

208. Die Glykoside von *Acokanthera longiflora* Stapf.

Glykoside und Aglykone, 81. Mitteilung¹⁾

von P. R. O. Bally²⁾, K. Mohr und T. Reichstein.

(25. VI. 51.)

Während in den regenreicheren und tiefergelegenen Ländern des tropischen Westafrika hauptsächlich die Samen verschiedener *Strophanthus*-Arten zur Bereitung von Pfeilgiften verwendet werden, dienen den Eingeborenen der trockeneren und kühleren Hochländer Ostafrikas, in denen *Strophanthus*-Arten nicht vorkommen, vorwiegend das Holz und die Wurzelrinde einiger *Acokanthera*-Arten diesem Zweck³⁾. Im Gegensatz zu der Gattung *Strophanthus*, die mit etwa fünfzig Arten über die gesamten altweltlichen Tropen verbreitet ist, sind die sechs oder sieben *Acokanthera*-Arten, die wir heute kennen, auf den afrikanischen Kontinent beschränkt. Ihr Verbreitungsgebiet erstreckt sich von den Hochländern Äthiopiens im Norden bis hinunter zur Kap-Kolonie.

Von Forschungsreisenden, die zu Ende des vorigen Jahrhunderts erstmalig in das Hinterland Ostafrikas eindringen, wird vielfach über die rapide und tödliche Wirkung der Pfeilgifte der Eingeborenen berichtet⁴⁾.

Noch heute stellen die Schwarzen Ostafrikas Pfeilgift in recht erheblichen Mengen her und verwenden es zur Jagd, obwohl dies durch das Gesetz verboten ist. Im Jahr 1939 allein beschlagnahmten Beamte des Wildschutz-Departements von Kenya mehrere hundert Kilogramm *Acokanthera*-Pfeilgift, mengenmässig genügend, um vierzig Millionen Menschen umzubringen.

Zur Bereitung der ostafrikanischen Pfeilgifte werden hauptsächlich *Acokanthera schimperi* Benth. et Hook (syn: *Carissa schimperi* A. DC.)⁵⁾, *Acokanthera friesiorum* Markgr.⁶⁾ und *Acokanthera longiflora* Stapf verwendet.

In beschränktem Mass kommen in Ostafrika auch andere Apocynazeen zur Verwendung; so wird z. B. in der trockenen Busch-Steppe Zentral-Tanganyikas, in der *Acokanthera*-Arten kaum vorkommen, der dort sehr häufige *Strophanthus eminii* Aschers et Pax benützt. Ebenso werden diverse *Adenium*-Arten gelegentlich zur Pfeilgift-Bereitung verwendet.

¹⁾ 80. Mitt.: O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 1732 (1951).

²⁾ Botanist, The Coryndon Museum, Nairobi.

³⁾ Zur älteren Literatur vgl. C. Wehmer, „Die Pflanzenstoffe“, Bd. II, 977—978, 2. Aufl., Jena 1931, sowie Ergänzungsband p. 4 (1935). Ferner K. Braun, „*Acokanthera*-Arten als Giftpflanzen“, Z. angew. Botanik **14**, 511, 534 (1932). W. D. Raymond, „Tanganyika Arrow Poisons“, Tanganyika Notes Records Nr. 23, p. 1, Juni 1947.

⁴⁾ F. Stuhlmann, „Mit Emin Pascha ins Herz von Afrika“. Ein Reisebericht mit Beiträgen von Dr. Emin Pascha, in seinem Auftrag geschildert (Berlin 1894). M. Merker, „Die Masai“ (Berlin 1904).

⁵⁾ Bei der zunächst unbekannten *Acokanthera*-Art, aus der Arnaud 1882 erstmalig krist. Ouabain isolierte und die provisorisch als *Acokanthera ouabai* Cathelineau (*Carissa ouabai* Franchet et Poisson) benannt wurde, soll es sich um *A. schimperi* Benth et Hook gehandelt haben. Vgl. E. M. Holmes, Pharmaceut. J. [3] **23** (52. year of publication), 965 (1893), sowie T. R. Fraser & J. Tillie, Pharmaceut. J. [4] **1** (55. year of publication), 76 (1895).

⁶⁾ *A. friesiorum* Markgraf wurde früher als identisch mit *A. schimperi* angesehen. Einige Botaniker vertreten auch heute noch diese Ansicht. Danach soll es sich nur um eine kleinblättrige Variante von *A. schimperi* handeln.

Die Art der Zubereitung des Pfeilgifts durch die Eingeborenen ist im Prinzip verhältnismässig einfach: Sie besteht in der Hauptsache darin, dass die Giftstoffe durch stundenlanges Auskochen von zerkleinerten Ast- oder Wurzelstückchen extrahiert werden. Der so erhaltene Extrakt wird bis zu teerartiger Konsistenz eingedickt, und ihm werden oft noch andere pflanzliche, seltener auch tierische Gifte (u. a. gewisse Raubwespen) beigelegt, welche die Giftwirkung erhöhen oder beschleunigen sollen.

Obwohl im Laboratorium die Samen grössere Ausbeuten an Glykosiden ergaben, ist nicht bekannt, dass sie von den Eingeborenen zur Pfeilgift-Herstellung mitverwendet werden.

Im folgenden berichten wir über die Untersuchung der Stamm- und Wurzelrinde sowie der Samen von *Acokanthera longiflora* Stapf.

Diese ist eine auf den südwestlichen Teil von Kenya Colony und den Norden von Tanganyika Territory beschränkte Art, die der südafrikanischen *Acokanthera venenata* S. Don nahe steht, doch sind Blüten, Früchte und Blätter in allen Teilen grösser. Sie ist ein typischer Waldbewohner, wächst in Höhenlagen von 1250–1800 Meter als 5–6 Meter hoher Strauch, in allen Teilen, ausser dem Blütenstand, unbehaart. Die Blätter sind elliptisch, 6–9 cm lang und 3,5–4 cm breit, lederig, mit glänzender, sattgrüner Oberseite und matter, blassgrüner Unterseite. Sie sind gegenständig mit kurzem Blattstiel. Der Blütenstand ist end- oder achselständig, vielblütig, ganz kurz behaart. Die Blüten sind ungestielt, der Kelch 3–4 mm lang mit 5 gerundeten Kelchblättern. Die Blüte ist weiss, mit einer 15–16 mm langen cylindrischen Blütenröhre, die gegen das Ende leicht trichterförmig erweitert ist. Die daunige Aussenseite ist oft blassrot gefärbt, die weisse Innenseite ist mit langen weichen Haaren ausgekleidet. Die Blütenkrone ist 5zählig. Die Frucht ist ellipsoid, 2,3–3,4 cm lang, fleischig, bei völliger Reife schwarz-rot mit bläulicher dünner Wachsschicht und enthält meistens 2 Samen. Das Fruchtfleisch ist essbar, doch schwach bitter. Die Samen sind ellipsoid, elfenbeinweiss, einseitig abgeflacht, auf der Innenseite mit einer breiten Narbe. Sie sind in frischem Zustand bis 20 mm lang und bis 16 mm breit, doch schrumpfen sie beim Austrocknen erheblich.

A. longiflora ist in Kenya als Zierstrauch beliebt und wird in den Preislisten der Handelsgärtnereien aufgeführt.

Das für diese Untersuchung dienende Material wurde unter persönlicher Kontrolle des einen von uns (*P.R.O.B.*) im Februar 1950 im Kikuyu-Reservat bei Nairobi in ca. 2000 Meter Meereshöhe gesammelt. Über die botanische Zugehörigkeit der untersuchten Rinde und Samen besteht darum kein Zweifel.

Die Rinde wurde in gut getrocknetem Zustand versandt. Die Samen wurden nur ganz leicht getrocknet und per Flugpost speditiert. Sie kamen in völlig unversehrtem Zustand an und wurden, soweit nicht sofort verarbeitet, leicht mit Toluol angesprüht und in einer verschlossenen Flasche bei 0° aufbewahrt. In ungetrocknetem Zustand schimmeln sie sonst leicht.

Untersuchung der Stamm- und Wurzel-Rinde.

Die Rinde wurde in Gegenwart von 4 Teilen Wasser fein zerkleinert, in Gegenwart von etwas Toluol 16 Stunden weichen gelassen, dann mit wässrigem Alkohol von steigender Alkoholkonzentration bei 40–50° extrahiert, bis der Rückstand nicht mehr bitter war. Letzterer wurde verworfen. Die vereinigten Extrakte wurden im

Vakuum eingengt, das Konzentrat wurde mit Alkohol wieder auf ca. 50% Alkoholgehalt gebracht und mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ geschüttelt, bis eine Probe mit basischer Bleiacetatlösung keine Färbung mehr gab. Dann wurde filtriert, mit H_2SO_4 auf $\text{pH} = \text{ca. } 5$ gestellt und im Vakuum teilweise vom Alkohol befreit. Die verbliebene Suspension wurde hierauf zunächst mehrmals mit Petroläther ausgeschüttelt, im Vakuum weiter eingengt und vom Alkohol völlig befreit, dann mehrmals mit Chloroform und schliesslich wiederholt mit Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch¹⁾²⁾ ausgeschüttelt, bis sie nicht mehr bitter schmeckte, und dann verworfen³⁾. Chloroform- und Chloroform-Alkohol-(2:1)-Auszüge wurden mit etwas Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Über die erhaltenen Ausbeuten orientiert folgende Tabelle.

	500 g Stammrinde	500 g Wurzelrinde
Petrolätherextrakt	2,36 g	1,61 g
Chloroformextrakt	6,1 g (= 1,22%)	5,8 g (= 1,16%)
Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt . .	2,23 g (= 0,446%)	2,6 g (= 0,52%)

Der Chloroformextrakt der Stammrinde gab bei direkter Kristallisation 2 g Acovenosid $\text{A}^{4)5)}$, aus der Mutterlauge liessen sich durch Chromatographie noch 0,22 g Kristalle isolieren, die noch etwas Acovenosid A enthielten, aber ein Gemisch darstellten, das nicht völlig getrennt wurde.

Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt der Stammrinde gab direkt keine Kristalle. Er wurde daher acetyliert und das rohe Acetatgemisch chromatographiert, worauf sich 50 mg eines äusserst schwer löslichen Acetats vom Smp. 295—297° (Zers.) isolieren liessen, das wir Acolongiflorosid-K-acetat nennen. Es war nach Smp., Mischprobe, spez. Drehung und H_2SO_4 -Färbung identisch mit dem in sehr kleiner Menge aus den Samen von *Acokanthera venenata* erhaltenen

¹⁾ Verhältnis der Volumina.

²⁾ Von A. Stoll, J. Renz & W. Kreis, Helv. **20**, 1484 (1937), zum Ausschütteln stark wasserlöslicher Glykoside empfohlen.

³⁾ Ouabain wird durch 5maliges Ausschütteln mit je demselben Volum Chloroform-Alkohol (2:1) einer wässrigen Lösung nur zu ca. 50% entzogen. Seine wässrige Lösung schmeckt zudem nicht bitter, so dass Ouabain, wenn es vorhanden wäre, bei obiger Aufarbeitung noch teilweise in der zuletzt verbliebenen wässrigen Phase enthalten und somit verlorengegangen wäre. Nach 50-proz. Sättigung mit Na_2SO_4 lässt sich Ouabain jedoch der wässrigen Lösung durch 5maliges Ausschütteln mit je demselben Volumen Chloroform-Alkohol (2:1) praktisch vollständig entziehen, etwas rascher mit Chloroform-Alkohol (3:2).

⁴⁾ D. P. Veldsmann, Journ. South Afr. Vet. Med. Assoc. **20**, 45 (1949); South African Industrial Chemist, **1949**, 144, 172, 217.

⁵⁾ J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 485 (1950).

Stoff, den wir dort Nebenprodukt 2 nannten¹⁾. Acovenosid-C-acetat¹⁾ konnte trotz Impfen aus diesen Gemischen nicht erhalten werden.

Aus dem Chloroform-Extrakt der Wurzelrinde liessen sich durch direkte Kristallisation 1,1 g Acovenosid A isolieren. Weiter wurden die Extrakte aus diesem Material noch nicht untersucht, besonders weil die Samen viel bessere Resultate lieferten.

Untersuchung der Samen.

Die Samen geben grössere Ausbeuten an Glykosiden, und die Trennung ist leichter. Die Extraktion nach Zerkleinern und Weichen mit Wasser geschah genau gleich wie bei *Acokanthera venenata* *S. Don*²⁾, nur dass auf eine Extraktion mit Äther verzichtet wurde. In drei Versuchen wurden die folgenden Ausbeuten an Rohextrakten erhalten, wobei in der letzten Kolonne auch die Ausbeute an Acovenosid A angegeben ist, soweit es aus dem Chloroform-Extrakt direkt auskristallisierte.

Versuchs-Nr.	Menge der Samen	Chloroform-extrakt	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt	krist. Acovenosid A aus Chloroformextrakt
1	1 kg	17,5 g = 1,75%	19,8 g = 1,98%	10,25 g = 1,025%
2	1,73 kg	43,0 g = 2,48%	27,6 g = 1,60%	20,4 g = 1,18%
3	0,58 kg	15,0 g = 2,59%	12,6 g = 2,17%	7,0 g = 1,21%

In Versuch 2 kristallisierte ein Teil des Acovenosid A bereits beim Einengen der alkoholisch-wässrigen Lösung nach der Bleifällung. Dieser Teil wurde daher vor dem Ausschütteln abfiltriert, was auf die Ausbeute keinen Einfluss hatte.

Da manche *Acokanthera*-Arten Ouabain enthalten, und da Ouabain sich aus wässriger Lösung mit Chloroform-Alkohol (2:1) nur ganz unvollständig ausschütteln lässt, wurde in Versuch 3 noch wie folgt besonders auf Ouabain geprüft³⁾. Die mit Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelte wässrige Lösung, die nicht mehr bitter schmeckte, aber mit *Raymond*-Reagens auf Papier noch einen deutlichen blavioletten Fleck gab⁴⁾, wurde im Vakuum stark eingengt und mit viel Alkohol versetzt, wobei reichliche

¹⁾ *K. Mohr & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 1239 (1951).

²⁾ *J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 485 (1950).

³⁾ Die wässrige Lösung von Ouabain schmeckt nicht bitter, so dass der Ouabaingehalt leicht übersehen werden kann. Zur Kontrolle ist die *Raymond*-Reaktion (Tüpfel auf Papier) geeignet.

⁴⁾ Lit. siehe *O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 108 (1951).

Mengen unlöslichen Materials ausfielen, das nach Ausreiben mit Alkohol keine *Raymond*-Reaktion mehr gab und verworfen wurde. Die alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab nach längerem Stehen in Methanol 23,8 g (= 4,1%) krist. Saccharose. Die Mutterlauge (6,3 g), die deutlich positive *Raymond*-Reaktion gab, wurde in wenig halbgesättigter Na_2SO_4 -Lösung aufgenommen und 6mal mit je 4fachem Volumen Chloroform-Alkohol-(3:2)-Gemisch ausgeschüttelt. Diese Auszüge wurden nun mit etwas halbgesättigter Na_2SO_4 -Lösung, der etwas feste Soda zugesetzt worden war, gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (430 mg) gab positive *Raymond*-Reaktion, lieferte aber aus wenig Wasser auch nach Impfen kein Ouabain¹⁾.

Untersuchung des Chloroform-Extrakts. Hauptbestandteil des Chloroform-Extrakts war auch hier wieder Acovenosid A, von dem die grösste Menge direkt auskristallisierte. Die Mutterlauge wurde an Al_2O_3 chromatographiert, wobei ausser weiteren Mengen von Acovenosid A noch kleine Mengen von 6 anderen kristallisierten Stoffen isoliert werden konnten, die wir als Substanz D, Acolongiflorosid E, Substanz F, Acolongiflorosid G, Acolongiflorosid H und Acolongiflorosid J bezeichnen. Sie werden weiter unten kurz besprochen²⁾. Ausserdem wurde aus den leichtest eluierbaren Anteilen noch etwas leicht ätherlösliche Kristalle vom Smp. 137—140° isoliert, die möglicherweise ein Phytosterin darstellen und die nicht weiter untersucht wurden.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extraktes. Dieser Extrakt gab direkt keine Kristalle. Er (19,8 g aus Versuch I) wurde daher acetyliert, worauf sich 6,35 g rohes Acolongiflorosid-K-acetat abscheiden liessen. Dieses schwerlösliche Acetat kristallisierte ausgezeichnet in farblosen Nadeln, Smp. 284—288° (Zers.) und war nach Eigenschaften und Mischprobe identisch mit dem analogen Stoff aus Stammrinde sowie mit dem aus *Acokanthera venenata* in Spuren erhaltenen Produkt³⁾. Es zeigte grösste Ähnlichkeit mit Ouabain-acetat, war aber sicher verschieden davon (vgl. exp. Teil). Acolongiflorosid-K-acetat war gegen CrO_3 in Eisessig bei 18° nicht beständig und wurde dabei zu einem Neutralstoff dehydriert, der bisher nicht kristallisierte.

Verseifung des Acetats mit KHCO_3 in wässrigem Methanol lieferte ein amorphes Präparat, das wir Acolongiflorosid K nennen,

¹⁾ Durch die beschriebene Methode lassen sich, wie in Vorversuchen ermittelt wurde, relativ kleine Mengen Ouabain aus Gemischen ausschütteln.

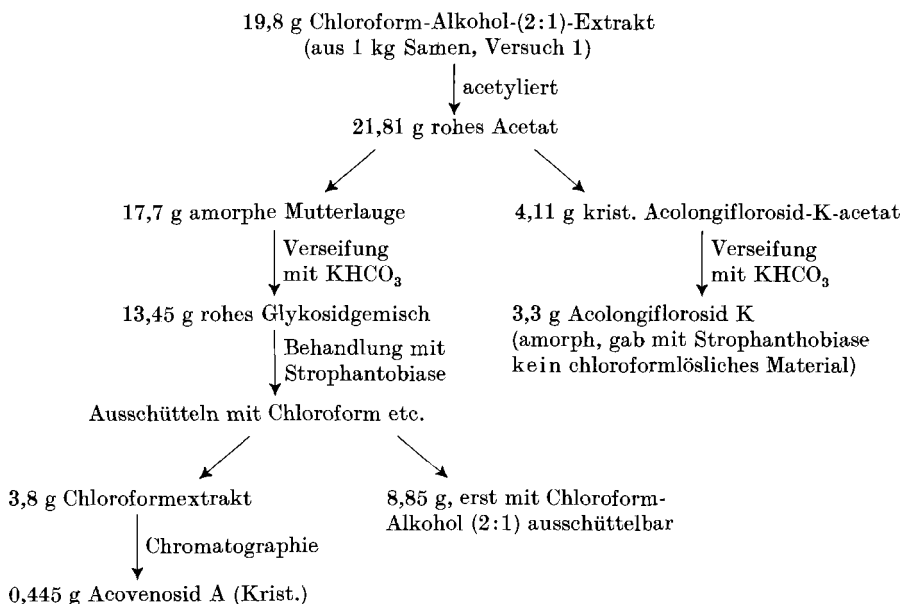
²⁾ Manche dieser Stoffe scheinen zuckerfrei zu sein. Da einzelne in verschiedenen *Acokanthera*-Arten vorkommen, sind durchgehende Buchstaben-Bezeichnungen gewählt worden, um Verwechslungen zu vermeiden.

