

Tabelle 3.
2, 6-Polymethylen-4-amino-phenole.

n	t^0 C	$c \cdot 10^4$	$\pi_{1/2} (\pm 0,010)$ V
10	20	4,19	+ 0,081
12	21	4,16	+ 0,178
13	21	3,44	+ 0,200
14	21,5	3,70	+ 0,192
15	20,5	3,61	+ 0,211
16	21	2,87	+ 0,205
17	22	4,11	+ 0,202
18	22	3,26	+ 0,190
19	20,5	2,56	+ 0,200

2,6-Diäthyl-4-amino-phenol $21,5^0$; $c = 3,21 \cdot 10^{-4}$; $\pi_{1/2} = + 0,202$ V.

Zusammenfassung.

Es wurden die Reduktionspotentiale einer Reihe von 2,6-Polymethylen-benzochinonen (I, $n = 9-19$) auf polarographischem Wege gemessen. Die Reduktionspotentiale der Ringhomologen, welche im vielgliedrigen Ring mehr als 13 Ringglieder besitzen, sind wenig verschieden von dem Reduktionspotential der 2,6-Dialkyl-benzochinone. Bei Verbindungen mit kleineren vielgliedrigen Ringen wurde eine mit der Verringerung der Ringgliederzahl wachsende Verschiebung der Reduktionspotentiale nach der negativen Seite festgestellt, was eine relative Stabilisierung des Chinons gegenüber dem Hydrochinon bedeutet.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

126. Die Glykoside der Samen von *Strophanthus Nicholsonii* Holm. Glykoside und Aglykone

34. Mitteilung¹⁾

von J. von Euw und T. Reichstein.

(19. III. 48.)

Zahlreiche *Strophanthus*-arten dienen schon lange, besonders im tropischen Afrika, zur Pfeilgibtbereitung²⁾). Chemische Untersuchungen setzten erst relativ spät ein und führten zur Erkenntnis, dass die wirksamen Stoffe (*Strophanthine*) zur Gruppe der herzaktiven Glykoside gehören. Einige Drogen sowie daraus gewonnene Reinsubstanzen werden

¹⁾ 33. Mitt. vgl. A. Meyrat und T. Reichstein, Pharm. acta Helv. im Druck.

²⁾ Vgl. z. B. Perrot und Vogt, „Poisson de flèches et poison d'épreuve“, Paris 1913; C. Wehmer, Die Pflanzenstoffe, 2. Aufl., S. 968 (Jena 1931).

heute auch therapeutisch verwendet. Am reichsten an Glykosiden und am bequemsten für die Aufarbeitung sind die Samen. Gut untersucht sind bisher die Samen von *Strophanthus kombé Oliv.*¹⁾²⁾³⁾, *Strophanthus gratus* Franch.⁴⁾⁵⁾⁶⁾, *Strophanthus Eminii* Asch. et Pax⁷⁾⁸⁾ und *Strophanthus hispidus* D.C.⁹⁾. Auch über *Strophanthus sarmentosus* D.C. existieren Untersuchungen¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾, doch ist die botanische Zuordnung der verwendeten Samen nicht völlig sicher. Über andere Arten ist chemisch sehr wenig bekannt.

Vor einiger Zeit haben wir mit systematischen Untersuchungen über die Glykoside verschiedener Pflanzen begonnen, bei denen besonders auch *Strophanthus*-arten berücksichtigt wurden. Im folgenden wird über die Glykoside aus den Samen von *Strophanthus Nicholsonii* Holmes berichtet. Das Material verdanken wir der freundlichen Vermittlung der Firma *N. V. Organon*, Oss; es wurde durch Herrn *R. B. Usher* in Chola (Nyassaland) Zentralafrika, unter botanischer Kontrolle gesammelt. Soweit wir feststellen konnten, findet sich über *Strophanthus Nicholsonii* in der Literatur nur eine Angabe von *Mann*¹³⁾, wonach die Samen dieser Art nur wenig Glykoside von unsicherer Wirkungsstärke enthalten.

