

146. Die Cardenolide von *Anodendron paniculatum* (ROXB.) A. DC.

Glykoside und Aglykone, 326. Mitteilung¹⁾

von J. Polonia, Herb. Jäger, J. v. Euw und T. Reichstein

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(16. V. 70)

Summary. The wood of *Anodendron paniculatum* contains a large number of cardenolides; 14 of such compounds could be spotted in PC. and TLC. with *Kedde* reagent. Five of these (A, E1, E2, F, and G) could be isolated in crystalline form and two other ones (B1 and B2) as an amorphous mixture. A crystalline aromatic ketone (compound α) was obtained as by-product. The isolated cardenolides, named as anodendrosides A–G, were found to be glycosides containing unusual sugars. According to UV. and IR. spectra the genin portion in anodendroside E1 (probably also in F and B2) contains a cardenolide structure with saturated ring D and normal butenolide side-chain, while the anodendrosides A, E2 and G (probably also B1) contain an additional double bond at C-16. The four compounds for which IR. spectra could be taken (A, E1, E2, and G) possess a keto group.

Die Gattung *Anodendron* A. DC. (*Apocynaceae*) umfasst nach *Pichon* [2] etwa 19 Arten (holzige Lianen), die in Südost- und Ost-Asien heimisch sind. *Bisset* [3] konnte in Blättern, Rinde oder Samen von *A. paniculatum* (Roxb.) A. DC.²⁾, *A. rubescens* Teijsm. et Binnend. sowie *A. manubriatum* (Wall.) Merr. papierchromatographisch zahlreiche Cardenolide nachweisen; eine Isolierung oder genaue Identifizierung erfolgte nicht und war nicht beabsichtigt.

Wir beschreiben hier eine orientierende präparative Analyse der Zweige von *A. paniculatum*³⁾.

Ausgangsmaterial. – Herr *Bisset*⁴⁾ sandte uns u. a. die folgende Probe mit zugehörigem Herbarmuster (vgl. Fig. 1). Weitere Herbarmuster wurden nach Kew geschickt, wo Herr *Forman*⁵⁾ die Bestimmung durchführte, so dass an der korrekten Bezeichnung nicht zu zweifeln ist.

6,8 kg getrocknete Zweige von *Anodendron paniculatum* (Roxb.) A. DC. (*Bisset*, Nr. 752), nach Brief (*Bisset*, 20. Okt. 1958) wie folgt bezeichnet: «Collected 27. 9. 1956 near Pelabuhan Ratu, on the south coast of West Java; in secondary coastal forest, a liane climbing ca. 20 m in a *Cerbera* tree.

¹⁾ 325. Mitt.: *Saner, Zerlentis, Stöcklin & Reichstein* [1].

²⁾ Nach brieflicher Mitteilung von Herrn *Bisset* (27. 8. 1959) hat es sich bei dem vermeintlichen *A. coriaceum* (Bl.) *Miq.* = Probe VI seiner Publikation [3], p. 201, um *A. paniculatum* (Roxb.) A. DC. gehandelt.

³⁾ Die Untersuchung ist bereits im April 1958 begonnen worden und musste aus äusseren Gründen vorzeitig (April 1959) abgebrochen werden. Sie konnte bisher nur durch Aufnahme von Massenspektren usw. ergänzt werden. Da es fraglich ist, ob sie noch fortgesetzt werden kann, geben wir die vorläufigen Resultate bekannt.

⁴⁾ Wir danken Herrn *N. G. Bisset* auch hier bestens für dieses interessante Material.

⁵⁾ Brief des Direktors vom 15. 8. 1957. Herrn *L. L. Forman* (Botaniker im Herbarium) und Sir *George Taylor*, damaliger Direktor der Royal Botanical Gardens, Kew, möchten wir auch hier unseren besten Dank für ihre Hilfe aussprechen.

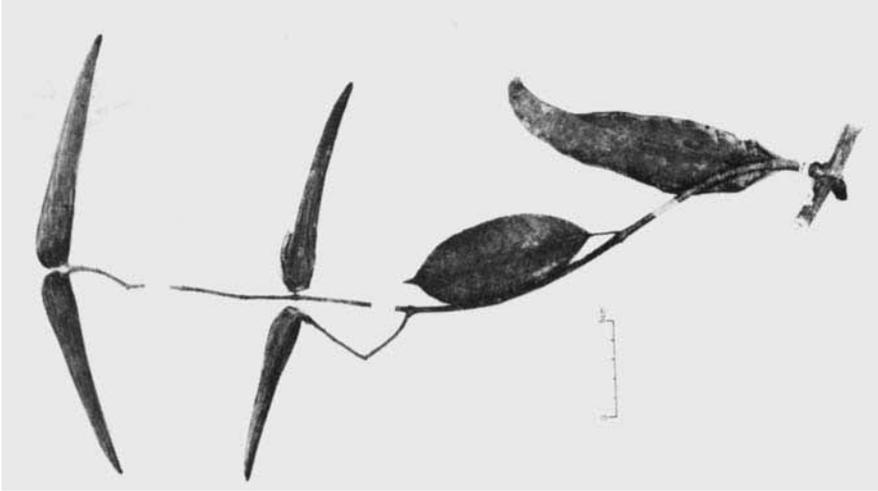


Fig. 2. *Anodendron paniculatum* (Roxb.) A. DC.

Herbarmuster Bisset Nr. 752 mit Früchten (Sammeldaten vgl. oben)



Fig. 1. *Anodendron paniculatum* (Roxb.) A. DC.

Herbarmuster Bisset Nr. 752 mit Blüten (Sammeldaten vgl. oben)

Mostly terminal inflorescens of small, yellow-coloured flowers; fruit a double follicle; stem up to 8 cm thick; gives a yellowish, viscous, intensely bitter sap (drying to a dark brown varnish). Local name: *haramai areuj* (Sundanese); the fibre from the bark is used locally.

Das Material erreichte uns in Basel am 25. 5. 1958 in sehr gutem Zustand.

Extraktion und Vortrennung der Extrakte. – 3 kg der lufttrockenen Aststücke wurden kurz nach dem Eintreffen in der Schlagmühle zerkleinert und mit Wasser-Alkohol-Gemischen von steigender Alkoholkonzentration erschöpfend extrahiert [4]. Nach Einengen im Vakuum wurde wie üblich [5] in 50-proz. Alkohol mit $Pb(OH)_2$ gereinigt und anschliessend durch fraktioniertes Ausschütteln mit Petroläther, Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen die in Tabelle 1 genannten Extrakte stark verschiedener Polarität gewonnen. Alle wurden in Papierchromatogrammen (PC.) (vgl. Fig. 3–5) geprüft.

Tabelle 1. Ausbeuten an Extrakten aus 3 kg Zweigen von *Anodendron paniculatum* und ihre Prüfung im PC.⁶⁾

Art des Extraktes	Ausbeute		Kedde-Reaktion [6] ⁷⁾	Flecke im PC. ⁸⁾ ⁹⁾ bei Entwicklung mit <i>Kedde</i> -Reagens
	in g	in %		
Pe-Extr. ¹⁰⁾	6,2	0,21	–	–
Ae-Extr. ¹¹⁾	5,6	0,19	+ +	(A), B, C, (D), E, F, G, H
Chf-Extr.	14,7	0,49	+ +	(B), C, (D), E, F, G, H, J, K, L
Chf-Alk-(2:1)-Extr.	12,1	0,40	+	keine deutl. Flecke
” ” (3:2)-”	49,8	1,66	(+)	” ” ”

Der Pe-Extr. und die zwei Chf-Alk-Extrakte bei denen die *Kedde*-Reaktion nur schwach war wurden nicht untersucht. Bei der präparativen Trennung beschränkten wir uns auf die Ae- und Chf-Extrakte, welche die Hauptmenge der Cardenolide enthielten. In Papierchromatogrammen waren in den Systemen von Fig. 3–4 in beiden Extrakten zunächst insgesamt 11 *Kedde*-positive Stoffe nachweisbar, die wir nach zunehmender Polarität geordnet mit den Buchstaben A–K bezeichnen. Erst im Laufe der Trennung wurde festgestellt, dass die Flecke B, C und E von je zwei sehr ähnlich laufenden Stoffen hervorgerufen wurden, die wir nun als B1, B2, C1, C2, E1 und E2 bezeichnen. Die Stoffe E1, E2 und G (präp. Trennung siehe unten) lassen sich in den Systemen von Fig. 5 und 6 gut unterscheiden. Es waren somit total 14 *Kedde*-positive Substanzen feststellbar. Das Material enthielt aber noch reichliche Mengen *Kedde*-negativer Stoffe, von denen nur einer in Kristallen isoliert und als Substanz α bezeichnet wurde; er zeigte starke UV.-Absorption und liess sich im PC. auf dem Fluoreszenzschirm [9] lokalisieren.