³⁾ K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1239 (1951).

dessen Analysen auf die Formel $C_{29}H_{44}O_{12}$ passten und das an der Katze starke biologische Wirksamkeit zeigte (siehe Tabelle III). Es ist aber unsicher, ob das Präparat ganz acetylfrei war. Von Strophanthobiase wurde es offenbar nicht gespalten, da keine mit Chloroform ausschüttelbaren Stoffe entstanden. Auffallenderweise wurde bei der Reacetylierung des amorphen Verseifungsproduktes das krist. Acolongiflorosid-K-acetat nur in sehr schlechter Ausbeute zurückerhalten.

Aus den Mutterlaugen von Acolongiflorosid-K-acetat liessen sich auch niedriger schmelzende Kristalle erhalten, aber Acovenosid-C-acetat¹⁾ konnte daraus nicht isoliert werden. Trotzdem vermuten wir, dass etwas dieses Glykosids darin enthalten ist, wofür der folgende Versuch spricht. Die genannten, nach Abtrennung der Kristalle erhaltenen Acetat-Mutterlaugen (17,7 g) wurden mit $KHCO_3$ in wässrigem Methanol verseift, worauf 13,45 g mit Chloroform-Alkohol (2:1) ausschüttelbares Material resultierten. Diese wurden mit Strophanthobiase behandelt, worauf 3,8 g chloroformlösliches Material erhalten wurde, aus dem sich durch Chromatographie 0,445 g krist. Acovenosid A isolieren liessen.

Folgendes Schema gibt eine Übersicht über diese Versuche.



Die oben erwähnten neuen Stoffe aus dem Chloroformextrakt sind soweit wie möglich als Acetate charakterisiert worden. Nur bei Substanz F musste wegen Materialmangel auf die Acetylierung verzichtet werden. Subst. D war unter milden Bedingungen nicht acetylierbar, und das Acetat von Acolongiflorosid J kristallisierte bisher nicht.

¹⁾ K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1239 (1951).

Tabelle I.

Substanz	Ausbeute in %	Smp. (korr., Koffler-Block)	$[\alpha]_D$	Bitterer Geschmack	Wahrscheinlichste Formel	Acetyl- thoxy ¹⁾	Zucker- nachweis ¹⁾	Legal- Reaktion	Lauf- strecke ²⁾ in cm
Subst. D nicht acetylierbar	0,005	226—227°	+86,6 (Me)	—	$C_{23}H_{30}O_5$		—	rot	37
Acovenosid A . . .	1,21	222—223°	—63,1 (An)		$C_{30}H_{46}O_9$	0	+	rot	
Acetat		230—231°	—59,4 (An)	+	$C_{34}H_{50}O_{11}$				
Acolongiflorosid E .	0,007	257—260°	—36,2 (Me)	—	$C_{30}H_{44}O_8$		+	gelb	31
Acetat		248—250°	—22,2 (Chf)		$C_{34}H_{48}O_{10}$				
Subst. F	0,002	305—308°	+12,6 (Py—Me 1 : 1)	+	$C_{23}H_{30}O_9$		0	rot	22
Acolongiflorosid G .	0,03	277—283°	—22,0 (Me)	—	$C_{30}H_{46}O_9$	0	+	orange	18
Acetat		242—252°	—12,5 (An)		$C_{34}H_{50}O_{11}$				
Acolongiflorosid H .	0,1	230—235°	—67,2 (Me)	schwach	$C_{32}H_{48}O_{10}$	1	+	rot	15
Acetat		211—217°	—30,6 (Me)		$C_{36}H_{52}O_{12}$				
Acolongiflorosid J .	0,006	158—160°/ 260—288°	—69,7 (Me)	+	$C_{30}H_{46}O_{10}$		1	rot	4,2
Acetat		amorph							
Acolongiflorosid K .	0,41	amorph	—54,1 (Me)	schwach	$C_{29}H_{44}O_{12}$		+	orange	
Acetat		284—288° (Zers.)	—41,8 (Chf)		$C_{41}H_{56}O_{18}$		0		

¹⁾ Ausführungsform vgl. exp. Teil.²⁾ Nach 24 Std. im Papierchromatogramm (Formamid) mit Benzol-Chloroform-(5:7)-Gemisch bei 18°. (Die absoluten Werte schwanken und geben nur ein ungefähres Maß).

Tabelle II.

Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 .

Substanz	Im ersten Moment	Nach 1 Minute	Nach 20 Minuten	Nach 90 Minuten	Nach 4 Stunden
Subst. D	karminrosa	orange	orange-gelb mit grüngelber Fluoreszenz (über 3 Tage haltbar)		
Acovenosid A Acetat	citron	citron	citron	braun	violett
Acolongiflorosid E . . . Acetat	gelborange gelb	gelborange gelb	gelborange-rosa orange-gelb	farblos blässila	farblos fast farblos
Substanz F	farblos	rosa	rosa	hell-braun-rosa	schwach bräunlich
Acolongiflorosid G . . . Acetat	purpur rot	weinrot ocker	lila rötlich-ocker	hellviolett hell braungrau	hellgrau hellgrau
Acolongiflorosid H . . . Acetat	schwarzviolett rotbraun	violett-schwarz rotviolett	schwarzblau blauviolett	blaugrün ultramarin	grasgrün graublau
Acolongiflorosid J . . .	gelb	gelb	citron	citron	citron (hell)
Acolongiflorosid K . . . Acetat	farblos farblos	farblos farblos	farblos farblos	farblos farblos	farblos farblos

Die wichtigsten Eigenschaften der neuen Substanzen sind in der Tabelle I zusammengestellt, die teilweise charakteristischen Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 in Tabelle II; die UV.-Absorptionsspektren sind aus den Kurven ersichtlich. Als Bruttoformeln sind die wahrscheinlichsten Werte angegeben, doch können diese nicht als bewiesen gelten. Es scheint immerhin, dass es sich bei den Substanzen D und F um digitaloide Aglykone handelt, während bei den Acolongiflorosiden E, G, H, J und K Glykoside vorliegen dürften, wie dies in der Namengebung zum Ausdruck gebracht wurde.

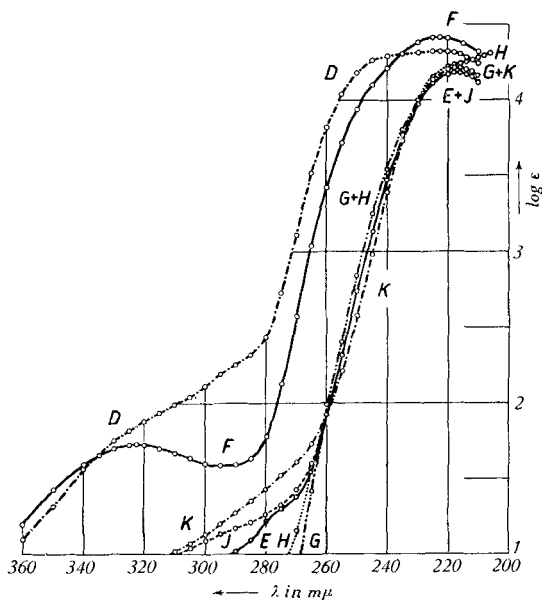


Fig. 1.

Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol¹⁾.

Kurve D = Substanz D. Maximum bei 222,5 mμ; $\log \epsilon = 4,32$, ber. auf $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (386,47)

Kurve E = Acolongiflorosid E. Maximum bei 217 mμ; $\log \epsilon = 4,18$, ber. auf $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{O}_8$ (530,64).

Kurve F = Substanz F. Maxima bei 222,5 mμ; $\log \epsilon = 4,41$ und 322,5 mμ; $\log \epsilon = 1,73$, ber. auf $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (402,47).

Kurve G = Acolongiflorosid G. Maximum bei 217 mμ; $\log \epsilon = 4,21$, ber. auf $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_9$ (550,67).

Kurve H = Acolongiflorosid-H-acetat bei 217 mμ; $\log \epsilon = \text{ca. } 4,23$, ber. auf $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$ (676,78).

Kurve J = Acolongiflorosid J. Maximum bei 217 mμ; $\log \epsilon = 4,19$, ber. auf $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$ (566,67).

Kurve K = Acolongiflorosid-K-acetat. Maximum bei 217 mμ; $\log \epsilon = 4,21$, ber. auf $\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{O}_{18}$ (836,86).

¹⁾ Aufgenommen von Herrn P. Zoller, Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel, mit einem Beckman-Quarz-Spektrophotometer Modell DU.

Die Absorptionsspektren von Subst. D und Subst. F sprechen dafür, dass sie ausser einem α, β -ungesättigten Lactonring noch eine α, β -ungesättigte Ketongruppierung enthalten. Anhydroperiplogenon¹⁾ zeigt z. B. ein sehr ähnliches Spektrum wie Subst. D, auch die Farb-reaktion mit 84-proz. H_2SO_4 ist auffallend ähnlich. Die Acolongifloroside E, G, J und K zeigen die für digitaloide Lactone charakteristischen Absorptionsspektren. Die Spektren von Acolongiflorosid H und H-acetat weichen von den anderen etwas ab, indem sie kein deutliches Maximum, sondern zunehmende Endabsorption zeigten, wobei allerdings eine deutliche Inflexion bei ca. 217 $m\mu$ sichtbar war. Spätere Versuche müssen zeigen, ob der Stoff eine im kurzwelligen Gebiet stark absorbierende Gruppierung enthält, die das normale Spektrum überlagert²⁾.

Herr Dr. *Chen* hatte die Freundlichkeit, die Wirksamkeit der zwei Acolongifloroside H und K an der Katze zu prüfen. Er fand die in Tabelle III angegebenen Werte; als Vergleich nochmals von ihm früher gefundene Resultate³⁾ für die Acovenoside A, B und C.