Die meisten *Strophanthus*-arten enthalten bekanntlich Gemische verschiedener Glykoside, die sich teilweise im Aglykon, teilweise im Zuckeranteil voneinander unterscheiden. Ausser Monoglykosiden wurden oft Di- und Triglykoside beobachtet und in einigen Arten überwiegen die letzteren stark. Der direkt am Aglykon haftende Zucker erwies sich in allen bisher untersuchten Fällen als eine 6-Desoxy- oder eine 2,6-Didesoxy-hexose, wobei aber auch Monomethyläther solcher Desoxyzucker häufig vorkommen. Bei Di- und Triglykosiden sind die weiteren Zuckermoleküle bisher immer als D-Glucose erkannt worden. Die Trennung verschiedener Di- und Triglykoside voneinander ist meistens sehr mühsam und das Ergebnis oft entsprechend unsicher. Da es uns für den vorliegenden Zweck in erster Linie auf die möglichst vollständige Erfassung der Unterschiede im Aglykonanteil ankam und nicht auf die Isolierung der nativen, zuckerreichen Derivate, so haben wir wie in früheren Fällen¹⁴⁾ der praktisch in allen frischen *Strophanthus*-Samen enthaltenen

¹⁾ *W. A. Jacobs*, *J. Biol. Chem.* **57**, 569 (1923).

²⁾ *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, *J. Biol. Chem.* **67**, 609 (1926).

³⁾ *A. Stoll*, *J. Renz* und *W. Kreis*, *Helv.* **20**, 1484 (1937), weitere Literatur daselbst.

⁴⁾ *Arnaud*, *C. r.* **106**, 1011 (1888); **107**, 1162 (1888); **126**, 346, 1208, 1654 (1898).

⁵⁾ *W. A. Jacobs* und *N. M. Bigelow*, *J. Biol. Chem.* **96**, 647 (1932).

⁶⁾ *A. Stoll*, *J. Am. Pharmac. Assoc.* **27**, 761 (1937); *Schweiz. med. Wschr.* **67**, 855 (1937).

⁷⁾ *W. A. Jacobs* und *N. M. Bigelow*, *J. Biol. Chem.* **99**, 521 (1933).

⁸⁾ *I. D. Lamb* und *S. Smith*, *Soc.* **1936**, 442.

⁹⁾ *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, *J. Biol. Chem.* **79**, 531 (1928).

¹⁰⁾ *W. A. Jacobs* und *M. Heidelberger*, *J. Biol. Chem.* **81**, 765 (1929).

¹¹⁾ *R. Tschesche* und *K. Bohle*, *B.* **69**, 2497 (1936).

¹²⁾ *J. Schmutz* und *T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **22**, 167 (1947).

¹³⁾ *E. W. Mann*, *Pharmac. Journ.* **23**, 93 (1906).

¹⁴⁾ *A. Katz* und *T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **19**, 231 (1944).

Strophanthobiase¹⁾) Gelegenheit geboten, die „überschüssigen“ Glucosemoleküle enzymatisch abzuspalten. Man erhält dann vorwiegend Gemische von Monoglykosiden, die sich viel leichter isolieren und trennen lassen als die zuckerreicherer Derivate. Wenn man die separate Bereitung³⁾ der Strophanthobiase umgehen will und die enzymatische Spaltung einfach durch Weichen der entfetteten Samen mit Wasser bewerkstelligt, so ergibt sich eine unerwünschte Komplikation. Durch die in den Samen gleichzeitig enthaltenen allomerisierenden Fermente⁴⁾ wird dann ein grosser Teil der Glykoside in die biologisch unwirksamen *allo*-Formen umgelagert. Wie *Lamb* und *Smith*⁵⁾ für die Samen von *Strophanthus* zeigen konnten, lassen sich aber die allomerisierenden Fermente, zum Unterschied von den hydrolysierten, aus dem zerkleinerten Samenmaterial nicht mit Wasser herauslösen. Diesem Umstand ist es zuzuschreiben, dass die nach *Jacobs* und *Hoffmann*⁶⁾ bereiteten rohen Strophanthobiase-präparate praktisch frei von allomerisierenden Fermenten sind; er erlaubt es aber auch, in einem vereinfachten Verfahren aus den Samen direkt vorwiegend Monoglykoside zu isolieren. Dementsprechend erwies sich in diesen und in ähnlichen Fällen der folgende Aufarbeitungsgang als vorteilhaft; er ermöglicht auch bei relativ wenig Samenmaterial eine weitgehende Orientierung.