⁶⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exp. Teil.

⁷⁾ Dieses Reagens gibt mit allen Butenoliden eine violette Färbung. Empfindlichkeit bei direktem Tüpfeln ca. 0,002 mg, im PC. ca. 0,005 mg.

⁸⁾ In Klammern schwache Flecke, teilweise erst nach präparativer Anreicherung sichtbar.

⁹⁾ Erst im Laufe der Isolierungen zeigte es sich, dass die Flecke B, C und E von je zwei Stoffen hervorgerufen wurden. Sie werden als B1, B2, C1, C2, E1 und E2 bezeichnet.

¹⁰⁾ Einschliesslich der Pe-lösl. Anteile des Ae-Extraktes.

¹¹⁾ Gereinigt durch Verteilung zwischen Pe und 80-proz. Me. Nur die in 80-proz. Me löslichen Anteile sind hier gemeint.

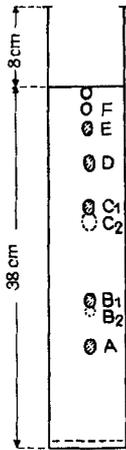


Fig. 3.
Be-Chf-(7:5)/
Fmd

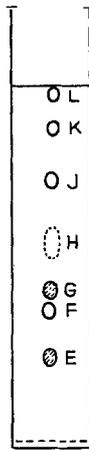


Fig. 4.
Chf/Fmd

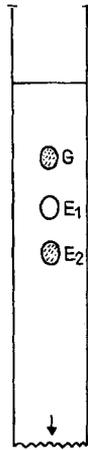


Fig. 5.¹²⁾
Be/Pgl (33%)
8 Std.

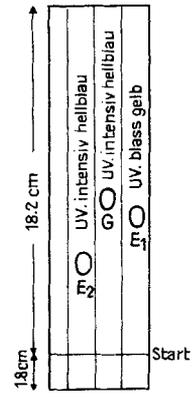


Fig. 6.¹²⁾
Eg-Cy-(2:1)
3 x Front bis
oberen Rand

Fig. 3-6. Nachweis der Cardenolide

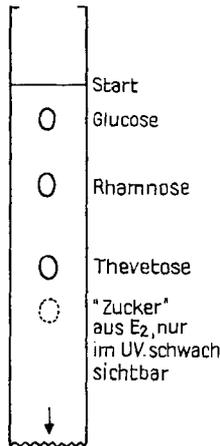


Fig. 7.¹²⁾
Bu/W (33%)
16 Std.

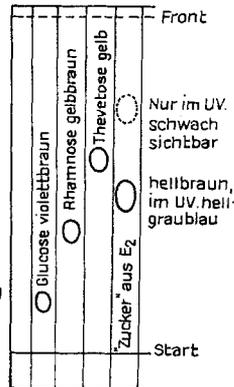


Fig. 8.¹²⁾
Chf-Eg-Me-(35:35:30)

Fig. 7-8. Versuche zum Nachweis der Zucker

Die Fig. 3-5 und 7 geben Beispiele von Papierchromatogrammen⁶⁾. Ausführung absteigend nach früherer Vorschrift [7] [8]. Front gestrichelt. Bei den Fig. 5 und 7 wurde das Flussmittel abtropfen gelassen. Bewegliche Phase vor schrägem Strich, ruhende nach diesem angegeben. Zur Sichtbarmachung wurde zuerst auf UV.-Absorption vor dem Fluoreszenzschirm [9]¹³⁾ geprüft (vgl. auch

¹²⁾ Wir danken Herrn Dr. h. c. J. v. Euw auch hier bestens für die Ausführung dieses Versuches.

¹³⁾ Dunkelviolette Flecke im durchfallenden UV.-Licht auf Fluoreszenzschirm [9]. Normale Cardenolide ohne zusätzliche Doppelbindung an C-16 sind nur in hoher Konzentration (ca. 0,1 mg pro Fleck) schwach sichtbar [10]. G zeigt im UV. blassblaue Fluoreszenz.

die Ergebnisse in Tab. 3). Die dabei absorbierenden dunklen Flecke sind hier schräg schraffiert (nur für die Stoffe A–G durchgeführt). Dann wurde mit *Kedde*-Reagens [6] behandelt, wobei alle Cardenolide sichtbar werden. Bei Fig. 7 wurde mit *p*-Aminohippursäure-hydrogenphthalat [11] gesprüht und 30' auf 120° erhitzt. Die Fig. 6 und 8 geben Beispiele von Dünnschichtchromatogrammen [12] an Kieselgel H («*Merck*»). Sichtbarmachung durch Sprühen mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk und Erhitzen (5 Min.) auf 110–120°. E 1 zeigt dabei am Tageslicht keine Färbung, E 2 wird graubraun und G schwach gelb, während im UV.-Licht diese drei Glykoside nach Spritzen mit *p*-Toluolsulfonsäure und Erhitzen die in Fig. 6 angegebenen Fluoreszenzfarben zeigen.

Untersuchung des Äther-Extrakts. – Durch Chromatographie an SiO₂, teilweise auch an Al₂O₃, gelang es, die Substanzen A, E 1, F und α in reinen oder nahezu reinen Kristallen zu isolieren. Ein Mischkristallisat von E 1 und E 2 liess sich durch präparative Papierchromatographie [9] trennen, worauf auch E 2 in nahezu reinen Kristallen erhalten wurde. Ein Teil der verbliebenen Gemische wurde auch noch durch präparative PC. getrennt. Dabei liess sich aber nur noch E 1 rein erhalten, daneben resultierten amorphe Konzentrate der binären Gemische von B 1 + B 2 und D + E 1, sowie ein Mischkristallisat von C 1 + C 2 + E 1, die nicht weiter getrennt wurden.

Untersuchung des Chloroform-Extrakts. – Ein Teil dieses Materials wurde ebenfalls an SiO₂ getrennt, wobei sich G in Kristallen isolieren liess, die noch wenig F enthielten. Ferner wurde ein Mischkristallisat von E 1 + E 2 + G erhalten, aus dem sich

Tabelle 2. *Ausbeuten an isolierten Stoffen, sowie rohe Schätzung der in 3 kg Holz vorhandenen Menge*

Substanz	Isolierte Menge ¹⁴⁾		Habitus	Schätzung der in 3 kg Holz wirklich vorhandenen Menge ¹⁵⁾	
	in mg	in %		in mg	in %
A	6	0,0002	krist.	30	0,001
B 1 B 2	157	0,005	amorph	300	0,01
C 1 C 2					
D	49	0,0016	amorph	100	0,003
E 1	361	0,012	krist.	900	0,03
E 2	65	0,0022	krist.	750	0,025
F	20	0,00067	krist.	300	0,01
G	220	0,007	krist.	400	0,013
H J K L	– – – –	– – – –	– – – –	ca. 800 (?)	0,027 (?)

¹⁴⁾ Dort wo zur Isolierung nur ein Teil des Materials benützt wurde, ist die Ausbeute auf die ganzen 3 kg Holz umgerechnet.

¹⁵⁾ Rohe Schätzung auf Grund von Ausbeuten und Stärke der Flecke im PC.

Tabelle 3. *Eigenschaften der aus Anodendron paniculatum isolierten Substanzen und einiger ihrer Derivate⁶⁾*

Substanz Bezeichnung (Präp. Nr.)	Smp. [α] _D	Bruttoformel nach M.S. bzw. Analyse	UV.- Abs. ¹³⁾	UV.- Abs. ¹³⁾	Kedde- R. [6] ⁷⁾	Xan- thyl- drol- R. [4] [14] ¹⁶⁾	Zucker- prü- fung [4] [15] ¹⁷⁾	Hesse- Reak- tion [15] ¹⁷⁾	$\lambda_{\text{max}}^{\text{Alk}}$ (log ϵ) ¹⁸⁾	in nm	Bemerkungen u. ev. weitere Reaktionen, Spektren
Anodendrosid-A (JP-16)	275-280° 0,0 Chf	C ₃₀ H ₃₆ O ₁₁ (572,59)	+	+	+	-	-	-	220,5 3,77	265 (4,20) ¹⁹⁾	MS. [13]
Subst. B1 } Subst. B2 } JP-4	amorph		+	-	+	+	+ ²¹⁾		215 (4,09)	267 (3,62)	UV. ber. auf $M = 574,6$, Acetylierungsversuch
Subst. C1 } Subst. C2 } JP-4	260-266° unrein ²⁰⁾		+	-	+						
Subst. D	amorph		+	+	+						nicht rein erhalten
Anodendrosid-E1 (JP-2)	279-282° - 27,0 Chf	C ₃₀ H ₄₀ O ₁₁ (576,62)	-	+	+	-	+ ²¹⁾	-	214 (4,23)	268 (2,71)	IR. Fig. 12, MS [13] methoxyfrei
O-Acetyl-E1 (JP-3)	273-275° 0,0 Chf	C ₃₂ H ₄₂ O ₁₂ (618,66)	-	+	+				213,5 (4,20)	258 S ²²⁾ (2,66)	MS. [13] UV. ber. auf C ₃₂ H ₄₀ O ₁₂ + H ₂ O
Anodendrosid-E2 (JP-5; TR-1395)	325-330° + 161,8 Chf	C ₃₀ H ₃₈ O ₁₁ (574,60)	+	+	+	-	+ ²¹⁾		215 (3,80)	264 (4,20)	IR. Fig. 13 MS. [13]
O-Acetyl-E2 (JP-6; TR-1396)	314-316° Zers. + 108,2 Chf	C ₃₂ H ₄₀ O ₁₂ (616,64)	+	+	+					264 (4,19)	methoxyfrei UV. ber. auf C ₃₂ H ₄₀ O ₁₂ + 2 H ₂ O MS. u. NMR. [13]

