

**58. Die Glykoside von *Carissa ovata* (R. Brown)  
var. *stolonifera* F. M. Bailey und *Carissa lanceolata*  
(R. Brown) (Apocynaceae).**

Glykoside und Aglykone, 125. Mitteilung<sup>1)</sup>

von K. Mohr, O. Schindler und T. Reichstein.

(15. I. 54.)

Während *Acokanthera*-Arten sehr reich an Glykosiden sind, wurde aus der nahe verwandten Gattung *Carissa* bisher nur in einem Fall über ein solches berichtet. *Bancroft*<sup>2)</sup> isolierte aus *Carissa ovata* (R. Br.) var. *stolonifera* F. M. Bailey, die in Australien heimisch ist, einen krist. Stoff „Carissin“, der wahrscheinlich ein digitaloides Glykosid darstellte. Er wird in der Literatur öfters erwähnt<sup>3-6)</sup>, doch konnten wir keine Angaben über physikalische Daten finden.

Durch Vermittlung der *Organon Laboratories Ltd.*, London, erhielten wir vom Council for Scientific & Industrial Research (Division of Plant Industry), Drug Plants Survey, Canberra (Australia) Wurzeln, Zweige und Blätter von *Carissa ovata* (R. Br.) var. *stolonifera* F. M. Bailey, sowie analoges Material von *Carissa lanceolata* (R. Br.), die unter genauer botanischer Kontrolle gesammelt, rasch getrocknet und mustergültig etikettiert versandt wurden, so dass an der Authentizität des Materials nicht gezweifelt werden kann<sup>7)</sup>.

Über das gesammelte Pflanzenmaterial gab uns Herr L. J. Webb (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, Plant and Soils Laboratory, Brisbane, Australia) die folgenden Angaben:

*Carissa ovata* var. *stolonifera*. Sample Nr. 4778. Collected about 20 miles east of Emeralds, Queensland: L. J. Webb; Herbarium Nr. 2241. Rambling shrub, rooting loosely and shallowly at nodes. Plant sends out stolons which root at the nodes. Availability: good in certain areas.

Field tests: Leaves: Alkaloids (–), *Liebermann-Burchard* test (+). Roots: Show a possible trace of alkaloid. Stem and roots gave negative *Liebermann-Burchard* test and saponin.

<sup>1)</sup> 124. Mitteilung: H. Muhr, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **37**, 403 (1954).

<sup>2)</sup> T. L. Bancroft, *Pharmac. J.* [3] **25**, 253 (1894).

<sup>3)</sup> J. H. Maiden & H. G. Smith, *Austr. Ass. Adv. Sci.* 1895, Brisbane (Ref. 347), zit. nach *Just's Botan. Jahresber.* **24**, [2] 473 (1896).

<sup>4)</sup> F. Czappek, *Biochemie* III, 553 (2. Aufl., Jena 1931).

<sup>5)</sup> C. Wehmer, *Die Pflanzenstoffe*, II, 377 (Jena 1931).

<sup>6)</sup> L. J. Webb, „Guide to the Medical and Poisonous Plants of Queensland“, p. 17 (Council for Scientific and Industrial Research, Bulletin Nr. 232, Melbourne 1948).

<sup>7)</sup> Wir möchten auch hier den genannten Stellen, insbesondere Herrn B. T. Dickson (Chief of the Division) und Herrn L. J. Webb (Research Officer, Plant and Soils Laboratory, Brisbane, Australia), unseren besten Dank für das schöne Material aussprechen.

Die Wurzeln wurden 7 Tage im Schatten, dann 6 Tage mit warmer Luft bei 55°C getrocknet (14 lbs). Blätter und Zweige wurde 34 Tage im Schatten getrocknet (je 7 lbs). Abgeschickt am 16. Oktober 1950 per Post. Erhalten in Basel am 8. Dezember 1950 in sehr gutem Zustand.

*Carissa lanceolata*. Sample Nr. 4796. Collected at Mt. Douglas between Charters Towers and Clermont: *L. J. Webb*; Herbarium Nr. 2316. Rambling shrub about 6' high and 3" diameter at base.

Field tests: Leaves: Alkaloids, Saponin, HCN, NO<sub>3</sub> and pectin negative; *Liebermann-Burchard* test positive; pigment pale golden.

Alle Teile wurden ca. 32 Tage im Schatten getrocknet. Wurzeln 27 lbs, Blätter und Zweige (5 lbs) am 16. Oktober 1950 per Post abgeschickt. Wir erhielten das Material am 18. Dezember 1950 in Basel in sehr gutem Zustand.

Chemische Untersuchung. Extraktion und Aufarbeitung der Drogen geschah, wo nichts anderes erwähnt, genau wie früher bei *Acokanthera*-Holz beschrieben<sup>1)</sup>.