Das gemahlene und kalt mit Petroläther entfettete Samenmaterial wird wenige Stunden bei 0° mit Wasser extrahiert und die wässrige Lösung, die einen Teil der Glykoside und reichlich Strophanthobiase enthält, abgetrennt. Aus dem verbleibenden Samenpulver wird der Rest der Glykoside mit Alkohol, Methanol oder wässrigem Alkohol, wenn nötig heiss, vollständig extrahiert, die Lösung im Vakuum vom Alkohol befreit, der Rückstand mit dem ersten wässrigen Auszug vereinigt und zur fermentativen Spaltung einige Tage bei 37° stehen gelassen. Anschliessend wird, wie üblich, mit Pb(OH)₂ oder Pb-Aacetat von Ballaststoffen befreit und die Glykoside durch Ausschütteln mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen oder in anderer Weise isoliert. Frische Strophanthussamen gaben in dieser Weise bisher stets sehr hohe Ausbeuten an Monoglykosiden, in denen sich keine *allo*-Formen nachweisen liessen.

Für die vorliegende Untersuchung dienten 200 g Samen der Ernte 1947 (August), die 145 g entfettetes Pulver ergaben. Daraus

¹⁾ *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **69**, 153 (1926).

²⁾ *A. Stoll* und *J. Renz*, Enzymologia **7**, 362 (1939).

³⁾ Dieses Verfahren ist natürlich für die enzymatische Spaltung reiner Di- und Triglykoside sehr empfehlenswert, für die Untersuchung von Rohextrakten aber wegen der relativ grossen Fermentmenge, die benötigt wird, recht kostspielig.

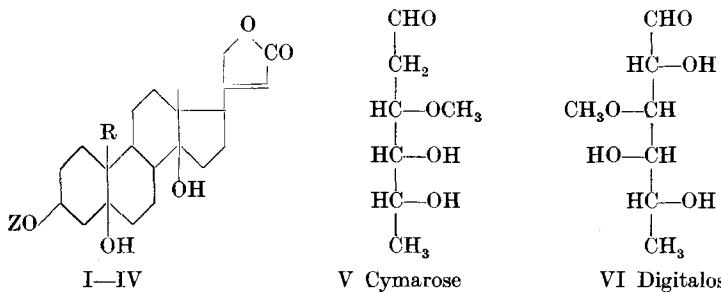
⁴⁾ *W. A. Jacobs*, J. Biol. Chem. **88**, 519 (1930).

⁵⁾ *I. D. Lamb* und *S. Smith*, Soc. 1936, 442.

⁶⁾ *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **69**, 153 (1926).

wurden 775 mg ätherlösliches¹⁾, 1,95 g chloroformlösliches und 410 mg erst in Chloroform-Alkohol (2:1) lösliches, rohes Glykosidgemisch erhalten. Wenig sehr wasserlösliche Glykoside dürften nach Ausschütteln mit diesen Lösungsmitteln noch im Wasserteil verblieben sein, da dieser Teil noch etwas bitter schmeckte. Hier wird vorläufig nur über die mit Äther und mit reinem Chloroform extrahierbaren Teile berichtet, da sie die Hauptmenge der Monoglykoside enthalten dürften²⁾. Zur Trennung wurden sie direkt an Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich die folgenden 4 Glykoside in den angegebenen Mengen rein isolieren liessen:

143 mg Periplocymin (I)
 299 mg Cymarin (II)
 180 mg Cymarol (III)
 690 mg Emicymarin (IV)



I (R = CH ₃ ;	Z = Cymarosido-rest)	= Periplocymin	F. 210° [+ 28 Chf.] ³⁾
II (R = CHO;	Z = Cymarosido-rest)	= Cymarin	F. 139° [+ 35 Chf.] ⁴⁾
III (R = CH ₂ OH;	Z = Cymarosido-rest)	= Cymarol	F. 236° [+ 22; + 27] ⁵⁾ 80% Me
IV (R = CH ₃ ;	Z = Digitalosido-rest)	= Emicymarin	F. 160° [+ 13A] ⁶⁾

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Me = Methanol, A = Alkohol, Chf = Chloroform.

Für die Identifizierung dienten ausser Schmelzpunkt, Mischprobe, Drehung, Löslichkeitseigenschaften und Analyse besonders auch die relativ charakteristischen Färbungen mit 84-proz. H_2SO_4

¹⁾ Obwohl die reinen Glykoside in Äther sehr schwer löslich sind, werden beim Ausschütteln der rohen Extrakte mit Äther einzelne davon reichlich gelöst, was in gewissen Fällen gleich eine gute Trennung gibt.