Anodendrosid-F ev. Gemisch	230-235° - 54,3 Chf	$C_{30}H_{40}O_{12}$ (592,62) $C_{30}H_{40}O_{11}$ (576,62)	-	+	-	+	²¹⁾	MS. [13]
Anodendrosid-G (HJ-21; TR-1397) nicht ganz rein	275-277° + 152,0 Di	$C_{30}H_{40}O_{10}$ (560,62)	+	+	-	-		IR. Fig. 14 MS. [13] ber. auf 574
O-Acetyl-G (TR-1398)	245-246°	$C_{32}H_{42}O_{11}$ (602,64) + 2H ₂ O?	+	+	+	+		MS. u. NMR. [13] enthält CH ₃ O-
Substanz α (Aromat) (HJ-22)	230-236°	$C_{22}H_{22}O_{10}$? (446,44)	+	-	-	-		IR. Fig. 11 MS. Fig. 15 vgl. Fig. 5 ber. auf 446

¹⁶⁾ Diese Reaktion gibt bei allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden eine rote Färbung.

¹⁷⁾ Nachweis von 6-Desoxy-hexosulosen bei *Calotropis*-Glykosiden. Einwirkung von Dinitrophenylhydrazin in wässriger HCl gibt bei positivem Befund orange-rote Fällung, die sich in alkoholischer Lauge mit tief blauvioletter Farbe löst.

¹⁸⁾ Ber. auf das angegebene, nicht überall gesicherte Mol.-Gewicht.

¹⁹⁾ Aufnahme in gesättigter Lösung. Die Konzentration konnte nicht genau bestimmt werden. Für das Maximum bei 265 nm wurde willkürlich $\log \epsilon = 4,20$ angenommen und die weitere Kurve danach berechnet.

²⁰⁾ Mischkristallisat von C1+C2+E1.

²¹⁾ Der «Zuckersirup» reduzierte *Fehling'sche* Lösung deutlich. Im PC. (Bu-To-(1:1)/W konnte mit Anilin-hydrogenphthalat immer nur ein sehr schwacher stationärer Fleck festgestellt werden. Die Reaktion wurde nur bei E2 genauer verfolgt. Im UV. war ein sehr schwacher, rasch laufender Fleck sichtbar, im DC. ein deutlicher vgl. Fig. 7 und 8.

²²⁾ S = Schulter.

nach nochmaliger Chromatographie¹²⁾ an SiO₂ noch gute Kristalle von E2 und G gewinnen liessen.

Die isolierten Stoffe. – Substanz α stellt nach den Spektren vermutlich ein aromatisches Keton, möglicherweise ein Flavanonderivat, dar, das wir nicht genauer untersuchten. Die weiteren in reiner oder nahezu reiner Form gewonnenen Stoffe A, E1, E2, F und G werden hier als Anodendroside A–G bezeichnet. Tabelle 2 gibt eine Übersicht der Ausbeuten für alle *Kedde*-positiven Stoffe (Cardenolide) soweit isoliert, sowie eine rohe Schätzung der im Holz wirklich vorhandenen Menge.

In Tabelle 3 sind die wichtigsten Eigenschaften der isolierten Stoffe zusammengestellt. Die Anodendroside E1, E2 und G wurden ausserdem durch ihre O-Acetyl-derivate charakterisiert. Wegen Substanzmangel war es nur bei A, E1, O-Acetyl-E1,

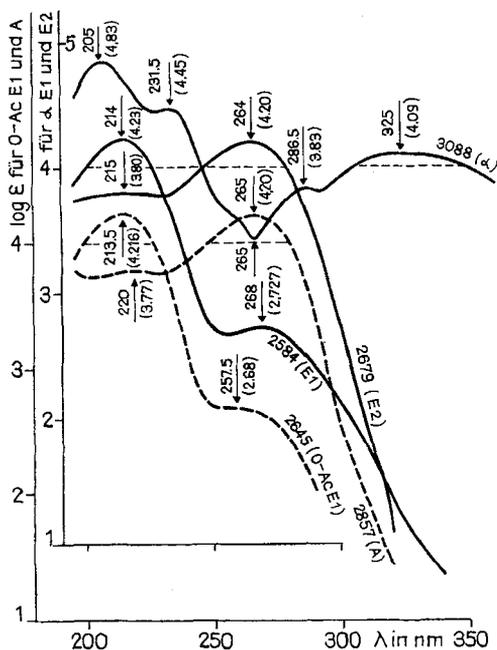


Fig. 9. UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol²³⁾: 3088 = α ; 2584 = E1; 2679 = E2; 2645 = O-AcE1; 2857 = A

Subst. A (schwer löslich) wurde in gesättigter Lösung (c nicht genau bestimmt) aufgenommen¹⁹⁾. Bei den übrigen Stoffen wurden zur Berechnung der Kurven die in Tab. 3 angegebenen Mol-Gewichte verwendet, die aber nicht in allen Fällen bewiesen sind. Die Form der Kurven wird durch diese Unsicherheit nicht beeinflusst, nur ihre relative Höhe im Koordinatensystem.

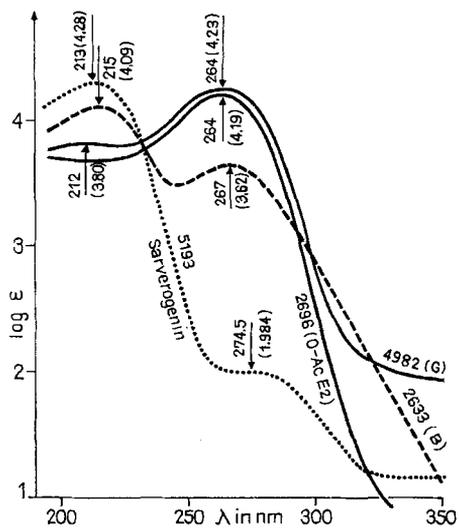


Fig. 10. UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol²³⁾: 2696 = O-AcE2; 4982 = G; 2633 = B (Gemisch)

Auf die in Tabelle 3 genannten Mol-Gewichte berechnet. Falls B2 gleich absorbiert wie E1 und B1 wie E2, so lässt sich aus der Absorption des amorphen B-Gemisches berechnen, dass es ca. 70% B2, ca. 24% B1 und ca. 6% nicht absorbierende Verunreinigungen enthält. 5193 = Sarverogenin (3) zum Vergleich.

²³⁾ Aufgenommen von Herrn R. Bühner auf einem selbstregistrierenden Beckman UV.-Spektrophotometer, Modell DK 2.

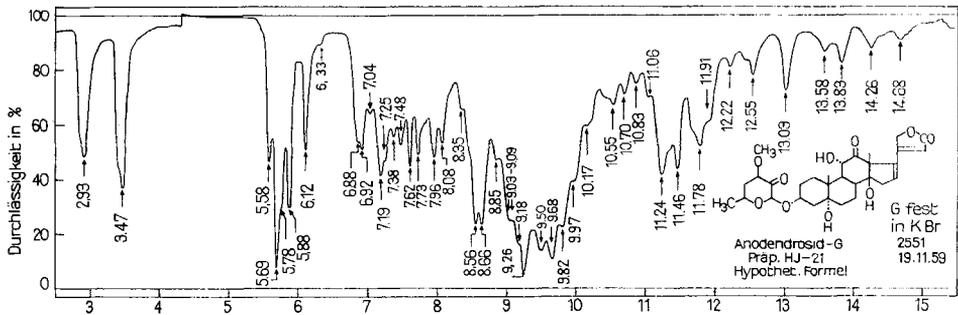


Fig. 14. IR-Absorptionsspektrum von Anodendrosid-G, Präp. HJ-21, Smp. 258–261°
1,25 mg fest in ca. 300 mg KBr, $d = \text{ca. } 1 \text{ mm}^{24}$). Das neue, ebenfalls nicht ganz reine Präp. TR-1397 vom Smp. 275–277° gab eine praktisch identische Kurve. Die Banden bei 5,58, 5,69 und 6,12 μ (zwei Doppelbindungen) entsprachen wieder dem Butenolidring mit zusätzlicher Doppelbindung (Formel 2); die Bande bei 5,88 μ einer Ketogruppe.