Tabelle III.

Glykosid	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg pro kg (Katze)
Acovenosid A		0,2357 \pm 0,0160
Acovenosid B	10	2,144 \pm 0,2637
Acovenosid C	10	0,2471 \pm 0,0160
Acolongiflorosid H . . .	10	0,2864 \pm 0,0163
Acolongiflorosid K . . .	10	0,1624 \pm 0,01599

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass *Acokanthera longiflora* genau wie *A. venenata* als Hauptbestandteil der schwer wasserlöslichen Glykoside Acovenosid A enthält. Während aber aus den wasserlöslichen Glykosiden von *A. venenata* als wesentlicher Bestandteil bisher nur Acovenosid C (und nur Spuren Acolongiflorosid K) isoliert werden konnten, gelang es, aus den leicht wasserlöslichen Glykosiden von *A. longiflora* bisher nur merkliche Mengen von Acolongiflorosid K zu erhalten. Da diese Teile nach enzymatischem Abbau mit Strophanthobiase aber kleine Mengen Acovenosid A lieferten, so besteht die Möglichkeit, dass sie auch etwas Acovenosid C enthalten haben.

Wir danken Herrn P.-D. Dr. *H. Dahn* bestens für seine Hilfe bei der Korrektur.

¹⁾ *H. Helfenberger & T. Reichstein*, siehe spätere Mitteilung.

²⁾ Auch eine stark absorbierende Verunreinigung ist möglich, obwohl das Acetat dieselbe Anomalie zeigte. Sowohl Acolongiflorosid H als das Acetat sind nicht ganz leicht zu reinigen.

³⁾ *J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 485 (1950).

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^{\circ}$, darüber etwa $\pm 3^{\circ}$. Substanzproben zur Drehung wurden eine Stunde im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Zur Analyse, wo nichts anderes erwähnt, 5 Std. im Hochvakuum über P_2O_5 bei 100° . Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von Wasser, Ausschütteln mit Chloroform (oder Äther), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen.

Prüfung auf Zucker¹⁾. 2 mg Substanz in kleinem Reagensglas ($0,8 \times 11$ cm) mit $0,1$ cm³ *Kiliani*-Mischung²⁾ 1 Std. auf 100° erhitzt. Dann wird im waagrecht gehaltenen Reagensglas im Vakuum bei 30° unter Schütteln vollständig eingedampft, der Rückstand mit $0,2$ cm³ Wasser aufgeköcht, abgekühlt und 4 mal mit je $0,5$ cm³ Chloroform ausgeschüttelt, wobei das Chloroform jedesmal mit einer Kapillarpipette entfernt wird.

Die verbleibende wässrige Lösung wird im Vakuum von Chloroformresten befreit, mit 1—2 Tropfen 2-n. NaOH bis zur eben alkalischen Reaktion auf Phenolphthalein und 2 Tropfen (ca. $0,08$ — $0,1$ cm³) frischer *Fehling*'scher Lösung versetzt und 2 Min. leicht gekocht. Es wird anschliessend 1 Std. ruhig stehengelassen. Als positiv wird deutlich sichtbare Abscheidung von CuO bezeichnet. Bei negativem Befund bleibt die Lösung blau, und es ist kein CuO am Boden sichtbar.

A. Untersuchung der Stammrinde.

Extraktion. 500 g Stammrinde wurden im Turmix (Wearing blender) mit 2 Litern Wasser fein zerkleinert, die Suspension mit 10 cm³ Toluol versetzt und 16 Std. verschlossen weichen gelassen. Dann wurden 2 Liter Alkohol zugesetzt und 1 Std. unter öfterem Rühren auf 40 — 50° erwärmt und scharf abgepresst. Der Rückstand wurde noch 3 mal analog mit je $1,5$ Litern wässrigem Alkohol mit von 60 auf 80% steigendem Alkoholgehalt extrahiert, worauf er nicht mehr bitter war und verworfen wurde.

Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum bei 50° Badtemperatur auf $0,8$ Liter eingengt, mit 1 Liter Alkohol und dem frisch aus 500 g Pb-Acetat-trihydrat bereiteten und mit etwas Alkohol angeschlammten $Pb(OH)_2$ versetzt und 1 Std. auf der Maschine geschüttelt. Dann wurden 20 g Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) eingerührt und durch eine Schicht Kieselgur abgenutscht und mit 50-proz. Alkohol nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit etwas verd. H_2SO_4 auf pH = 5 gestellt und im Vakuum bei 50° Badtemperatur auf 200 cm³ eingengt, wobei das pH ständig auf 5 gehalten wurde.

Die verbliebene Suspension wurde 2 mal mit je 1 Liter Petroläther ausgeschüttelt, wobei zur Brechung der Emulsion Alkohol zugegeben wurde. Die mit Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Petrolätherextrakte hinterliessen beim Eindampfen 2,36 g grünschwarzen Rückstand.

Die wässrig-alkoholische Phase wurde hierauf im Vakuum vom Alkohol befreit und 5 mal mit je 600 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge wurden nach dem Gegenstromprinzip der Reihe nach mit 50 cm³ Wasser, 50 cm³ n.-Sodalösung und 50 cm³ Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog $6,1$ g und war ein grünbraunes Harz.

Die verbliebene wässrige Phase wurde 4 mal mit je 600 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt, worauf sie nicht mehr bitter war und verworfen wurde. Die der Reihe nach wie oben gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 2,23 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Untersuchung des Chloroform-Extrakts. Die $6,1$ g Chloroformextrakt gaben aus Methanol-Äther 2 g rohes Acovenosid A. Dieses Rohkristalliat gab aus Methanol $1,76$ g analysenreines Acovenosid A in farblosen, sechseckig begrenzten, gestreckten Plättchen, Smp. 220 — 222° .

¹⁾ Ausgearbeitet von Herrn Dr. F. Reber.

²⁾ Gemisch von 3,5 Teilen Eisessig, 5,5 Teilen Wasser und 1 Teil konz. HCl. *H. Kiliani*, B. **63**, 2866 (1930).

Die Mutterlaugen der Rohkristalle (3,9 g) wurden an 100 g alkalifreiem Al_2O_3 nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten 300 cm^3 Lösungsmittel.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge	Habitus
1—2	Chloroform	1,64 g	Öl, ätherlöslich
3—11	Chloroform und Chloroform-Methanol (98:2)	1,54 g	teilw. krist.
12—20	Chloroform-Methanol von 2—50% Methanolgehalt	0,4 g	amorph

Die Fraktionen 3—11 gaben aus Methanol-Äther insgesamt 0,221 g Kristalle vom Smp. 202—228°. Nach Umkristallisieren aus Methanol-Äther Smp. 214—221; es lag unreines Acovenosid A vor.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. Die 2,23 g Material wurden mit 12 g abs. Pyridin und 9 g Acetanhydrid 16 Std. auf 32° erwärmt. Übliche Aufarbeitung (mit 400 cm^3 Chloroform-Äther) gab 2,9 g amorphes Rohprodukt, das an 60 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten 200 cm^3 Lösungsmittel.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Mengen	Habitus	Legal-Reaktion
1—5	Benzol und Benzol-Chloroform bis 20% Chf.	wenig	Öl, ätherlöslich	—
6—10	Benzol-Chloroform (1:1) und Chloroform	1,43 g	amorph unlösl. in Äther	rot
11—13	Chloroform und Chloroform-Methanol bis 5% Meth. . . .	0,4 g	Krist.	rot
14—17	Chloroform-Methanol von 5—75% Methanol	wenig	amorph	rötlich

Die Fraktionen 11—13 gaben aus Methanol-Äther 50 mg reines Acolongiflorosid-K-acetat in feinen Nadelchen vom Smp. 295—297° (Zers. und Braunfärbung). Dieser Stoff wird bei der Untersuchung der Samen genauer beschrieben.

Nachweis des Acovenosids A aus *Acokanthera longiflora* Stammrinde. Das Glykosid kristallisierte aus Methanol in den typischen, langgestreckten, sechseckig begrenzten Plättchen, Smp. 220—222°; $[\alpha]_D^{14} = -65,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,972$ in Aceton).

9,810 mg Subst. zu 1,0094 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = -0,64^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Mischprobe mit authentischem Material aus *A. venenata* schmolz gleich. Auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren genau gleich.

Nachweis der Identität von Acolongiflorosid-K-acetat aus Rinde und Samen. Das Präparat aus Stammrinde zeigte Smp. 295—297° (Zers.) und $[\alpha]_D^{15} = -46,6^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,9649$ in Chloroform).

9,740 mg Subst. zu 1,0094 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -0,43^\circ \pm 0,05^\circ$

Die Mischprobe mit dem Präparat aus Samen schmolz gleich, auch das Präparat aus Rinde zeigte mit 84-proz. H_2SO_4 keine Färbung.

B. Untersuchung der Wurzelrinde.

500 g Wurzelrinde wurden genau wie oben extrahiert und gaben 1,61 g braunen Petrolätherextrakt, 5,8 g gelbbraunen Chloroformextrakt und 2,6 g hellbraunen Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Der Chloroformextrakt gab aus Methanol-Äther 1,1 g Kristalle. Diese lieferten nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol farblose Blättchen, Smp. 220—222°; $[\alpha]_D^{15} = -63,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,941$ in Aceton).

9,500 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{15} = -0,60^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Mischprobe mit Acovenosid A schmolz gleich, auch die Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 war gleich. Die Mutterlauge der Kristalle wurde nicht untersucht, auch der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt vorläufig nicht.

C. Untersuchung der Samen.

Versuch 1.