²⁾ Gewisse, stark wasserlösliche Monoglykoside, die viele HO-Gruppen im Aglykon enthalten, wie die Antiarine sowie Ouabain, lassen sich mit Chloroform aus Wasser nicht ausschütteln, und sogar mit Chloroform-Alkohol-Gemischen nur sehr langsam und unvollständig.

³⁾ A. Stoll und J. Renz, Helv. **22**, 1193 (1939).

⁴⁾ W. A. Jacobs und A. Hoffmann, J. Biol. Chem. **67**, 609 (1926).

⁵⁾ W. Blome, A. Katz und T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **21**, 325 (1946).

⁶⁾ I. D. Lamb und S. Smith, Soc. **1936**, 442.

(vgl. Tabelle), sowie die *Keller-Kiliani*-Reaktion¹⁾²⁾ auf Desoxyzucker. Eine verbesserte Ausführungsform dieser sehr aufschlussreichen Farbreaktion, die auch mit sehr kleinen Substanzmengen bei den steroiden Glykosiden das Vorhandensein eines 2-Desoxyzuckers mit grosser Sicherheit nachzuweisen gestattet, ist im experimentellen Teil wiedergegeben. Es mag erwähnt werden, dass die bekannte *Molisch*-Reaktion³⁾ bei 2-Desoxyzuckern keine Violettfärbung gibt⁴⁾.

Zeit	Periplocymarin (I)	Cymarin (II)	Cymarol (III)	Emicymarin (IV)
Färbungen mit 84-proz. H_2SO_4				
1 Min.	olivbraun	grünlich-gelb	kastanienbraun	orange
2 Min.	olivgrün	bräunlich-gelb	kastanienbraun	orange
5 Min.	grau	braun-gelb	kastanienbraun	orange
10 Min.	grau	braun-gelb	kastanienbraun	orange-lila
30 Min.	grau	braun-gelb	kastanienbraun	orange-lila
1 Std.	grau	braun-gelb	kastanienbraun	schwach lila
3 Std.	grau-violettstich	braun-grau	graubraun	hellblau
Färbungen mit konz. H_2SO_4				
1 Min.	kastanienbraun	grünlich	kastanienbraun	dunkelorange
2 Min.	braun	braungelb	kastanienbraun	orange
5 Min.	braun	gelblich-braun	kastanienbraun	orange, Rand blau
10 Min.	braun	gelblich-braun	kastanienbraun	orange, Rand blau
30 Min.	olivbraun	gelblich-braun	kastanienbraun	orange, Rand blau
1 Std.	oliv	gelblich-braun	kastanienbraun	grünblau
3 Std.	blaugrün	gelbgrün	graubraun	grünblau

Wir glaubten daher, dass diese Reaktion als nützliche Ergänzung der *Keller-Kiliani*-Probe für die Differenzierung brauchbar wäre. Leider gelang es uns bisher nicht, eine Ausführungsform zu finden, die es gestatten würde, mit Hilfe dieser Reaktion bei steroiden Glykosiden mit kleinen Mengen direkt, also ohne vorherige Hydrolyse und Trennung der Spaltstücke, sichere Resultate zu erhalten, da auch die entsprechenden Aglykone häufig (nicht immer) starke und daher störende Färbungen geben. Auch die empfindliche Farbreaktion mit Carbazol⁵⁾⁶⁾ erwies sich aus denselben Gründen für vorliegenden Zweck als unbrauchbar.

¹⁾ C. C. Keller, Ber. Dtsch. Pharm. Ges. 5, 277 (1895).

²⁾ H. Kiliani, Arch. Pharm. 234, 273 (1896); 251, 567 (1913).

³⁾ H. Molisch, M. 7, 198 (1886); B. 19, Ref. 746 (1886).

⁴⁾ Wohl dagegen bei allen bekannten Pentosen, Methylpentosen u. Hexosen sowie ihren Glykosiden; auch 3-Desoxyhexosen und ihre Glykoside reagieren positiv. Ein positiver Ausfall spricht also nicht eindeutig für das Vorliegen eines in 2-Stellung hydroxylierten Zuckers.