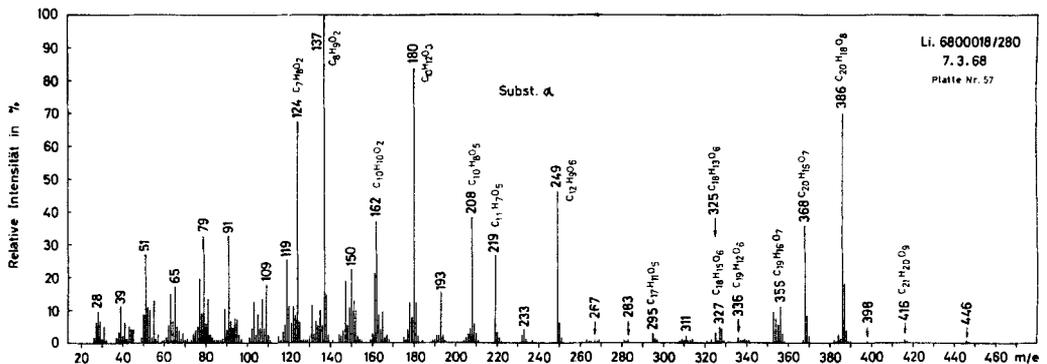


Fig. 15. Massenspektrum von Substanz α aus Anodendron paniculatum, Präp. HJ-22, Smp. 230–236°
Aufgenommen auf einem CEC-Massenspektrometer 21-110 B mit Ionenquelle E. B. und direktem Einlass-System; Elektronenenergie 70 eV, Ionenbeschleunigung 6 KV, Temperatur der Ionenquelle 210°. Zur genauen Vermessung der mit Bruttoformeln versehenen Spitzen wurde eine Photoplatte aufgenommen. Die Berechnung der Formeln geschah mit einem Computer²⁵).

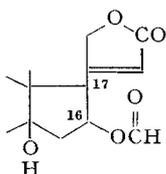
Versuchsweise Zuordnung: 446 = ev. $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10} = M$; 416 = $M - \text{CH}_2\text{O}$; 398 = $M - \text{CH}_2\text{O} - \text{H}_2\text{O}$; 386 = $M - 2\text{CH}_2\text{O}$; 368 = $M - 2\text{CH}_2\text{O} - \text{H}_2\text{O}$; 356 = $M - 3\text{CH}_2\text{O}$; 336 = $368 - \text{CH}_3\text{OH}$?; 327 = $356 - \text{CHO}$; 325 = $356 - \text{CH}_3\text{O}$; 295 = $325 - \text{CH}_2\text{O}$. Es könnte ein Flavon oder Homo-isoflavon vorliegen, doch war das Präparat vielleicht nicht rein (Spittler, in litt. 23. 3. 1970).

O-Acetyl-E2 und O-Acetyl-G möglich, Verbrennungsanalysen durchzuführen. Deren Resultate passten (vermutlich wegen Kristallwassergehalt) nicht in allen Fällen zu den in Tabelle 3 eingesetzten vermutlichen Bruttoformeln. Es konnten aber inzwischen Massenspektren aufgenommen werden, über die später berichtet wird [13]. Die dabei ermittelten vermutlichen Bruttoformeln sind jedoch bereits in Tab. 3 eingesetzt. Die Fig. 9 und 10 geben die UV.-Spektren, die Fig. 11–14 die IR.-Spektren, und Fig. 15 das Massenspektrum von Substanz α .

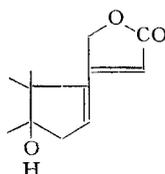
²⁵) Wir danken Herrn Dr. H. Lichti, Forschungslaboratorien der Sandoz AG, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums.

Besprechung der isolierten Stoffe, UV.- und IR.-Spektren. - Von den vier Stoffen von denen IR.-Spektren aufgenommen werden konnten, dürfte Substanz α ein ungesättigtes, aromatisches Keton sein, dessen Struktur nicht aufgeklärt wurde. Die Stoffe E1, E2 und G sind Cardenolide; die Banden bei 5,58, ca. 5,71 und ca. 6,13 μ sind für den Butenolidring charakteristisch. Auf Grund der Farbreaktionen und der sehr ähnlichen UV.-Spektren dürfte es sich auch bei den Substanzen A, B1 und B2 um Cardenolide handeln. Die positive *Kedde*-Reaktion und das Vorkommen in derselben Pflanze spricht dafür, dass dasselbe auch für Subst. F sowie die nicht in reiner Form isolierten Stoffe C1, C2, D, H, J und K zutrifft. Auf Grund der UV.-Absorption (Fig. 5) lassen sich zwei Gruppen unterscheiden.

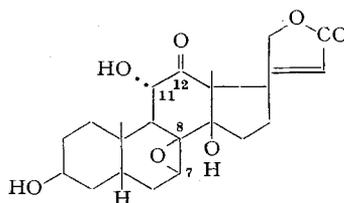
In der *ersten Gruppe* zeigen Subst. E1 und ihr O-Acetylderivat, sowie die Komponente B2 im amorphen Gemisch von B1 + B2, ein Hauptmaximum bei 213,5–215 nm. Dieses liegt also um 2–3,5 nm kurzwelliger als bei Digitoxigenin und anderen Cardenoliden. Eine solche Verschiebung kann durch Anwesenheit einer zusätzlichen isolierten Doppelbindung verursacht werden [16], aber auch durch zusätzliche Substituenten am Ring D [17] oder in dessen Nähe (vgl. Adynerigenin [18]). Anodendrosid E1 und sein O-Acetylderivat geben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung, was gegen das Vorhandensein einer isolierten Doppelbindung spricht²⁶). Von Substituenten am Ring D, welche die erwähnte Verschiebung des UV.-Maximums verursachen [17], ist die 16 β -ständige Acetoxygruppe in natürlichen Cardenoliden relativ häufig [19]. Anodendrosid E1 kann diese Gruppe aber nicht enthalten, denn im IR.-Spektrum (vgl. Fig. 12) fehlt bei ca. 8 μ eine entsprechende Bande. Hingegen würde die relativ starke Bande bei 8,51 μ auf eine Formyloxygruppe **1** passen. Eine solche würde zudem die Bildung der ungesättigten Gruppe **2**, wie sie in E2 anzunehmen ist (siehe unten), leicht erklären [20] [21]. Wie sich inzwischen zeigte [13], ist aber auch die Gruppe **1** in E1 kaum enthalten. Dagegen fanden wir jetzt, dass auch eine 12-ständige Ketogruppe eine Verschiebung des UV.-Maximums des Butenolidringes in ähnlichem Ausmass (3,5–4,5 nm) verursacht. So zeigt Sarverogenin (**3**) für das mit einem älteren Apparat früher [22a, b] $\lambda_{max}^{Alk} = \text{ca. } 216 \text{ nm}$ gefunden wurde²⁷) auf unserem *Beckman* DK 2 jetzt $\lambda_{max}^{Alk} = 213,5 \text{ nm}$ (vgl. Fig. 10), also praktisch genau denselben Wert wie E1. Wir glau-



1 $\lambda_{max}^{Alk} = 213\text{--}215 \text{ nm}$ [17]



2 $\lambda_{max}^{Alk} = \text{ca. } 270$ [20] [10]



3 Sarverogenin [23] $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_7$
 $\lambda_{max}^{Alk} = 213,5 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4,28$)
 und ca. 274,5 nm ($\log \epsilon = 1,98$)

²⁶) Auch der Verlauf der UV.-Absorptionskurven macht es unwahrscheinlich, dass E1 und O-Acetyl-E1 eine zusätzliche Doppelbindung enthalten. Die Kurven sind zwar leicht asymmetrisch, was aber durch die Ketogruppe verursacht sein dürfte, die auf Grund der IR.-Spektren anwesend sein muss. Aus diesem Grund lässt sich auch keine brauchbare Differenzkurve [16] ermitteln.