Das Material von *Carissa ovata* var. *stolonifera* gab die folgenden Resultate:

200 g Zweige (gepulvert) lieferten:

- 0,713 g (entspr. 0,356%) ätherlösliches Material (nicht bitter);
- 0,487 g (entspr. 0,244%) Chloroformextrakt (ätherunlöslicher Teil schwach bitter);
- 3,44 g (entspr. 1,72 %) Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (nicht bitter);
- 4,1 g (entspr. 2,05 %) Rückstand der wässerigen Phase, nicht bitter.

Keiner dieser Extrakte zeigte in Mengen bis zu 1 mg bei der Tüpfelprobe mit *Raymond*-Reagens auf Papier eine positive Reaktion. Da 0,01 mg eines digitaloiden Lactons noch einen deutlichen blauen Fleck erzeugen, enthielten alle diese Extrakte sicher weniger als 1% solcher Stoffe. Auf eine weitere Trennung wurde daher verzichtet. Ein ebenso negatives Ergebnis lieferten die Blätter.

Genauer untersucht wurden 400 g gepulverte Wurzeln. Hier wurden nur zwei Extrakte bereitet. Erhalten wurden:

- 1,662 g (entspr. 0,41%) Chloroformextrakt;
- 1,137 g (entspr. 0,28%) Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt.

In der verbliebenen wässerigen Phase konnten auch nach Vortrennung mit Methanol keine digitaloiden Lactone nachgewiesen werden (*Raymond*-Reaktion mit 1 mg Substanz negativ). Aus den methanollöslichen Anteilen (12 g, d. s. 3%) liess sich lediglich ca. 1 g (0,25%) krist. Saccharose isolieren.

Auch die obenerwähnten Chloroform- und Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakte gaben mit *Raymond*-Reagens keine Färbung (bis 1 mg). Hingegen konnten nach Chromatographie des Chloroformextrakts an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Fraktionen erhalten werden, die deutlich positive Reaktion gaben. Nach nochmaliger Chromatographie dieser Fraktionen liessen sich 3 mg Kristalle isolieren, die nach Smp., Mischprobe, Farbreaktionen und Papierchromatogramm mit Odorosid H identisch waren. (Weitere Angaben über diesen Stoff siehe bei *Carissa lanceolata*.)

<sup>1)</sup> P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1740 (1951); **35**, 45 (1952).

Für eine völlig sichere Identifizierung war die erhaltene Menge ungenügend. Nach dem Resultat bei *Carissa lanceolata* (siehe unten) dürfte es aber kaum zweifelhaft sein, dass es sich tatsächlich um Odorosid H gehandelt hat. *Bancroft*<sup>1)</sup> erwähnt, dass seine Kristalle in Wasser sehr leicht löslich waren, schwerer löslich in wässrigem Alkohol, nur sehr wenig löslich in abs. Alkohol und unlöslich in Äther und Chloroform. Es ist somit ganz ausgeschlossen, dass er Odorosid H in Händen hatte. Zur damaligen Zeit war auch die Chromatographie noch nicht bekannt und mit den damals zur Verfügung stehenden Mitteln wäre die Isolierung so kleiner Mengen von Odorosid H auch gar nicht möglich gewesen.

Da wir keine Anhaltspunkte dafür finden konnten, dass die von uns untersuchte Droge ausser Spuren von Odorosid H andere digitaloide Glykoside enthält, weicht unser Ergebnis sehr stark von den Resultaten *Bancroft's* ab. Es ist aber möglich, dass er anderes Pflanzenmaterial verwendet hat. Hierzu schrieb uns Herr *L. J. Webb* (am 13. Juli 1951) wie folgt:

“There is no difficulty in identifying *C. lanceolata*, which is a ‘good species’. However, there is much doubt about the botanical validity of var. *stolonifera* and it certainly cannot be said that the sample which you examined of this variety from western Queensland is either from the same locality or even the same ‘variety’ as the plant examined by *Bancroft* and reported to contain the cardioactive carissin.”

Wir erhielten von ihm inzwischen Proben dieser *Stolonifera*-Varietät aus weiter westlicher Gegend (Galugaba in Miles District), die aber noch nicht untersucht werden konnten.

Vorversuche mit *Carissa lanceolata* wurden analog wie bei *C. ovata* durchgeführt. Die Blätter gaben wieder ein negatives Resultat. In den Wurzeln konnten aber eindeutig positive Reaktionen auf digitaloide Lactone erhalten werden. Die Zweige wurden hierauf nicht mehr geprüft, da wir ohnehin mehr Wurzel- als Zweigmaterial erhalten hatten.

Die Aufarbeitung von 3,25 kg gepulverten Wurzeln gab:

84 g (entspr. 2,58 %) rohen Ätherextrakt;

5,7 g (entspr. 0,175%) Chloroformextrakt;

7,0 g (entspr. 0,215%) Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt.