⁵⁾ Z. Dische, Bioch. Z. 189, 77 (1927); weitere Literatur siehe bei Fussnote 6.

⁶⁾ G. Holzman, R. V. MacAllister und C. Niemann, J. Biol. Chem. 171, 27 (1947).

Für die Reinigung des Cymarols erwies sich Aceton als besonders geeignet. Der Stoff ist in diesem Lösungsmittel relativ schwer löslich und konnte daraus erstmalig auch mit relativ scharfem Smp. 236—238° erhalten werden. Aus Methanol, Methanol-Äther und Wasser scheidet sich dieses Glykosid zwar in sehr gut ausgebildeten Krystallen ab, schmilzt aber recht unscharf bei ca. 200—237°¹⁾.

Die vier genannten Glykoside wurden in stark abweichendem Mengenverhältnis früher auch aus Samen von *Strophanthus kombé* (Handelsware) erhalten¹⁾²⁾. Die gleichen vier Glykoside kommen aber auch in den Samen von *Str. Eminii* Asch. et Pax³⁾ vor, und zwar in ganz ähnlichem Mengenverhältnis wie bei *Str. Nicholsonii*. Die vier genannten Glykoside dürften ursprünglich in den Samen wahrscheinlich weitgehend mit D-Glucose verbunden als Di- und Triglykoside vorgelegen haben. Im Bestimmungsschlüssel von *Gilg*⁴⁾ sind *Strophanthus Eminii* und *Strophanthus Nicholsonii* direkt nebeneinander klassiert; dies bedeutet allerdings nicht unbedingt, dass sie botanisch besonders nahe verwandt sind.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Stunde im Hochvakuum bei 70—80° getrocknet, zur Analyse 3 Stunden bei der angegebenen Temperatur. „Schweinchen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde.

Ausführung der *Keller-Kiliani*-Reaktion⁵⁾⁶⁾⁷⁾.

Es wurden die üblichen Lösungen benutzt:

Lösung I: 1 cm³ 5-proz. wässerige Eisen(III)-sulfatlösung
99 cm³ Eisessig

Lösung II: 1 cm³ 5-proz. wässerige Eisen(III)-sulfatlösung
99 cm³ konz. H₂SO₄.

Es wurden Glasröhren von ca. 5 mm innerem Durchmesser (Glühröhrchen) verwendet. Etwa 0,05—0,1 mg Substanz werden mit 20 kleinen Tröpfchen (ca. 0,1 cm³) Lösung I versetzt und durch Schütteln oder Drehen gelöst. Dann wird ein kleines Tröpfchen Lösung II zugegeben und durch Schütteln gemischt. Bei Anwesenheit von 2-Desoxyzuckern färbt sich die ganze Lösung nach 5 Minuten bei 20° blau oder blaugrün. Diese Ausführungsform in homogener Lösung ist viel zuverlässiger als die übliche Zwei-Schichten-

¹⁾ *W. Blome, A. Katz, und T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **21**, 325 (1946).

²⁾ In letzter Zeit kamen wir auch in den Besitz einer Probe von *Strophanthus kombé*-Samen, aus denen sich kein Periplocyarin und Emicyarin isolieren liess. Cymarol wurde dagegen in allen bisher darauf geprüften Samenproben in ungefähr der damals¹⁾ erwähnten Menge gefunden.

³⁾ Das Vorkommen von Cymarol in *Str. Eminii* ist bisher nicht beschrieben, es wird in einer späteren Mitteilung von *A. Lardon* erwähnt werden; über die Isolierung der drei andern Glykoside vgl. Fussnoten 3) 4) 6), Seite 886.

⁴⁾ *E. Gilg* in *A. Engler*, „Monographien afrikanischer Pflanzenfamilien“ (Leipzig 1903), Bd. VII, *Strophanthus*.

⁵⁾ *C. C. Keller*, *Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* **5**, 277 (1895).

⁶⁾ *H. Kiliani*, *Arch. Pharm.* **234**, 273 (1896).

⁷⁾ *H. Kiliani*, *Arch. Pharm.* **251**, 567 (1913).

Methode. Es lassen sich auch mit etwa 10 γ Glykosid noch gute Resultate erhalten, wenn 20 Teile Lösung I mit 1 Teil Lösung II unter Kühlung frisch gemischt werden. Die Glykosidprobe wird dann ohne Erwärmung in 1 Tropfen des Gemisches gelöst und 5—10 Minuten bei 20° stehen gelassen. Beobachtung auf weisser Unterlage am Tageslicht.