1 kg frische Kerne wurden in der Fleischhackmaschine grob gemahlen¹⁾, mit 1,5 Liter Wasser und 5 cm^3 Toluol vermischt und 20 Std. bei 20° weichengelassen; dann wurde mit 1,5 Litern Alkohol versetzt, 2 Std. bei 50° gerührt und scharf abgepresst. Der Rückstand wurde noch zweimal mit je 1,5 Litern 65-proz. und 95-proz. Alkohol analog extrahiert. Der Rückstand wurde nunmehr getrocknet, zuerst in der Schlagmühle, dann in der Kaffeemühle fein pulverisiert und erneut wie oben mit Wasser geweicht und anschliessend 3mal mit wässrigem Alkohol (von 50 bis 75% Alkoholgehalt, ansteigend) extrahiert, worauf er nicht mehr bitter war und verworfen wurde.

Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum bei 50° auf 1 Liter eingengt, mit 1 Liter Alkohol verdünnt, mit dem frisch aus 1 kg Pb-Acetat-trihydrat gefällten und mit etwas Alkohol angeschlammten $\text{Pb}(\text{OH})_2$ versetzt und 20 Min. geschüttelt. Dann wurden 200 g Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) eingeührt, durch eine Schicht Kieselgur abgenutscht und mit 50-proz. Alkohol nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden mit verd. H_2SO_4 auf pH = 5 gestellt und unter Einhaltung dieses pH bei 50° im Vakuum auf 300 cm^3 eingengt. Dieses Konzentrat wurde zuerst 4mal mit je 1 Liter Chloroform, dann 6mal mit je 1 Liter Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach noch 3 Scheidetrichter mit 30 cm^3 Wasser, 30 cm^3 2-n. Sodalösung und 30 cm^3 Wasser, wo sie (im Gegenstromprinzip) ausgeschüttelt wurden. Die wässrige Phase war nicht mehr bitter und wurde bei diesem Versuch verworfen. Die über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 17,5 g Chloroform-Extrakt als hellbraunes, stark bitter schmeckendes Harz sowie 19,8 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt, der blassgelb gefärbt war und ebenfalls stark bitter schmeckte.

Untersuchung des Chloroformextraktes. Die 17,5 g (aus Versuch 1) gaben aus Methanol-Äther 10,25 g krist. rohes Acovenosid A. Die Mutterlaugen (7,2 g) wurden an 200 g alkalifreiem Al_2O_3 nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Für jede Fraktion dienten 600 cm^3 Lösungsmittel.

Fraktion 2 lieferte aus Methanol etwas farblose Blättchen, Smp. 137—140°. Das Produkt war in Äther leicht löslich und gab mit 84-proz. H_2SO_4 keine Färbung; es wurde daher nicht weiter untersucht.

Die Fraktionen 3—6 gaben aus Äther Drusen vom Smp. 188—200°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther, dann aus reinem Aceton wurden Nadelchen vom Smp. 252—260° erhalten. Sie waren sehr löslich in Methanol, mässig in Aceton, schwer löslich in Äther. Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 : rotorange (im ersten Moment), orange (1'), hell rosa-braun (60'), hellgrau (3 Std.). Wahrscheinlich lag ein Gemisch der Substanzen D, E und F vor.

¹⁾ Bei getrockneten Kernen gelingt dies nicht, sie müssen zuerst in Wasser geweicht werden.

Frak- tions- nummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		Menge in g	Habitus	Legal- Reaktion
1	Benzol-Chloroform (3:1)	0,266	Öl, ätherlösl.	–
2	„ „ (1:1)	0,373	Öl, ätherlösl. + wenig Krist.	–
3	„ „ (1:1)	wenig	Krist. } Gemisch	–
4–6	Chloroform	wenig	Krist. } (D + E + F) ?	+
7	Chloroform-Methanol (98:2)	3,85	Krist. A + G + H	+
8–9	„ „ (98:2)–(95:5)	1,27	nach Impfen J	+
10–11	„ „ (95:5)–(80:20)	0,396	amorph	+

Fraktion 7 gab aus Methanol-Äther zuerst 320 mg rohes Acovenosid A vom Smp. 204–211°, die Mutterlauge aus Aceton-Äther nach 3 Tagen 320 mg rohes Acolongiflorosid G vom Smp. 200–256°, die Mutterlauge aus Methanol-Äther nach 3 Tagen wieder 183 mg rohes Acovenosid A vom Smp. 203–211°, die Mutterlauge aus Aceton-Äther fast momentan 1 g Acolongiflorosid H vom Smp. 230–234° und die nunmehr verbliebene Mutterlauge aus Methanol-Äther nach 6 Std. nochmals 87 mg rohes Acovenosid A vom Smp. 202–214°.

Die Fraktionen 8–9 gaben aus Aceton-Äther nach Impfen¹⁾ 75 mg Acolongiflorosid J vom Doppel-Smp. 160–164/260–284°.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. Die 19,8 g Material (aus Versuch 1) wurden in 90 cm³ abs. Pyridin und 60 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 32° erwärmt. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther gab 21,81 g rohes Acetatgemisch. Aus Chloroform-Äther oder Methanol-Äther 6,35 g rohes Acolongiflorosid-K-acetat vom Smp. 252–282° (Zers.). Dieses schied sich teilweise bereits während der Aufarbeitung ab. Untersuchung der Mutterlauge (17,7 g) siehe unten.

Verseifung und enzymatische Spaltung der Mutterlauge. Von den 17,7 g Acolongiflorosid-K-acetat-Mutterlaugen wurden 10 g entnommen, in 400 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 13,5 g KHCO₃ in 300 cm³ Wasser versetzt und 10 Tage bei 20° stehengelassen. Eindampfen im Vakuum auf 100 cm³, 4mal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt, wie üblich gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wog 7,6 g. Dieser wurde in 50 cm³ Wasser gelöst, mit 2,5 g Strophanthobiase-Präparat²⁾ und 10 Tropfen Toluol versetzt und 7 Tage bei 34° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf 25 cm³ eingengt, mit 500 cm³ abs. Alkohol versetzt, filtriert und das Filtrat wieder auf 25 cm³ eingengt, mit 25 cm³ Wasser versetzt und nochmals im Vakuum von allen Alkoholresten befreit. Dann wurde 3mal mit je 300 cm³ Chloroform, 4mal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol (9:1) und 3mal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Erhalten wurden 2,15 Chloroformauszug, 2,20 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt und 0,62 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Der Chloroform-Extrakt (2,15 g) wurde an 60 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Chloroform-Methanol (98:2) eluierbaren Anteile (0,350 g) gaben aus Aceton, dann aus Methanol 0,251 g reines Acovenosid A in hexagonalen Blättchen vom Smp. 221–223° (Mischprobe, Farbreaktion mit H₂SO₄).

Der Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt gab auch nach Chromatographie keine Kristalle.

¹⁾ Die ersten Kristalle von Subst. J wurden aus analogen Fraktionen von Versuch 2 erhalten.

²⁾ Vgl. J. Schmutz & T. Reichstein, *Pharmac. acta Helv.* **22**, 359 (1947).

Versuch 2.

Eine zweite Probe (1,73 kg) derselben Samen (Ernte 6. 4. 50) wurden im Juni 1950 analog extrahiert (sie waren leicht schimmelig) und gaben 43,0 g Chloroform-Extrakt und 27,6 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Untersuchung des Chloroform-Extrakts. Die 43,0 g Chloroform-Extrakt gaben 20,4 g krist. Acovenosid A. Die Mutterlaugen (22,6 g) wurden an 560 g alkali-freiem Al_2O_3 chromatographiert. Für jede Fraktion diente 1 Liter Lösungsmittel.

Fraktions- nummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in g	Habitus
1—2	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	wenig	Öl
3—4	„ „ (1:1) . . .	„	„
5	Chloroform	0,140	krist.
6	„	wenig	„
7	Chloroform-Methanol (99:1) .	0,297	krist.
8	„ „ (98:2) .	3,537	„
9	„ „ (98:2) .	3,438	„
10	„ „ (95:5) .	2,220	„
11	„ „ (95:5) .	0,911	„
12	„ „ (95:5) .	0,235	amorph
13—14	„ „ (90:10) .	„	„
15	„ „ (70:30) .	„	„
16	Gemisch ¹⁾ + 2% Eisessig . . .	„	„

Die Fraktionen 3—5 gaben aus Methanol und aus Äther farblose Blättchen, Smp. 138—140°. Legal-Reaktion negativ, mit 84-proz. H_2SO_4 keine Färbung. Nicht untersucht.

Fraktion 7 gab aus Methanol-Äther 93 mg Substanz D in farblosen Pyramiden mit Doppel-Smp. 160°/228—232°.

Fraktion 8 gab aus Methanol-Äther noch etwas rohes Acovenosid A vom Smp. 185—218°. Die Mutterlauge lieferte aus Aceton-Äther 150 mg Kristalle vom Smp. 228—278°, die sich als Gemisch der Substanzen E und F erwiesen.

Fraktion 9 gab aus Chloroform weiteres Acovenosid A, die Mutterlauge aus Methanol-Äther nochmals Kristalle desselben Stoffes (aus den Fraktionen 8 u. 9 zusammen 1,59 g vom Smp. 217—221°). Die Mutterlauge (1,848 g) gab aus Aceton-Äther 190 mg Kristalle, die sich als Gemisch von Acolongiflorosid G und H erwiesen. Umkristallisieren aus Methanol-Äther, Aceton und Methanol gab schliesslich 98 mg Acolongiflorosid G vom Smp. 277—283°.

Die Fraktionen 10 und 11 gaben aus Aceton-Äther insgesamt 100 mg Acolongiflorosid J in Nadeln vom Doppel-Smp. 150—160°/260°.

Die Fraktionen 12—16 gaben bisher keine Kristalle.

Trennung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. Die 27,6 g Material wurden wie in Versuch 1 acetyliert und gaben 30,5 g rohes Acetat und daraus 5,5 g krist. Acolongiflorosid-K-acetat.

