)	[31]

kosid 1' die Formel $C_{30}H_{46}O_8$ besitzt und ein Isomeres des Digitoxigenins als Aglykon enthält.

Glykosid 1'' = Oppovenosid. Der Stoff besitzt vermutlich Formel **10**, die aber noch nicht bewiesen ist. Wir stützen uns dabei auf folgende Befunde: Oppovenosid besitzt nach UV.-Spektrum neben dem Butenolidring noch eine zusätzliche isolierte Doppelbindung. Im IR.-Spektrum in KBr (Fig. 6) war ausser den Banden des Butenolidringes (bei 5,63; 5,75 und 6,18 μ) keine weitere Carbonylbande sichtbar, wohl aber eine schwache Bande bei 6,05 μ . Die Farbreaktion mit H_2SO_4 war genau gleich wie bei Acolongiflorosid H, dem wir Formel **8** zuschreiben (vgl. unten). Wir vermuten daher, dass beide Glykoside dasselbe Genin enthalten und sich nur im Zuckeranteil voneinander unterscheiden. Die Massenspektren (vgl. Fig. 13 und 14) stehen damit in bestem Einklang. Auch bei der Mikrohydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [24] entstanden in beiden Fällen dieselben zwei Stoffe (zwei Flecke im System von Fig. 2 mit Rf ca. 0,26 und ca. 0,89), bei denen wir vermuten, dass es sich um das Acoflorogenin (**7**) und sein Anhydroderivat **14** handelt, von denen nur das letztere in nicht ganz reiner Form bekannt ist (siehe unten). Nach energischer saurer Hydrolyse liess sich im PC Acovenose (**18**) nachweisen. Als Bruttoformel ergibt sich $C_{30}H_{44}O_8$, die mit der Analyse einigermassen vereinbar ist.

Glykosid 2' = Acofriosid L. Der isolierte Stoff war identisch mit dem früher isolierten Material [9b], dessen Struktur **2** damals abgeklärt worden war. Das Massenspektrum (Fig. 12) steht damit im Einklang. Fig. 7 zeigt das IR.-Spektrum.

Glykosid 2 = Acovenosid A. Auch hier war das isolierte Produkt identisch mit dem früher isolierten Material, dessen Struktur **4** gesichert ist [6].

Glykosid 3 = Acolongiflorosid H. Das isolierte Präparat war identisch mit dem früher aus *Acokanthera longiflora* [8] (nicht ganz rein) und aus *A. friesiorum* [9b] erhaltenen Material. Sehr charakteristisch für diesen Stoff ist die auffallend dunkelviolett-blaue Färbung mit H_2SO_4 . Wir glauben, dass dem Stoff die Formel **8** zu-

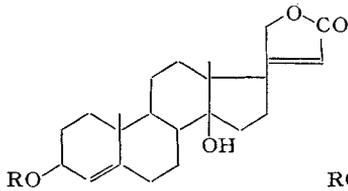
²²⁾ Ohne Klammer bedeutet Spaltstücke gesichert. In Klammern die nur papierchromatographisch nachgewiesenen Bauelemente.

²³⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

Tabelle 5. *Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄²⁴⁾*

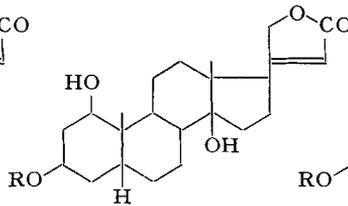
Zeit	Subst. 1'	1''	1	2'	2	3	4
		Oppovenosid	Acovenosid B	Acofriosid L	Acovenosid A	Acolongif. H	Oppofriosid
5''	hellorange	braunviolett	farblös	dunkelorange	farblös	braunviolett	farblös
1'	hellorange	violett	schwachgelb	karmin	schwachgelb	violett	hellgelb
5'	rosaorange	schwarzviolett	hellgelb	karmin	hellgelb	schwarzviolett	hellgelb
10'	rosaorange	schwarzblau	citron	dunkelkarmin	citron	schwarzblau	hellgelb
20'	rosa	schwarzblau	citron	dunkelkarmin	citron	schwarzblau	gelb
60'	bläulichrosa	schwarzblau	grünlichgelb	dunkelkarmin	grünlichgelb	schwarzblau	grünlichgelb
5 h	bläulichrosa	blau	gelbbraun	rotbraun	gelbbraun	blau	gelbbraun
24 h	hellgrau	blaugrau	rötlichbraun	graubraun	rötlichbraun	blaugrau	rötlichbraun
<hr/>							
Zeit	Subst. 6	8	13	14	15	16	
	Acotalosid		Opposid	Acovenosid C	Acolongif. K	Ouabain	
5''	farblös	farblös	hellrosa	farblös	farblös	farblös	farblös
'	schwachgelb	farblös	hellrosa	farblös	farblös	farblös	farblös
5'	hellgelb	hellgelb	hellbraun	hellgelb	farblös	farblös	farblös
10'	citron	hellrosa	rötlichbraun	citron	hellbraun	hellbraun	hellbraun
20'	citron	hellrosa	braun	citron	hellbraun	hellbraun	hellbraun
60'	grünlichgelb	hellgelb	graubraun	grünlichgelb	hellbraun	hellbraun	hellbraun
5 h	hellbraun	hellgelb	oliv	gelbbraun	hellbraun	hellbraun	hellbraun
24 h	rötlichbraun	farblös	dunkeloliv	rötlichbraun	schwachgelb	schwachgelb	schwachgelb

²⁴⁾ Substanz auf weisser Porzellan-Tüpfelplatte mit frisch bereiteter 84-proz. H₂SO₄ kurz verrieben, dann mit Objektträger bedeckt [32].



- 1** (R = H) Canarigenin
F. 235–252° [+ 22 Me] [29]
[+ 41 Chf]²⁵⁾
F. 192–196° [+ 46 Chf] [34]

- 2** (R = 3-O-Methyl-L-rhamnosyl-Rest) Acofriosid L
F. 248–253° [– 54,1 Me] [9b]

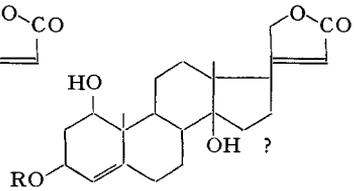


- 3** (R = H) Acovenosigenin A [6]
F. 295–298° [+ 2,3 Me] [1] [5]

- 4** (R = 3-O-Methyl-6-desoxy-L-talosyl-Rest) Acovenosid A
F. 222–223° [– 64,8 Di] [1]

- 5** (R = 3-O-Methyl-L-rhamnosyl-Rest) Oppofriosid (Glyk. 4)
F. 272–276° [– 46,0 Chf]²³⁾

- 6** (R = 6-Desoxy-L-talosyl-Rest) Acotalosid (Glyk. 6)
F. 253–260° [– 0,9 Chf]²³⁾

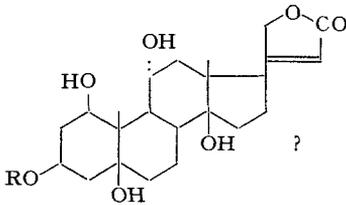


- 7** (R = H) Acoflogenin
nicht rein bekannt

- 8** (R = 3-O-Methyl-L-rhamnosyl-Rest) Acolongiflorosid H, F. 249–255°
[– 42,8 Me] [9b]

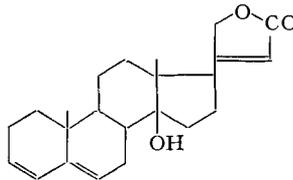
- 9** (R = Di-O-acetyl-3-O-methyl-L-rhamnosyl-Rest)
F. 211–217° [– 34,4 An]
[8] [9b]

- 10** (R = 3-O-Methyl-6-desoxy-L-talosyl-Rest) Oppovenosid (Glyk. 1'')
F. 222–225° [– 56,7 Me]²³⁾

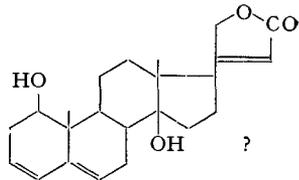


- 11** (R = H) Gratogenin
F. 241–247° [+ 1,2 90proz. Di]
[30]

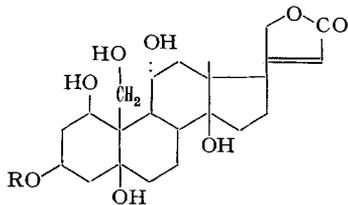
- 12** (R = 6-Desoxy-L-talosyl-Rest) Opposid (Glyk. 13) [21]
F. 292–295° [– 51,4 Me]²³⁾