Ausführung der *Dische*-Reaktion¹⁾.

10 cm³ einer 1-proz. Lösung von Carbazol in absolutem Alkohol werden frisch mit 300 cm³ 84-proz. H₂SO₄ gemischt. Etwa 0,1 mg Glykosid werden im Glühröhrchen in 1 Tropfen Alkohol gelöst, mit 10 Tropfen Reagens versetzt und 5—15 Minuten im kochenden Wasserbad erwärmt. Bei Anwesenheit von Zucker tritt weinrote Färbung auf. Die Resultate mit dieser empfindlichen Reaktion sind unsicher, da viele Aglykone auch Färbungen liefern. Sichere Werte erhält man, wenn man zuerst mit verdünnter H₂SO₄ heiß hydrolysiert, die entstandenen Anhydroaglykone mit Chloroform ausschüttelt und die Zuckerlösung in bekannter Weise aufarbeitet.

Die *Dische*-Reaktion gab auch mit allen geprüften 2-Desoxyzuckern positive Resultate, während bei der *Molisch*-Probe Cymarose negativ, 2-Desoxyaltrose positiv reagierte.

Aufarbeitung der Samen.

Die Samen von *Strophanthus Nicholsonii* waren blass beige gefärbt (viel heller als die handelsüblichen Kombé-Samen), dicht behaart und schmeckten sehr stark bitter. Im Schnitt wurden beim Betupfen mit 84-proz. H₂SO₄ die folgenden Färbungen erhalten:

Zeit	Endosperm	Cotyledonen
1 Min.	gelb	gelb
2 Min.	orange-rosa	hell-rosa
5 Min.	dunkel-rosa	rosa
10 Min.	dunkel-rosa	kräftig-rosa
30 Min.	lila-rosa	rosa
60 Min.	lila mit hellblauen Flecken	lila mit hellblauen Flecken

200 g Samen wurden in der Fleischhackermaschine grob gemahlen, durch Perkolation mit Petroläther bei 18° weitgehend entfettet, dann in der Kaffeemühle fein gemahlen und mit Petroläther bei 18° vollständig entfettet. (Ausbeute total 52 g fettes Öl.)

Das entfettete Samenpulver wurde mit 1 Liter Eiswasser kräftig geschüttelt und 2 Stunden bei 0° stehen gelassen. Dann wurde etwas grobes Kieselgur (Celite 535) eingeführt und durch eine dünne Schicht Celite abgenutscht. Das sehr helle Filtrat wurde bei 0° auf die Seite gestellt, der Samenrückstand 6 mal mit je 7—800 cm³ 50-proz. Alkohol kurz aufgekocht und nach halbstündigem Stehen abgenutscht²⁾ und die vereinigten Auszüge bei 40° Badtemperatur auf 250 cm³ eingeeengt. Dieses trübe Konzentrat wurde mit dem ersten Wasserauszug vereinigt, mit ca. 10 cm³ Toluol versetzt und 70 Stunden bei 37° stehen gelassen. Dann wurde mit demselben Volumen 95-proz. Alkohol und dem aus 200 g Bleiacetat-trihydrat mit der berechneten Menge verdünnter NaOH-Lösung gefallten und gründlich mit destilliertem Wasser gewaschenen Pb(OH)₂ versetzt und 20 Minuten energisch geschüttelt. Es wurde durch ein mit Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) gedichtetes Filter genutscht und mit 50-proz. Alkohol nachgewaschen. Das klare Filtrat wurde mit einigen Tropfen verdünnter H₂SO₄ bis zur eben lackmussauren Reaktion versetzt und im Vakuum bei 40° Badtemperatur auf 200 cm³ eingeeengt. Es wurde 3 mal mit je 500 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die zweimal mit je 30 cm³ Wasser, zweimal mit

¹⁾ *G. Holzman, R. V. MacAllister und C. Niemann, J. Biol. Chem. 171, 27 (1947).*
Weitere Literatur dasselbst.

²⁾ Der Rückstand war dann nicht mehr bitter und wurde verworfen.

je 30 cm³ Sodalösung und zweimal mit je 30 cm³ Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Ätherauszüge hinterliessen beim Eindampfen 775 mg Rückstand (im Vakuum getrocknet).