Versuch 3.

580 g gleiche Samen wurden analog extrahiert und gaben 15,0 g rohen Chloroform-Extrakt und 12,6 g rohen Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die extrahierte, nicht mehr bittere wässrige Phase wurde im Vakuum zur breiigen Konsistenz eingengt und mit 500 cm³ 95-proz. Alkohol energisch durchgeschüttelt. Nach

¹⁾ Gemisch gleicher Teile Chloroform, Methanol und Äthylacetat.

Absetzen wurde die klare alkoholische Lösung abgegossen und der Rückstand mit 300 cm³ heissem abs. Alkohol energisch durchgeschüttelt. Nach Absetzen wurde wieder abgegossen. Der in Alkohol unlösliche Rückstand gab bei der Tüpfelprobe auf Papier bei der *Raymond*-Reaktion keine Färbung und wurde verworfen.

Die vereinigten alkoholischen Lösungen (*Raymond*-Reaktion positiv, violettblau) wurden im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (31,1 g) gab aus Methanol 23,8 g (= 4,1%) krist. Saccharose vom Smp. 178–179°. — Die Mutterlaugen wurden eingedampft, der Rückstand (6,3 g) in 20 cm³ Wasser gelöst, mit 20 cm³ kalt gesättigter Na₂SO₄-Lösung versetzt und 7mal mit je 40 cm³ Chloroform-Alkohol-(3:2)-Gemisch ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden je einmal mit 5 cm³ halbgesättigter Na₂SO₄-Lösung, der 0,5 g festes KHCO₃ zugesetzt waren, sowie mit 5 cm³ halbgesättigter Na₂SO₄-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der braune Rückstand wog 0,43 g und gab bei der *Raymond*-Reaktion auf Papier mit 0,05 mg einen blauschwarzen und mit 0,01 mg noch einen schwach graublauen Fleck. Er wurde in 2 cm³ Wasser aufgenommen und die trübe, schwach bitter und adstringierend schmeckende Lösung mit Ouabain geimpft und bei 0° stehengelassen. Bisher wurden keine Kristalle erhalten.

Die neuen Substanzen.

Substanz D. Rohprodukt vom Doppel-Smp. 160°/228–232° gab nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol farblose Doppel-Pyramiden mit rhombischer bis rechteckiger Grundfläche. Sie wurden beim Erhitzen bei ca. 140° opak und zeigten Smp. 226–227°; $[\alpha]_D^{18} = +86,6 \pm 2^\circ$ ($c = 0,9926$ in Methanol).

10,019 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,86 \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Std. im H.V. über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen (Verlust 1,04; 5,39%).

3,540 mg Subst. gaben 9,251 mg CO₂ und 2,571 mg H₂O (OAB)

3,549 mg Subst. gaben 9,34 mg CO₂ und 2,49 mg H₂O (S.W.)

C₂₃H₃₀O₅ (386,47) Ber. C 71,48 H 7,83% Gef. C 71,32; 71,82 H 8,13; 7,85%

Der Stoff war frei von Methoxyl (OAB), gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. *Legal*-Reaktion: positiv (rot). UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil. Sehr charakteristisch ist die Färbung mit 84-proz. H₂SO₄: intensiv orangegelb mit grüner Fluoreszenz über 3 Tage anhaltend. Anhydroperiplogenon¹⁾ zeigte eine ähnliche, jedoch weniger intensive Färbung. Im Papierchromatogramm²⁾ zeigte das Präparat nur einen Fleck. Bewegliche Phase Benzol-Chloroform (5:7) ergab nach 24 Std. eine Laufstrecke von über 37 cm.

Acetylierungsversuch. 20 mg Subst. D in 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 34° und noch ½ Std. auf 60° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 22 mg Rohprodukt. Aus Chloroform-Äther Prismen mit Doppel-Smp. 130–140°/226–228°. Aus Methanol Doppelprismen, opak bei 140°, Smp. 224–227°. Nach Mischprobe und H₂SO₄-Färbung identisch mit Ausgangsmaterial.

Acolongiflorosid E. Aus Aceton-Äther flache Nadeln oder dünne Plättchen, Smp. 257–260°; $[\alpha]_D^{17} = -36,2 \pm 3^\circ$ ($c = 0,7047$ in Methanol).

7,113 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,255 \pm 0,02^\circ$.

Zur Analyse wurde 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen, Gewichtsverlust 4,79% (S.W.).

3,122 mg Subst. gaben 7,77 mg CO₂ und 2,35 mg H₂O (S.W.)

3,262 mg Subst. verbr. 1,85 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (S.W.)

C₃₀H₄₂O₈ (530,64) Ber. C 67,90 H 7,98 —OCH₃ 5,84%

C₃₀H₄₄O₈ (532,65) „ „ 67,64 „ 8,33 „ 5,83%

Gef. „ 67,90 „ 7,95 „ 5,88%

¹⁾ H. Helfenberger & T. Reichstein, siehe spätere Mitteilung.

²⁾ Ausführung wie bei O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 108 (1951), beschrieben.

Aus Methanol-Äther kristallisierte Acolongiflorosid E auch beim Impfen nicht, sondern erst bei fast völligem Verdampfen der Lösung. Aus Aceton schied es sich nur aus relativ konzentrierter Lösung aus.

Tetranitromethan gab keine Gelbfärbung. *Legal*-Reaktion: positiv (gelb). UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil. Bei der Chromatographie auf Formamid-Papier wurde nur 1 Fleck erhalten. Laufstrecke mit Benzol-Chloroform (5:7) nach 24 Std. 31 cm. Acolongiflorosid E war fast geschmacklos.

Acetat. 37 mg Acolongiflorosid E vom Smp. 257—260° wurden in 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 34° und ½ Std. auf 60° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 45 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther, dann 2 mal aus Methanol kristallisierten feine, farblose Nadeln, Smp. 248—250°; $[\alpha]_D^{18} = -26,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,109$ in Chloroform)¹⁾.

11,192 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,295^\circ \pm 0,03^\circ$

In Aceton wurde Mutarotation beobachtet: $[\alpha]_D^{19} = +15,2^\circ \pm 2^\circ$ (nach 10 Minuten); $-22,2^\circ \pm 2^\circ$ (nach 2½ Std.) ($c = 0,9892$ in Aceton).

9,985 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,15^\circ$ (10'), $+0,10^\circ$ (12'), $+0,02^\circ$ (15'), $-0,17^\circ$ (30'), $-0,19^\circ$ (1 Std.), $-0,22^\circ$ (2½ Std.).

Das von der Drehung regenerierte Material zeigte nach Umkristallisieren aus Methanol wieder Smp. 249—250°.

Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° und 0,01 Torr getrocknet und im Schweinchen eingewogen. Gewichtsverlust 3,75% (*S.W.*).

2,952 mg Subst. gaben 7,24 mg CO₂ und 2,13 mg H₂O (*S.W.*)

C₃₂H₄₆O₉ (574,69) Ber. C 66,87 H 8,07% Gef. C 66,88 H 8,06%

C₃₄H₄₈O₁₀ (616,72) „ „ 66,21 „ 7,84%

Die Mischprobe mit Acolongiflorosid E schmolz bei 220—250°.

Substanz F. Aus Methanol farblose Blättchen oder Schuppen, Smp. 292—296° (Zers.). Zur Analyse diente eine Spitzenfraktion vom Smp. 305—308° (Zers.); $[\alpha]_D^{19} = +12,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,876$ in Pyridin-Methanol 1:1).

8,842 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,11^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 4 Std. bei 100° und 0,01 Torr getrocknet und im Schweinchen eingewogen (Gewichtsverlust 0,80%).

3,829 mg Subst. gaben 9,68 mg CO₂ und 2,58 mg H₂O (*S.W.*)

2,362 mg Subst. verbr. 0,05 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (*Zeisel-Vieböck*) (*S.W.*)

C₂₃H₃₀O₆ (402,47) Ber. C 68,75 H 7,52% Gef. C 69,01 H 7,54%

Die Substanz war methoxylfrei. Sie gab mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Die *Legal*-Reaktion war rot. UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil. Subst. F ist in heissem Methanol gut löslich, wenig löslich in Aceton. Im Chromatogramm auf Formamid-Papier wurde nur ein Fleck erhalten. Laufstrecke mit Benzol-Chloroform (5:7) nach 24 Std. 22 cm.

Wegen Materialmangel konnte kein Acetat bereitet werden.

Acolongiflorosid G: Präparat a. Die 320 mg Rohkristalle (aus Versuch 1) wurden nochmals aus reinem Aceton kristallisiert und gaben 80 mg lange Nadeln, die sich mit H₂SO₄ nicht mehr violett färbten (Test auf Acolongiflorosid H). Smp. 264—268°; $[\alpha]_D^{25} = -24,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,014$ in Methanol).

10,231 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{25} = -0,245^\circ \pm 0,02^\circ$

¹⁾ Wert unsicher, die Lösung trübte sich.

Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen, Gewichtsverlust 5,34; 5,43 und 4,89% (*S.W.*).

