

Die Kristalle waren praktisch unlöslich in Äther, schwer löslich in Aceton und Wasser, leichter in Methanol und Äthanol. *Raymond*-Reaktion: positiv, *Keller-Kilian*-Reaktion: negativ. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : farblos während 3 Std.; mit konz. H_2SO_4 : gelb (0'), karminrot (2'), violettrot (4'), dunkelbordeaux (10'), dunkelgrün (50'), dunkel blaugrün (7 Std.). Biolog. Wirksamkeit siehe theoret. Teil. Papierchromatogramm vgl. Nr. 3 in Fig. 5 und 7.

Acetat: 50 mg krist. Sarmentosid E (obiges Präparat) wurden in 0,8 cm³ abs. Pyridin und 0,7 cm³ Acetanhydrid 14 Std. bei 18° stehengelassen und anschliessend 2½ Std. auf 75° erwärmt. Übliche Aufarbeitung gab 62 mg neutrales Rohprodukt. Aus Methanol-Äther 40 mg farblose Nadeln, Smp. 300–303° (Zers.). $[\alpha]_D^{21} = -28,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9980$ in Chloroform). Die Mischprobe mit authentischem Vergleichsmaterial schmolz gleich.

Die Analysen wurden im Mikrolabor unseres Instituts (Leitung *E. Thommen*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Als Hauptglykoside der Samen von *Strophanthus tholloni Franch.* wurden nach Fermentierung die Sarmentoside A und E in Kristallen isoliert. Daneben wurde etwas Sarmentosid C nachgewiesen, sowie ein weiterer Stoff, den wir „Substanz U“ nennen. Die Samen enthalten wahrscheinlich noch Sarmentosid D und andere Glykoside, die sich nur sehr schwer von Sarmentosid A trennen lassen. Eine Probe der Samen von *S. tholloni var. gardeniiflorus (Gilg) Monach.* aus Angola gab ein Mischkristallisat, das nach dem Ergebnis der Papierchromatographie ebenfalls vorwiegend die Sarmentoside A und E enthielt. In Spuren wurden aus diesen Samen Sarnovid und Panstrosid erhalten.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

115. Die Glykoside von *Adenium lugardii N.E.Br.*¹⁾.

Glykoside und Aglycone, 147. Mitteilung²⁾³⁾

von P. R. Striebel, Ch. Tamm und T. Reichstein.

(27. IV. 55.)

Adenium lugardii N. E. Br. ist eine in Südwestafrika heimische succulente Apocynacee. Chemisch ist diese Pflanze, soweit wir feststellen konnten, bisher nicht untersucht worden. Von anderen *Adenium*-Arten wurden bisher *A. somalense Balf. fil.*^{a)}³⁾, *A. boehmianum Schinz*^{b)}^{c)}, *A. multiflorum Kl.*^{d)}, *A. honghel A. DC.*^{e)}^{f)}^{g)}¹⁾ und *A. coetaneum Stapf*^{e)}⁴⁾ chemisch analysiert. Wir beschreiben hier die Untersuchung der im Titel genannten Art.

¹⁾ Auszug aus Diss. P. R. Striebel, Basel 1954.

²⁾ 146. Mitteilung: J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **38**, 987 (1955).

³⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten werden später wieder zitiert und gelten für die ganze Mitteilung.

⁴⁾ Diese Art wurde chemisch nicht genau untersucht.

Beschaffung des Pflanzenmaterials. Frisches (ungetrocknetes) Material von Adenium lugardii N. E. Br. (7,18 kg oberirdische Teile als 2 ganze Pflanzen ohne Wurzeln) erhielten wir am 23. Januar 1951 von Herrn W. Triebner in Windhoek SW.-Afrika. Die Pflanzen wurden am 25. Nov. 1950 von L. S. und W. Triebner bei Naris, am Rande der Kalahari, Gross-Namaqualand SW.-Afrika in Kalkgeröll gesammelt. Standorte meist im Schatten der Sträucher von *Catophractes alexandri* D. Don, sehr wenig freistehend. Durchschnittlicher Regenfall dieses Gebietes ca. 240 mm im Jahr. Maximaltemperatur im Schatten 45–48°, Minimaltemperatur an wenigen Wintertagen –5 bis –8°. Das Vorkommen erstreckt sich auf eine Länge von etwa 800 km entlang des Kalahari-Dünengürtels, sporadisch im Wüstenkalk. Weitere Vorkommen in Wüstenkalkflächen innerhalb der Kalahari und des Betschuanalandes waren damals nicht erreichbar. Das Material erreichte uns in fast unverehrtem Zustand und wurde sofort nach Eintreffen in grobe Scheiben zerschnitten mit ca. demselben Gewicht Alkohol gedeckt und bis zur Extraktion stehengelassen.

Extraktion des Pflanzenmaterials. Die wie früher^{c)} durchgeführte Extraktion gab die folgenden Ausbeuten¹⁾:

12,04 g (0,1677%)	gereinigter Ätherextrakt A ²⁾
2,39 g (0,033 %)	Chf-Extrakt A
27,86 g (0,388%)	Chf-Alk-(2:1)-Extrakt A

Alle drei Extrakte zeigten stark bitteren Geschmack und stark positive Reaktion mit *Kedde*-Reagens. Die verbliebene wässrige Phase war nicht mehr bitter und wurde verworfen.

Isolierung der Glykoside. Aus dem Ätherextrakt A liessen sich teils durch direkte Kristallisation, teils nach Chromatographie an „Silikatgemisch“ zwei krist. Glykoside isolieren, die mit dem bekannten Honghelosid A¹⁾ und dem ebenfalls bekannten Somalin^{a)} identifiziert werden konnten. (Totale Ausbeute: 2,029 g (0,028%) Honghelosid A und 1,39 g (0,019%) Somalin).