Die wässrige Lösung und die ersten Waschwässer wurden mit 260 cm³ Alkohol versetzt, durch Filtration von kleinen Mengen Bleisulfat befreit, im Vakuum wieder auf 200 cm³ eingeengt und 5mal mit je 350 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die je einmal mit 30 cm³ Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen (es wurden hierfür die bereits oben verwendeten Lösungen nochmals benutzt) und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 1,95 g Rückstand. Die wässrige Phase wurde nun 4mal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol-Gemisch (2:1) ausgeschüttelt. Die mit denselben Mitteln gewaschenen Auszüge lieferten 0,41 g Rückstand, der noch stark bitter war.

Die zuletzt verbliebene wässrige Phase wurde im Vakuum zum dünnen Sirup eingeengt und allmählich mit der ca. 10—20fachen Menge Alkohol versetzt, wobei eine schmierige Fällung entstand. Es wurde filtriert und mit Alkohol nachgewaschen. Das Filtrat gab beim Eindampfen im Vakuum 11 g Rückstand, der kaum mehr bitter schmeckte.

Die 775 mg Äther-Extrakt gaben aus wenig Methanol-Äther 205 mg Krystallgemisch vom Smp. 140—145° (grobe Krystalle) sowie 245—270° (feines Pulver). Krystalle und Mutterlaugen wurden für sich nach der Durchlaufmethode chromatographiert.

Für die 580 mg Mutterlaugen dienten 16 g alkalifreies Al₂O₃ und zum Nachwaschen je 60 cm³ der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel		Rückstand
1	absolutes Benzol		ölig
2	absolutes Benzol		ölig
3	50% Äther	50% Benzol	ölig
4	Äther rein		ölig
5	Äther rein		ölig
6	2% Chloroform	98% Äther	ölig
7	4% Chloroform	96% Äther	ölig
8	6% Chloroform	94% Äther	ölig
9	8% Chloroform	92% Äther	ölig
10	11% Chloroform	89% Äther	kryst.
11	15% Chloroform	85% Äther	kryst.
12	20% Chloroform	80% Äther	kryst.
13	30% Chloroform	70% Äther	kryst.
14	45% Chloroform	55% Äther	kryst.
15	70% Chloroform	30% Äther	kryst.
16	100% Chloroform		kryst.
17	2% Methanol	98% Chloroform	kryst.
18	3% Methanol	97% Chloroform	amorph
19	4% Methanol	96% Chloroform	amorph
20	6% Methanol	94% Chloroform	amorph
21	10% Methanol	90% Chloroform	amorph
22	15% Methanol	85% Chloroform	amorph

Die Fraktionen 1—9 gaben total 400 mg ölichen Rückstand, der in Äther-Petroläther leicht löslich war und daher verworfen wurde.

Die Fraktionen 10—15 (zusammen 38 mg) gaben aus Methanol-Äther, dann aus Aceton 28 mg reines Periplocyamarin.

Die Fraktionen 16 und 17 (zusammen 10 mg) gaben aus Methanol 6 mg reines Cymarin.

Die 205 mg Krystallgemisch wurden ganz ähnlich an 6 g Al_2O_3 chromatographiert und gaben 115 mg krystallisiertes Periplocyamarin (mit 15 mg Mutterlaugen), ferner 50 mg krystallisiertes Cymarin (mit 8 mg Mutterlaugen). Nur die letzten Fraktionen (total 8 mg) waren amorph.

Die 1,95 g Chloroformauszug gaben aus Methanol-Äther 180 mg Prismen vom Smp. 142—146°. Krystalle und Mutterlaugen wurden wieder für sich an Al_2O_3 chromatographiert. Für die 1,77 g Mutterlaugen dienten 50 g Al_2O_3 und für jede Fraktion 180 cm^3 Lösungsmittel.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Rückstand
1	absolutes Benzol	ölig
2	Äther rein	ölig
3	4% Chloroform	ölig
4	8% Chloroform	kryst.
5	15% Chloroform	ölig
6	30% Chloroform	ölig
7	60% Chloroform	kryst.
8	100% Chloroform	kryst.
9	1% Methanol	kryst.
10	2% Methanol	kryst.
11	4% Methanol	kryst.
12	8% Methanol	kryst.
13	15% Methanol	kryst.
14	30% Methanol	kryst.
15	60% Methanol	kryst.
16	Methanol rein	kryst.
17	Gemisch ¹⁾	kryst.
18	Gemisch ¹⁾	kryst.
19	Gemisch ¹⁾ + Spur Eisessig	kryst.
20	Gemisch ¹⁾ + Spur Eisessig	kryst.
21	Gemisch ¹⁾ + Spur Eisessig	kryst.
22	Gemisch ¹⁾ + Spur Eisessig	kryst.