3,102 mg Subst. gaben 7,57 mg CO ₂ und 2,40 mg H ₂ O (<i>S.W.</i>)				
2,979 mg Subst. gaben 7,26 mg CO ₂ und 2,27 mg H ₂ O (<i>S.W.</i>)				
2,636 mg Subst. verbr. 1,444 cm ³ 0,02-n. Na ₂ S ₂ O ₃ (<i>Zeisel-Vieböck</i>) (OAB)				
3,680 mg Subst. verbr. 2,035 cm ³ 0,02-n. Na ₂ S ₂ O ₃ (<i>Zeisel-Vieböck</i>) (<i>S.W.</i>)				
C ₃₀ H ₄₆ O ₉ (550,67)	Ber. C 65,43	H 8,42	—OCH ₃	5,63%
C ₃₂ H ₄₈ O ₉ (576,70)	„ „ 66,99	„ 8,39	„	5,38%
C ₂₄ H ₃₆ O ₇ (436,53)	„ „ 66,08	„ 8,35	„	7,12%
Gef. „ 66,60; 66,50	„ 8,65; 8,53	„	5,67; 5,72%	

Legal-Reaktion: positiv (orangerot). Mit Tetranitromethan wurde keine Gelbfärbung beobachtet. UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil. Der Stoff war praktisch geschmacklos. Im Chromatogramm auf Formamid-Papier wurde nur 1 Fleck erhalten. Mit Chloroform-Benzol (5:7) Laufstrecke nach 24 Std. 18 cm.

Präparat b. Das Material aus Versuch 2 wurde aus Methanol umkristallisiert. Prismen oder kurze Nadeln, Smp. 277—283°; $[\alpha]_D^{20} = -22,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,025$ in Methanol).

10,346 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,225^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse Trocknung 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅. Einwage im Schweinchen. Gewichtsverlust 0,61% (*S.W.*).

3,608 mg Subst. gaben 8,72 mg CO₂ und 2,72 mg H₂O (*S.W.*)
 4,858 mg Subst. verbr. 0,28 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (*S.W.*)
 Gef. C 65,98 H 8,44 CH₃CO 2,48%

Substanz also voraussichtlich acetylfrei.

Acetat. 300 mg unreines Acolongiflorosid G vom Smp. 269—276° (das noch Acolongiflorosid H enthielt und mit H₂SO₄ Violettfärbung gab) wurden mit 1,8 cm³ abs. Pyridin und 1,2 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 32° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 344 mg rohes Acetat. Zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther, dann aus Methanol gab Nadeln vom Smp. 242—252°; $[\alpha]_D^{22} = -12,5^\circ \pm 2,5^\circ$ ($c = 0,876$ in Aceton).

8,844 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = -0,11^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet, Gewichtsverlust 2,64%; 3,38% (*S.W.*).

3,543 mg Subst. gaben 8,42 mg CO₂ und 2,58 mg H₂O (*S.W.*)
 3,662 mg Subst. gaben 8,77 mg CO₂ und 2,67 mg H₂O (*S.W.*)
 C₃₂H₄₈O₁₀ (592,70) Ber. C 64,84 H 8,16% Gef. C 64,85; 65,35 H 8,15; 8,16%
 C₃₄H₅₀O₁₁ (634,74) „ „ 64,33 „ 7,94%

Mit 84-proz. H₂SO₄ wurden die folgenden Färbungen erhalten: rot (1—3''), gelbbraun (3''), hellocker (5'), hell rötlichbraun (30'), hell-braungrau (90'), hellgrau (3 Std.).

Eine Probe (50 mg) reines Acolongiflorosid G vom Smp. 264—268° wurde ebenfalls acetyliert und gab ein Acetat, das genau gleich schmolz und dieselbe H₂SO₄-Färbung zeigte.

Acolongiflorosid H. Die ca. 1 g Rohkristalle (aus Versuch 1) wurden in Methanol (oder Dioxan) gelöst, die filtrierte Lösung im Vakuum sehr stark eingengt und der Rückstand in Aceton aufgenommen, worauf sich ein feines Kristallpulver ausschied. Nach zweimaliger Wiederholung zeigte das Pulver den Smp. 230—235°; $[\alpha]_D^{25} = -67,2^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 1,0034$ in Methanol).

10,128 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{25} = -0,675^\circ \pm 0,04^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen. Gewichtsverlust 1,10; 1,22; 1,76 und 1,64%.

3,596 mg Subst. gaben 8,382 mg CO₂ und 2,651 mg H₂O (OAB)
 3,085 mg Subst. gaben 7,28 mg CO₂ und 2,22 mg H₂O (S.W.)
 2,682 mg Subst. gaben 6,35 mg CO₂ und 1,89 mg H₂O (S.W.)
 2,902 mg Subst. verbr. 1,609 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)
 5,140 mg Subst. verbr. 2,62 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (S.W.)
 8,681 mg Subst. verbr. 1,69 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (S.W.)

C₃₂H₄₆O₁₀ (590,69) Ber. C 65,15 H 7,85 —OCH₃ 5,48 CH₃CO 7,16%

C₃₂H₄₈O₁₀ (592,70) „ „ 64,84 „ 8,16 „ 5,24 „ 7,25%

Gef. C 63,61; 64,39; 64,61 H 8,24; 8,05; 7,89 —OCH₃ 5,73; 5,26 CH₃CO 8,41%

Acolongiflorosid H gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung¹⁾. Es schmeckte schwach bitter. Legal-Reaktion: positiv (rot). Bei der Keller-Kiliani-Reaktion²⁾ wurde eine Blaufärbung erhalten, die aber von der H₂SO₄ allein hervorgerufen wird. Dieselbe Färbung entsteht, wenn dem Reagens kein Fe(III)-Salz zugesetzt wird. Das UV.-Absorptionsspektrum war gleich wie beim Acetat (siehe theoret. Teil) und zeigte kein eigentliches Maximum, sondern ansteigende Endabsorption. Im Chromatogramm auf Formamid-Papier wurde nur 1 Fleck erhalten. Laufstrecke mit Benzol-Chloroform (5:7) nach 24 Std. 15 cm. Für Acolongiflorosid H ist die äusserst intensive schwarzblaue Färbung mit 84-proz. H₂SO₄ charakteristisch (siehe Tabelle theoret. Teil).

Acetat. 157 mg Acolongiflorosid H vom Smp. 228—240° wurden mit 1,2 cm³ abs. Pyridin und 0,8 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 36° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 180 mg rohes Acetat. Es war in Methanol, Aceton und Benzol leicht löslich und gab auch aus reinem Äther nur spärliche Kristalle. Dagegen kristallisierte es gut aus Methanol-Wasser (ca. 2:1) in farblosen Nadeln. Smp. 211—217°; $[\alpha]_D^{19} = -30,6^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,080 in Methanol).

10,901 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,33^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet. Gewichtsverlust 1,55; 2,29%.

4,251 mg Subst. gaben 10,010 mg CO₂ und 2,970 mg H₂O (OAB)

3,887 mg Subst. gaben 9,113 mg CO₂ und 2,718 mg H₂O (A.P.)

C₃₆H₅₂O₁₂ (676,78) Ber. C 63,89 H 7,74%

C₃₆H₅₀O₁₂ (674,76) „ „ 64,08 „ 7,43%

Gef. „ 64,26; 63,98 „ 7,82; 7,82%

Acolongiflorosid-H-acetat gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Das UV.-Absorptionsspektrum (siehe theoret. Teil) zeigte kein eigentliches Maximum, sondern unter 217 mμ steigende Endabsorption. Diese könnte auch durch Spuren einer Verunreinigung hervorgerufen sein, da sich sowohl das Glykosid wie das Acetat nicht ganz reinigen liessen.

Acolongiflorosid J. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton gab Nadelchen mit Doppel-Smp. 158—160°/260—280°. Erstarren trat meistens gegen 230° ein. $[\alpha]_D^{18} = -69,7^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,975 in Methanol).

9,845 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,68^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet. Einwägen im Schweinchen. Gewichtsverlust 3,22; 4,04; 5,43%.

3,513 mg Subst. gaben 7,963 mg CO₂ und 2,622 mg H₂O (OAB)

3,615 mg Subst. gaben 8,47 mg CO₂ und 2,56 mg H₂O (S.W.)

2,978 mg Subst. gaben 6,97 mg CO₂ und 2,16 mg H₂O (S.W.)

2,749 mg Subst. verbr. 1,620 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

3,150 mg Subst. verbr. 1,61 cm³ 0,02-n. Na₂S₂O₃ (Zeisel-Vieböck) (S.W.)

C₃₀H₄₆O₁₀ (566,67) Ber. C 63,58 H 8,18 —OCH₃ 5,48%

Gef. „ 61,86; 63,94; 63,92 „ 8,35; 7,94; 8,11 „ 6,09; 5,30%

¹⁾ Es ist die einzige der hier beschriebenen Substanzen, die mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung gab.

²⁾ Ausführungsform nach J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. 31, 883 (1948).

Acolongiflorosid J schmeckte stark bitter und gab eine positive (rote) *Legal*-Reaktion. Leicht löslich in Methanol, schwer in Aceton. Mit Tetranitromethan wurde keine Gelbfärbung erhalten. UV.-Spektren siehe theoret. Teil. Im Chromatogramm auf Formamid-Papier wurde nur ein Fleck erhalten. Laufstrecke mit Benzol-Chloroform (5:7) nach 24 Std. 4,2 cm.

Acetat. 49 mg nicht ganz reines Acolongiflorosid J (2mal aus Aceton kristallisiert, aber H_2SO_4 -Reaktion noch etwas braungelb) wurden mit 0,3 cm³ abs. Pyridin und 0,2 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 34° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 57 mg Rohprodukt, das bisher nicht kristallisierte.

Acolongiflorosid-K-acetat. Das Rohprodukt (Smp. 252—282°) gab aus Chloroform-Äther, dann aus Chloroform-Methanol farblose feine Nadeln, Smp. 284—288° (Zers.). Die Spitzenfraktion (etwas gröbere Kristalle) zeigte Smp. 294—302° (Zers. unter Braunfärbung); $[\alpha]_{\text{D}}^{18} = -41,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9209$ in Chloroform).

9,295 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{18} = -0,385^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P_2O_5 getrocknet, Gewichtsverlust 0—1,26%.

