

Zusammenfassung.

Für die qualitative und quantitative Bestimmung von Glykosiden und Aglykonen des Scilla- und des Digitalis-Strophanthus-Typs ist die Silicagelsäule nach dem Prinzip der Chromatographie geeignet. Es gelingt mit ihr, auch komplizierte Gemische in ihre Komponenten aufzuteilen und einzelne Verbindungen auf Reinheit und Einheitlichkeit zu prüfen.

Der optimale Wassergehalt des Silicagels spielt bei der Komponententrennung eine bedeutsame Rolle und muss ausprobiert werden, wobei in den Extremen einerseits gesättigtes, andererseits trockenes Silicagel oder dann solches mit dazwischen liegendem Wassergehalt verwendet wird. Auch das Eluierungsmittel (z. B. Essigester, Chloroform) kann trocken oder wasserhaltig und mit mehr oder weniger grossen Zusätzen von Alkoholen angewandt werden. Das erlaubt bei der Ausführung der Versuche eine grosse Variationsmöglichkeit.

Es werden die Ergebnisse von Versuchen mit natürlichen und künstlich zusammengesetzten Glykosid- und Aglykongemischen und mit einzelnen Glykosiden mitgeteilt und graphisch dargestellt.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium *Sandoz*, Basel.

178. Sarnovid (Substanz Nr. 799).

Glykoside und Aglycone, 79. Mitteilung¹⁾

von F. Reber und T. Reichstein.

(11. VI. 51.)

Aus den Samen einer Strophanthusvariante, die vorläufig als Strophanthus spec. var. sarmentogenifera Nr. MPD 50 bezeichnet wurde und die später genauer beschrieben werden soll, wurde kürzlich unter anderem ein Glykosid isoliert, das zunächst als Substanz Nr. 799 bezeichnet wurde²⁾. Es wurde dort bereits vermutet, dass es sich um einen neuen Stoff handelt. Dies erwies sich als richtig; der Stoff wird in Zukunft als Sarnovid bezeichnet.

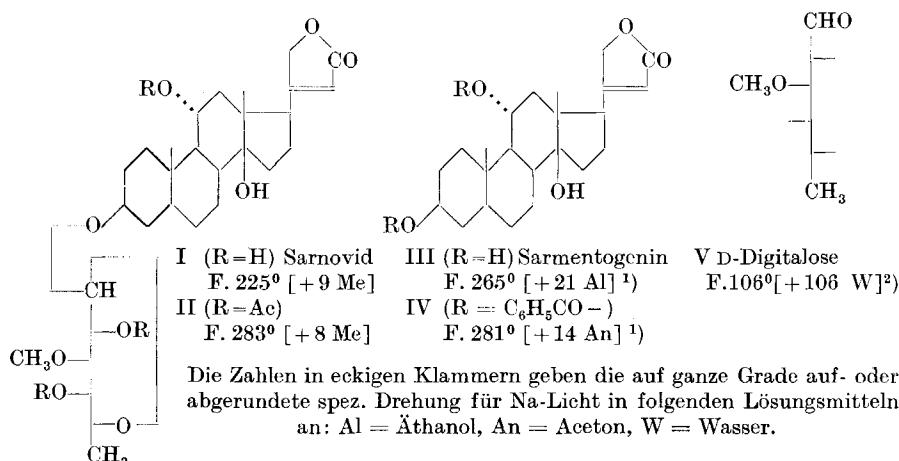
Sarnovid gibt bei der *Keller-Kilian*-Reaktion keine Blaufärbung und wird bei halbstündigem Kochen mit 0,05-n. H_2SO_4 in 50-proz. Methanol nicht gespalten. Zur Konstitutionsaufklärung wurde daher die Hydrolyse mit HCl in Aceton nach der Methode von *Mannich & Siewert*³⁾ durchgeführt. Sie gelang hier mit überraschend

¹⁾ 78. Mitteilung, A. Aebi & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1277 (1951).

²⁾ J. v. Euw, F. Reber & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 413 (1951).

³⁾ C. Mannich & G. Siewert, *B.* **75**, 737 (1942).

guter Ausbeute. Als Spaltstücke wurden Sarmentogenin (III) und D-Digitalose (V) erhalten, die beide durch kristallisierte Derivate charakterisiert und durch direkten Vergleich mit authentischem Material identifiziert wurden. Sarnovid besitzt somit die Formel I.



Die analytisch ermittelte Bruttoformel $C_{30}H_{46}O_9$ mit einer Methoxylgruppe wird damit bestätigt. Da Sarnovid durch halbstündiges Kochen mit 0,05-n. H_2SO_4 in 50-proz. Methanol nicht hydrolysiert wird, kann angenommen werden, dass es wie alle anderen natürlichen herzaktiven Glykoside ein Pyranosid darstellt. Die Verknüpfungsart des Zuckers mit dem Aglykon lässt sich daher nach dem von Klyne³⁾ angegebenen Verfahren berechnen:

	$[M]_D$ ⁴⁾
Sarnovid (550,67)	+49° ± 5° (Me)
Sarmentogenin (390,5)	+84° ± ca. 15° (Al)
Drehungsbeitrag des Zuckeranteils (Differenz) . .	-35° ± 20°

Für unreines α -Methyl-D-digitalosid- $\langle 1,5 \rangle$ wurde gefunden:

$$[M]_D = +243^{\circ}$$
⁵⁾

Für unreines β -Methyl-D-digitalosid- $\langle 1,5 \rangle$ wurde gefunden:

$$[M]_D = -5^{\circ}$$
⁶⁾

¹⁾ W. A. Jacobs & M. Heidelberger, J. Biol. Chem. **81**, 765 (1929).

²⁾ J. D. Lamb & S. Smith, Soc. **1936**, 442. Der Smp. gilt für frisch umkristallisiertes Material, nach 3 Monaten stieg er auf 119°.

³⁾ W. Klyne, Proc. of the Biochem. Soc. 288th Meeting, Biochem. J. **47**, xli (Oct. 1950).

⁴⁾ Molekulare Drehung = $[\alpha]_D \cdot M/100$; (M = Mol.-Gewicht).

⁵⁾ Ch. Tamm, Helv. **32**, 163 (1949).

⁶⁾ F. Reber & T. Reichstein, Helv. **29**, 343 (1946).

Sarnovid dürfte somit ein β -Digitalosid sein. Dies steht in Übereinstimmung mit der von *Klyne*¹⁾ gefundenen Regel, dass die natürlichen digitaloiden Glykoside von D-Zuckern β -Glykoside darstellen.

Für das krist. Acetat des Sarnovids wurde aus analytischen Daten früher die Formel $C_{34}H_{50}O_{11}$ abgeleitet. Da dieses Acetat jedoch von CrO_3 nach mehrstündiger Einwirkung bei 18° nicht verändert wird, kann es keine sekundäre HO-Gruppe enthalten. Es muss daher ein Triacetat der Formel II darstellen und die Bruttoformel $C_{36}H_{52}O_{12}$ besitzen; eine neue Analyse passte gut auf diese Formel.

Schliesslich sei noch die biologische Wirksamkeit des Sarnovids und des Sarmentogenins angegeben, die von Herrn Dr. *Chen* an der Katze bestimmt wurde²⁾. (Als Vergleich auch der früher für Sarmentocymarin gefundene Wert).

Substanz	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg
Sarmentogenin . . .	(10)	$0,4581 \pm 0,0323$ ³⁾
Sarmentocymarin . .	(12)	$0,202 \pm 0,011$ ⁴⁾
Sarnovid	(10)	$0,1489 \pm 0,0107$

Wir danken Herrn Dr. *A. Hunger* für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze bei 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa 3° . Substanzproben zur Drehung wurden 1 Stunde bei 0,01 Torr. und 80° getrocknet.

Versuch zur Hydrolyse von Sarnovid mit 0,05-n. H_2SO_4 .

50 mg Sarnovid vom Smp. 223—226 $^\circ$ wurden in 2 cm 3 Methanol gelöst, mit 2 cm 3 0,1-n. H_2SO_4 versetzt und 30 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum auf 2 cm 3 eingeengt, mit 1 cm 3 Wasser versetzt, im Vakuum auf 2 cm 3 eingeengt und 30 Minuten auf 65 $^\circ$ erwärmt. Die Lösung wurde 4mal mit je 20 cm 3 Chloroform ausgeschüttelt (Prüfung auf Zucker siehe unten). Die mit wenig Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 50 mg Rückstand. Aus Aceton-Äther 32 mg Kristalle vom Smp. 222—227 $^\circ$, die sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwiesen.

Die mit Chloroform ausgeschüttelte saure wässrige Phase wurde im Vakuum bei 30 $^\circ$ auf 0,5 cm 3 eingeengt, mit verdünnter NaOH neutralisiert und mit *Fehling*'scher Lösung gekocht. Es war kein Zucker nachweisbar.

Hydrolytische Spaltung des Sarnovids. 356 mg Sarnovid vom Smp. 225—226 $^\circ$ wurden in 36 cm 3 Aceton gelöst, mit 0,36 cm 3 konz. HCl versetzt und 16 Tage bei 18 $^\circ$ verschlossen stehengelassen. Die leicht gelbliche Lösung wurde im Vakuum bei 20 $^\circ$

¹⁾ *W. Klyne*, Proc. of the Biochem. Soc. 288th Meeting, Biochem. J. **47**, xli (Oct. 1950).

²⁾ Wir danken Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, auch hier bestens für die Übermittlung seiner Resultate, über die er an anderem Ort noch berichten wird.

³⁾ Privatmitteilung von Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis.

⁴⁾ *K. K. Chen, R. C. Anderson & E. B. Robbins*, J. Am. Pharmac. Assoc. **26**, 214 (1937); *K. K. Chen*, Ann. Rev. Physiol. **7**, 677 (1945).

auf 20 cm³ eingeengt, mit 15 cm³ Wasser versetzt und erneut im Vakuum bei 20° auf 10 cm³ eingeengt. Dann wurde mit Wasser auf 15 cm³ ergänzt, mit 15 cm³ Methanol versetzt und ½ Stunde unter Rückfluss leicht gekocht, wobei das vorher teilweise ausgefallene Material in Lösung ging. Die Lösung wurde hierauf im Vakuum bei 30° auf ca. 10 cm³ eingeengt, wobei reichliche Kristallisation eintrat. Die Kristalle wurden abgezentrifugiert, nochmals mit Wasser und Methanol gewaschen, bis Filtrat neutral. Dieses Rohprodukt zeigte Smp. 255—267°. Aus Methanol 150 mg Sarmentogenin in Stäbchen, Smp. 260—270°.

Die vereinigten Mutterlaugen wurden im Vakuum bei 20° vom Methanol befreit und 6mal mit je 15 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. (Die verbleibende saure wässrige Phase diente zur Isolierung der Digitalose.) Die mit KHCO₃ und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Chloroformauszüge hinterliessen beim Eindampfen noch 90 mg rohes Genin, das an 3 g alkalischem Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Chloroform-Methanol (4:1) eluierten Anteile gaben aus Methanol noch 39 mg krist. Sarmentogenin, Smp. 268—274° (Zers.). Totalausbeute somit 189 mg = 75%.

Sarmentogenin (III) aus Sarnovid (I). Zur Reinigung wurde in Dioxan gelöst, im Vakuum rasch eingedampft und der amorphe Rückstand in Methanol gelöst. Die filtrierte Lösung gab nach Einengen und Zusatz von Äther farblose Körner, Smp. 267—273° (Zers.). Diese wurden nochmals aus Methanol-Wasser kristallisiert. Smp. 264—268° (Zers.); $[\alpha]_D^{16} = +18,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,6875$ in Methanol¹)).

6,640 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,13^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Kristalle gaben mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung. Authentisches Sarmentogenin sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich. Auch die Färbungen mit 84-proz. H₂SO₄ waren genau gleich.

Dibenzoat (IV). 33 mg Sarmentogenin (III), aus Sarnovid vom Smp. 264—268°, wurden in 1,2 cm³ absolutem Pyridin gelöst und bei 0° unter H₂O-Ausschluss mit 0,2 cm³ reinstem Benzoylchlorid versetzt. Nach 2ständigem Stehen bei 18° wurden 0,5 cm³ Methanol zugegeben, nochmals ½ Stunde stehengelassen und anschliessend im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen, die Lösung mehrmals mit verdünnter HCl, Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (120 mg) gab aus Chloroform-Äther 45 mg Kristalle, Smp. 280—284°. Umkristallisieren aus Aceton-Äther gab farblose Prismen, Smp. 283—285° (Zers.); $[\alpha]_D^{17} = +14,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2871$ in Chloroform²).

12,992 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,18^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet; Gewichtsverlust 0,3%.

3,653 mg Subst. gaben 9,941 mg CO₂ und 2,287 mg H₂O (OAB)

C₃₇H₄₂O₇ (598,71) Ber. C 74,22 H 7,07% Gef. 74,26 H 7,00%

Authentisches Sarmentogenin-dibenzoat sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich; auch die Färbungen mit 84-proz. H₂SO₄ waren genau gleich: farblos (im ersten Moment), rosa (nach 1'), blass lila (nach 20'), blass blau (nach 30'), farblos (nach 3 Stunden)

Nachweis der Digitalose. Die salzsaure wässrige Lösung wurde im Vakuum von Chloroformresten befreit, durch Schütteln mit Ag₂CO₃ neutralisiert und durch ein mit

¹⁾ Für Sarmentogenin finden sich in der Literatur folgende Konstanten: Smp. 265—266°; $[\alpha]_D^{20} = +21,5^\circ$ ($c = 0,515$ in 95-proz. Alkohol); W. A. Jacobs & M. Heidelberger, J. Biol. Chem. **81**, 765 (1929). Smp. 270°; $[\alpha]_D^{20} = +21,3^\circ$ ($c = 0,47$ in Äthanol); R. Tschesche & K. Bohle, B. **69**, 2497 (1936). Smp. 265—275°; $[\alpha]_D^{19} = +21,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,521$ in Methanol); A. Katz, Helv. **31**, 993 (1948). Smp. 273—276° (Zers.) bzw. 270—275° (Zers.); $[\alpha]_D^{19} = +18,9^\circ \pm 3^\circ$ (Aceton); J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **33**, 522, 1006, 1551 (1950).

²⁾ W. A. Jacobs & M. Heidelberger, J. Biol. Chem. **81**, 765 (1929) fanden für Sarmentogenin-dibenzoat: Smp. 281°; $[\alpha]_D^{20} = +14^\circ$ ($c = 1,0$ in Aceton).

Ag_2CO_3 gedichtetes Filter genutscht. Das Filtrat wurde bei 0° kurz mit H_2S behandelt und durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Methanol aufgenommen und die filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Aceton gelöst und die filtrierte Lösung sofort im Vakuum eingedampft. Erhalten wurden 105 mg fast farbloser Zuckersirup, der *Fehling'sche* Lösung beim Erhitzen stark reduzierte. $[\alpha]_D^{17} = +103,1^\circ \pm \text{ca. } 4^\circ$ ($c = 1,3095$ in Wasser nach 15 Stunden).

13,218 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $[\alpha]_D^{17} = +1,35^\circ \pm 0,04^\circ$ ¹⁾

Die 105 mg Zuckersirup wurden in $1,8 \text{ cm}^3$ Wasser gelöst, mit 48 mm^3 Brom versetzt, 15 Stunden bei $+5^\circ$ im Dunkeln geschüttelt (Schliffkölbchen) und noch 12 Stunden bei 18° im Dunkeln stehengelassen. Aufarbeitung wie früher beschrieben²⁾ gab 91 mg in Methanol lösliches Rohprodukt, das nach kurzer Zeit spontan kristallisierte. Destillation im Molekularkolben bei 0,04 Torr. und $100\text{--}120^\circ$ Badtemperatur gab 71 mg Destillat. Aus Aceton-Äther 48 mg farblose kurze Prismen. Smp. $136\text{--}138^\circ$; $[\alpha]_D^{19} = -85,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9676$ in Wasser)³⁾.

9,767 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $[\alpha]_D^{19} = -0,83^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 24 Stunden im Hochvakuum über P_2O_5 getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,450 mg Subst. gaben $6,064 \text{ mg CO}_2$ und $2,100 \text{ mg H}_2\text{O}$ (OAB)

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_5$ (176,17) Ber. C 47,72 H 6,87% Gef. C 47,97 H 6,81%

Authentisches Digitalonsäurelacton sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich.

Sarnovid-triacetat. Das früher beschriebene Präparat wurde 3 Stunden im Hochvakuum über P_2O_5 bei 100° getrocknet. Gewichtsverlust 0,45%.

3,941 mg Subst. gaben $9,200 \text{ mg CO}_2$ und $2,675 \text{ mg H}_2\text{O}$ (OAB)

$\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$ (676,78) Ber. C 63,89 H 7,75% Gef. C 63,71 H 7,60%

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor. der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Das früher aus den Samen der sarmenogenin-produzierenden Strophanthus-Variante Nr. MPD 50 isolierte und als Substanz Nr. 799 bezeichnete Glykosid wird Sarnovid genannt. Durch hydrolytische Spaltung nach der Methode von *Mannich & Siewert* liess es sich in Sarmentocymarin und D-Digitalose spalten. Daraus lässt sich die Konstitution ableiten. Aus der optischen Drehung kann gefolgert werden, dass es sich um ein β -D-Digitalosid handelt. Beim krist. Acetat des Sarnovids muss es sich um ein Triacetat handeln.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ Eine Probe des Zuckersirups wurde in Wasser gelöst. Die Lösung opaleszierte und musste mit etwas Kohle geklärt werden. Das Gewicht wurde daher erst nachträglich durch Eindampfen der Lösung im Vakuum und längeres Trocknen des Rückstandes über P_2O_5 bestimmt.

²⁾ *F. Reber & T. Reichstein*, Helv. **29**, 343 (1946); *C. W. Shoppee & T. Reichstein*, Helv. **23**, 975 (1940).

³⁾ *J. D. Lamb & S. Smith*, Soc. **1936**, 442 fanden für D-Digitalonsäurelacton aus Emicymarin: Smp. $137\text{--}138^\circ$; $[\alpha]_D^{19} = -83^\circ$ ($c = 3,23$ in Wasser); aus Digitalinum verum: Smp. $135\text{--}137^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -85^\circ$ ($c = 3,26$ in Wasser).