In letzterem konnten keine digitaloiden Lactone nachgewiesen werden. Auch in der verbleibenden wässrigen Phase war die *Raymond*-Reaktion negativ. Hingegen gaben der Ätherextrakt und der Chloroformextrakt positive Reaktion.

Der rohe Ätherextrakt wurde zunächst durch Verteilung zwischen Petroläther und wässrigem Methanol vorgereinigt, wobei 19,5 g Petrolätherextrakt resultierten, die verworfen wurden. Die verbleibenden 60,45 g (1,86 %) gereinigter Ätherextrakt wurden chromatographisch getrennt. Aus den leicht eluierbaren Anteilen wurden 18,7 g

<sup>1)</sup> *T. L. Bancroft*, *Pharmac. J.* [3] **25**, 253 (1894).

(0,576 %) eines krist. Ketons isoliert, das wir mit keinem bekannten Stoff identifizieren konnten, und das wir Carisson nennen. Die mittleren Fraktionen gaben nach wiederholter Chromatographie ein krist. Glykosid  $C_{30}H_{46}O_8$ , das mit dem bekannten Odorosid H identifiziert werden konnte. Dieser Stoff ist zuerst aus der Rinde von *Nerium odorum* isoliert worden<sup>1)</sup>, er wurde ferner auch durch fermentativen Abbau aus Odorotriosid-G-monoacetat erhalten<sup>2)</sup>. Seine Konstitution als Digitoxigenin- $\beta$ -D-digitalosid wurde bewiesen<sup>2)</sup>. Chromatographie des Chloroformextrakts lieferte noch eine kleine Menge desselben Stoffes. Die Gesamtausbeute betrug 0,327 g (0,01 %). Zur Charakteri-

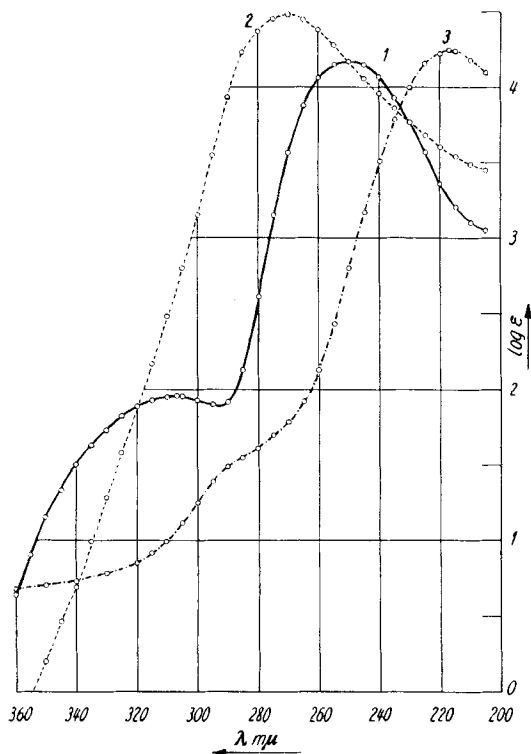


Fig. 1.

Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>3)</sup>.

1. Carisson: Maxima bei 250  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,17$ , und 307,5  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 1,96$ ; berechnet auf  $C_{15}H_{24}O_2$  (236,39).
2. Carisson-semicarbazone: Maximum bei 270  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,48$ ; berechnet auf  $C_{15}H_{27}O_2N_3$  (293,41).
3. Diacetat von Odorosid H aus *Carissa lanceolata*: Maximum bei 217  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,23$ ; berechnet auf  $C_{34}H_{50}O_{10}$  (618,74).

<sup>1)</sup> W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **36**, 434 (1953).

<sup>2)</sup> A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **35**, 687 (1952).

<sup>3)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem „Beckman Quartz Spectrophotometer Mod. DU“.

sierung wurde das Diacetat und das Dibenzoat bereitet. Anhaltspunkte für die Anwesenheit weiterer Glykoside wurden nicht beobachtet.

Carisson. Dieser, in beträchtlicher Ausbeute erhaltene Stoff zeigte Smp. 78–79° und  $[\alpha]_D^{19} = +136,6^\circ \pm 2^\circ$  (in Chloroform). Die Analyse passte am besten auf die Formel  $C_{14}H_{22}O_2$ ; nach der Analyse des gut krist. Semicarbazons ( $C_{16}H_{27}O_2N_3$ ) dürfte das Keton aber Formel  $C_{15}H_{24}O_2$  besitzen. Aus den UV.-Absorptionsspektren (vgl. Fig. 1) folgt, dass es sich um ein stark substituiertes  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Keton handelt<sup>1)</sup>. Der Stoff gab mit Tetranitromethan eine schwache Gelbfärbung und dürfte daher noch eine weitere isolierte Doppelbindung besitzen. Es könnte sich daher am ehesten um ein monocyclisches Sesquiterpenderivat handeln. Er wurde durch Acetanhydrid und Pyridin bei 32° nicht verändert und auch von  $CrO_3$  in Eisessig bei 20° nicht merklich angegriffen. Auch nach zweistündigem Kochen mit NaOH in wässrigem Methanol blieb die Hauptmenge unverändert. Im IR.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 2)<sup>2)</sup> ist ausser einer recht langwelligigen  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Ketogruppe (bei 6,11  $\mu$  (CO) und 6,28  $\mu$  (C=C)) eine HO-Gruppe (bei 2,8  $\mu$ ) sichtbar, die nach den obigen Befunden tertiär gebunden sein muss. Die Bande bei 12,27  $\mu$  dürfte der  $\delta$ (C=C)-Schwingung zugeordnet werden. Ihre Intensität wäre mit der Annahme einer zweiten C=C-Doppelbindung gut verträglich. Die  $\nu$ (C=C)-Schwingung dieser Bindung wäre bei ca. 6,06  $\mu$  zu erwarten und wäre daher von der  $\nu$ (C=O)-Schwingung verdeckt. Weitere Untersuchungen erfolgten bisher nicht.

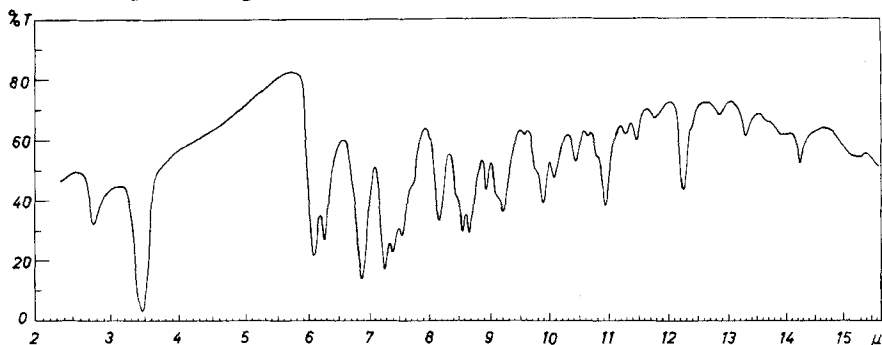


Fig. 2.

Infrarot-Absorptionsspektrum von Carisson in Paraffin (Nujol)<sup>3)</sup>.

Schichtdicke 0,02 mm, NaCl-Optik. Frequenzen der wichtigsten Banden ( $cm^{-1}$ ): 3570 (OH); 2880 (CH); 1638 (CO); 1595 (C=C); 1450; 1375, 1350; 1325; 1222; 1164; 1145; 1120; 1085; 1010; 991; 957; 917; 887; 872; 848; 815; 776; 750; 702.

<sup>1)</sup> Vgl. z.B. *L. F. Fieser & M. Fieser, Natural Products related to Phenanthrene*, p. 190 (3. Edit., New York, 1949).

<sup>2)</sup> Wir danken Herrn Dr. P. Zoller für die Aufnahme und Interpretation dieses Spektrums.

<sup>3)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller in einem von Zbinden, Baldinger, Ganz & Zoller gebauten Zweistrahl-IR.-Spektrophotometer, vgl. *R. Zbinden, E. Baldinger & E. Ganz, Helv. phys. Acta* **22**, 411 (1949); *R. Zbinden & E. Baldinger, Helv. phys. Acta* **26**, 111 (1953).

## Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze in der benützten Ausführungsform bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 80° getrocknet. Zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$ , meistens mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von Wasser, Ausschütteln mit Chloroform-Äther (oder Chloroform), Waschen mit Wasser, verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen. Alle Chromatographien wurden nach dem Durchlaufverfahren<sup>1)</sup> ausgeführt.  $Al_2O_3$  ohne Anwendung von Säure vom Alkali befreit<sup>2)</sup>. Ausführung der *Keller-Kiliani*-Reaktion<sup>3)</sup>, der Zuckerprüfung<sup>4)</sup> und der Tüpfelprobe mit *Raymond*-Reagens<sup>5)</sup> vgl. frühere Angaben.

### Untersuchung von *Carissa ovata* var. *stolonifera*.

400 g Wurzeln wurden in der Schlagmühle fein gepulvert und zunächst genau wie bei *Acokanthera longiflora*<sup>4)</sup> und *A. friesiorum*<sup>6)</sup> extrahiert. Nach der Reinigung mit  $Pb(OH)_2$  wurde bei pH = 6, aber im Vakuum auf ca. 50 cm<sup>3</sup> eingedampft und zunächst viermal mit je 200 cm<sup>3</sup> Chloroform, dann viermal mit je 200 cm<sup>3</sup> Chloroform-Alkohol-(3:2) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom gewaschen, mit 10 cm<sup>3</sup> Wasser, 10 cm<sup>3</sup> 2-n. Sodalösung und 10 cm<sup>3</sup> Wasser. Nach Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum wurden erhalten: 1,662 g Chloroformextrakt als braunes Harz sowie 1,137 g Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt als gelblicher Schaum, der keinen bitteren Geschmack zeigte und bei der Tüpfelprobe (bis 1 mg Substanz) mit *Raymond*-Reagens keine Färbung zeigte.

Die ausgeschüttelte wässrige Lösung wurde im Vakuum zum Sirup eingedampft und dieser mit 200 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt. Es fiel ein gelber klebriger Niederschlag aus, der nochmals mit 100 cm<sup>3</sup> Methanol ausgekocht wurde (*Raymond*-Reaktion: negativ, verworfen). Die vereinigten methanolischen Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 12 g Rückstand (gelbbrauner Schaum, Geschmack süßlich, *Raymond*-Reaktion mit 1 mg Substanz negativ). Dieses Material wurde mehrmals mit wasserfreiem Methanol heiss ausgezogen. Diese Auszüge gaben nach Einengen im Vakuum und mehrtägigem Stehen 1,092 g krist. Saccharose, Smp. 184–185°. Nach Umkristallisieren aus Methanol 0,936 g, Smp. 186–188°. Authentische Saccharose und die Mischprobe schmolzen gleich.

Untersuchung des Chloroformextrakts. Auch dieses Material zeigte keinen bitteren Geschmack, die Tüpfelprobe mit 1 mg Substanz gab mit *Raymond*-Reagens keine Färbung. Die 1,662 g Material wurden an 35 g  $Al_2O_3$  chromatographiert, wobei zur Elution jeder Fraktion 120 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel dienten.

### Erste Chromatographie.

Fraktionsnummer	Eluierungsmittel	Eindampfrückstand		Raymond-Reaktion
		Gewicht in mg	Habitus	
1—3	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	310	Öl, ätherlöslich	—
4—10	Chloroform . . . . .	260	Öl, ätherlöslich	—
11—13	Chloroform-Methanol (99:1) . .	184	Schaum amorph	+
14—22	Chloroform-Methanol (96:4)—(85:15) . . . . .	350	Schaum amorph	—

<sup>1)</sup> *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, Transact. Faraday Soc. **7**, 305 (1949).

<sup>2)</sup> Nach *J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein*, Helv. **27**, 1292 (Fussnote 2) (1944), aber bei 185° reaktiviert. <sup>3)</sup> *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **31**, 883 (1948).

<sup>4)</sup> *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, Helv. **34**, 1470 (1951).

<sup>5)</sup> *O. Schindler & T. Reichstein*, Helv. **34**, 108 (1951).

<sup>6)</sup> *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, Helv. **35**, 45 (1952).

Die Fraktionen 11–13 wurden nochmals an 6 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 20 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.

Zweite Chromatographie.

Fraktionsnummer	Eluierungsmittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Habitus	Raymond-Reaktion
1–3	Benzol-Chloroform (1:1) . . . . .	24	ätherlöslich	–
4–5	Benzol-Chloroform (1:3) . . . . .		ätherlöslich	–
6–12	Chloroform . . . . .	103	Schaum	+
13–14	Chloroform-Methanol (99:1) . . . . .		Schaum	+
15–16	Chloroform-Methanol (99:1) . . . . .	34	Schaum	–
17–19	Chloroform-Methanol (96:4)–(85:15)		Schaum	–

Die vereinigten Fraktionen 6–14 gaben im Papierchromatogramm nur einen Fleck, dessen Laufstrecke mit Odorosid H übereinstimmte. Aus Aceton-Äther wurden nach Impfen mit Odorosid H 3 mg farblose Nadeln vom Smp. 224–235° erhalten. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther Smp. 233–240°. Authentisches Odorosid H und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Färbungen mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  waren gleich.

Extraktion der Wurzeln von *Carissa lanceolata*.

3,25 kg fein gemahlenes Wurzelpulver wurde mit 6 l dest. Wasser angerührt, mit 100 cm<sup>3</sup> Toluol versetzt und 16 Std. bei 18° verschlossen stehengelassen. Die weitere Aufarbeitung geschah genau gleich wie bei Stammrinde aus *Acokanthera longiflora*<sup>1)</sup>, mit dem Unterschied, dass zur Bleireinigung nur das  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  aus 1 kg Pb-Acetat-trihydrat verwendet<sup>2)</sup> und auf das Ausschütteln mit Petroläther verzichtet wurde. Die nach Einengen bei pH = 6 erhaltene wässrige Suspension (1 l) wurde dreimal mit je 1,5 l Äther, fünfmal mit je 1 l Chloroform und viermal mit je 1 l Chloroform-Alkohol (3:2) ausgeschüttelt. Die wie üblich<sup>1)</sup> gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben: 84 g rohen Ätherextrakt als orangefarbenes zähes Harz; 5,7 g Chloroformextrakt als rotbraunen Schaum. Raymond-Reaktion dunkelgrau mit 0,5 mg; 7,0 g Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt. Raymond-Reaktion dunkelgrau mit 0,5 mg.

Im Vorversuch (mit 200 g Wurzelpulver) wurde die verbleibende wässrige Phase bei pH = 6 im Vakuum bis fast zur Trockne eingedampft, mit viel Methanol versetzt und filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum ganz eingedampft und der Rückstand mit abs. Alkohol ausgezogen und der unlösliche Anteil nochmals aus wenig Wasser mit abs. Alkohol gefällt. Die alkoholischen Lösungen gaben beim Eindampfen 3,6 g dunklen Rückstand. Raymond-Reaktion mit 1 mg negativ.

Die Sodalösungen und letzten Waschwässer aller Extrakte des Vorversuches wurden mit HCl bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und mit Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge lieferten 1,78 g rohes Säuregemisch (orange, in alkalischer Lösung braun, Raymond-Reaktion negativ).

Trennung des Ätherextrakts. Die 84 g Ätherextrakt aus 3,25 kg Wurzeln wurden in 200 cm<sup>3</sup> 70-proz. Methanol gelöst und fünfmal mit je 500 cm<sup>3</sup> Petroläther ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom der Reihe nach dreimal mit je 100 cm<sup>3</sup> 70-proz. Methanol gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden 19,5 g Petrolätherextrakt (verworfen<sup>3)</sup>).

<sup>1)</sup> P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1740 (1951).

<sup>2)</sup> Eine Probe des so gereinigten Filtrats gab mit basischem Bleiacetat nur noch eine äusserst schwache Trübung.

<sup>3)</sup> Dieser dürfte auch noch etwas Carisson enthalten haben.

Die vereinigten wässrigen methanolischen Phasen wurden im Vakuum vom Methanol befreit und viermal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Sodalösung und Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge hinterliessen 60,45 g gereinigten Ätherextrakt als ziegelrotes Harz.

Erste Chromatographie. Die 60,45 g gereinigter Ätherextrakt wurden an 500 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  grob chromatographiert.

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Gewicht in g	Raymond-Reaktion
1	2 1 Benzol-Chloroform (1:1) . . . . .	45,80	farblos
2	1 1 Benzol-Chloroform (1:1) . . . . .	2,55	braun
3	1 1 Benzol-Chloroform (1:1) . . . . .	0,92	braun
4	1 1 Benzol-Chloroform (1:1) . . . . .	0,17	braun
5	1,5 l Chloroform . . . . .	2,57	blau
6	1 1 Chloroform . . . . .	0,18	blau
7	1 1 Chloroform-Methanol (9:1) . . . . .	3,10	sepia
8	1 1 Chloroform-Methanol (9:1) . . . . .	2,02	sepia
9	1 1 Chloroform-Methanol (4:1) . . . . .	0,26	sepia
10	0,5 l Chloroform-Methanol (4:1) . . . . .	0,07	sepia
11	1 1 Chloroform-Methanol-Äthylacetat (1:1:1) . .	0,20	sepia

Fraktion 1 gab aus Äther-Petroläther 18,7 g Carisson, Smp. 78–79°.

Zweite Chromatographie. Die Fraktionen 2–6 der ersten Chromatographie wurden vereinigt (6,39 g) und nochmals an 190 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 500 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.) Die Fraktionen 1–9 (total 3,29 g, eluiert mit Benzol-Chloroform (1:1)) waren ätherlöslich. Die meisten davon zeigten mit *Raymond*-Reagens unspezifische, braune Färbung. Nur die Fraktionen 3–4 gaben einen violetten Fleck.

Die Fraktionen 10–13 (total 2,51 g, eluiert mit Chloroform) gaben blaue *Raymond*-Reaktion. Sie lieferten aus Aceton-Äther 15 mg krist. Odorosid H, Smp. 228–235°.

Fraktion 14 (530 mg, eluiert mit Chloroform-Methanol (9:1)) zeigte ebenfalls blaue *Raymond*-Reaktion und gab aus Aceton-Äther 100 mg Odorosid H vom Smp. 232–235°.

Weitere Fraktionen gaben nur noch Spuren Material (verworfen).

Dritte Chromatographie. Die Fraktionen 7–11 der ersten Chromatographie und die Mutterlaugen der Fraktionen 11–14 der zweiten Chromatographie wurden vereinigt (7,26 g) und an 220 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. (Für jede Fraktion 700 cm<sup>3</sup> Lösungsmittel.)

Die Fraktionen 1–3 (eluiert mit Benzol-Chloroform) gaben 0,610 g amorphes Material, *Raymond*-Reaktion: negativ.

Die Fraktionen 4–8 (eluiert mit Benzol-Chloroform (3:7)) gaben insgesamt 1,597 g Rückstand, *Raymond*-Reaktion: positiv. Aus Aceton-Äther 50 mg Odorosid H, Smp. 232–237°.

Die Fraktionen 9–26 (eluiert mit Chloroform und Chloroform-Methanol-Gemischen bis 20% Methanolgehalt) gaben insgesamt noch 3,77 g Material, *Raymond*-Reaktion: negativ.

Trennung des Chloroformextrakts. Die 5,7 g Chloroformextrakt wurden analog chromatographiert. Lediglich die mit Chloroform eluierbaren Anteile (0,850 g) gaben positive *Raymond*-Reaktion. Sie lieferten aus Aceton-Äther 76 mg Odorosid H, Smp. 232–236°.

Schliesslich wurden die Mutterlaugen der Fraktionen, die krist. Odorosid H geliefert hatten, aus allen Chromatographien (Äther- und Chloroformextrakt) vereinigt (2,2 g)



und nochmals an 60 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, worauf sich noch 31 mg Odorosid H isolieren liessen. Gesamtausbeute 327 mg (0,01%).

Carisson. Aus Äther-Petroläther farblose Prismen, Smp.  $78-79^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{19} = +136,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,025$  in Chloroform).

10,342 mg Subst. zu  $1,0094 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ dm}$ ;  $\alpha_D^{19} = +1,40^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde bei 12 Torr im Schiffchen kurz geschmolzen.

4,522 mg Subst. gaben 12,540 mg  $\text{CO}_2$  und 4,041 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (A. P.)

3,652 mg Subst. gaben 10,090 mg  $\text{CO}_2$  und 3,239 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (OAB)

$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_2$  (222,32) Ber. C 75,63 H 9,98%

$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$  (236,34) Ber. „ 76,22 „ 10,24% Gef. C 75,68; 75,40 H 10,00; 9,92%

Prüfung auf N, Halogen, S und Methoxyl: negativ. Tetranitromethanprobe: schwach positiv. Carisson lässt sich bei 0,01 Torr und  $90^\circ$  Badtemperatur unzersetzt destillieren. Die Kristalle waren geschmacklos, Raymond-Reaktion: negativ (farblos). Farbreaktion mit konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : anfangs hellgelb, dann orange-rosa (2–3 Std.). UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil.

Semicarbazon. 200 mg Semicarbazid-hydrochlorid mit 300 mg Na-Acetat-trihydrat gut verrieben. Verflüssigte Masse mit  $3 \text{ cm}^3$  Methanol aufgenommen und NaCl abfiltriert. Zum Filtrat 80 mg Carisson zugesetzt und bei  $80^\circ$  gelöst, dann 20 Std. bei  $18^\circ$  stehengelassen. Im Vakuum auf  $1 \text{ cm}^3$  eingengt, mit  $5 \text{ cm}^3$  Wasser versetzt und dreimal mit je  $10 \text{ cm}^3$  Äther ausgeschüttelt. Die je dreimal mit 10-proz.  $\text{KHCO}_3$  und Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Ätherlösungen wurden auf  $4 \text{ cm}^3$  eingengt, worauf sich Kristalle abschieden. Nach einigem Stehen wurde abfiltriert und mit Äther-Petroläther gewaschen. Ausbeute 70 mg, Smp.  $216-219^\circ$ . Aus Methanol-Äther grobe, farblose Pyramiden, Smp.  $215-217^\circ$ .

Trocknung zur Analyse 3 Std. gab 0,28% Verlust.

4,622 mg Subst. gaben 11,146 mg  $\text{CO}_2$  und 3,671 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (A. P.)

4,105 mg Subst. gaben 9,868 mg  $\text{CO}_2$  und 3,410 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (OAB)

5,032 mg Subst. gaben  $0,642 \text{ cm}^3 \text{ N}_2$  ( $24^\circ$ , 731 Torr) (A. P.)

3,718 mg Subst. gaben  $0,479 \text{ cm}^3 \text{ N}_2$  ( $25^\circ$ , 739 Torr) (OAB)

$\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{N}_3$  Ber. C 65,49 H 9,24 N 14,32%

(293,41) Gef. „ 65,81 „ 8,89 „ 14,10% (A. P.)

Gef. „ 65,60 „ 9,30 „ 14,35% (OAB)

UV.-Absorptionsspektrum siehe theoret. Teil.

Acetylierungsversuch. 100 mg Carisson mit  $1,5 \text{ cm}^3$  abs. Pyridin und  $1 \text{ cm}^3$  Acetanhydrid 24 Std. auf  $32^\circ$  erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 110 mg Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther 58 mg farblose Kristalle, Smp. und Misch-Smp. mit Ausgangsmaterial  $74-78^\circ$ .

Dehydrierungsversuch mit  $\text{CrO}_3$ . 58 mg Carisson in  $1,5 \text{ cm}^3$  Eisessig mit  $1 \text{ cm}^3$  2-proz.  $\text{CrO}_3$ -Eisessig-Lösung (20 mg  $\text{CrO}_3$ ) versetzt und 16 Std. bei  $18^\circ$  stehengelassen, worauf noch  $\text{CrO}_3$  nachweisbar war. Nach Zusatz von  $0,2 \text{ cm}^3$  Methanol wurde noch 2 Std. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 53 mg neutrales Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther 53 mg farblose Kristalle, Smp. und Misch-Smp. mit Ausgangsmaterial  $74-78^\circ$ .

Verseifungsversuch. 200 mg Carisson in  $20 \text{ cm}^3$  Methanol mit  $2,5 \text{ cm}^3$  2-n. NaOH 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Methanol im Vakuum entfernt und die alkalische Suspension mit Äther ausgeschüttelt. Erhalten wurden 182 mg neutrales Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther farblose Kristalle, Smp. und Misch-Smp. mit Ausgangsmaterial  $75-79^\circ$ .

Odorosid H aus Carissa lanceolata. Die Rohkristalle wurden aus Aceton-Benzol, dann aus Benzol-Äther umkristallisiert. Farblose Blättchen, Smp.  $236-238^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{17} = +8,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9972$  in Methanol).

4,061 mg Subst. gaben 10,011 mg  $\text{CO}_2$  und 3,160 mg  $\text{H}_2\text{O}$  (OAB)

$\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_8$  (534,67) Ber. C 67,37 H 8,68% Gef. C 67,27 H 8,71%

Authentisches Odorosid H<sup>1)</sup><sup>2)</sup> sowie die Mischprobe schmolzen gleich (Smp. 230–238° nach starkem Verreiben). Auch die Färbungen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren gleich. Färbung mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: blassgelb (0–5 Min.), hellblau (25–40 Min.), gelblich verblassend (1 Std.). Färbung mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: tiefgelb (0–5 Min.), weinrot (25 Min.), dunkellila (40–60 Min.), bräunlich (90 Min.).

*Diacetat*. Aus Aceton-Äther Blättchen mit Doppel-Smp. 240°/251–253° (nach Umwandlung in Nadeln);  $[\alpha]_D^{20} = +9,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,003$  in Aceton).

1,450 mg Subst. gaben 3,51 mg CO<sub>2</sub> und 1,10 mg H<sub>2</sub>O (S. W.)

C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>O<sub>10</sub> (618,74) Ber. C 66,00 H 8,15% Gef. C 66,06 H 8,48%

Das Acetat wurde von CrO<sub>3</sub> in Eisessig bei 20° nach fünfstündigem Stehen nicht verändert. Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte ein Maximum bei 217 mμ, log ε = 4,23 (ber. auf C<sub>34</sub>H<sub>50</sub>O<sub>10</sub>). Misch-Smp. mit authentischem Odorosid-H-Diacetat<sup>1)</sup><sup>2)</sup> ohne Erniedrigung.

*Dibenzoat*. 40 mg Odorosid H aus *Carissa lanceolata* gaben nach Benzoylierung 51 mg rohe Kristalle. Aus Chloroform-Methanol durch Einengen Rhomben, Smp. 318–319° (Zers.);  $[\alpha]_D^{17} = +61,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,051$  in Chloroform). Misch-Smp. mit authentischem Odorosid-H-dibenzoat<sup>2)</sup> ohne Depression.

4,669 mg Subst. gaben 12,163 mg CO<sub>2</sub> und 3,033 mg H<sub>2</sub>O (A. P.)

C<sub>44</sub>H<sub>54</sub>O<sub>10</sub> (742,87) Ber. C 71,13 H 7,33% Gef. C 71,09 H 7,27%

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

### Zusammenfassung.

Aus den Wurzeln von *Carissa ovata* (R. Br.) var. *stolonifera* F. M. Bailey aus Westqueensland (Australien) liessen sich nach wiederholter Chromatographie ca. 0,0007 % eines krist. Glykosids gewinnen, das höchst wahrscheinlich mit Odorosid H identisch ist. Andere Glykoside liessen sich auch papierchromatographisch nicht nachweisen. – Zweige und Blätter wurden nur qualitativ geprüft und enthielten sicher nicht mehr als Spuren digitaloider Glykoside.

Aus den Wurzeln von *Carissa lanceolata* R. Br. aus Queensland (Australien) liess sich in 0,01 % Ausbeute krist. Odorosid H gewinnen. Andere Glykoside liessen sich nicht nachweisen. Dagegen enthielten die Wurzeln reichliche Mengen ca. 0,6 % eines krist. ungesättigten Ketons der vermutlichen Formel C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>, das wir als Carisson bezeichnet haben. Die Blätter von *C. lanceolata* enthielten kein oder viel weniger Glykosid; die Zweige wurden nicht untersucht.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

<sup>1)</sup> A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 687 (1952).

<sup>2)</sup> W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **36**, 434 (1953).