²⁷) Für Di-O-acetyl-sarverogenin fanden *Hegedüs et al.* [22c] $\lambda_{max}^{Alk} = 215 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 4,25$).

ben, dass E1 (und auch die anderen Anodendroside) eine solche 12-ständige Keto-Gruppe enthält; dies passt gut zu den IR.-Spektren und auch zu zwei NMR.-Spektren [13]. Die Ketolgruppe in Sarverogenin (3) zeigt zudem im UV. eine relativ starke, flache Bande mit $\lambda_{max}^{Alk} = \text{ca. } 274,5 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = 1,99$). Die langwellige, flache Bande in dem Spektrum von E1 (bei 268 nm) und O-Ac-E1 (bei 257,5 nm) dürfte wenigstens teilweise von einer analogen Gruppe stammen, event. teilweise überdeckt von der Absorption kleiner Mengen stark absorbierender Verunreinigungen (E2, A oder G). – Eine ähnliche Gruppierung könnte das UV.-Spektrum von B2 bewirken.

Die *zweite Stoffgruppe*, nämlich die Anodendroside A, E2 und G (vermutlich auch B1), zeigen ein Hauptmaximum bei 263–265 nm (vgl. Fig. 9 und 10). Bei E2 und G ist daneben bei ca. 215 nm noch ein zweites, schwächeres, sehr flaches Maximum sichtbar, das teilweise von Spuren stark absorbierender Verunreinigungen (E1 usw.) her-rühren könnte, denn bei O-Acetyl-E2 war es nicht mehr vorhanden. Da E2 und G im IR.-Spektrum (Fig. 13 und 14) die typischen Banden des Butenolidringes zeigen, ist am ehesten zu vermuten, dass es sich um Cardenolide mit zusätzlicher Doppelbindung in 16-Stellung handelt. Eine solche Gruppierung **2** (z. B. im 16-Dehydrodigitoxigenin) zeigt im IR. die drei genannten Butenolid-Banden in unveränderter Lage, nur ist die Bande der Doppelbindung (bei ca. $6,13 \mu$) relativ stärker, aber im UV. die Haupt-bande mit $\lambda_{max}^{Alk} = \text{ca. } 270 \text{ nm}$ ($\log \epsilon = \text{ca. } 4,25$) sowie eine sehr flache, schwächere Bande bei ca. 220 nm ($\log \epsilon = \text{ca. } 3,65$) [20] [10]. – Das UV.-Spektrum der Stoffe A, E2 und G (Fig. 9 und 10) zeigt genau einen solchen Verlauf, nur ist die Hauptbande um ca. 5–7 nm gegen kürzere Wellen verschoben. Wir vermuten, dass dies ebenfalls durch eine Ketogruppe in 12-Stellung verursacht ist.

Auf Grund der rein qualitativ (im PC. auf dem Fluoreszenzschirm) festgestellten UV.-Absorption (vgl. Fig. 3–5 und Tab. 3) ist zu vermuten, dass ausser A, E2 und G auch noch die nicht in reiner Form isolierten Stoffe B1, C1 und D die Gruppierung **2** enthalten, während B2, C2 und F vermutlich einen normalen Butenolidring, ohne zusätzliche Doppelbindung (wie E1) tragen.

Es ist bekannt, dass 16 β -Acyloxy-cardenolide (vom Typ **1**) leicht in 16-Dehydro-cardenolide (**2**) übergehen, so z. B. bereits durch Kontakt mit Al_2O_3 [21] [22]. Bei unseren Trennungen haben wir teilweise Al_2O_3 verwendet, und es wäre daher möglich, dass ein Teil der ungesättigten Stoffe (A, B1, C1, D, E2 und G) Artefakte wären. A, E2 und G waren aber in den PC. schon vor der Chromatographie an Al_2O_3 nachweisbar und wurden teilweise überhaupt ohne solche isoliert. Wir glauben daher, dass die Hauptmenge der bei ca. 265 nm absorbierenden Stoffe bereits als solche in dem von uns untersuchten Holz vorlag. Ausserdem haben wir bisher 16 β -Acyloxy-cardenolide im *Anodendron paniculatum* nicht nachweisen können, was allerdings nicht beweist, dass gar keine solchen Stoffe darin enthalten sind.

Versuche zum Nachweis der Zucker. Bei den Anodendrosiden A, E1, E2, F und G, deren Bruttoformeln teilweise gut, teilweise annähernd gesichert sind, fallen zwei Dinge auf: 1. Ihr relativ geringer H-Gehalt; 2. ihr abnormes Verhalten bei der Zuckerprüfung.

Falls man annimmt, dass in diesen Stoffen Glykoside vorliegen, deren Genine jeweils 23 C-Atome enthalten, was durch die Massenspektren [13] sehr stark gestützt wird, so ist zu folgern, dass sie Zucker mit 7 C-Atomen tragen, die abnorm gebaut sind.

Der Zuckeranteil enthält keine acetylierbare HO-Gruppe [13] und liess sich bisher nicht unverändert abspalten. Mit 1-proz. HCl in Aceton [24] blieb Anodendrosid-E1 nach 20 Tagen bei 20° im wesentlichen unverändert. Bei energischer saurer Hydrolyse mit *Kilian*-Mischung [25]²⁸⁾ (Methodik vgl. [4]) wurde aus B, E1, E2 und F jeweils eine wässrige Phase erhalten, die zwar *Fehling*'sche Lösung deutlich reduzierte, die aber im PC. mit Anilinium-hydrogenphthalat [26] oder *p*-Aminohippursäure-hydrogenphthalat [11] und Erhitzen nur einen schwachen, am Start verbleibenden Fleck zeigte²⁹⁾. Im Falle von E2 wurde dann festgestellt, dass sich ein beweglicher Fleck im PC. nachweisen lässt, wenn man dieses nach der Behandlung mit diesen Reagentien im UV. betrachtet (Fig. 7). Deutlicher liess sich das Material im DC. (Fig. 8) lokalisieren. Es dürfte sich wohl um ein Zersetzungsprodukt des ursprünglichen Zuckers handeln. Die Anodendroside verhalten sich in dieser Beziehung ähnlich wie die *Calotropis*-Glykoside [27]; zum Unterschied von diesen, geben sie aber bei der «Osazonprobe auf Methylreduktinsäure» nach *Hesse & Mitarb.* [15] keine positive Reaktion, und auch im Massenspektrum [13] bei $m/e = 128$ nicht die prominente Spitze der «Herzgift-Methylreduktinsäure». Über die vermutliche Struktur der Anodendroside wird später berichtet [13], die ermittelten hypothetischen Formeln sind aber bereits in den Fig. 11–14 eingesetzt.

Schlussfolgerung. – Die vorliegende, orientierende Untersuchung zeigt, dass *Anodendron paniculatum*, in Bestätigung der Befunde von *Bisset*, tatsächlich eine grössere Anzahl von Cardenoliden enthält, die aber von relativ viel *Kedde*-negativem Material ähnlicher Polarität begleitet sind, so dass sich nur ziemlich kleine Mengen in reiner Form gewinnen liessen. Die Anodendroside stellen Cardenolidglykoside dar, die Zuckerreste von besonderem Bau tragen, die sich bisher durch saure Hydrolyse nicht in normaler Weise abspalten liessen.

Der eine von uns (*J. P.*) dankt dem *Instituto de Alta Cultura*, Portugal, für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichte, ferner danken wir dem *Schweizerischen Nationalfonds* für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit, dem *Bundesamt für Industrie, Gewerbe und Arbeit* in Bern für einen Beitrag zur Beschaffung des Pflanzenmaterials, Herrn Prof. *G. Spitteler*, Göttingen, für Diskussionen von Massenspektren und Herrn Dr. *L. Jenny*, Basel, für die Photographien der Herbarmuster (Fig. 1. und 2.).

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Die *Smp.* wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber $\pm 3^\circ$. *Substanzproben* zur Drehung und für die Aufnahme der Spektren wurden 45 Min. bei 70° und 0,02 Torr getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 . *Übliche Aufarbeitung* bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnahme in Chf, Waschen mit 2N HCl, 2N Na_2CO_3 und W, Trocknen über Na_2SO_4 , Filtrieren und Eindampfen im Vakuum. Die *Adsorptionschromatographie* wurde nach dem Durchlaufverfahren [28] an Al_2O_3 («*Woelm*, neutral») oder SiO_2 («*Merck*, zur Chromatographie», Korngrösse 0,15–0,3 mm) durchgeführt.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, (Ac)₂O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC. =

²⁸⁾ Gemisch von 35 ml AcOH, 55 ml W und 10 ml konz. HCl.

²⁹⁾ Die aus E1 dabei erhaltene «*Genin*»- bzw. «*Anhydrogenin*»-Fraktion zeigte im PC. einen Hauptfleck der langsamer lief als E1. Aus F wurde unter gleichen Bedingungen ein «*Anhydrogenin*»-Gemisch erhalten, das drei Flecke zeigte; zwei liefen langsamer, einer rascher als F. (Alles im System von Fig. 4 geprüft.)

Dünnschichtchromatographie und Dünnschichtchromatogramm(e), Eg = Äthylacetat, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), Me = Methanol, ML. = eingedampfte Mutterlauge, MS. = Massenspektrum (-spektrien), PC. = Papierchromatogramm(e) und Papierchromatographie, Pgl = Propylenglykol, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

Extraktion. – 3 kg trockene Aststücke wurden pulverisiert, in 8 l W 2 Std. geweicht, mit 8 l Alk versetzt und 1 Std. auf 60° erwärmt. Dann wurde durch Kieselgur (Hyflo Super Cel) abgutscht und der Rückstand noch 5mal in gleicher Weise mit Alk von steigender Konzentration (zuletzt 95%) extrahiert. Weitere Verarbeitung nach früherer Vorschrift [4] [5]. Ausbeuten vgl. Tab. 1.

Trennung des Äther-Extrakts. 5,7 g Ae-Extr. (entspr. 3 kg Holz) wurden an 175 g SiO₂ chromatographiert (vgl. Tab. 4).

Tabelle 4. *Chromatographie von 5,7 g Ae-Extr. an 175 g SiO₂*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 500 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand				Weitere Verarbeitung
		roh		Kristalle		
		Menge in mg	Kedde-Reaktion bzw. Flecke im PC.	Menge in mg	Flocke im PC.	
1– 2	Be-Chf-(50:50)	239	–	–	–	verworfen
3	''	279	±	–	–	Total 581 mg chromat. an Al ₂ O ₃
4– 5	''	143	A	–	–	
6– 8	'' -(25:75)	159	A	–	–	
9–10	''	542	B, C, (D), (E)	–	–	Chromat. Tab. 5
11–15	Chf	2095	B, C, D, (E), (F)	–	–	''
16–17	''	515	(B), C, D, E, F	66,5	C, E, F	Umkrist. gab 73 mg E1 + E2 ML. für Chromat. Tab. 5
18	''	135	''	47,2	E, F	
19–20	''	192	E, F, (G)	40,3	E, (F)	
21–24	Chf-Me-(99:1)	407	E, F, G	22,5	E, F	
25	''	72	''	–	–	Chromat. Tab. 5
26–28	'' -(98:2)	262	E, F, G, H	–	–	nicht getrennt
29–33	'' -(95:5)	488	±	–	–	''
	bis -(90:10)					

Die Fr. 3–8 (581 mg braunes Öl) wurden an 18 g Al₂O₃ chromatographiert, wobei zuerst viel *Kedde*-negatives Material eluiert wurde (verworfen). Die mit Be-Chf-Gemischen eluierten Anteile (147 mg) waren positiv und gaben aus Me-Ae 6 mg Subst. A, Smp. 275–280°, nach PC. einheitlich.

Die aus den Fr. 16–24 erhaltenen Kristalle (176,5 mg) gaben nach Umkristallisieren aus An-Ac 73 mg farblose Blättchen vom Smp. 317–322°, nach PC. E1 + E2. Sie enthielten vermutlich noch etwas *Kedde*-negatives Material (F1?).

60 mg dieser Kristalle (entspr. 2,46 kg Holz) wurden auf 20 Papierblättern (*Whatman* Nr. 1, 19 × 46 cm) im System Be/Pgl absteigend 17–18 Std. getrennt [9]. Zum Auftragen wurde in Chf-Me-(1:1), das 10% Pgl enthielt, gelöst; ohne den Zusatz von Pgl war keine saubere Trennung zu erreichen. Die ausgeschnittenen Zonen wurden wie üblich mit W-Me eluiert und die Eluate von Pgl befreit [10]. Erhalten wurden 27,2 mg E1-Eluat und aus Me-Ae 17,1 mg reine E1-Kristalle, 28,0 mg E2-Eluat und aus Me-Ac 20,0 mg reine E2-Kristalle, sowie 10,2 mg F1 (?) -Eluat, nicht kristallisierend.

70 mg ML. der E1 + E2-Kristalle wurden analog getrennt und lieferten: 14,6 mg E1-Eluat und daraus 9,0 mg E1-Kristalle, 15,2 mg E2-Eluat und daraus 11,2 mg E2-Kristalle, sowie 30,5 mg F1(?) -Eluat, nicht kristallisierend.

Die Fr. 9–15 (2,637 g), die ML. von 16–24 (1,143 g) und Fr. 25 (72 mg) wurden vereinigt (3,852 g). Davon wurden 2,8 g (= 2,17 kg Holz) an 85 g Al_2O_3 chromatographiert, vgl. Tab. 5.

Tabelle 5. *Chromatographie von 2,8 g Gemisch der Stoffe B–G an 85 g Al_2O_3*

Frak- tions- Nr.	Lösungsmittel je 500 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand				Flecke im PC.	Weitere Ver- arbeitung
		roh		Kristalle			
		Menge <i>Kedde</i> - in mg	Reaktion bzw. Flecke im PC.	Menge Smp. in mg			
1– 5	Bc-Chf-(90:10)	15	–	–	–	–	verworfen
6–11	”(–(80:20)	100	B	–	–	–	wiederholte
12–13	”(–(60:40)	157	B, (C)	–	–	–	Chromato- graphie
14–15	”	114	B, C	–	–	–	} Präp. PC.
16–19	”	191	B, C, (D), E1, (E2)	–	–	–	
20–22	”(–(40:60)	473	(B), C, (D), E1, (E2), F	150,5	270–280°	(C), E1	Endprodukt ML. zur präp. PC.
23	”	77	”	11,5	278–282°	E1	Endprodukt ML. zur präp. PC.
24–26	”	95	”	–	–	–	Präp. PC.
27	”(–(20:80)	94	”	20,7	278–282°	E1	Endprodukt ML. zur präp. PC.
28	”	66	C, (D), E1, (E2), F	–	–	–	Präp. PC.
29–37	Chf	228	(D), E, F, G	25,0	230–236°	α^a)	Endprodukt ML. nicht getrennt
38–44	Chf- u. Chf-Me- (99,5:0,5)	177	F, G	15,0	230–235°	F	”
45–48	Chf-Me-(90:10)	118	–	–	–	–	verworfen

a) Nur im UV. sichtbar, *Kedde*-Reaktion negativ.

Die Fr. 6–13 wurden vereinigt und wiederholt an Al_2O_3 chromatographiert. Es gelang aber nicht, Kristalle zu isolieren. Genaue papierchromatographische Kontrolle zeigte, dass der B-Fleck aus zwei Flecken B1 und B2 bestand.

Die amorphen Fr. 14–19 (305 mg), 24–26 (95 mg), 28 (66 mg) und die ML. von 20–22 (322 mg), 23 (65 mg) und 27 (73 mg) wurden vereinigt (926 mg). Von diesem Gemisch, enthaltend die Stoffe

B, C, (D), E1, (F)³⁰⁾, wurden 410 mg (entspr. 0,94 kg Holz) auf 82 Papierblättern (*Whatman* Nr. 1, 19 × 46 cm) im System Be-Chf-(7:5)/Fmd präparativ getrennt. Laufzeit 3½ Std. Die Lokalisierung geschah teilweise durch Betrachtung im UV.-Licht auf Fluoreszenzschirm, teilweise durch Spritzen schmaler Streifen mit *Kedde*-Reagens. Die F-Zone enthielt nur wenig Material und wurde nicht untersucht. Die anderen Zonen wurden ausgeschnitten und eluiert, die Eluate vom Fmd befreit³¹⁾ und durch Chromatographie an Al₂O₃ noch grob gereinigt, dann soweit möglich kristallisiert. Das Resultat ist aus Tabelle 6 ersichtlich.

Tabelle 6. *Trennung von 410 mg Gemisch durch präparative Papierchromatographie*

Zone	Eindampfrückstand					
	roh ³¹⁾ Menge in mg	nach Reinigung an Al ₂ O ₃				
		amorph		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im PC.	Menge in mg	Smp.	Flecke im PC.
B	60,7	50,0	B1, B2, (C1)	–	–	–
C	87,7	69,5	C1, C2, E, (D)	13,2	260–266°	C1, C2, E1
D	24,4	15,4	D, E	–	–	–
E1	59,4	31,5	E1	25,0	278–282°	E1

Auf Grund der Resultate (vgl. Tab. 4, 5 und 6) schätzen wir den Gehalt des Ae-Extr. aus 3 kg Holz wie folgt: A = 30 mg, B1 + B2 = 250 mg, C1 + C2 = 100 mg, D = 50 mg, E1 = 500 mg, E2 = 150 mg, F = 100 mg, G = 80 mg, H unsicher.

Trennung des Chloroform-Extraktes. 6,0 g von diesem Material (entspr. 1,225 kg Holz) wurden in 2 Portionen an je 90 g SiO₂ chromatographiert. Die mit Chf und Chf-Me-(99,5:0,5) eluierten Anteile (1,725 g) gaben aus An-Ae 195,9 mg Kristalle, die nach PC. ein Gemisch von E1, E2 und G waren. Bei der ersten Portion gab Fr. 19 (211,9 mg), eluiert mit Chf-Me-(99:1), aus Me-Ae 24,1 mg fast reine Subst. G, Smp. 258–261°, und Fr. 20 (325,6 mg), eluiert mit Chf-Me-(99:1), noch 23,4 mg fast reine Subst. G, Smp. 257–261°. Fr. 21 (218 mg), ebenfalls eluiert mit Chf-Me-(99:1), gab aus An-Ae noch 47,5 mg krist. E2, Smp. 308–312°, die aber noch merkliche Mengen E1 und G enthielten. Die verbleibenden Gemische, 100 mg vorwiegend E2 und G mit wenig E1, wurden an 30 g SiO₂ mit Eg-Cy-Gemischen getrennt, ca. 100 ml pro Fr.¹²⁾

Die Fr. 1–11 (total 4,6 mg, eluiert mit Eg-Cy-(1:1)) gaben nur schwache *Kedde*-Reaktion und blieben amorph, verworfen.

Die Fr. 12–15 (28,7 mg, eluiert mit Eg-Cy-(3:2)) gaben aus Me-Ae 16 mg krist. Anodendrosid G, davon 8 mg vom Smp. 275–277° (Präp. TR-1397). Die ML. und Kristallreste dienten zur Acetylierung.

Die Fr. 16–21 (51,3 mg, eluiert mit Eg-Cy-(3:2)) gaben aus reinem Me (gewaschen mit Ae) 22 mg krist. Anodendrosid E2 vom Smp. 325–330° (Zers.) (Präp. TR-1395).

Weitere 30 mg Gemisch (E1, E2, F und G) wurden analog chromatographiert und gaben noch 8 mg reines E2.

Beschreibung der isolierten Stoffe. – Reaktionen vgl. Tab. 3, UV.-Spektren Fig. 9–10, IR.-Spektren Fig. 11–14.

Substanz α (Präp. HJ-22). Aus An-Ae, Smp. 230–236°. Phenol-Reaktion mit FeCl₃ + K₃Fe(CN)₆ [29] negativ. Die Substanz liess sich bei 0,02 Torr bis 230° Badtemperatur nicht sublimieren. Laufstrecke im PC. (Chf/Fmd) ähnlich wie G.

³⁰⁾ Es scheint auffallend, dass in diesem Material E2 höchstens in Spuren anwesend ist. Der Stoff kristallisiert aber sehr gut und ist zur Hauptsache bei der Kristallisation der Fr. 16–24 von Tab. 4 abgetrennt worden.

³¹⁾ Von Fmd befreit durch Aufnehmen in Chf, Waschen mit W, Sodalösung und W [10].

Anodendrosid-A (Präp. JP-16). Smp. 275–280°, $[\alpha]_D^{25} = 0,0^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,56$ in Chf). Wegen Substanzmangel konnte nur eine Analyse ausgeführt werden.

$C_{30}H_{36}O_{11}$ (572,59) Ber. C 62,92 H 6,34% Gef. C 63,92 H 6,73%

Anodendrosid-B (Präp. JP-4), nur als amorphes Gemisch von B1 + B2 mit wenig C erhalten.

Hydrolyseversuche mit B. – a) Nach *Mannich & Siewert* [24]. 3,0 mg Subst. B (amorphes Gemisch) wurden in 0,4 ml An + 1% HCl gelöst und verschlossen im Dunkeln bei 20° stehengelassen. Nach 8 Tagen war das Material nach PC. unverändert.

b) Nach *Kiliani* [25], 5,6 mg Subst. B (amorphes Gemisch) wurden mit 1,2 ml *Kiliani*-Mischung [25]³² 1 Std. auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung (mit Chf) nach früherer Vorschrift [4] gab 1,7 mg rohes «Anhydrogenin» und 2,9 mg rohen Zuckersirup. Letzterer reduzierte *Fehling'sche* Lösung. Im PC. war im System To-Bu-(1:1)/W mit Anilinium-hydrogenphthalat [26] nach Erhitzen auf 120° nur am Startpunkt ein schwacher Fleck nachweisbar.

Acetylierungsversuch. 52 mg Subst. B (amorphes Gemisch) wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,4 ml Ac_2O 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 44 mg neutrales Rohprodukt. Dieses zeigte im PC. dieselben zwei Flecke wie das Ausgangsmaterial. Ein analoger Versuch bei 37° hatte dasselbe Ergebnis.

Substanz C. Dieser Stoff wurde nur als Mischkristallisolat isoliert, das C1, C2 und E1 enthielt. Nicht untersucht.

Substanz D wurde nur amorph, mit E1 gemischt, isoliert.

Anodendrosid-E1 (Präp. JP-2). Aus An-Ae farblose Blättchen, Smp. 279–282°, $[\alpha]_D^{22} = -27,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,4$ in Chf). Tetranitrometan gab keine Färbung.

$C_{30}H_{40}O_{11}$ Ber. C 62,49 H 6,99 O 30,53 $-OCH_3$ 5,38%
(576,62) Gef. „ 62,22 „ 6,25 „ 31,33 „ 1,97%³³)

O-Acetyl-anodendrosid-E1 (Präp. JP-3). 18 mg Anodendrosid-E1 wurden mit 0,4 ml abs. Py und 0,2 ml $(Ac)_2O$ 48 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 15,7 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me-Ae 10 mg farblose Nadeln, Smp. 273–275°, $[\alpha]_D^{23} = 0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,6$ in Chf).

$C_{32}H_{42}O_{12}$ (618,66) Ber. C 62,12 H 6,84% Gef. C 60,91 H 6,56%
 $C_{32}H_{42}O_{12} + H_2O$ (636,67) Ber. „ 60,36 „ 6,96%

Hydrolyseversuche mit E1. – a) Nach *Mannich & Siewert* [24]. 3 mg Anodendrosid-E1 wurden in 1 ml An + 1% konz. HCl 20 Tage bei 20° stehengelassen. Nach PC. war die Hauptmenge unverändert und konnte durch präp. Aufarbeitung auch in Kristallen zurückgewonnen werden; die ML. zeigte im PC. ausser E1 noch einen schwachen, langsamer laufenden Fleck.

b) Nach *Kiliani* [25]. Ausführung wie bei B. Der rohe Zucker reduzierte *Fehling'sche* Lösung deutlich. Im PC. im System To-Bu-(1:1)/W war nach Spritzen mit Anilinium-hydrogenphthalat und Erhitzen [26] nur am Startpunkt ein sehr schwacher Fleck sichtbar. Das rohe Genin gab im PC. (System Chf/Fmd) einen Fleck, der langsamer lief als E1.

Anodendrosid-E2 (Präp. JP-5). Aus An-Ae farblose Kristalle, Smp. 326–333° (Zers.), $[\alpha]_D^{23} = +161,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf). Das Präp. TR-1395 schmolz gleich.

O-Acetyl-anodendrosid-E2 (Präp. JP-6). 10 mg Anodendrosid-E2 wurden in 0,4 ml abs. Py und 0,2 ml $(Ac)_2O$ 24 Std. auf 37° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 9,6 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 5,6 mg farblose Kristalle, Smp. 308–311°, $[\alpha]_D^{24} = +108,2^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,4$ in Chf). 20 mg E2 gaben in gleicher Weise 15 mg Präp. TR-1396 in feinen zu Drusen vereinigten Nadeln, Smp. 314–316°, und 4 mg bei 308–312° schmelzendes Material. Zur Analyse wurde Präp. TR-1396 2 Std. bei 0,01 Torr und 80° getrocknet.

$C_{32}H_{40}O_{12}$ (616,64) Ber. C 62,32 H 6,54% Gef. C 58,79 H 6,36%³⁴)
 $C_{32}H_{44}O_{14}$ (Dihydrat, 652,67) „ „ 58,88 „ 6,80%

³²) Gemisch von 35 ml AcOH, 55 ml W und 10 ml konz. HCl.

³³) Der Stoff dürfte methoxylfrei sein, der geringe positive Wert könnte aus abgespaltenem Formaldehyd stammen.

³⁴) Ausgeführt mit 0,6 mg auf einem *Perkin-Elmer*, Modell 240, Elemental Analyzer. Wir danken Herrn Dr. *H. Wagner*, Mikroanalytisches Laboratorium der *J. R. Geigy AG*, Basel, auch hier bestens für diese Bestimmung.

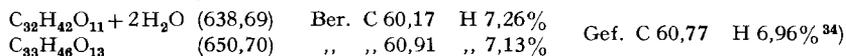
Hydrolyse von E2¹². 1,8 mg Anodendrosid-E2 wurden mit 0,2 ml *Kiliani*-Mischung 1 Std. auf 100° erwärmt. Nach Zusatz von 0,5 ml W wurde im Vakuum bei 60° auf ca. 0,1 ml eingengt. mit 0,5 ml W versetzt und 2mal mit je 2 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Auszüge wurden 1mal mit 0,5 ml W, dann mit KHCO₃-Lösung gewaschen, getrocknet und eingedampft («Anhydrogenine»). Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum von Chf-Resten befreit und mit Ag₂CO₃ soweit neutralisiert, dass die Mischung Kongo nicht mehr blau, Lackmus aber noch rot färbte. Es wurde mit wenig Me verdünnt, filtriert und mit Me nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 20° eingedampft und diente zur Zuckerprüfung. Es reduzierte *Fehling'sche* Lösung deutlich. Im PC. (Fig. 7) wurde nach Sprühen mit *p*-Aminohippursäure-hydrogenphthalat [11] und Erhitzen kein am Tageslicht sichtbarer Fleck erhalten, nur im UV.-Licht war ein sehr schwacher Fleck sichtbar. Dagegen konnte im DC. (Fig. 8) ein sehr deutlicher Fleck sichtbar gemacht werden.

Anodendrosid-F. Aus An-Ae farblose Kristalle, Smp. 230–235°, $[\alpha]_D^{26} = -54,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf).

Hydrolyse von F. Eine Probe wurde wie oben mit *Kiliani*-Mischung [25] [4] 1 Std. auf 100° erhitzt. Die rohe Zuckerlösung reduzierte *Fehling'sche* Lösung deutlich. Im PC., System To-Bu (1:1)/W, war nach Sprühen mit Anilinium-hydrogenphthalat und Erhitzen nur am Startpunkt ein Fleck sichtbar. Das rohe «Anhydrogenin» gab im PC., System Chf/Fmd, drei Flecke; von diesen liefen zwei langsamer als F und einer rascher.

Anodendrosid-G (Präp. HJ-21). Aus Me-Ae farblose Kristalle, Smp. 258–261°. Das Präparat enthielt nach PC. noch eine Spur F und diente zur Aufnahme der Spektren. Das später isolierte Präp. TR-1397¹²), feine wollige Nadeln aus Me-Ae, Smp. 275–277°, gab im PC. nur den G-Fleck, enthielt nach Massenspektrum [13] aber vermutlich auch Verunreinigungen.

O-Acetyl-anodendrosid-G (Präp. TR-1398)¹²). 11,5 mg Anodendrosid-G (2. Qualität) wurden mit 0,3 ml abs. Py und 0,2 ml (Ac)₂O 16 Std. auf 35° erwärmt. Die Aufarbeitung gab 12,5 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 7 mg zu Drusen vereinigte flache Nadeln, Smp. 245–246°, sowie 1,2 mg Kristallreste vom Smp. 230–240°. Das reine Präparat diente zur Aufnahme der Spektren und zur Analyse. Nach Trocknung (2 Std., 80°/0,01 Torr):



Die Mikroanalysen wurden, wo nichts anderes erwähnt, unter der Leitung von Herrn *E. Thomen* im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *A. Saner, C. Zerlentis, W. Stöcklin & T. Reichstein*, *Helv.* 53, 221 (1970).
- [2] *M. Pichon*, Classification des Apocynacées XXV. Echitoidées. *Mém. Musée Hist. nat. Paris*, n. s. B, Bot. 7, 1 (1950).
- [3] *N. G. Bisset*, *Annales Bogorienses* Vol. II, part 3, S. 193–210 (1957); frühere Lit. daselbst.
- [4] *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, *Helv.* 34, 1740 (1951).
- [5] *J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein*, *Helv.* 34, 1821 (1951).
- [6] *D. L. Kedde*, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); *I. E. Bush & D. A. H. Taylor*, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).
- [7] *O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* 34, 108 (1951); *H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* 36, 357 (1953); *E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein*, *Helv.* 37, 680 (1954).
- [8] *F. Kaiser*, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).
- [9] *E. v. Arx & R. Neher*, *Helv.* 39, 1664 (1956).
- [10] *Herb. Jäger, O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* 42, 977 (1959).
- [11] *F. Scheffer & R. Kikuth*, *Z. analyt. Chem.* 191, 116 (1962).
- [12] *E. Stahl*, *Angew. Chem.* 73, 646 (1961); *E. Stahl*, «Dünnschichtchromatographie», Springer-Verlag, Berlin 1962; *A. Gamp, P. Studer, H. Linde & K. Meyer*, *Experientia* 18, 292 (1962).
- [13] *H. Lichti, J. v. Euw, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.*, in Vorbereitung.
- [14] *M. Pesez*, *Ann. pharmac. franc.* 10, 104 (1952), u. frühere Lit. daselbst.
- [15] *G. Hesse, F. Reicheneder & H. Eysenbach*, *Liebigs Ann. Chem.* 537, 67, bes. p. 74 u. 86.
- [16] *P. St. Janiak, E. K. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 50, 1249 (1967), u. frühere Lit. daselbst.
- [17] *R. Berthold, W. Wehrli & T. Reichstein*, *Helv.* 48, 1634, 1659 (1965).

- [18] *P. St. Janiak, E. K. Weiss, J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **46**, 374 (1963).
[19] *T. Reichstein*, *Naturwissenschaften* **54**, 53 (1967), u. frühere Lit. daselbst.
[20] *K. Meyer*, *Helv.* **29**, 718 (1946); *A. Hunger & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 76 (1950).
[21] *A. Aebi & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 1013 (1950).
[22] a) *A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 465 (1950); b) *J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 522 (1950); c) *H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **38**, 98 (1955).
[23] *H. Fuhrer, R. F. Zürcher & T. Reichstein*, *Helv.* **52**, 616 (1969).
[24] *C. Mannich & G. Siewert*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **75**, 737 (1942).
[25] *H. Kiliani*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **63**, 2866 (1930).
[26] *S. M. Partridge*, *Nature* **164**, 433 (1949).
[27] *F. Brüscheweiler, W. Stöcklin, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* **52**, 2086 (1969); *F. Brüscheweiler, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* **52**, 2276 (1969).
[28] *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, *Discuss. Trans. Farady Soc.* **1949**, 305.
[29] *G. M. Barton, R. S. Evans & J. A. F. Gardner*, *Nature* **170**, 249 (1952).

147. Eine Abfangmethode zum Nachweis kurzlebiger Carbenium-Ionen in stark sauren Reaktionsmedien

von **H. Bosshard, M. E. Baumann** und **G. Schetty**

Wissenschaftliche Laboratorien der *J. R. Geigy AG*, Basel

(22. V. 70)

Summary. In a new approach, unstable carbenium ions produced in strong protic media could be trapped by thioethers yielding sulfonium compounds. The method has successfully been applied to the rearrangement reactions of *sec*-butyl alcohol and pinacol, where carbenium ions could be trapped before their rearrangement.

In the case of the pinacol-pinacon rearrangement the carbenium ion **13** has already been discussed but for the first time its existence is proved.

Since compound **16** has been found, a new mechanism for the pinacol-pinacon rearrangement is postulated starting with diprotonated pinacol.

Wo immer bei Reaktionsabläufen intermediäre Carbenium-Ionen postuliert werden, stellt sich die Frage nach deren Nachweis. Die bisher bekannten Abfangreaktionen mit starken Nucleophilen wie Azid-, Rhodanid- oder Thiophenolat-Ionen sind nur in annähernd neutralen Lösungen verwendbar, womit der für die Erzeugung von Carbenium-Ionen wichtigste Bereich, in stark sauren Medien, entfällt [1] [2].

Ausserdem greifen diese Reagenzien oft in den Reaktionsmechanismus ein und verschieben eine Carbenium-Ionen (S_N1)-Reaktion in eine Synchron-Reaktion (S_N2). In neuester Zeit wurde die Kernresonanzspektroskopie erfolgreich zur Untersuchung von Carbenium-Ionen eingesetzt, besonders nach dem von *Olah et al.* beschriebenen Verfahren (vgl. z. B. [3]). Die Empfindlichkeitsgrenze dieser Methode setzt jedoch eine verhältnismässig hohe Carbenium-Ionen-Konzentration voraus, welche nur bei Anwendung ungewöhnlich starker Säuren wie $\text{HSO}_3\text{F} \cdot \text{SbF}_5$ erreicht wird [3]. Damit gelangt man jedoch weit ausserhalb des Bereichs der Protonenaktivität, welche effektiv bei den zu untersuchenden Reaktionen vorhanden ist bzw. präparativ verwendet wird. Die Methode versagt ausserdem im Falle der Untersuchung von Carbenium-Ionen, welche sich sehr rasch umlagern (vgl. z. B. [3] und [4]).