Aus dem Chf-Extr. A konnten auch nach Chromatographie an Silikatgemisch und Al_2O_3 bisher nur Spuren von Kristallen isoliert werden, die mit *Raymond*-Reagens keine Färbung gaben und daher nicht weiter untersucht wurden.

Aus dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. A konnten zunächst direkt keine Kristalle erhalten werden. Eine Probe (1,16 g) wurde acetyliert und das Gemisch der Acetate chromatographiert, wobei jedoch nur sehr wenig Kristalle resultierten. Daher wurde die Hauptmenge des

¹⁾ Hier und im folgenden gelten die folgenden Abkürzungen: Alk = Äthanol, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, Me = Methanol. (2:1) usw. bedeutet immer das Volumenverhältnis.

²⁾ Gereinigt durch Verteilung zwischen 80-proz. Methanol und Petroläther.

^{a)} M. Hartmann & E. Schlittler, Helv. **23**, 548 (1940).

^{b)} R. Boehm, Arch. exp. Pathol. & Pharmakol. **26**, 165 (1890).

^{c)} J. C. Hess, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 2202 (1952).

^{d)} A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **33**, 1993 (1950).

^{e)} M. Frèrejacque & V. Hasenfratz, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **229**, 848 (1949).

^{f)} A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **33**, 76 (1950).

^{g)} O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 18 (1951).

^{h)} H. Krause, Berliner Klinische Wochenschrift **1910**, 1699.

ⁱ⁾ J. C. Hess & A. Hunger, Helv. **36**, 85 (1953).

Extrakts (26 g) nochmals in Wasser aufgenommen und fraktioniert mit Chloroform sowie zwei verschiedenen Chf-Alk-Gemischen ausgeschüttelt, wobei die folgenden Extrakte (B) resultierten:

0,29 g (1,12%) Chf-Extr. B
4,11 g (15,77%) Chf-Alk-(9:1)-Extr. B
21,21 g (81,58%) Chf-Alk-(2:1)-Extr. B

Der Chf-Extr. B gab mit *Raymond*-Reagens keine Färbung und wurde nicht untersucht. Beim Chf-Alk-(9:1)-Extr. B fiel diese Reaktion positiv aus, doch konnten auch nach Chromatographie an „Silikatgemisch“ bisher keine Kristalle isoliert werden.

Am genauesten wurde der Chf-Alk-(2:1)-Extr. B untersucht. Nach Chromatographie an „Silikatgemisch“ gelang es mit einiger Mühe, ein krist. Glykosid daraus zu isolieren, das sich mit dem aus *A. boehmianum* erhaltenen^{b)}^{c)} Echujin als identisch erwies. Die Ausbeute betrug 4,093 g (0,057%). In der verbliebenen Mutterlauge liess sich im Papierchromatogramm (Nr. 3 in Fig. 1) ausser Echujin noch ein Stoff nachweisen, der langsamer wandert als dieses und langsamer als Digitalinum verum. Wir nennen ihn „Substanz A“. Da es nicht gelang „Substanz A“ zu kristallisieren, wurden die folgenden Versuche durchgeführt, die einige Anhaltspunkte über ihre chemische Natur liefern.

Die 16,8 g Mutterlaugen des Echujins wurden zunächst mit Glucosidase aus Brauereihefe¹⁾ behandelt, welche Echujin weitgehend zu Echubiosid^{e)} abbaut, das sich aus Wasser bereits mit Chf-Alk (97:3) ausschütteln lässt. Anschliessend wurde aus Wasser fraktioniert mit Äther, Chf und drei verschiedenen Chf-Alk-Gemischen ausgeschüttelt. Es resultierten die folgenden 5 Extrakte (C):

	<i>Raymond</i> -Reaktion	Hauptfleck im Papierchromatogramm entsprach
0,127 g (0,8%) Äther-Extr. C	–	verworfen
0,173 g (1,0%) Chf-Extr. C	–	verworfen
0,329 g (2,0%) Chf-Alk-(9:1)-Extr. C	+	Echubiosid, wenig Echujin
6,163 g (36,7%) Chf-Alk-(4:1)-Extr. C	+	wenig Echubiosid, Echujin
8,581 g (51,1%) Chf-Alk-(2:1)-Extr. C	+	„Substanz A“

Nach Papierchromatographie befand sich „Substanz A“ offenbar unverändert und weitgehend frei von Echujin im Chf-Alk-(2:1)-Extr. C, daher wurde dieser Teil noch etwas genauer untersucht. Obwohl eine sichere Aufklärung der Natur von „Substanz A“ dabei nicht erreicht werden konnte, sollen die bisherigen Resultate hier mitgeteilt werden. Chromatographie des Chf-Alk-(2:1)-Extr. C an

¹⁾ Vgl. *A. Stoll, J. Renz & W. Kreis, Helv.* **20**, 1484 (1937), sowie *A. Stoll & J. Renz, Enzymologia* **7**, 362 (1939). Das hier benützte Enzympräparat wurde bereitet nach *H. Tauber, Chemistry and Technology of Enzymes*, p. 55 (New York, 1949).

„Silikatgemisch“ lieferte bisher keine Kristalle. Hierauf wurde an kleinen Proben mit Hilfe von Papierchromatographie zunächst festgestellt, dass „Substanz A“ durch halbstündiges Kochen mit 0,05-n. H_2SO_4 ¹⁾ nicht merklich verändert wird. Durch Einwirkung von Taka-diaastase²⁾ scheint ein teilweiser Abbau hervorgerufen zu werden. Eine recht glatte Spaltung bewirkte die Glucosidase aus den Samen von *Adenium multiflorum*³⁾. „Substanz A“ verhielt sich gegenüber milder Säurehydrolyse sowie den zwei Fermentpräparaten somit sehr ähnlich wie Digitalinum verum³⁾. Wir haben daher die Hauptmenge (8 g) des Chf-Alk-(2:1)-Extr. C der Einwirkung des genannten Enzympräparates aus *A. multiflorum* unterzogen. Die fraktionierte Ausschüttelung gab hierauf die folgenden Extrakte (D).