Die Fraktionen 1—6 waren in Äther-Petroläther leicht löslich; Fraktion 4 gab dann ca. 1 mg Krystalle, Smp. 255—258°. H_2SO_4 -Reaktion schwach gelb.

Fraktion 8 hinterliess beim Aufnehmen in Aceton eine kleine Menge Cymarol ungelöst. Die Mutterlauge mit Fraktion 7 vereinigt (zusammen 185 mg) gab aus Methanol-Äther 160 mg krystallisiertes Cymarin.

Die Fraktionen 9—10 (total 187 mg) gaben aus wenig Aceton-Äther 122 mg krystallisiertes Cymarol, Smp. 240°.

Aus den Fraktionen 11—15 (730 mg) wurden aus Methanol-Äther 690 mg krystallisiertes Emicyamarin erhalten.

¹⁾ Chloroform-Methanol-Essigester (1:1:1).

Die stark grün gefärbten Fraktionen 16—22 (580 mg) gaben aus wenig Methanol 50 mg farblose Nadeln, die über 350° schmolzen und nicht weiter untersucht wurden.

Die ähnlich durchgeführte Chromatographie der Krystalle aus Chloroform-Extrakt lieferte noch 83 mg krystallisiertes Cymarin (+ 9 mg Mutterlauge), sowie 58 mg Cymarol (+ 8 mg Mutterlauge).

Total wurden somit erhalten:

143 mg reines Periplocymin
299 mg reines Cymarin
180 mg reines Cymarol
690 mg reines Emicymarin.

Daneben noch 410 mg rohes mit Chloroform-Alkohol (2:1) extrahierte Gemisch.

Periplocymin. Aus Methanol-Äther, Smp. 138—145°, aus Aceton kleine Prismen, Smp. 210—212°, authentisches Material und Mischprobe ebenso. Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 110° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,445 mg Subst. gaben 8,492 mg CO₂ und 2,674 mg CO₂ (ETH.)
3,493 mg Subst. gaben 1,547 mg AgJ (Zeisel) (F. W.)
C₃₀H₄₆O₈ (534,67) Ber. C 67,39 H 8,69 — OCH₃ 5,82%
Gef. „, 67,26 „, 8,69 „, 5,85%

Keller-Kiliani-Reaktion war positiv. H₂SO₄-Reaktion: braun (violettstichig) → grau.

Cymatin. Aus Methanol-Äther farblose Prismen, Smp. 138—141°; authentisches Material und Mischprobe ebenso. *Keller-Kiliani*-Reaktion negativ. H₂SO₄-Reaktion gelb-braun-grau. In Aceton leicht löslich.

Cymarol. Aus Methanol-Äther Nadeln, Smp. 200—237°. Aus Aceton kurze Prismen (gestreifte Körner), Smp. 236—238°. Authentisches, aus Aceton umkristallisiertes Material und Mischprobe ebenso. *Keller-Kiliani*-Reaktion positiv. H₂SO₄-Reaktion: kastanienbraun → braun → grau.

Emicymarin. Aus Methanol-Äther farblose Nadeln, Smp. 156—159°. Leicht löslich in kaltem Wasser, beim Erwärmen Trübung. Authentisches Material und Mischprobe schmolzen ebenso. *Keller-Kiliani*-Reaktion negativ. H₂SO₄-Reaktion: orange, nach 10 Minuten vom Rand her lila werdend → violett → blau (nach 3 Stunden).

Zusammenfassung.

Aus den Samen von *Strophanthus Nicholsonii* Holm wurden nach Einwirkung der darin enthaltenen wasserlöslichen Fermente die folgenden Glykoside isoliert: Periplocymin, Cymarin, Cymarol und Emicymarin.

Pharmazeutische Anstalt, Universität Basel.