- 13** Dianhydroperiplogenin
F. 194–212° [– 46,9 Chf] [9b]
F. 205–222° [– 44,9 Chf] [29]



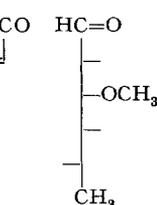
- 14** Anhydroacoflogenin
F. 168–180°²³⁾, nicht
völlig rein



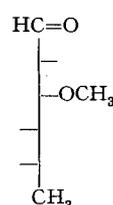
- 15** (R = H) Ouabagenin [31]
F. 235–238°/255–256°
[+ 11,3 W] [24 a]

- 16** (R = 6-Desoxy-L-talosyl-Rest) Acolongiflorosid K [27]
F. 224–232° [– 53,2 Me]²³⁾

- 17** (R = L-Rhamnosyl-Rest)
Ouabain [31]
F. 187–188° [– 30,8 W] [28]



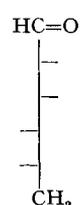
- 18** 3-O-Methyl-6-desoxy-L-talose = L-Acovenose, amorph, [– 19,4 W] [35]



- 19** 3-O-Methyl-L-rhamnose = L-Acofrioside, F. 111–114° [+ 39,1 W] [35]



- 20** 6-Desoxy-L-talose F. 116–118° [– 20,9 W] [35]



- 21** L-Rhamnose F. 74–78° (Hydrat) [+ 8,5 W] [35]

Die Formeln 7–12 sowie 14 sind noch hypothetisch. – Die Zahlen in langen, eckigen Klammern geben die spez. Drehungen für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln⁹⁾ an.

²⁵⁾ Privatmitteilung von Dr. H. LINDE.

kommt, die allerdings noch nicht bewiesen ist. Unsere Annahme stützt sich auf folgende Befunde: Die Analyse [9b] passte auf die Formel $C_{30}H_{44}O_9$ mit einer Methoxylgruppe und zwei hydrierbaren Doppelbindungen. Im UV.-Spektrum ist ausser der Absorption des Butenolidringes auch noch diejenige einer zusätzlichen isolierten Doppelbindung sichtbar. Acetylierung unter milden Bedingungen liefert ein krist. Di-O-acetyl-Derivat [8] [9b], dem wir die Formel **9** (mit freier HO-Gruppe an C-1) zuschreiben; auch die alte Analyse [8] passt gut auf die entsprechende Bruttoformel $C_{34}H_{48}O_{11}$ (632,72). Das NMR.-Spektrum (Fig. 11) passt ebenfalls gut dazu, insbesondere sind zwei Signale von Acetoxygruppen ($\delta = 2,09$ und $2,15$ ppm) sichtbar, sowie ein solches für ein Vinylproton (Multipllett zentriert bei $5,37$ ppm). Bei der Hydrierung mit Pt in AcOH nahm das Di-O-acetyl-Derivat **9** zwei Mol Wasserstoff auf; das amorphe Hydrierungsprodukt zeigte im UV. bis 195 nm keine selektive Absorption mehr. Das Di-O-acetyl-Derivat wird von CrO_3 in AcOH leicht angegriffen [9b]. Wir haben jetzt das amorphe Tetrahydro-di-O-acetyl-Derivat ebenfalls mit CrO_3 dehydriert. Das amorphe Produkt zeigte sowohl im UV.- wie im IR.-Spektrum die Anwesenheit einer Ketogruppe. In KBr waren in der Carbonylregion drei starke Banden sichtbar bei $5,60 \mu$ (γ -Lacton), $5,74$ (Acetyl), $5,84$ (Keton). Dies zeigt, dass das Di-O-acetyl-Derivat **9** eine freie sekundäre HO-Gruppe enthält, die relativ schwer acetylierbar ist. Genau so verhält sich die 1β -ständige HO-Gruppe im Acovenosid A (**4**) [6] sowie im Ouabagenin (**15**) [31]. Bei einer Hydrolyse von 50 mg Acolongiflorosid H (**8**) mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT [24] war die Reaktion schon nach 24 Stunden weitgehend beendet und lieferte nach PC zur Hauptsache zwei Produkte. Das weniger polare Produkt, vermutlich **14**, wurde in Kristallen isoliert, die nicht völlig rein waren, die aber im UV. eine fast gleiche Absorption zeigten wie Dianhydroperiplogenin (**13**) [9b] (Bande mit $\lambda_{max}^{Alk} = 226,5$ nm, $\log \epsilon = 4,47$, mit Feinstruktur, Schultern bei ca. 220 und 233 nm). Auch das Massenspektrum von Acolongiflorosid H (Fig. 14) ist mit Formel **8** gut vereinbar, besonders wenn man es mit dem Massenspektrum des ähnlich gebauten Acofriosids L (**2**) (Fig. 12) vergleicht. Der Zucker des Acolongiflorosids H ist schon früher [9b] als

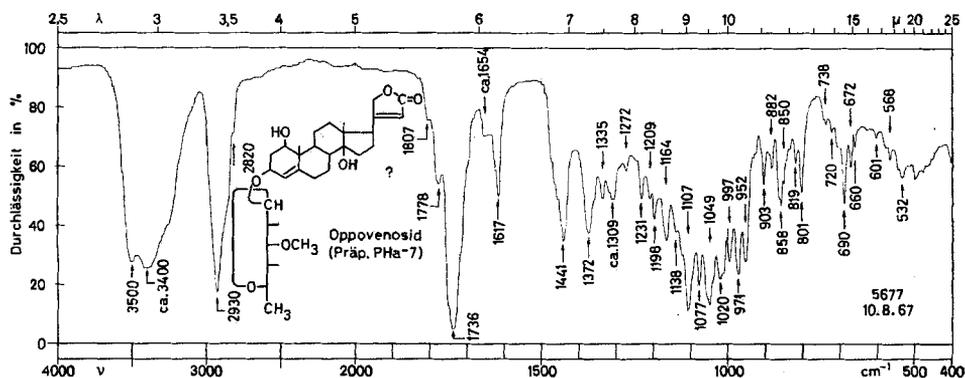


Fig. 6. IR.-Spektrum von Oppovenosid (Glyk. 1'', Präp. PHa-7) (**10**), Smp. $222-225^\circ$
 $1,4$ mg fest in ca. 300 mg KBr²⁰⁾

²⁰⁾ Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER auf einem PERKIN-ELMER-Zweistrahlgitter-Spektrophotometer Modell 125.

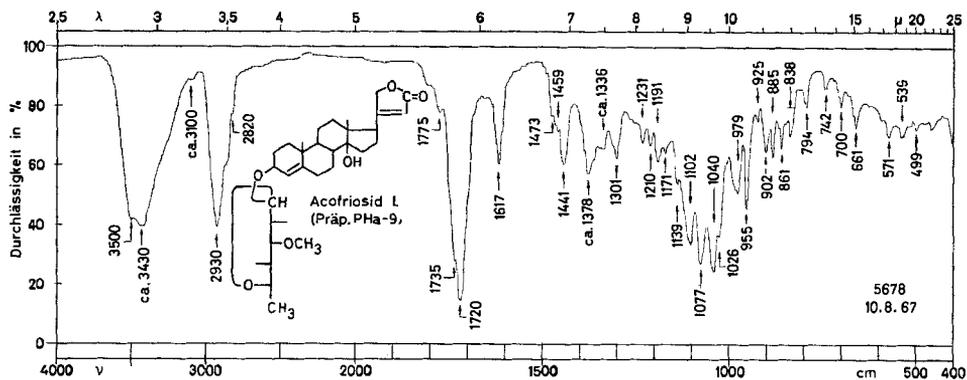


Fig. 7. IR.-Spektrum von Acofriosid L (Glyk. 2', Präp. PHa-9) (2), Smp. 264–268°
1,1 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁶⁾

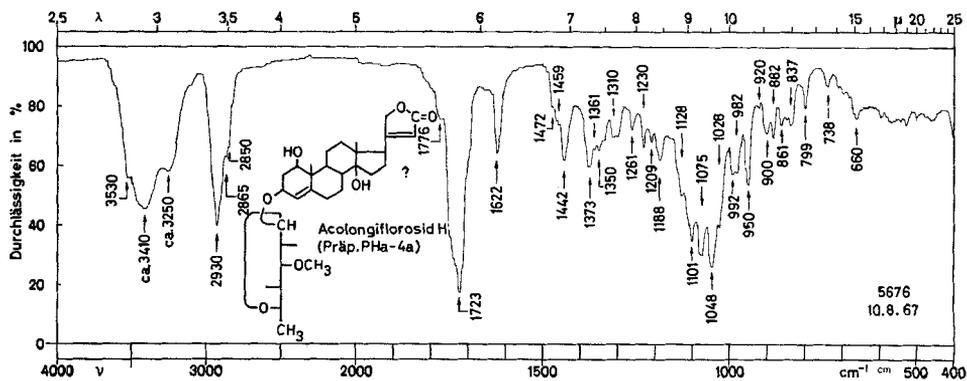


Fig. 8. IR.-Spektrum von Acolongiflorosid H (Glyk. 3, PHa-4a) (8), Smp. 250–254°
1,0 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁶⁾

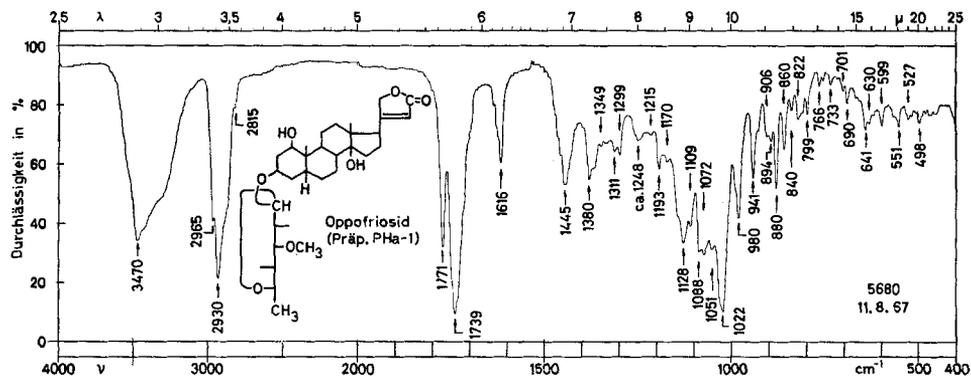


Fig. 9. IR.-Spektrum von Oppofriosid (Glyk. 4, PHa-1) (5), Smp. 272–276°
0,95 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁶⁾

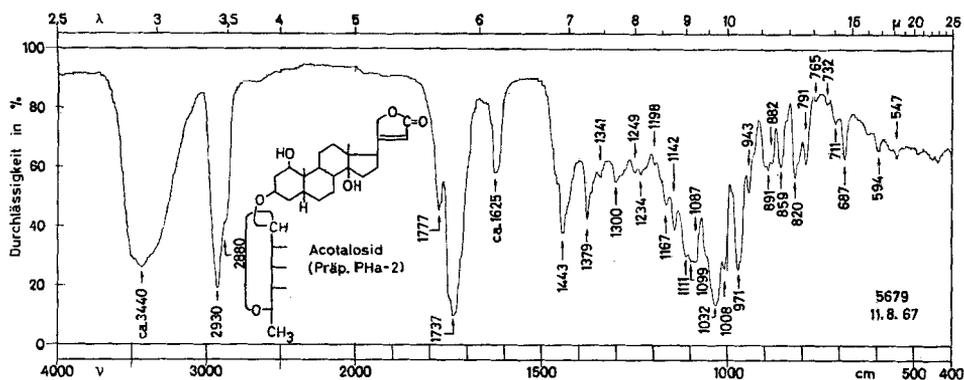


Fig. 10. IR.-Spektrum von Acotalosid (Glyk. 6, PHa-2) (6), Smp. 253–260°
1,3 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁶⁾

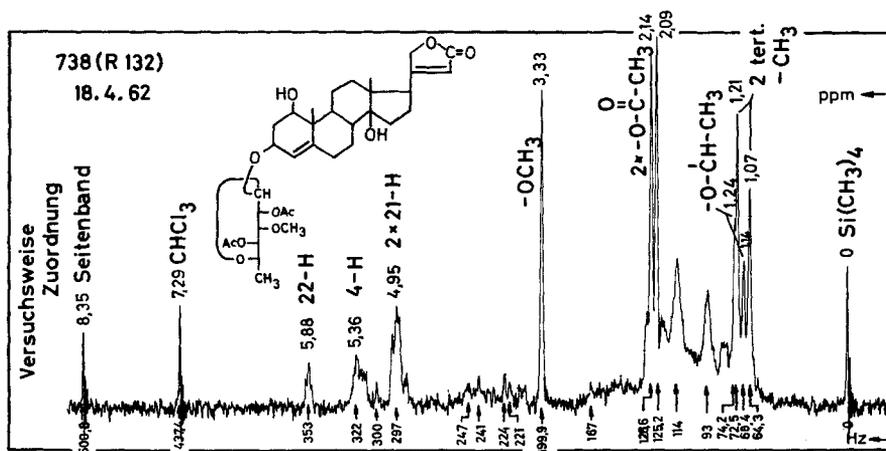


Fig. 11. Protonenresonanzspektrum von Di-O-acetyl-acolongiflorosid H (9) (Präp. PHa-8), Smp. 209–212°
16,8 mg in 0,26 ml CDCl₃²⁷⁾

L-Acofriose (19) identifiziert worden. Alle diese Befunde sind am besten mit Formel 8 erklärbar. Danach unterscheidet sich Acolongiflorosid H von Acofriosid L, das in derselben Pflanze vorkommt, nur durch eine zusätzliche HO-Gruppe in 1β-Stellung.

Das dem Acolongiflorosid H zugrunde liegende, bisher noch nicht in reiner Form isolierte Genin bezeichnen wir als *Acoflorgenin*. Es besitzt vermutlich Formel 7.

Glycosid 4 = Oppofriosid. Für diesen Stoff ergibt sich auf Grund folgender Befunde die Struktur 5. Die Analyse passte auf die Formel C₃₀H₄₆O₉ + 2H₂O (586,7) mit einer Methoxylgruppe. Im UV.-Spektrum ist nur die Absorption des Butenolid-

²⁷⁾ Wir danken Herrn PD Dr. R. ZÜRCHER, Physiklabor der CIBA AG, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme und Interpretation dieses Spektrums. Dazu diente ein modifizierter VARIAN-Spektrograph Modell V-4302 bei 60 Megahertz und 21°. Als interner Standard diente Tetramethylsilan. Weitere Angaben siehe bei ZÜRCHER [36].

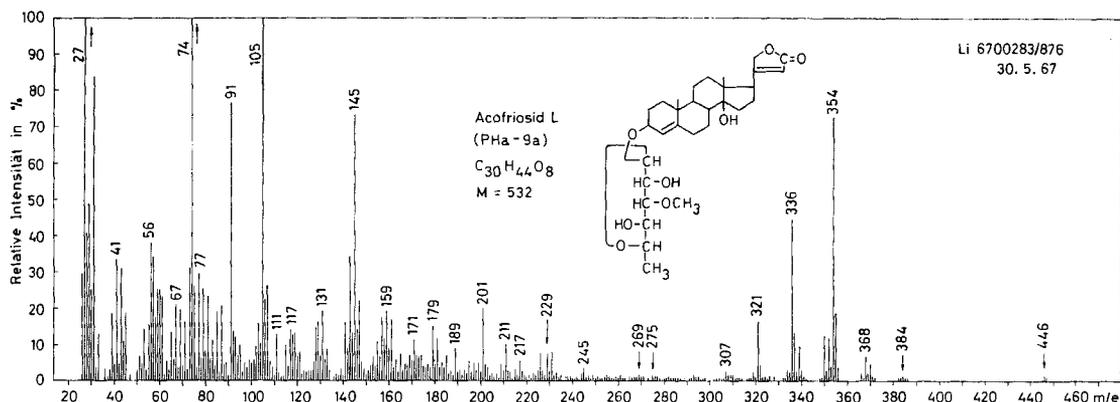


Fig. 12. Massenspektrum von Acofriosid L (2) (Glyk. 2', Präp. PHA-9a), Smp. 260–265²⁸⁾

Versuchswise Zuordnung:

532 = M: nicht sichtbar

372 = Genin (G) C₂₃H₃₂O₄ (sehr schwach)

370 = G - 2 H? (22?) (schwach)

368 = G - 4 H? (schwach)

354 = G - H₂O

352 = G - H₂O - 2 H?

350 = G - H₂O - 4 H?

339 = G - H₂O - CH₃

337 = G - H₂O - 2 H - CH₃

336 = G - 2 H₂O

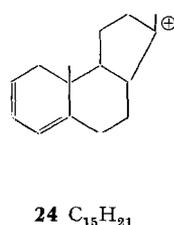
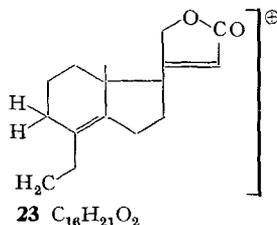
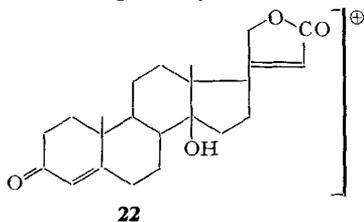
321 = G - 2 H₂O - CH₃

245 = 23?

231 = 245 - CH₂

217 = 245 - CH₂-CH₂

201 = 24, analog wie bei Digitoxigenin [37]



ringes sichtbar. Als Zucker liess sich nach PC nur Acofriosid (19) nachweisen. Nach Hydrolyse mit HCl in Aceton liess sich im PC in zwei Systemen Acovenosigenin A (3) nachweisen neben zwei rascher wandernden Produkten (vermutlich Anhydroderivaten). Das Massenspektrum (Fig. 17) ist äusserst ähnlich demjenigen von Acovenosid A (4) (Fig. 16); dies ist verständlich bei der Annahme, dass diese zwei Glykoside sich ausschliesslich durch Raumisomerie an C-4' im Zuckeranteil voneinander unterscheiden. Dementsprechend geben diese zwei Stoffe auch mit H₂SO₄ gleiche Färbungen.

Glykosid 6 = Acotalosid. Diesem Stoff kommt auf Grund der Hydrolyseergebnisse die Formel 6 zu. Die Analyse passte am besten auf die Formel C₂₉H₄₄O₉ + H₂O (554,66). Im UV.-Spektrum ist nur die Bande des Butenolidringes sichtbar. Nach energischer saurer Hydrolyse liess sich im PC 6-Desoxytalose (20) nachweisen, und

²⁸⁾ Wir danken Herrn Dr. H. LICHTI, Forschungslaboratorien der SANDOZ AG, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieser Spektren in einem CEC-Massenspektrometer 21-110-B. Bedingungen: Ionenquelle E.B., Einlass-System direkt, Elektronenenergie 70 eV, Ionenbeschleunigung 6 kV, Temperatur der Ionenquelle 260–320°.

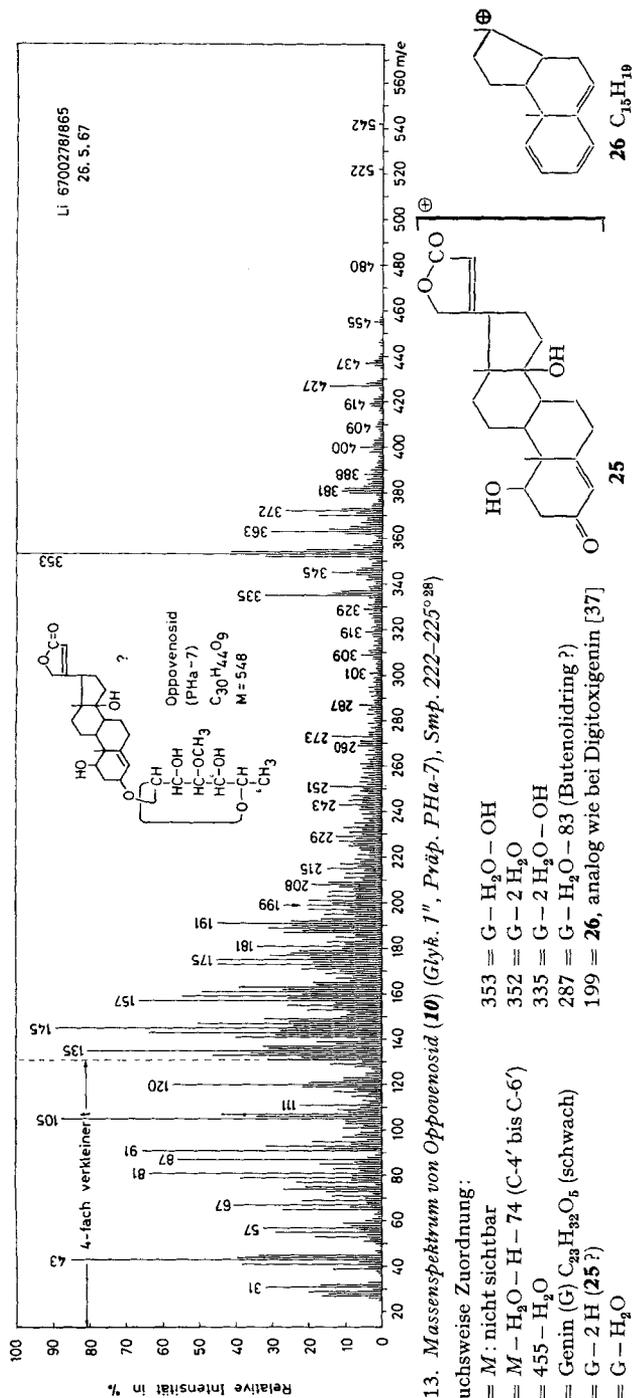


Fig. 13. Massenspektrum von Oppovenosid (10) (Glyk. 1", Präp. PHA-7), Smp. 222-225°28)

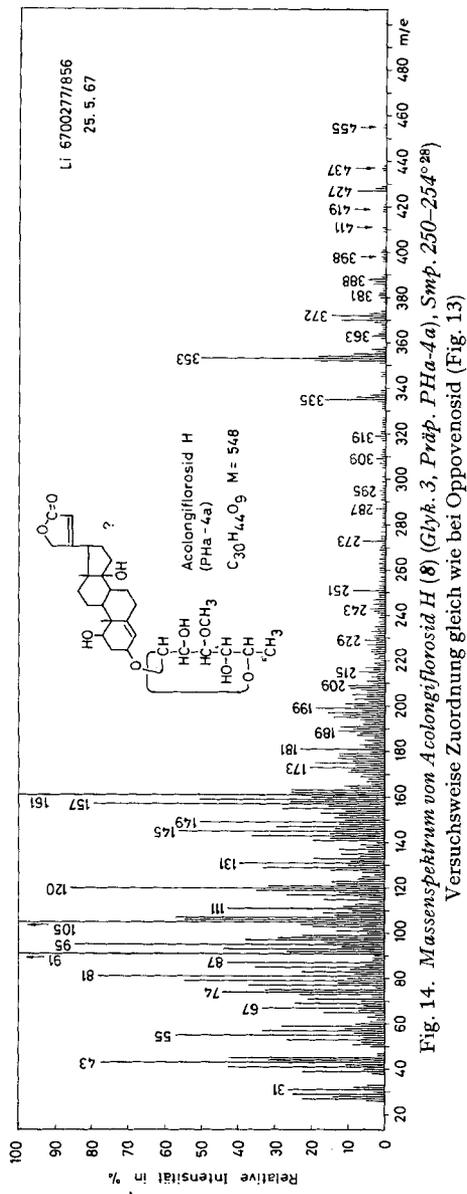


Fig. 14. Massenspektrum von Acolongiflorosid H (8) (Glyk. 3, Präp. PHA-4a), Smp. 250-254°28)

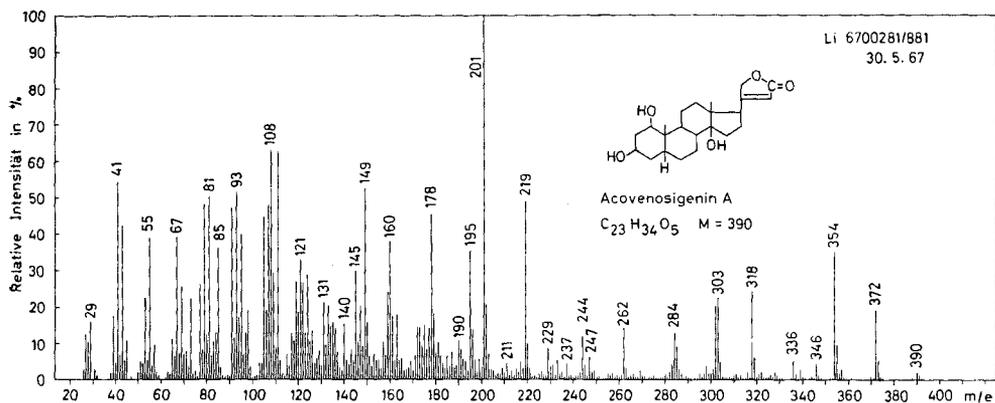
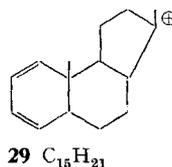
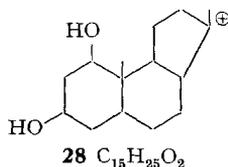
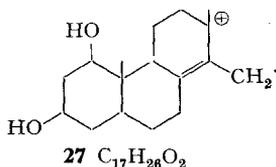


Fig. 15. Massenspektrum von Acovenosigenin A (3), Smp. 295–298° 28)

Versuchsweise Zuordnung:

390 = <i>M</i>	339 = <i>M</i> - 2 H ₂ O - CH ₃	262 = 27 , analog wie bei Digitoxigenin [37]
372 = <i>M</i> - H ₂ O	336 = <i>M</i> - 3 H ₂ O	244 = 262 - H ₂ O
357 = <i>M</i> - H ₂ O - CH ₃	328 = <i>M</i> - H ₂ O - CO ₂	237 = 28
354 = <i>M</i> - 2 H ₂ O	302 = <i>M</i> - 2 H ₂ O - 	219 = 237 - H ₂ O
346 = <i>M</i> - CO ₂ (44)	284 = <i>M</i> - 3 H ₂ O - 52	201 = 29 , analog wie bei Digitoxigenin [37]
		149 = 201 - 52



nach Mikrohydrolyse mit HCl in Aceton konnte wieder die Bildung von Acovenosigenin A (3) festgestellt werden. Der Stoff zeigt auch mit H₂SO₄ eine sehr ähnliche Färbung wie Acovenosid A (4).

Substanz 7 wurde wegen Materialmangels nicht weiter untersucht.

Substanz 8. Im UV.-Spektrum war nur die Absorption des Butenolidringes feststellbar. Auch dieser Stoff konnte nicht weiter untersucht werden.

Glykosid 13 = *Opposid*. Dieser Stoff besitzt wahrscheinlich die Formel 12. Die Analyse passte befriedigend auf die errechnete Zusammensetzung C₂₉H₄₄O₁₁ (568,64). Nach energischer saurer Hydrolyse liess sich im PC als Zucker 6-Desoxytalose (20) nachweisen. Über die Versuche zur Strukturermittlung des Genins wird in folgender Mitteilung berichtet [21].

Glykosid 14 = *Acovenosid C*. Das hier isolierte Material war identisch mit dem inzwischen in Kristallen erhaltenen alten Präparat [15]. Über die Strukturabklärung wurde bereits berichtet [15]; danach liegt ein Gentiobiosyl-acovenosid A vor.

Glykosid 15 = *Acolongiflorosid K (16)*. Dies Glykosid wurde hier erstmals in Kristallen isoliert. Über die Identifizierung und Strukturbestimmung wurde bereits berichtet [27].

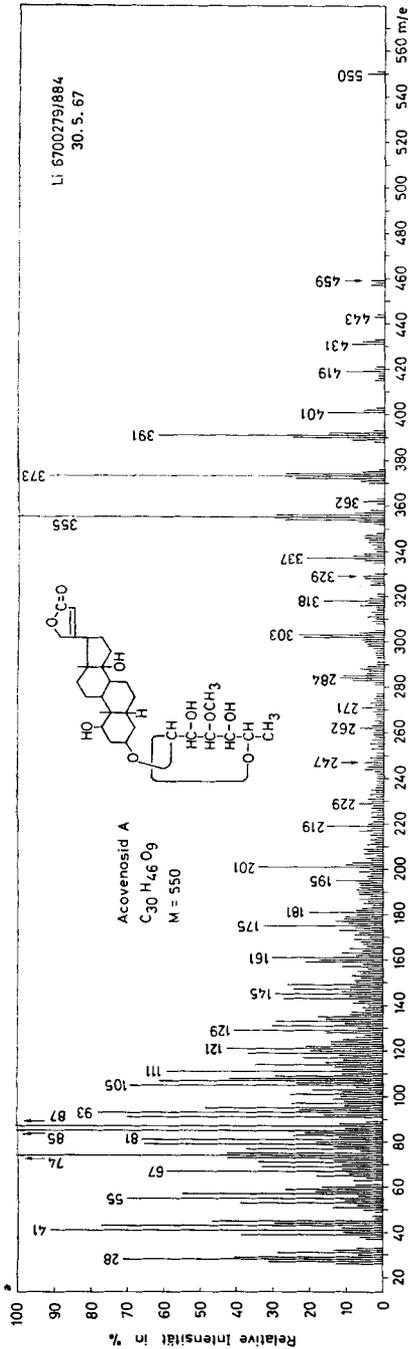


Fig. 16. Massenspektrum von Acovenosid A (4) (Glyk. 2), Smp. 218–220²⁸)

Versuchsweise Zuordnung:

- 550 = M
- 459 = M - H₂O - 74 (C-4' bis C-6') + H
- 458 = M - H₂O - 74
- 457 = M - H₂O - 74 - H
- 443 = 458 - CH₃

- 431 = M - 118 (C-3' bis C-6') - H
- 401 = M - 148 (C-2' bis C-6') - H
- 391 = Gemin (G) C₂₈H₃₄O₅ + H
- 390 = G
- 373 = 391 - H₂O

- 372 = G - H₂O
- 355 = 391 - 2 H₂O
- 354 = G - 2 H₂O
- 337 = 391 - 3 H₂O

weiter wie bei Acovenosigenin A (Fig. 15)

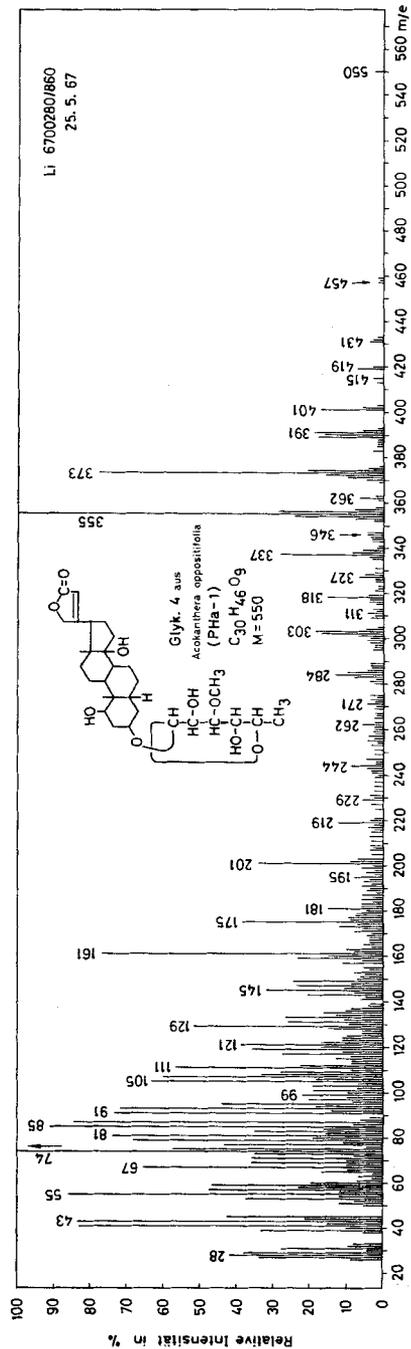


Fig. 17. Massenspektrum von Acovenosid A (5) (Glyk. 4, PHA-1), Smp. 272–276²⁸)

Versuchsweise Zuordnung gleich wie bei Acovenosid A (Fig. 16)

Glykosid 16 = Ouabain (17). Die Struktur dieses Stoffes ist bekannt [31]. Er kommt auch in anderen *Acokanthera*-Arten vor [13], besonders reichlich in der Varietät von *A. schimperi*, die von den Wa-Giriama zur Pfeilgiftbereitung verwendet wurde [11].

Zur Beschaffung des Pflanzenmaterials standen uns Mittel aus den Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes (BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT in Bern) zur Verfügung. Einen Beitrag an die weiteren Kosten dieser Arbeit erhielten wir vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG. Es sei auch hier für diese Hilfe bestens gedankt.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsart bis $200^{\circ} \pm 2^{\circ}$, darüber $\pm 3^{\circ}$. Substanzen zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 60° getrocknet, zur Analyse immer bei 0,01 Torr über P_2O_5 mit Einwaage im Schweinchen, wo nichts anderes vermerkt, jeweils 5 Std. bei 110° .

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, Ac_2O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Di = Dioxan, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), Me = Methanol, ML = eingedampfte Mutterlauge, PC = Papierchromatographie

Tabelle 6. Verteilungschromatographie von 11,7 g Chf-Extrakt (ML nach Abtrennung von krist. *Acovenosid A*)⁹⁾

Fr.-Nr.	Eindampfrückstand					
	roh		Kristalle, teilweise nach zusätzlicher Reinigung			
	Menge in mg	Flecke im PC	Menge in mg	Smp.	Flecke im PC	Zusätzliche Reinigung
1- 4	599	(1')	-			
5- 15	760	1' (1'')	-			
16- 19	130	1', 1''	6	221-230°	1'	Chrom. an Al_2O_3
20- 23	174	1'', (1), 2'	-			
24- 28	502	1'', (1), 2'	24	222-225°	1''	Chrom. an Al_2O_3
29- 40	1530	2'	195	260-265°	2'	
41	276	(2'), 2	33	218-220°	2	
42- 44	1287	2	955	222-223°	2	
45	292	2, (3)	55	208-214°	2	
46- 51	920	2, 3	299	165-171°	2, 3	
52- 56	1073	(2), 3	234	250-254°	3	
57- 61	378	3, 4	72	256-264°	4	
62- 67	289	4	160	258-267°	4	
68- 71	172	4	-			
72- 76	154	4	-			
77- 81	170	4	63	272-276°	4	
82- 86	54	4				
87- 91	77	(5), 6, (7)	-			
92- 96	65	6	24	253-260°	6	
97- 99	28	6				
100-108	73	7, 8	0,5	170-192°	7	Präp. PC
109-110	24	8	3	234-240°	8	
111-116	105	(4), 7, 8	-			
117-150	91	(4), 7, 8	-			
Total	9223					

matogramm(e) und Papierchromatographie, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser.

Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf (oder anderem Lösungsmittel, falls erwähnt), Waschen mit 2N HCl, H₂O, 2N Na₂CO₃, H₂O, Trocknen über Na₂SO₄ und eindampfen im Vakuum.

Nachweis der Zucker [8]. 3 mg Glykosid wurden in langem Reagensglas mit 0,5 ml KILIANI-Mischung¹³ 60 Min. auf 100° erhitzt. Dann wurde im Vakuum bei 30° eingedampft und dies nach Zugabe von je 0,5 ml W noch zweimal wiederholt. Zuletzt wurde mit 0,5 ml W aufgenommen und 3mal mit Chf ausgeschüttelt. Die verbleibende wässrige Phase wurde im Vakuum von Chf befreit, mit möglichst wenig frisch gewaschenem Anionenaustauscher (Amberlite IR-4B in HO-Form) von HCl befreit. Dann wurde die wässrige, leicht essigsäure Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Me aufgenommen und direkt im PC geprüft.

Extraktion der Samen (ausgeführt im April 1959). 1,08 kg trockene Samen (Probe b) wurden nach früherer Vorschrift [11c] behandelt. Sie lieferten 2,8 g Pe-Extr., 35,7 g Chf-Extr., 13,7 g rohen Chf-Alk-(2:1)-Extr. und 9,8 g Chf-Alk-(3:2)-Extr. Die 13,7 g roher Chf-Alk-(2:1)-Extr. wurden in 30 ml W gelöst und je 5mal mit 30 ml Chf-Alk-(4:1) und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die im Gegenstrom mit 20, 15 und 10 ml W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben 3,75 g Chf-Alk-(4:1)-Extr. und 0,5 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. gereinigt. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden im Vakuum auf 25 ml eingeeengt, mit Na₂SO₄ halb gesättigt und 12 mal mit je 50 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt.

Erhalten wurden noch 6,2 g Chf-Alk-(3:2)-Extr., die mit dem zuerst erhaltenen Material vereinigt wurden. Zusammenstellung der Ausbeuten vgl. Tabelle 1.

Trennung des Chloroform-Extraktes. Eine Säule Nr. 4 [18] wurde mit 1,8 kg gereinigtem Cellulosepulver²⁹ in 4800 ml eines Gemisches von An-*n*-Pentanol-Chf-(34:20:46) beschriftet und nach TRABERT [19] mit 600 ml Formamid beladen; Länge der Schicht ca. 110 cm. Dann wurde mit Be-Thf-(4:1) (*d* = 0,881) halb gesättigt mit Fmd gründlich gewaschen. Dann wurden 11,7 g

Tabelle 7. Verteilungschromatographie von 9,5 g Chf-Alk-(3:2)-Extrakt

Fr.-Nr.	Lösungsmittel		Eindampfrückstand				
	ml pro Fr.	Verhältnis Be-Bu	roh		Kristalle		
			Menge in mg	Flecke im PC	Menge in mg	Smp.	Flecke im PC
1-2	475	65:35	404	-			
3	475	65:35	59	-			
4-6	375	65:35	150	13			
7-18	375	65:35	523	13	180	292-295°	13 (Opposid)
19-28	450						
29-34	450						
35-36	375	50:50	594	13			
37-45	375	50:50	67	(13), (15)	-		
46-54	375	30:70	2969	15	1507	232-236°	15 (K)
55-60	475						
61-67	475	30:70	1430	14, 15	169	232-258°	15 (K)
					692	198-201°	14 (C)
68-74	475	0:100	596	14, (15), 16	-		
75-76	475	0:100	513	(14), (15), 16	31	183-188°	16 (O)
77-95	475	0:100	1230	(15), 16	-		
Total			8535				

²⁹) WHATMAN «Ashless powder for Chromatography» Standard Grade. Mit An, Me, W, Me, Chf und An gewaschen, bei 70° getrocknet und gesiebt.

Material, Chf-Extrakt nach Abtrennung des krist. Acovenosids A, in 340 ml Be-Thf-(4:1) gelöst auf die Säule gebracht und mit diesem Gemisch (ca. 80% gesättigt mit Fmd) nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Jede Fr. betrug 500 ml. Zur Entfernung des Fmd wurde nach Eindampfen im Vakuum in 50 ml Chf aufgenommen, mit 10 ml 10proz. KHCO_3 -Lösung und 5 ml W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Resultat vgl. Tabelle 6.

Fr. 16–18 von Tab. 6 (103 mg) wurden an 3 g Al_2O_3 Akt. II gereinigt. Die mit Chf und Chf-Me-(98:2) eluierten Anteile (24 mg) gaben aus Me-Ae 6 mg Subst. 1', Smp. 221–230°, nach PC einheitlich.

Die Fr. 24–26 (249 mg) wurden an 7,5 g Al_2O_3 Akt. II chromatographiert. Die mit Chf-Me-(98:2) eluierten Anteile (58 mg) gaben aus Me-Ae (feucht) 24 mg Subst. 1', Smp. 222–225°, nach PC einheitlich.

Die Fr. 100–105 (40 mg) wurden auf zwei Bogen Filterpapier (SCHLEICHER & SCHÜLL SS 2071), 19 cm breit, imprägniert mit An-Fmd-(3:4), im System Chf-Fmd präparativ getrennt [38]; Laufzeit 30 Std. Die Zonen wurden durch Besprühen schmaler Streifen festgelegt. Das Eluat der Zone von Subst. 7 lieferte nach Entfernung des Fmd 21 mg Material, das an 800 mg Mg-silikat-Celite-(1:1) chromatographiert wurde. Die mit Chf-Me-(99:1) eluierten Anteile (1,6 mg) waren KEDDE-positiv und gaben aus An-Ae ca. 0,5 mg krist. Subst. 7, Smp. 170–192°. Für eine weitere Reinigung reichte die Menge nicht aus.

Alle anderen Stoffe konnten ohne zusätzliche Reinigung kristallisiert werden.

Trennung des Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extraktes. Eine Säule Nr. 4 [18] wurde mit 1,6 kg gereinigtem Kieselgur (Hyflo Super Cel), das mit demselben Gewicht W homogen gemacht und gesiebt worden war, in Be suspendiert gefüllt und mit Be-Bu-(2:1), mit W halb gesättigt, vorgewaschen. 9,5 g Chf-Alk-(3:2)-Extrakt (entspr. 640 g Samen) wurden in 100 ml Me gelöst, mit 30 g gereinigtem Kieselgur vermischt und nach Trocknung im Vakuum auf die Säule gepresst (Höhe dieser Schicht 2 cm). Dann wurde nach der Durchlaufmethode mit Be-Bu-(65:35), halb mit W gesättigt, chromatographiert. Die ersten 1,5 l lieferten leicht gelb gefärbte KEDDE-negative Fraktionen. Von dann an wurde mit ca. 80 ml pro Std. laufengelassen. Resultat vgl. Tabelle 7.

Die Fr. 4–36 von Tab. 7 gaben aus feuchtem Me-Ae 180 mg krist. Opposid (Subst. 13). Aus den Fr. 50–60 wurden aus W-An, Me-Ae oder Di-Ae 1,507 g Acolongiflorosid K (Subst. 15) krist. erhalten. In den Fr. 61–67 lagen die Subst. 14 und 15 als Gemisch vor. Sie liessen sich wie folgt trennen: Aus W-An kristallisierten noch 169 mg Acolongiflorosid K (Subst. 15), während aus Me-Ae 692 mg krist. Acovenosid C (Subst. 14) erhalten wurde. Aus den Fr. 75–76 kristallisierten aus W 31 mg Ouabain (Subst. 16) aus.

Beschreibung der in Kristallen isolierten Stoffe.—UV.-Daten vgl. Tabelle 3, Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 vgl. Tabelle 5.

Subst. 1' (Pha-6). Aus Me-Ae kleine farblose Keile, Smp. 221–230°. Enthält nach PC als Zucker Acofriose. Wegen der geringen Menge nicht weiter untersucht.

Glykosid 1'' = Oppovenosid (10) (?) (Pha-7). Aus feuchtem Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 222–225°, $[\alpha]_D^{25} = -56,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Me). Enthält nach PC als Zucker Acovenose. Bei der Mikrohydrolyse nach MANNICH & SIEWERT entstanden dieselben zwei Produkte (Rf ca. 0,26 und ca. 0,89 im System von Fig. 2) wie bei Acolongiflorosid H. Die Tetranitromethanprobe³⁰⁾ war positiv. IR.-Spektrum vgl. Fig. 6, Massenspektrum vgl. Fig. 13. Trocknung zur Analyse gab 3% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_9$ (548,65) Ber. C 65,67 H 8,08% Gef. C 65,36 H 8,59%

Glykosid 2' = Acofriosid L (2) (Pha-9). Aus W farblose Prismen, z. T. in Drusen, Smp. 260–265°, aus Di Smp. 264–268°, $[\alpha]_D^{27} = -57,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Me). Enthält nach PC als Zucker Acofriose. IR.-Spektrum vgl. Fig. 7, Massenspektrum vgl. Fig. 12. Die Substanz war nach Smp., Misch-Smp., Drehung, H_2SO_4 -Färbung und Laufstrecke im PC identisch mit authentischem Acofriosid L [9b]. Gewichtsverlust bei Trocknung zur Analyse 2,7%.

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_8$ (532,65) Ber. C 67,64 H 8,33% Gef. C 67,85 H 8,43%

³⁰⁾ Im Glühröhr ca. 1 mg Subst. in ca. 0,01 ml Chf mit 1 Tröpfchen $\text{C}(\text{NO}_2)_4$ versetzt und verschlossen bei Tageslicht auf weisser Unterlage beobachtet.

Di-O-acetyl-acofriosid L (PhA-10). 30 mg Glyk. 2' wurden mit 0,3 ml abs. Py und 0,2 ml Ac₂O 2 Tage auf 37° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 42 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 20 mg farblose Nadeln, Smp. 215–218°, $[\alpha]_D^{26} = -38,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9$ in Me). Tetranitromethan gab Gelbfärbung³⁰). Nach seinen Daten und Mischprobe identisch mit authent. Di-O-acetyl-acofriosid L [9b]. Trocknung zur Analyse gab 10% Gewichtsverlust.

$C_{34}H_{48}O_{10} + H_2O$	Ber. C 64,33	H 7,94%	H ₂ -Aufnahme	2 Mol.
(634,74)	Gef. „ 64,61	„ 7,70%	„	1,91 „ ³¹⁾

Glykosid 2 = Acovenosid A (4). Aus Di farblose längliche Blättchen, Smp. 162–164°/222–223°, $[\alpha]_D^{26} = -63,2^\circ \pm 2^\circ$ in Di. War identisch mit dem früheren Material [1]. Massenspektrum vgl. Fig. 16.

Tri-O-acetyl-acovenosid A (PhA-22). Identisch mit dem früher [1] als Acovenosid-B-acetat bezeichneten Präparat. Neue Herstellung aus Acovenosid A vgl. [14].

Glykosid 3 = Acolongiflorosid H (8) (?) (PhA-4a). Aus Me-W farblose kleine Nadeln, Smp. 250–254°, $[\alpha]_D^{26} = -42,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 8, Massenspektrum vgl. Fig. 14. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und PC identisch mit authentischem Material [9b]. Trocknung zur Analyse gab 2,85% Gewichtsverlust.

$C_{30}H_{44}O_9$	(548,65)	Ber. C 65,67	H 8,08%	Gef. C 65,44	H 8,12%
-------------------	----------	--------------	---------	--------------	---------

Di-O-acetyl-acolongiflorosid H (9) (?) (PhA-8). 20 mg Glykosid 3 wurden wie oben acetyliert. Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 209–212°, $[\alpha]_D^{26} = -29,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9$ in Me). NMR.-Spektrum vgl. Fig. 11. Nach Mischprobe, Farbreaktionen und PC identisch mit früheren Präparaten [8] [9b].

$C_{34}H_{48}O_{11}$	(632,72)	Ber. C 64,54	H 7,65%	Gef. C 64,28	H 7,81%
----------------------	----------	--------------	---------	--------------	---------

Mikrohydrierung von 9³¹⁾: 9,949 mg O-Acetyl-acolongiflorosid H verbr. 0,722 ml H₂ (0°, 760 Torr) entspr. 1,92 Mol. Das Hydrierungsprodukt kristallisierte nicht.

Oxydation von Tetrahydro-di-O-acetyl-acolongiflorosid H. Obiges Hydrierungsprodukt wurde in 1 ml reinem AcOH gelöst, mit 0,15 ml 2proz. Lösung von CrO₃ in AcOH versetzt und 4 Std. stehengelassen. Danach wurde 1 ml Me zugegeben, 1 Std. stehengelassen, dann im Vakuum weitgehend eingedampft, in Chf aufgenommen und mit 2N H₂SO₄, 2N Sodalösung und W gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden noch 2mal mit Chf extrahiert. Trocknen der Chf-Phasen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum ergab 6 mg farbloses Glas, das nicht kristallisierte. Besprechung der Spektren vgl. theoret. Teil.

Hydrolyse von Acolongiflorosid H nach MANNICH & SIEWERT [24a]. 50 mg krist. Glykosid 3 wurden in einem Gemisch von 10 ml An und 0,1 ml konz. HCl gelöst und bei 20° stehengelassen. Schon nach 6 Std. liessen sich im PC 2 neue, schneller laufende Flecke nachweisen (Rf ca. 0,26 und ca. 0,89 im System von Fig. 2), die sich schnell verstärkten. Nach 24 Std. war die Hydrolyse beendet. Es wurden 10 ml W zugegeben, das An im Vakuum entfernt, worauf Kristallisation eintrat. Es wurden 15 mg hellgelbe Nadeln vom Smp. 168–180° erhalten: *Präp. PhA-24, vermutlich 14*; im PC nicht völlig rein, Rf des Hauptflecks, ca. 0,89. Die übliche Aufarbeitung des Filtrats von Präp. PhA-24 ergab weitere 19 mg Rohgenine, die hauptsächlich die beiden obengenannten Produkte enthielten.

Glykosid 4 = Oppofriosid (5) (PhA-1). Aus Chf-Ae farblose feine Nadeln, Smp. 272–276°, $[\alpha]_D^{26} = -46,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9$ in Chf). Enthält nach PC als Zucker Acofriosid und als Genin Acovenosigenin A (3) (in 2 Systemen verglichen: Chf/Fmd, 2¹/₂ Std. und Be-Thf-(4:1)/Fmd, 4¹/₂ Std.). IR.-Spektrum vgl. Fig. 9, Massenspektrum vgl. Fig. 17. Gewichtsverlust bei Trocknung 5,33%.

$C_{30}H_{46}O_9 + 2H_2O$	Ber. C 61,41	H 8,60	1 CH ₃ O	5,29%
(586,70)	Gef. „ 61,18	„ 8,60	„	5,70%

Glykosid 6 = Acotalosid (6) (PhA 2). Aus An-Ae farblose, durchsichtige Nadeln, Smp. 253–260°, $[\alpha]_D^{26} = -0,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7$ in Chf). Enthält nach PC (Hydrolyse nach MANNICH und nach KILIANI) Acovenosigenin A (3) und 6-Desoxytalose (20). IR.-Spektrum vgl. Fig. 10. Gewichtsverlust bei Trocknung 8,4%.

$C_{28}H_{44}O_9 + H_2O$	(554,66)	Ber. C 62,79	H 8,36%	Gef. C 63,21	H 8,25%
--------------------------	----------	--------------	---------	--------------	---------

³¹⁾ Mikrohydrierung nach CLAUSON-KAAS & LIMBORG [39] mit Pt in AcOH.

Subst. 7 (PHA-5). Aus Chf-Ae farblose feine Nadeln, Smp. 170–192°. Wegen unzureichender Menge war eine weitere Reinigung nicht möglich.

Subst. 8 (PHA-3). Aus An-Ae farblose zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 234–240°. Nicht weiter untersucht.

Glykosid 13 = Opposid (12) (?) (PHA-16). Aus feuchtem Me-Ae feine farblose Nadeln, Smp. 292–295°, $[\alpha]_D^{24} = -51,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9$ in Me). Enthält nach PC 6-Desoxytalose. Spektren, Acetylderivat und Hydrolyse nach MANNICH & SIÉWERT vgl. folgende Mitteilung [21]. Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{29}H_{44}O_{11}$ (568,64) Ber. C 61,25 H 7,80% Gef. C 60,87 H 7,95%

Glykosid 14 = Acovenosid C (PHA-13). Aus W-An tief schmelzende Form, Smp. 190–192°, aus siedendem Me [15] hoch schmelzende, schwer lösliche Form in kleinen Kristalldrusen, Smp. 201–203°, $[\alpha]_D^{24} = -67,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in 80-proz. Me). Die Substanz war nach Smp., Mischprobe, Drehung, H_2SO_4 -Färbung und Laufstrecke im PC identisch mit dem kürzlich krist. erhaltenen alten Präparat [15]. Gewichtsverlust der tief schmelzenden Form bei Trocknung 9,5%; $C_{42}H_{66}O_{19} + 5 H_2O$ (965,03): $5 H_2O$ ber. 9,3%.

$C_{42}H_{66}O_{19}$ (874,95) Ber. C 57,65 H 7,60% Gef. C 57,76 H 8,14%

Enzymatischer Abbau, Acetolyse, Nona- und Octa-O-acetylderivate vgl. frühere Mitt. [2] [15].

Glykosid 15 = Acolongiflorosid K (16) (PHA-14). Aus W-An feine farblose Nadeln, Smp. 224–232°, $[\alpha]_D^{24} = -53,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Me). Analyse, Derivate und Konstitutionsermittlung vgl. frühere Mitt. [2] [27].

Glykosid 16 = Ouabain (17). Aus W farblose Nadeln, Smp. 183–188°, $[\alpha]_D^{24} = -41,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und PC identisch mit authentischem Material.

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

SUMMARY

The presence of 19 cardenolides in the extracts from the seeds of *Acokanthea oppositifolia* (LAM.) CODD could be traced by means of paper chromatography. Thirteen of these cardenolides could be isolated in crystalline form, acovenoside A (= 2) being by far the major component. Of the other 12 crystalline substances, 5 could be identified with known cardenolides: 2' = acofrioside L, 3 = acolongifloroside H, 14 = acovenoside C, 15 = acolongifloroside K, 16 = ouabain. The substances 1', 1'', 4, 6, 7, 8 and 13 are very probably new compounds. Four of these were given trivial names and the following structures were proposed: 1'' = opposenoside, probably 10; 4 = oppofrioside (5); 6 = acotaloside (6); 13 = opposide, probably 12, cf. following publication [21]. Furthermore, the structure 8 has been proposed for acolongifloroside H.

Institut für Organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 33, 485 (1950).
- [2] K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1239 (1951).
- [3] B. M. KAPUR, H. ALLGEIER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 217 (1967).
- [4] L. E. CODD, *Bothalia* (Pretoria), 7, 447 (1961).
- [5] D. P. VELDSMAN, *J. South African veter. Med. Assoc.* 20, 45 (1949); *South African ind. Chemist* 3, 144, 172, 217 (1949); 4, 43, 204 (1950); 5, 82 (1950); *Chem. Abstr.* 47, 12265 (1953); 48, 1400, 7039, 7618 (1954).
- [6] CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1224 (1951); W. SCHLEGEL, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 38, 1013 (1955).

- [7] Y. NOZAKI & T. OKUMURA, *Agric. biol. Chemistry* 25, 515 (1961); *Chem. Abstr.* 56, 767 (1962); Y. NOZAKI, *Agric. biol. Chemistry* 25, 879 (1961); *Chem. Abstr.* 56, 9229 (1962).
- [8] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1740 (1951).
- [9] a) P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 45 (1952); b) H. MUHR, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 403 (1954).
- [10] K. MOHR, F. THUDIUM, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 2199 (1957).
- [11] a) P. R. O. BALLY, F. THUDIUM, K. MOHR, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 41, 446 (1958); b) F. THUDIUM, K. MOHR, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 41, 604 (1958); c) F. THUDIUM, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 2 (1959).
- [12] a) J. P. DE VILLIERS, *J. South African chem. Inst.* 75, 82 (1962); *Chem. Abstr.* 59, 5257 (1963); b) G. J. KAPADIA, *J. pharm. Sci.* 54, 1834 (1965); *Chem. Abstr.* 64, 10087 (1966).
- [13] T. REICHSTEIN, *Planta medica* 13, 382 (1965).
- [14] P. HAUSCHILD-ROGAT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 2612 (1962).
- [15] P. HAUSCHILD-ROGAT, J. v. EUW, O. SCHINDLER, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 2116 (1962).
- [16] D. L. KEDDE, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).
- [17] R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 293 (1957).
- [18] H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 36, 357 (1953).
- [19] C. H. TRABERT, *Arzneimittelforsch.* 10, 197 (1960); T. GOLAB, C. H. TRABERT, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 2418 (1959).
- [20] O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 108 (1951); E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 680 (1954); F. KAISER, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).
- [21] P. HAUSCHILD-ROGAT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 2322 (1967).
- [22] M. PESEZ, *Ann. pharmac. franç.* 70, 104 (1952), frühere Lit. daselbst.
- [23] H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 63, 2866 (1930); vgl. auch A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 687 (1952).
- [24] a) C. MANNICH & G. SIEWERT, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 75, 737 (1942); b) vgl. auch EK. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 41, 736 (1958).
- [25] P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* 8, 471 (1950).
- [26] HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 977 (1959).
- [27] P. HAUSCHILD-ROGAT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 1244 (1962).
- [28] A. ARNAUD, *Bull. Soc. chim. Paris* [2] 49, 451, 850 (1888); *C. r. hebdom. Séances Acad. Sci.* 106, 1011 (1888); 107, 1162 (1888); *Chem. Zbl.* 1888, 726, 980; 1889, I, 201; H. THOMS, *Ber. deutsch. pharm. Ges.* 14, 114 (1904); *Chem. Zbl.* 1904, I, 1277.
- [29] P. STUDER, S. K. PAVANARAM, C. R. GAVILANES, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* 46, 23 (1963).
- [30] E. ABISCH *et al.*, spätere Mitteilung.
- [31] G. VOLPP & CH. TAMM, *Helv.* 42, 1408 (1959); G. VOLPP, G. BAUMGARTNER & CH. TAMM, *Helv.* 42, 1418 (1959), frühere Lit. daselbst.
- [32] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 883 (1948).
- [33] H. KAUFMANN, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 48, 65 (1965); H. KAUFMANN, *Helv.* 48, 83 (1965).
- [34] R. TSCHESCHE, G. SNATZKE, J. DELGADO & A. G. GONZALÉZ, *Liebigs Ann. Chem.* 663, 157 (1963).
- [35] T. REICHSTEIN & EK. WEISS, *Adv. Carbohydrate Chem.* 77, 65 (1962).
- [36] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* 44, 1380 (1961); 46, 2054 (1963).
- [37] G. SPITELLER, *Z. analyt. Chem.* 197, 1 (1963).
- [38] E. v. ARX & R. NEHER, *Helv.* 39, 1664 (1956); Ausführung nach W. WEHRLI, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 1183 (1962).
- [39] N. CLAUSON-KAAS & F. LIMBORG, *Acta chem. scand.* 7, 884 (1947).