Extrakt	Raymond-Reaktion	Hauptfleck im Papierchromatogramm
3,336 g (41,7%) Chf-Extr. D	+	„Subst. B“ u. „Subst. C“
0,744 g (9,3%) Chf-Alk-(9:1)-Extr. D	+	—
0,783 g (9,8%) Chf-Alk-(4:1)-Extr. D	+	—
0,512 g (6,4%) Chf-Alk-(2:1)-Extr. D	+	—

Aus diesem Ergebnis folgt mit grosser Wahrscheinlichkeit, dass die Hauptmenge von „Substanz A“ durch das Enzym zum Monoglykosid abgebaut wurde, das sich jetzt im Chf-Extr. D befand. Dieser Extrakt gab im Papierchromatogramm (Nr. 6 in Fig. 2) zwei Hauptflecke mit merklich geringerer Wanderungsgeschwindigkeit als Somalin, Echubiosid und Honghelin. Wir nennen die zwei Stoffe, die sie verursachen, „Substanz B“ und „Substanz C“. Chromatographie des Chf-Extr. D an Al_2O_3 ⁴⁾ lieferte nur Spuren von Kristallen, die sich als Somalin erwiesen. Es dürfte durch enzymatische Spaltung der letzten Reste Echujin entstanden sein, das im Chf-Alk-(2:1)-Extr. C noch enthalten war. Die amorphen Fraktionen, welche die Substanzen B und C enthielten und frei von Somalin waren, wurden acetyliert und das Gemisch der Acetate an Al_2O_3 chromatographiert,

¹⁾ Echujin und andere Glykoside, die 2-Desoxyzucker enthalten, werden dabei zu Aglykonen abgebaut.

²⁾ Es wurde ein technisches Enzympräparat verwendet, für dessen Überlassung wir der Schweizerischen Fermen AG., Basel, auch hier danken möchten. Von diesem Präparat wird unter den benützten Bedingungen Echujin zu Echubiosid abgebaut. Digitalinum verum wird jedoch kaum angegriffen.

³⁾ Vgl. A. Hunger & T. Reichstein¹⁾ und W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 434 (1952).

⁴⁾ Al_2O_3 ist für diesen Zweck nicht günstig, da es in 16-Stellung acetylierte Gitoxigenin-Derivate leicht in 16-Anhydro-gitoxigenin-Derivate überführt, vgl. K. Meyer, Helv. **29**, 718 (1946); A. Hunger & T. Reichstein¹⁾; A. Aeby & T. Reichstein, Helv. **33**, 1013 (1950). Chromatographie an „Silikatgemisch“, das diese Abspaltung von Essigsäure nicht verursacht, lieferte hier aber keine Kristalle.

worauf sich in schlechter Ausbeute zwei Kristallisate isolieren liessen, die wir als „B-Acetat“ und „C-Acetat“ bezeichnen. Es ist wahrscheinlich, aber nicht bewiesen, dass es sich um die Acetylderivate der oben genannten Substanzen B und C gehandelt hat. Die Reinheit von „C-Acetat“ ist aber fraglich.

Beispiele für die papierchromatographische Kontrolle¹⁾.

Ruhende Phase: Formamid.

Bewegliche Phase: Toluol-Butanol-(1:1), gesättigt mit Formamid.

Die Front ist jeweils eingezzeichnet.

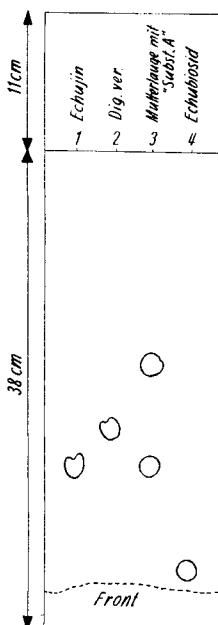


Fig. 1.

Dauer ca. 10 Std., T = 22°.

1 = 0,2 mg Echujin

2 = 0,2 mg Digitalinum verum

3 = 0,5 mg Mutterlauge von Echujin,
eventuell „Subst. A“

4 = 0,1 mg Echubiosid

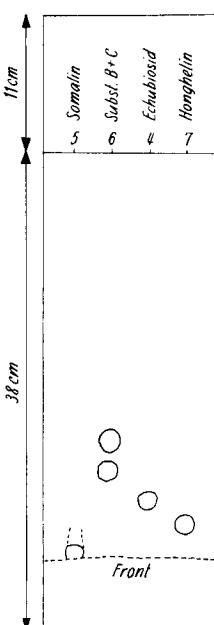


Fig. 2.

Dauer ca. 10 Std., T = 22°.

5 = 0,1 mg Somalin

6 = 0,5 mg Chf-Extr. D, enthaltend
Subst. B und C

7 = 0,1 mg Honghelin

„B-Acetat“ erwies sich nach Smp., Drehung, Mischprobe, Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 3) als identisch mit O-Diacetyl-odorosid H²⁾, obgleich die Analyse einen

¹⁾ Ausführung nach O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 168 (1951). Als bewegliche Phase diente aber Toluol-Butanol (1:1), das mit Formamid gesättigt war. Zur Trennung dieser stark polaren Glykoside ist aber Wasser oder Propylenglykol-Wasser als ruhende Phase besser geeignet. Vgl. E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 680 (1954), und weitere Literatur daselbst.

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

um fast 1% zu tiefen C-Wert zeigte. Im UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Kurve B in Fig. 4) zeigte das Präparat neben dem normalen Maximum eine Schulter bei $270 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 2,56$. Letztere spricht dafür, dass das Präparat noch ca. 2% einer 16-Anhydroverbindung als Verunreinigung enthalten hatte.

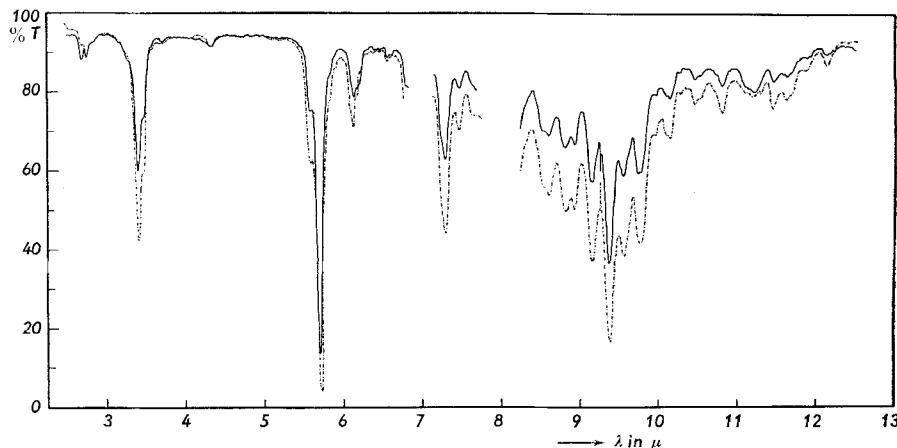


Fig. 3.

IR.-Absorptionsspektren in Methylenchlorid¹⁾.

Kurve A ----- = O-Diacetyl-odorosid H aus *Adenium Lugardii*.
Kurve B ——— = O-Diacetyl-odorosid H, authentisch.

In beiden Fällen: ca. 1 mg Subst. in CH_2Cl_2 , Mikrozelle, Schichtdicke 0,2 mm, kompensiert mit CH_2Cl_2 , NaCl-Prisma, Auflösungsgrad 4, Ansprechgeschwindigkeit $1/1$, Verstärkung 5,8, Registriergeschwindigkeit $2 \text{ min}/\mu$, Dämpfung 1, Masstab $2''/\mu$.

„C-Acetat“ zeigte Smp. $217 - 218,5^\circ$ und $[\alpha]_D^{18} = +34^\circ \pm 2^\circ$ (in Chloroform). Auch dieses Acetat gab eine stark positive Reaktion mit Raymond-Reagens. Sein UV.-Absorptionsspektrum (Kurve C in Fig. 4) zeigte zwei nahezu gleich hohe Maxima bei 218 und bei $271 \text{ m}\mu$. Wir glauben daher, dass beim „C-Acetat“ ein Gemisch von ca. 45% eines normalen digitaloiden Lactons mit einem 16-Anhydro-Derivat vorlag. Die Analysenwerte passten dementsprechend auch auf keine der wahrscheinlichsten Formeln, wären aber mit der Annahme gut vereinbar, dass ein Gemisch etwa gleicher Mengen von zwei Stoffen $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$ und $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_{10}$ vorlag²⁾. Die Höhe der Maxima im UV.-Spektrum wäre mit den entsprechenden Molekulargewichten gut verträglich.

¹⁾ Aufgenommen unter der Leitung von Herrn Dr. E. Ganz, Ciba, Basel, auf einem Perkin-Elmer-IR.-Spektrophotometer Modell 21.

²⁾ Das würde beispielsweise einem Gemisch von Triacetyl-strospevid und Diacetyl-16-anhydro-strospevid (bzw. Isomeren davon) entsprechen. Solche Gemische sind erfahrungsgemäss sehr schwer trennbar, vgl. z.B. A. Hunger & T. Reichstein^{d)}; W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **36**, 434 (1953).

Die genannten orientierenden Versuche sprechen dafür, dass „Substanz A“ ein Gemisch von Odorotriosid G oder Odorotriosid-G-monoacetat¹⁾ mit einem Di- oder Triglykosid des Gitoxigenins darstellt. Letzteres könnte sich von Digitalinum verum oder 16-Acetyl-

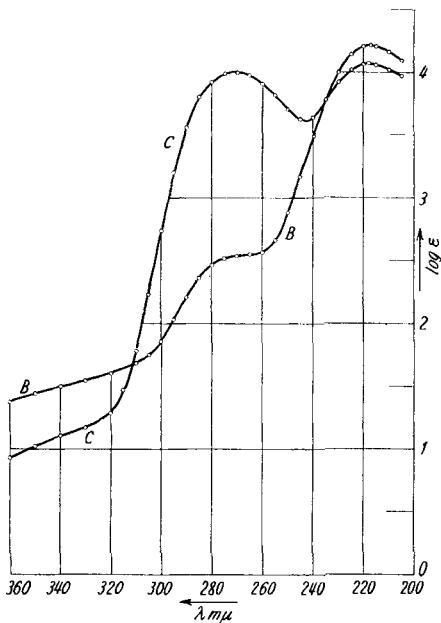


Fig. 4.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol²⁾.

Kurve B: „B-Acetat“ (= O-Diacetyl-odorosid H), Maximum bei $217 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,22$) und Schulter bei ca. $270 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 2,56$). Ber. auf $C_{34}H_{50}O_{10}$ (618,74).

Kurve C: „C-Acetat“. Maxima bei $218 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,07$) und $271 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,00$). Ber. auf $C_{36}H_{52}O_{12}$ (660,78).

digitalinum-verum ableiten. Da Digitalinum verum in Adenium lugardii auch bei der Papierchromatographie bisher nicht gefunden wurde, könnte vielleicht ein Derivat mit Thevetose und Glucoseresten vorgelegen haben. Ob die teilweise Anhydrisierung an C-16 bei „C-Acetat“ bereits beim enzymatischen Abbau oder erst bei der Chromatographie der Acetate an Al_2O_3 erfolgt ist, lässt sich aus den bisherigen Versuchen nicht entscheiden.

Für diese Arbeit standen uns Mittel aus den Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes zur Verfügung, wofür auch hier bestens gedankt sei.

¹⁾ S. Rangaswami & T. Reichstein, Pharmac. Acta Helv. **24**, 159 (1949); A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 687 (1952).

²⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem „Unicam SP 500 Quartz Spektrophotometer“.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in verwendeter Ausführungsform bis 200° etwa ± 2°, darüber etwa ± 3°. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 70° und 0,02 Torr getrocknet, zur Analyse, sofern nicht anderes angegeben 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform oder Chloroform-Äther (1:3), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Alle Chromatographien wurden nach der Durchlaufmethode¹⁾ ausgeführt. Das verwendete Al₂O₃ wurde stets von Alkali befreit²⁾, gereinigtes Mg-Silikat-Kieselgur (2:1)³⁾ wird als „Silikatgemisch“ bezeichnet. Ausführung der *Legal*-Reaktion⁴⁾, *Keller-Kilian*-Reaktion⁵⁾, *Raymond*-Reaktion⁶⁾, *Kedde*-Reaktion⁷⁾ und der Zuckerprüfung⁸⁾ nach früheren Angaben.

Extraktion des Materials.

7,18 kg frische (ungetrocknete), oberirdische Teile von *Adenium lugardii N. E. Br.* (erhalten am 23. 1. 51) wurden grob zerschnitten, mit der ca. gleichen Menge 95-proz. Alkohol bedeckt und bis zur Verarbeitung bei 20° stehengelassen. Die weitere Aufarbeitung wurde genau wie bei *Adenium Boehmianum Schinz* beschrieben^{c)} durchgeführt. Es wurden erhalten:

19,12 g (0,258%) roher Ätherextrakt A (gelbliches Öl, stark bitter).

2,99 g (0,033%) Chloroformextrakt A (rotbraun, bitter).

27,86 g (0,388%) Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (rotbrauner Schaum, stark bitter).

Untersuchung des Ätherextrakts A. Die 19,12 g roher Ätherextrakt A wurden warm in Äther gelöst, mit Honghelin, Honghelosid A und Somalin geimpft und 3 Wochen verschlossen bei 0° stehengelassen. Es hatten sich dann 0,99 g rohes Honghelosid A, Smp. 85—90°/184—205° abgeschieden. Die eingedampfte Mutterlauge (18,13 g) wurde in 100 cm³ 80-proz. Methanol gelöst und dreimal mit je 100 cm³ Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherphasen wurden der Reihe nach noch dreimal mit je 50 cm³ 80-proz. Methanol gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (Fett, verworfen) wog 6,09 g. Die wässrig-methanolische Phase wurde im Vakuum von Methanol befreit und viermal mit je 50 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit verd. Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 10,53 g gereinigten Ätherextrakt A als gelblichen Schaum. Er wurde zuerst mit einer Spur Methanol verflüssigt, mit Äther nicht ganz bis zur Trübung versetzt und mit Honghelosid A geimpft, doch trat keine Kristallisation ein. Hingegen konnten aus Methanol-Wasser (2:1) 2,4 g rohes Somalin vom Smp. 110—133° kristallisiert werden. Die Mutterlauge (8,13 g) wurde an 250 g „Silikatgemisch“ chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion diente je 1 Liter der in Tab. 1 genannten Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—8 blieben amorph.

Die Fraktionen 9—17 gaben aus Äther 1,174 g rohes Honghelosid A, Smp. 201—207°. Die Mutterlauge lieferte noch Kristalle, Smp. 126—176°, zur Hauptsache ein Gemisch von Honghelosid A und Somalin. Diese zwei Stoffe zeigen im Papierchromatogramm (Formamid: Bz-Chf (7:5)) praktisch gleiche Laufstrecken.

Fraktion 18 gab aus Äther 17 mg Kristalle, Smp. 119—125°/159—177°, die ein ähnliches Gemisch darstellten.

¹⁾ *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, Discussions Farad. Soc. **1949**, Nr. 7, 305.

²⁾ Bereitet nach *J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein*, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944), aber nur bei 185° reaktiviert.

³⁾ Bereitet nach *W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **35**, 434 (1952).

⁴⁾ *K. Reyle & T. Reichstein*, Helv. **35**, 98 (1952).

⁵⁾ *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **31**, 883 (1948).

⁶⁾ *O. Schindler & T. Reichstein*, Helv. **34**, 108 (1951).

⁷⁾ *E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **37**, 680 (1954).

⁸⁾ *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, Helv. **34**, 1740 (1951).

Tabelle 1.
Chromatographie von 8,13 g amorphen Anteilen aus Ätherextrakt.

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus, bei Kristallen Smp.
1—6	Bz	86	amorph
7—8	Bz-Chf (9:1)	33	amorph
9—11	Bz-Chf (4:1)	58	201—207°
12—17	Bz-Chf (3:2)	2859	201—207°
18	Bz-Chf (3:2)	43	119—125°/159—177°
19—20	Bz-Chf (2:3)	319	186—203°
21—24	Bz-Chf (2:3)	542	186—203°
25—26	Chloroform	1148	110—115°
27—33	Chf-Me (99:1)	774	amorph
34—36	Chf-Me (98:2)	2024	amorph
37—45	Chf-Me (95:5) (90:10) (80:20)	552	amorph

Die Fraktionen 19—20 gaben aus Äther noch 122 mg rohes Honghelosid A, das wenig Somalin enthielt.

Die Fraktionen 21—24 gaben aus Äther 195 mg rohes Honghelosid A, das noch wenig Somalin enthielt.

Die Fraktionen 25—26 gaben aus Äther 63 mg Kristalle, Smp. 110—115°, die nicht weiter untersucht wurden.

Die Fraktionen 27—45 gaben insgesamt noch 3,35 g amorphes Material.

Untersuchung des Chf-Extr. A. Die 2,09 g Chf-Extr. A wurden analog an 90 g „Silikatgemisch“ chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 250 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—10 (0,75 g, eluiert mit Bz-Chf (1:2)) gaben aus Methanol-Äther 50 mg Kristalle. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther 20 mg Blättchen, Smp. 124—129°; *Legal*-Reaktion, *Raymond*-Reaktion und *Keller-Kiliani*-Reaktion: negativ. 84-proz. H₂SO₄ gab keine Färbung. Nicht untersucht.

Aus den übrigen Fraktionen konnten bisher keine Kristalle erhalten werden.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. A. *Acetylierung*. 1,16 g Material wurden mit 10 cm³ abs. Pyridin und 6 cm³ Acetanhydrid 48 Std. bei 22° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 1,472 g neutrales Rohprodukt, das an 33 g „Silikatgemisch“ chromatographiert wurde. Es wurden nur Spuren von Kristallen erhalten.

Auf trennung der Hauptmenge in Extrakt A. 26 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. A wurden in 200 cm³ Wasser aufgenommen, viermal mit je 300 cm³ Chloroform, siebenmal mit je 400 cm³ Chf-Alk (9:1) und sechsmal mit je 400 cm³ Chf-Alk (2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom der Reihe nach zweimal mit je 30 cm³ Wasser, einmal mit 20 cm³ 2-n. Sodalösung und einmal mit 20 cm³ Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Sie gaben:

0,29 g Chf-Extr. B als dunkelbraunes Harz, *Raymond*-Reaktion: negativ, verworfen.

4,11 g Chf-Alk-(9:1)-Extr. B als bräunlichgelben Schaum, *Raymond*-Reaktion: positiv.

Auch nach Chromatographie an Silikatgemisch konnten keine Kristalle erhalten werden.

21,21 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. B als gelben Schaum, *Raymond*-Reaktion: positiv.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. B. Da direkt keine Kristalle erhalten werden konnten, wurde die gesamte Menge (21,21 g) an 500 g „Silikatgemisch“ chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 1,7 Liter der in Tab. 2 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 2.

Chromatographie von 21,21 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. B aus „Silikatgemisch“.

Frak-tions-nummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand			
		Menge in g	Habitus, bei Kristallen Smp.	Flecke im Papierchromatogramm	
				Anzahl	entspr.
1—3	Chf-Me (95:5)	0,195	amorph	—	Raymond-Rkt neg.
4—7	Chf-Me (9:1)	0,206	amorph	—	Raymond-Rkt neg.
8—10	Chf-Me (4:1)	2,127	amorph	—	Raymond-Rkt neg.
11—14	Chf-Me (4:1)	5,364	161—184°	1	Echujin
15—16	Chf-Me (4:1)	2,362	161—184°	2	Echujin + „Subst. A“
17—22	Chf-Me (4:1)	2,497	amorph	2	Echujin + „Subst. A“
23—30	Chf-Me (3:2)	3,962	amorph	2	Echujin + „Subst. A“
31—37	Chf-Me (3:2)	0,867	amorph	2	Echujin + „Subst. A“
38—39	Chf-Me (2:3)	0,416	amorph	2	Echujin + „Subst. A“
40—42	Methanol	1,306	amorph	—	—

Die Fraktionen 11—16 gaben aus Methanol-Äther und aus Chloroform-Methanol nach einiger Mühe 5,337 g rohes krist. Echujin, Smp. 161—184°. Die Mutterlauge (2,4 g) wurde mit den amorphen Fraktionen 8—10 und 17—39 vereinigt (total 16,8 g, als „Echujin-Mutterlauge“ bezeichnet).

Abbau der „Echujin-Mutterlauge“ mit Glucosidase aus Hefe. Die 16,8 g „Echujin-Mutterlauge“ wurden in 70 cm³ Wasser gelöst, mit 400 cm³ filtriertem Hefefiltrat aus 190 g feuchter Bierhefe und 6 cm³ Toluol versetzt und 4 Tage bei 37° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum auf 100 cm³ eingeengt, mit 800 cm³ abs. Äthanol versetzt und die flockige Fällung durch ein mit gewaschenem Kieselgur gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum bei 40° vollständig eingedampft. Der schaumige Rückstand wurde in 150 cm³ Wasser suspendiert, dreimal mit je 300 cm³ Äther, viermal mit je 300 cm³ Chloroform, fünfmal mit je 300 cm³ Chf-Alk (9:1), zehnmal mit je 300 cm³ Chf-Alk (4:1) und zwölfmal mit je 300 cm³ Chf-Alk (2:1) ausgeschüttelt. Alle Auszüge wurden der Reihe nach mit 10 cm³ Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Es resultierten die im theoret. Teil genannten Ausbeuten an Extrakt C.

Untersuchung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. C. Dieser enthielt nach Papierchromatogramm (vgl. Theoret. Teil) nur „Substanz A“ mit Spuren von Echujin. Digitalinum verum konnte darin nicht nachgewiesen werden. Die Chromatographie an „Silikatgemisch“ gab keine Kristalle.

Spaltungsversuch mit Takadiastase. 110 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. C (an Silikatgemisch chromatographiert) in 80 cm³ Wasser wurde mit 1 g Takadiastase²⁾ und 1 cm³ Toluol verschlossen unter öfterem Durchschütteln 4 Tage bei 36° stehengelassen. Die nach früheren Angaben³⁾ durchgeführte Aufarbeitung gab: 7 mg Ätherextrakt, 7 mg Chf-Extr., 26 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr., 33 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr. und 23 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Keiner der Extrakte gab Kristalle. Im Papierchromatogramm zeigte der Chf-Alk-(9:1)-Extrakt Spuren von Echubiosid, der Chf-Alk-(4:1)-Extrakt Spuren von Echubiosid und Echujin und der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt „Subst. A“.

Spaltungsversuch mit 0,05-n. H₂SO₄ in wässrigem Methanol. 250 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. C (an Silikatgemisch chromatographiert) wurden in 20 cm³ Methanol gelöst, mit 20 cm³ 0,1-n. H₂SO₄ versetzt und 35 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Entfernen

¹⁾ Hergestellt aus Brauereihefe nach H. Tauber, loc. cit.

²⁾ Technisches Präparat der Schweiz. Ferment AG., Basel.

des Methanols im Vakuum wurde fünfmal mit je 50 cm³ Chloroform und fünfzehnmal mit je 50 cm³ Chf-Alk (2:1) ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen:

41 mg Chf-Extrakt als gelbliches Harz,

98 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt.

Die 41 mg Chf-Extr. gaben aus Methanol-Äther nach längerem Stehen und Impfen 8 mg rohes Digitoxigenin. Nach Umkristallisieren Smp. 244–246°. Dieses Genin dürfte aus Echujin stammen.

Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt gab im Papierchromatogramm nur einen Fleck, der „Subst. A“ entsprach.

Spaltung mit Glucosidase aus den Samen von Adenium multiflorum. 8 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. C wurden (in zwei Portionen) in 100 cm³ Wasser gelöst, mit der Suspension von 8 g Fermentpräparat in 100 cm³ Wasser sowie 5 cm³ Toluol versetzt und unter öfterem Durchschütteln 3 Tage bei 36° stehengelassen. Die wie beim Hefe-Enzym durchgeföhrte Aufarbeitung gab 3,336 g Chf-Extr. D und die weiteren im Theoret. Teil genannten Extrakte (D).

Untersuchung des Chf-Extr. D. Im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 2 im Theoret. Teil) gab dieser Extrakt nur zwei Flecke (B und C) mit kürzeren Laufstrecken als Somalin, Honghelins und Echubiosid. Chromatographie an „Silikatgemisch“ und an Al₂O₃ lieferte keine Kristalle. Daher wurde das gesamte regenerierte Material (3,02 g) mit 15 cm³ abs. Pyridin und 10 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 3,26 g neutrales Rohprodukt, das an 100 g Al₂O₃ chromatographiert wurde.

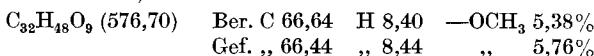
Die Fraktionen 1–7 (eluert mit Petroläther-Bz (1:1)) gaben nur 554 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 8–11 (1684 mg, eluiert mit Bz-Chf (4:1)) gaben aus Methanol-Äther 441 mg rohes Acetat B, Smp. 217–225°/246–250°.

Die Fraktionen 12–14 (1022 mg, eluiert mit Bz-Chf (4:1)) gaben aus Methanol-Äther 512 mg rohes Acetat C, Smp. 217–220°.

Beschreibung der isolierten Stoffe.

Honghelosid A aus A. lugardii. Die 0,99 g Rohkristalle wurden dreimal aus Methanol-Äther umkristallisiert. 0,498 g farblose Nadeln, Smp. 208–213°; [α]_D¹⁸ = −13,9° ± 2° (c = 1,15 in Methanol).



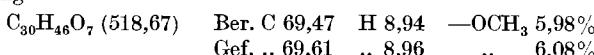
Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte nur ein Maximum bei 216 mμ, log ε = 4,21. Mit 84-proz. H₂SO₄ gab authentisches Honghelosid A die gleichen Färbungen; die Mischprobe schmolz gleich.

Benzoat. 100 mg Honghelosid A vom Smp. 208–213° in 1 cm³ abs. Pyridin bei 0° mit 1 cm³ Benzoylchlorid versetzt, 2 Std. bei 0° und 18 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 1 cm³ Methanol versetzt und nach 2 Std. wie üblich aufgearbeitet. Das Rohprodukt (0,65 g) gab auch nach Chromatographie an 6 g „Silikatgemisch“ keine Kristalle.

Somalin aus A. lugardii. Aus Methanol-Äther, dann aus reinem Methanol farblose Nadeln, Smp. 109–147°; [α]_D¹⁷ = +14,6° ± 2° (c = 0,893 in Chloroform). Für das lufttrockene Präparat



Nach Trocknung



Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte nur ein Maximum bei 217 mμ, log ε = 4,21. Somalin und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen waren gleich.

O-Acetyl-somalin aus A. lugardii. 50 mg Somalin aus A. lugardii in 0,5 cm³ abs. Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid 4 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 63 mg neutrales Rohprodukt. Aus Äther-Petroläther 47 mg farblose Körner, Smp. 161–163°; $[\alpha]_D^{24} = +25,7^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,01 in Chf). Authentisches Acetyl-somalin und die Mischprobe schmolzen gleich.

Echujin aus A. lugardii. Aus Methanol-Äther, dann aus Methanol-Chloroform zu Drusen vereinigte farblose Nadeln, Doppel-Smp. 135–140°/169–173°; $[\alpha]_D^{24} = -7^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,263 in Chloroform).

Für das lufttrockene Präparat:



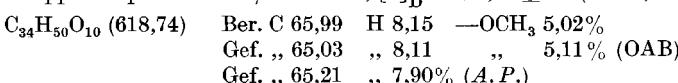
Für das trockene Präparat:



Die Mischprobe mit authentischem Echujin schmolz gleich, auch die Farbreaktionen und die Laufstrecken im Papierchromatogramm waren gleich.

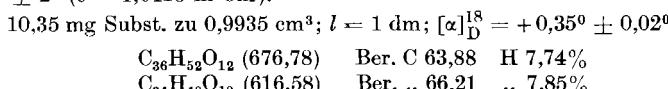
O-Heptacetyl-echujin aus A. lugardii. 110 mg Echujin vom Smp. 135–140°/169–173° aus A. lugardii wurden in 1,5 cm³ abs. Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 143 mg Rohprodukt. Aus Methanol-Äther zunächst farblose Körner, Smp. 146–149°. Aus Benzol-Äther nach Impfen mit der hochschmelzenden Form^c) farblose, verfilzte Nadeln, Smp. 216–219°; $[\alpha]_D^{20} = -2,3^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,820 in Chf). Die Mischprobe mit authentischem Heptacetyl-echujin schmolz gleich, auch die Farbreaktionen waren gleich.

„B-Aacetat“ (= O-Diacetyl-odorosid H). Aus Methanol-Äther farblose Nadeln mit Doppel-Smp. 227–229°/242–245°; $[\alpha]_D^{21} = +8,9^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,0736 in Chf).

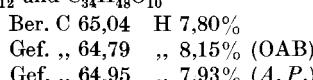


Authentisches O-Diacetyl-odorosid H¹⁾) sowie die Mischprobe schmolzen gleich. Auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ und die IR.-Spektren (vgl. Fig. 3) waren gleich. UV.-Absorptionsspektrum siehe Kurve B in Fig. 4.

„C-Aacetat“. Aus Methanol-Äther farblose Nadeln, Smp. 217–218,5°; $[\alpha]_D^{18} = -33,7^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,0418 in Chf).



Für Gemisch gleicher Teile C₃₆H₅₂O₁₂ und C₃₄H₄₈O₁₀



Für ein Gemisch gleicher Teile von O-Triacetyl-strospeid, Smp. 147–150°/227–230°; $[\alpha]_D^{18} = -5,4^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf)¹⁾ und O-Diacetyl-16-anhydro-strospeid, Smp. 238–244°; $[\alpha]_D^{19} = +61,1^\circ \pm 6^\circ$ (in Chf) lässt sich $[\alpha]_D = +27,6^\circ \pm 3,5^\circ$ errechnen.

Legal-Reaktion: positiv (rot); Raymond-Reaktion: positiv (blau); Keller-Kilian-Reaktion: negativ (farblos). Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: dunkelgelb (0'), braungelb (1'), gelbbraun (5'), braungrün (30'), oliv (1 Std.). UV.-Absorptionsspektrum siehe Kurve C in Fig. 3. Sowohl Triacetyl-strospeid als auch Diacetyl-anhydro-strospeid zeigen mit 84-proz. H₂SO₄ folgende Färbungen: orangegelb (0'), rötlich-orangegelb (5–30'), rotgelb (1 Std.).

Die Mikroanalysen wurden teils im Mikrolabor unseres Instituts (Leitung E. Thommen) (OAB), teils bei Herrn A. Peisker-Ritter, Brugg (A. P.) ausgeführt.

¹⁾ A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 35, 687 (1952).

Zusammenfassung.

Aus 7,18 kg frischen (ungetrockneten) oberirdischen Teilen von *Adenium lugardii N. E. Br.* wurden die folgenden krist. Glykoside isoliert: 4,093 g (0,057%) Echujin, 2,029 g (0,028%) Honghelosid A und 1,39 g (0,019%) Somalin.

Im Papierchromatogramm liess sich ferner ein weiterer Stoff darin nachweisen, der mit *Raymond*-Reagens eine blaue Färbung gab und sich noch polarer verhielt als Echujin. Wir nennen ihn „Substanz A“. Er liess sich durch Verteilung und Behandlung mit Glucosidase aus Hefe weitgehend von andern *Raymond*-positiven Stoffen trennen. Der fermentative Abbau solcher Konzentrate mit der Glucosidase aus den Samen von *Adenium multiflorum* lieferte eine Monoglykosidfraktion, aus der sich zwei krist. Acetate (B und C) isolieren liessen. „B-Acetat“ war mit O-Diacetyl-odorosid H identisch. „C-Acetat“ war ein Gemisch ca. gleicher Teile eines normalen digitaloiden Lactons mit einem 16-Anhydroderivat. Vielleicht lag ein Gemisch von O-Triacetyl-strospesid und O-Diacetyl-16-anhydrostrospesid vor. Diese Resultate sprechen dafür, dass Substanz A ein Gemisch von Odorotriosid G mit einem Diglucosido-strospesid oder Diglucosido-16-acetyl-strospesid darstellt. Digitalinum verum war in *A. lugardii* nicht nachweisbar. Das 16-Acetat lag zum Vergleich nicht vor.

Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel.

116. Die Konstitution von Acovenosid A¹⁾.

2. Mitteilung²⁾³⁾.

Glykoside und Aglykone, 148. Mitteilung⁴⁾

von W. Schlegel, Ch. Tamm und T. Reichstein.

(27. IV. 55.)

Acovenosid A ist das Hauptglykosid von *Acokanthera venenata G. Don.*^{a)}^{b)}, *A. longiflora Stapf*⁵⁾, *A. friesiorum Markgr.*⁶⁾ sowie anderer Varianten oder Formen von *A. schimperi Benth. & Hook*⁷⁾. Durch Einwirkung von HCl in Aceton nach dem Verfahren

¹⁾ Auszug aus Diss. W. Schlegel, Basel, die später erscheint.

²⁾ 1. Mitteilung vgl. Ch. Tamm & T. Reichstein^{c)}.

³⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fußnoten siehe Formelseite.

⁴⁾ 147. Mitteilung: P. R. Striebel, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **38**, 1001 (1955).

⁵⁾ P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1740 (1951).

⁶⁾ H. Muhr, A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **37**, 403 (1954).

⁷⁾ Siehe spätere Mitteilung. Eine Form von *A. schimperi* enthält kein Acovenosid A; diese führt Ouabain als Hauptglykosid.