4,223 mg Subst. gaben 9,044 mg CO_2 und 2,570 mg H_2O (OAB)

4,009 mg Subst. gaben 8,570 mg CO_2 und 2,495 mg H_2O (OAB)

3,135 mg Subst. gaben 6,81 mg CO_2 und 1,98 mg H_2O (S.W.)

4,730 mg Subst. verbr. 0,29 cm³ 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

3,900 mg Subst. verbr. 0,299 cm³ 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (OAB)

3,826 mg Subst. verbr. 0,06 cm³ 0,02-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (S.W.)

$\text{C}_{41}\text{H}_{56}\text{O}_{18}$ (836,86) Ber. C 58,85 H 6,74%

$\text{C}_{47}\text{H}_{60}\text{O}_{20}$ (951,00) „ „ 59,35 „ 6,99%

Gef. C 58,44; 58,33; 59,28 H 6,81; 6,96; 7,07%

Die Substanz ist methoxylfrei. *Legal*-Reaktion: hellorange. UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil. Acolongiflorosid-K-acetat bleibt mit 84-proz. H_2SO_4 völlig farblos. In Chloroform ist es mässig löslich, in Methanol sehr schwer.

*Vergleich mit Ouabain-acetat*¹⁾. Zum Vergleich wurde 1 g käufliches Ouabain²⁾ mit Pyridin-Acetanhydrid acetyliert. Das Rohprodukt (1,26 g) gab aus wenig Methanol nur 350 mg Kristalle. Sie kristallisierten langsam in Körnern, Smp. 299—304° (Zers. ohne Verfärbung). $[\alpha]_{\text{D}}^{16} = -43,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,004$ in Chloroform).

10,138 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{16} = -0,44^\circ \pm 0,03^\circ$

Die Mischprobe mit Acolongiflorosid-K-acetat schmolz bei 270—294°.

Ouabain-acetat gab mit 84-proz. H_2SO_4 zuerst eine farblose Lösung, die sich nach 5—10 Min. leicht bräunlich, später grau und schliesslich schwach grünlich färbte. In Chloroform war es sehr leicht, in Methanol ziemlich schwer löslich.

Dehydrierung mit CrO_3 . 300 mg reines Acolongiflorosid-K-acetat vom Smp. 284—288° (Zers.) wurden in 5 cm³ reinstem Eisessig gelöst und bei 18° mit 1,2 cm³ 2-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung (= 24 mg CrO_3 entspr. 0,67 Mol) versetzt. Nach 1 Std. war das CrO_3 verbraucht, worauf noch 1,2 cm³ derselben Lösung (= 24 mg CrO_3) zugesetzt wurden. Nach 4 Std. war noch CrO_3 nachweisbar. Es wurde mit 0,5 cm³ Methanol versetzt und 6 Std. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Chloroform) gab 259 mg neutrale Anteile. Diese waren gut löslich in Methanol, Chloroform und Aceton, schwer löslich in Äther und Wasser. Es konnten bisher keine Kristalle erhalten werden.

Die zum Waschen benützten Sodalösungen wurden bei 0° mit HCl bis zur kongo-sauren Reaktion versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen keinen merklichen Rückstand.

¹⁾ Vgl. C. Mannich & G. Siewert, B. 75, 737 (1942); R. F. Raffauf & T. Reichstein, Helv. 31, 2111 (1948).

²⁾ Bezogen von der AG. vorm. B. Siegfried, Zofingen.

Acolongiflorosid K. 1 g reines Acolongiflorosid-K-acetat vom Smp. 284—288° (Zers.) wurden in 160 cm³ heissem Methanol gelöst, abgekühlt und mit der Lösung von 1,5 g KHCO₃ in 40 cm³ Wasser versetzt, wobei sich die Lösung nur leicht trübte. Es wurde 18 Tage bei 18° stehengelassen, im Vakuum auf 40 cm³ eingengt und 6mal mit je 100 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 735 mg rohes Acolongiflorosid K als farblosen Schaum. Dieser war in Wasser leicht aber trüb löslich. Die trübe Lösung wurde durch ein mit Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) und Talk gedichtetes Filter genutscht und die klare, kaum merklich bitter schmeckende Lösung im Vakuum eingedampft. Das Glykosid konnte bisher nicht in Kristallen erhalten werden. Es war in Wasser, Äthanol und Methanol leicht löslich, fast unlöslich in Aceton und Chloroform. Die konzentrierte wässrige oder alkoholische Lösung gab auch auf vorsichtigen Aceton-zusatz immer nur eine amorphe Fällung. Das so mit viel Aceton gefällte und gewaschene Präparat zeigte $[\alpha]_D^{19} = -54,1^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,9058$ in Methanol).

9,143 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,49^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Das Präparat enthielt noch etwas Asche. Ein aschefreies Präparat wurde wie folgt erhalten. Das Rohprodukt wurde mehrmals aus Wasser-Aceton und Methanol-Aceton umgefällt. Die vereinigten klaren Lösungen wurden im Vakuum zum dünnen Sirup eingengt und dieser wieder mit reinem Aceton gefällt und das erhaltene Pulver gut mit Aceton gewaschen.

Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,128 mg Subst. gaben 6,97 mg CO₂ und 2,15 mg H₂O (aschefrei, *S.W.*)

7,726 mg Subst. verbr. 0,11 cm³ 0,01-n. NaOH (Acetylbestimmung) (*S.W.*)

C₃₅H₅₄O₁₄ (698,78) Ber. C 60,15 H 7,82%

C₂₉H₄₄O₁₁ (568,64) „ „ 61,25 „ 7,79%

Gef. „ 60,80 „ 7,69 CH₃CO 0,63%

Rückacetylierung. 100 mg Acolongiflorosid K (amorph) wurden bei 0,01 Torr und 18° getrocknet und mit 0,45 cm³ abs. Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 16 Std. auf 32° erwärmt. Aufarbeitung mit 50 cm³ Chloroform-Äther (1:2) gab 74 mg neutrales Rohprodukt. Aus Methanol-Äther 20 mg farblose Kristalle, Smp. 288—294°, $[\alpha]_D^{19} = -47,3^{\circ} \pm 4^{\circ}$ ($c = 0,4655$ in Chloroform).

4,700 mg Subst. in 1,0094 cm³, $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = -0,22^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die Mischprobe mit dem direkt erhaltenen Acolongiflorosid-K-acetat schmolz bei 290—298°.

Versuch zur enzymatischen Spaltung mit Strophanthobiase. 120 mg Acolongiflorosid K (amorph) wurden in 5 cm³ Wasser gelöst, mit 120 mg Strophanthobiase-Präparat¹⁾ und 3 Tropfen Toluol versetzt 7 Tage unter gelegentlichem Umschütteln bei 37° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum auf 1 cm³ eingengt, mit 20 cm³ abs. Alkohol versetzt und das ausgefällte Enzym durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 4 cm³ Wasser aufgenommen, 3mal mit je 50 cm³ Chloroform und dann 3mal mit je 50 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden eingedampft. Die Chloroformauszüge hinterliessen nur Spuren Rückstand. Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt wog 107 mg und stellte offenbar im wesentlichen unverändertes Ausgangsmaterial dar.

Die Mikroanalysen wurden in folgenden Laboratorien ausgeführt: Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt, Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB); bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberger*, Graz (*S.W.*); bei Herrn Dr. *A. Peisker-Ritter*, Brugg (*A.P.*).

¹⁾ Bereitet aus Samen von *Strophanthus kombé*, vgl. *J. Schmutz & T. Reichstein*, *Pharmac. acta Helv.* **22**, 359 (1947).

Zusammenfassung.

Die Isolierung der Glykoside aus Stamm- und Wurzelrinde sowie aus Samen von *Acokanthera longiflora* Stapf wird beschrieben.

Die mit Chloroform ausschüttelbaren Glykoside der Stamm- und Wurzelrinde gaben als kristallisierbares Glykosid das bekannte Acovenosid A. Aus den erst mit Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausschüttelbaren Anteilen wurde nach Acetylierung das Acetat eines neuen Glykosids isoliert, das wir Acolongiflorosid-K-acetat nennen. Alkalische Verseifung gab ein amorphes Produkt, das entweder das freie Acolongiflorosid-K oder ein partiell acetyliertes Derivat desselben darstellt; er kristallisierte bisher nicht. Acolongiflorosid K ist methoxylfrei und möglicherweise isomer mit Ouabain, aber sicher von ihm verschieden.

Die Samen gaben dieselben 2 Hauptprodukte in besserer Ausbeute. Aus dem Chloroform-Extrakt konnten ausserdem noch kleine Mengen von 6 anderen kristallisierten Stoffen isoliert werden, die als Subst. D, Acolongiflorosid E, Substanz F, Acolongiflorosid G, H und J bezeichnet werden. Die Substanzen D und F sind wahrscheinlich digitaloide Aglykone; sie sind methoxylfrei. Die Acolongifloroside E, G, H und J sind wahrscheinlich Glykoside; sie enthalten alle eine Methoxylgruppe. Es werden Brutto-Formeln vorgeschlagen, die aber noch der Bestätigung bedürfen.

Pharmazeutische und Organisch-chemische
Anstalt der Universität Basel.

209. Beitrag zur Kenntnis der 2-Aryl-benzopyryliumsalze

von Ch. Michaelidis und R. Wizinger.

(28. VI. 51.)

Im Interesse einer systematischen Untersuchung über die Beziehungen zwischen Konstitution und Farbe erschien es geboten, die Klasse der 2-Aryl-benzopyryliumsalze weiter auszubauen.

Wie der eine von uns schon vor längerer Zeit gemeinsam mit Frl. A. Grüne (1931–32) in einer Reihe von Vorversuchen feststellte, lassen sich Cumarine unter Verwendung von Phosphoroxychlorid und Chlorzink gut mit Phenolen, Phenoläthern und tertiären aromatischen Aminen kondensieren, z. B.:

