

lich¹⁾), fast gleich dicht packen wie unsubstituierte Fettsäuremoleküle. Der Raumbedarf der Oxygruppe überschreitet den zwischen den Kohlenstoffketten vorhandenen Platz nicht. Unterstützt wird die dichte Packung durch Wasserstoffbrücken zwischen den Oxygruppen. Auf der anderen Seite bedeutet die Ausbildung von Wasserstoffbrücken eine Versteifung des Filmes²⁾; er verträgt dementsprechend die hohen Schübe, die zur Ausbildung einer „festen“ Phase nötig sind. Bei methylsubstituierten Säuren fehlen die ebengenannten Voraussetzungen, deshalb kollabieren die Filme, bevor sie das Gebiet des „festen“ Zustandes erreichen. Die Deutung des Knickes bei β -Oxypalmitinsäure sowie der Reihenfolge der L.A.-Werte ist wohl erst möglich, wenn noch mehr experimentelles Material vorliegt. Vor allem erscheinen Versuche bei verschiedenen Temperaturen sowie an weiteren homologen Säuren wünschbar.

Wir danken Herrn Prof. H. Erlenmeyer und Herrn Prof. W. Kuhn für ihr Interesse an dieser Untersuchung, sowie der Cibastiftung in Basel für finanzielle Unterstützung.

Zusammenfassung.

Mit einer Filmwaage wurden Oberflächenfilme von drei höheren β -Oxyfettsäuren auf Wasser untersucht. Die erhaltenen F/A-Kurven werden diskutiert.

Anstalt für Physikalische Chemie der Universität Basel.

216. Die Glykoside der Samen von *Calotropis procera R.Br.*

Glycoside und Aglycone, 154. Mitteilung³⁾

von S. Rajagopalan, Ch. Tamm und T. Reichstein.

(10. X. 55.)

Calotropis procera R. Br. (= *Asclepias procera Ait.*) ist eine in ganz Afrika, Arabien, Persien, Indien (dort oft als Mudar-pflanze bezeichnet) und im tropischen China sehr verbreitete Asclepiadacee. Botanisch sehr nahe verwandt ist *Calotropis gigantea R. Br.* (= *Asclepias gigantea L.*⁴⁾). Der Milchsaft dieses Strauches

¹⁾ Vgl. die Bilder von Molekelpackungen in Oberflächenfilmen bei J. J. Kipling & A. D. Norris, J. Colloid Sci. **8**, 547 (1953).

²⁾ Ähnliche Vorstellungen werden in anderem Zusammenhang für 10-Oxystearinsäure entwickelt: R. T. O'Connor, C. H. Mack, E. F. Du Pré & W. G. Bickford, J. org. Chemistry **18**, 693 (1953).

³⁾ 153. Mitt.: R. Bernasconi, H. P. Sigg & T. Reichstein, Helv. **38**, 1767 (1955).

⁴⁾ *Calotropis procera* und *Calotropis gigantea* sind 5 m hohe Sträucher oder Bäume mit gegenständigen, unterseits weissfilzigen Blättern mit purpurroten, geruchlosen Blüten. *C. procera* unterscheidet sich von *C. gigantea* durch ihre spitzeren Blätter, die oft auch nicht behaart (blau-grün) sein sollen.

wurde von den Eingeborenen des Tschadseegebietes (Bornu) schon seit langer Zeit für die Bereitung von Pfeilgiften benutzt¹⁾. *Lewin* konnte als erster im Milchsaft eine digitalisartige Wirksamkeit nachweisen²⁾. Er gewann daraus ein amorphes Produkt, in dem diese Aktivität stark angereichert war. Er nannte es „Calotropin“. Später gelang es *Hesse* und Mitarb.³⁾, aus dem Milchsaft, der von *C. procera* und *C. gigantea* stammte, fünf krist. Stoffe zu gewinnen, die Uscharin (Hauptprodukt), Uscharidin, Calotoxin, Calactin und Calotropin genannt wurden⁴⁾. Aus den Blättern und Stengeln von *C. procera* isolierten ebenfalls *Hesse* et al.⁵⁾ als Hauptprodukt Calotropin und das krist. Calotropagenin⁶⁾. Die genannten Autoren konnten zeigen, dass alle diese krist. Stoffe für die Giftigkeit verantwortlich sind und zur Gruppe der Cardenolide gehören³⁾⁵⁾. Abgesehen von Calotropagenin unterscheiden sie sich aber von den herkömmlichen herzwirksamen Glykosiden dadurch, dass sie an Stelle des Zuckerrests einen Oxymethylreduktinsäurerest resp. Methylreduktinsäurerest tragen⁵⁾⁷⁾. Ferner enthält Uscharin je ein Atom Schwefel und Stickstoff, die beide vermutlich zum Aufbau eines Thiazolrings dienen⁸⁾.

Es war deshalb von Interesse, auch die Samen von *Calotropis procera R. Br.* chemisch zu untersuchen, was bisher unseres Wissens nicht geschehen ist.

Beschaffung des Ausgangsmaterials.

Für unsere Untersuchungen standen drei verschiedene Samenproben zur Verfügung, von denen die zwei ersten untersucht wurden. Die erste verdanken wir Herrn *H. Leuenberger*, der die Samen (370 g) im Aug. u. Sept. 1951 während der Trockenzeit in Eritrea (Ostafrika) in der nächsten Nähe von Ailet, 257 m ü. M. in einer sandigen Ebene im Auslaufgebiet des Chiet-Flusses, einem Zufluss des Lamais, gesammelt hat⁹⁾. Die botanische Identifizierung als *C. procera R. Br.* wurde durch Herbarmuster gesichert. Die zweite Probe (636 g) waren 95-proz. reife Samen, die Pater Dr. *J. Gerstner* † im Mai 1949 in Limbe

¹⁾ Vgl. *L. Lewin*, Die Pfeilgifte, Leipzig 1923, Seite 241.

²⁾ *L. Lewin*, Arch. exper. Path. Pharmakol. **71**, 142 (1913).

³⁾ *G. Hesse, F. Reicheneder & H. Eysenbach*, Liebigs Ann. Chem. **537**, 67 (1938); *G. Hesse, L. J. Heuser, E. Hütz & F. Reicheneder*, ibid. **566**, 130 (1950).

⁴⁾ Die isolierten Mengen betragen, bezogen auf das Gewicht des Milchsafts, für: Uscharin 0,45%, Uscharidin Spur, Calotoxin 0,15%, Calactin 0,15%. Für Calotropin sind keine Zahlen angegeben.

⁵⁾ *G. Hesse & F. Reicheneder*, Liebigs Ann. Chem. **526**, 252 (1936).

⁶⁾ Die Ausbeuten betragen für Calotropin 0,165% und Calotropagenin 0,087%.

⁷⁾ *G. Hesse & K. W. F. Böckmann*, Liebigs Ann. Chem. **563**, 37 (1949); *G. Hesse & E. Bücking*, ibid. **563**, 31 (1949).

⁸⁾ *G. Hesse & H. W. Gampp*, Chem. Ber. **85**, 933 (1952).

⁹⁾ Herrn *H. Leuenberger*, Pater Dr. *J. Gerstner* † und Dr. *K. Reyle* † sei auch an dieser Stelle für ihre Bemühungen bestens gedankt.

bei Blantyre, Nyassaland (Ostafrika), gesammelt hatte¹⁾. Die dritte Probe (170 g) erhielten wir von Herrn Dr. K. Reyle †, Mona, St. Andrew, Jamaica, B.W.I.¹⁾. Die botanische Bestimmung wurde am botanischen Institut des University College of the West Indies ausgeführt.

Extraktion der Samen und Isolierung der Glykoside.

1. Samen aus Eritrea (Probe H. Leuenberger). Die gemahlenen Samen wurden mit Petroläther entfettet. Für eine orientierende Untersuchung wurde zunächst eine Probe von 10 g des entfetteten Samenpulvers mit Wasser 3 Tage bei 37° geweicht (fermentiert), dann mit Alkohol-Wasser-Gemischen von steigendem Alkoholgehalt bei 37° erschöpfend extrahiert. Eine zweite Probe von 10 g entfettetem Samenpulver wurde direkt mit 95-proz. Alkohol bei 50–60°, dann mit Alkohol-Wasser-Gemischen von abnehmendem Alkoholgehalt extrahiert. Beide Extrakte wurden nach Einengen im Vakuum, ohne die übliche Reinigung mit Pb(OH)₂ einzuschalten²⁾, nacheinander mit Äther, Chloroform und Chf-Alk-(2:1)³⁾ ausgeschüttelt. Die so erhaltenen Mengen sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tabelle 1⁴⁾.

Extrakt	Ohne Fermentierung	Mit Fermentierung	
		Vorversuch	Hauptversuch
Ätherextrakt	50 mg = 0,397 %	150 mg = 1,19 %	0,430 g = 0,331 %
Chf-Extrakt	88 mg = 0,700 %	142 mg = 1,125 %	2,40 g = 1,84 %
Chf-Alk-(2:1)-Extrakt . .	146 mg = 1,160 %	98 mg = 0,778 %	0,42 g = 0,323 %
Total	284 mg = 2,257 %	390 mg = 3,093 %	3,25 g = 2,494 %

Die Prüfung dieser Rohextrakte im Papierchromatogramm ergab folgende Resultate: Bei der nicht-fermentierten Probe zeigten sowohl der Ätherextrakt als auch der Chf-Extrakt in zwei verschiedenen Lösungsmittelsystemen (vgl. Fig. 1 und 2) je einen Fleck. Sie wiesen verschiedene Laufstrecken auf; sie wurden vorläufig nicht identifiziert. Bei der fermentierten Probe (Vorversuch und Hauptversuch gaben identische Papierchromatogramme) traten beim Ätherextrakt ein starker, langsam laufender Fleck E und ein schwächerer, rasch laufender Fleck F auf (vgl. Nr. 3 in Fig. 3)⁵⁾. Der gleiche Fleck E

¹⁾ Siehe Anmerkung 9, Seite 1810.

²⁾ Auf eine Behandlung mit Pb-Salzen wurde verzichtet, um eventuelle S-haltige Stoffe, wie sie im Milchsaft vorkommen, nicht zu verlieren oder zu zerstören.

³⁾ Verhältnis der Volumina; dies gilt für alle folgenden Verhältniszahlen. Die auch im folgenden benützten Abkürzungen bedeuten: Alk = Äthanol, Chf = Chloroform.

⁴⁾ Die Prozentzahlen der Ausbeuten beziehen sich auf nicht entfettete, trockene Samen.

⁵⁾ Die Reihenfolge der Buchstabierung der Flecke entspricht den Laufgeschwindigkeiten (A am langsamsten laufend usw.).

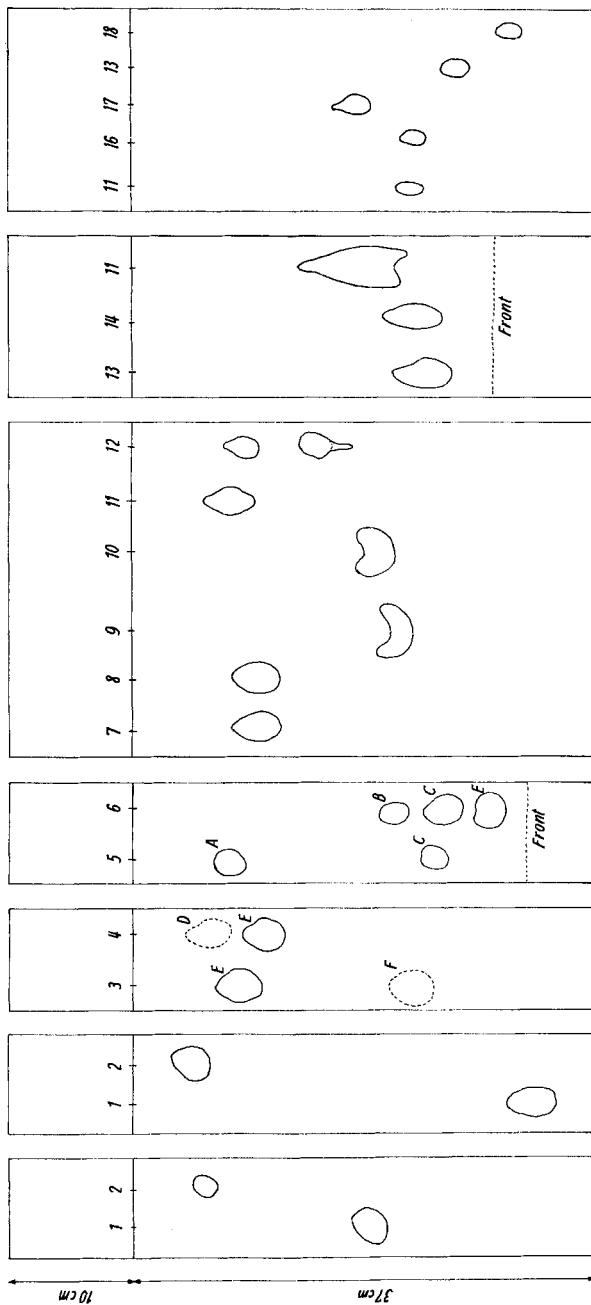
zeigte sich im Chf-Extrakt (vgl. Nr. 4 in Fig. 4). Fleck F war im Chf-Extrakt abwesend, hingegen trat ein sehr schwacher Fleck D auf. Bei den Chf-Alk-(2:1)-Extrakten waren deutliche Unterschiede zwischen fermentierter und nicht fermentierter Probe sichtbar. Der ohne Fermentierung erhaltene Extrakt gab einen sehr langsam laufenden Fleck A und einen rascher wandernden Fleck C (vgl. Nr. 5 in Fig. 4). Der nach Fermentierung erhaltene Extrakt enthielt wieder den starken Fleck C; der langsam wandernde Fleck A war verschwunden. Statt dessen traten zwei weitere rasch wandernde Flecke, der schwach sichtbare Fleck B und der intensive Fleck E auf (vgl. Nr. 6 in Fig. 4).

Da bei der Aufarbeitung mit Fermentierung die Ausbeuten an Rohextrakten erheblich besser waren, wurde auf die Isolierung des Flecks A vorläufig verzichtet und der Hauptversuch, wie beim Vorversuch beschrieben, mit Fermentierung durchgeführt. Das Gewicht der aus 130 g entfetteten Samen erhaltenen Rohextrakte ist aus Tab. 1 ersichtlich, wobei die Gesamtausbeute im Vergleich zum Vorversuch etwas niedriger ausfiel, da der Ätherextrakt zur weiteren Reinigung (Entfernung des restlichen fetten Öles) zwischen Petroläther und 70-proz. wässrigem Methanol verteilt wurde. Bei der Papierchromatographie verhielten sich diese Extrakte genau gleich wie diejenigen der Vorprobe (vgl. Nr. 3 und 4 in Fig. 3 und Nr. 6 in Fig. 4).

Ätherextrakt: Die Chromatographie des gereinigten Ätherextrakts an Al_2O_3 gab 2 krist. Stoffe. Der leichter eluierbare, in geringer Menge erhaltene Stoff schmolz nach mehrmaligem Umkristallisieren unscharf bei 224–227°. Er gab eine positive *Legal*-Reaktion, war frei von Zucker und gab im Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck, dessen Laufstrecke Fleck F (vgl. Nr. 3 in Fig. 3) entsprach. Die Substanz war nach Smp., Misch-Smp., Analyse, spez. Drehung, Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und Papierchromatogramm (vgl. Nr. 9 und 10 in Fig. 5) mit Corotoxigenin¹⁾ identisch. Der schwerer eluierbare Stoff vom Smp. 236–243° stellte das Hauptprodukt dar. Seine Laufstrecke im Papierchromatogramm entsprach Fleck E (vgl. Nr. 3 in Fig. 3). Er war zuckerfrei und gab eine positive *Legal*- und *Raymond*-Reaktion. Er erwies sich nach Smp., Misch-Smp., Analyse, spez. Drehung, UV.-Spektrum und Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 als identisch mit Coroglaucigenin²⁾. Auch die Laufstrecke im Papierchromatogramm war gleich (vgl. Nr. 7 und 8 in Fig. 5). Zur Sicherheit wurde noch das Acetat bereitet, das ebenfalls in allen Eigenschaften mit O-Diacetyl-coroglaucigenin identisch war.

¹⁾ A. Stoll, A. Pereira & J. Renz, Helv. **32**, 293 (1949); O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **35**, 730 (1952); A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 1073 (1952).

²⁾ A. Stoll, A. Pereira & J. Renz, Helv. **32**, 293 (1949); A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 1073 (1952).

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie¹⁾.

¹⁾ Alle Papierchromatographien wurden mit *Whatman*-Papier Nr. 1 bei 20-22° durchgeführt. Es bedeuten: Alk = Äthanol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, To = Toluol.

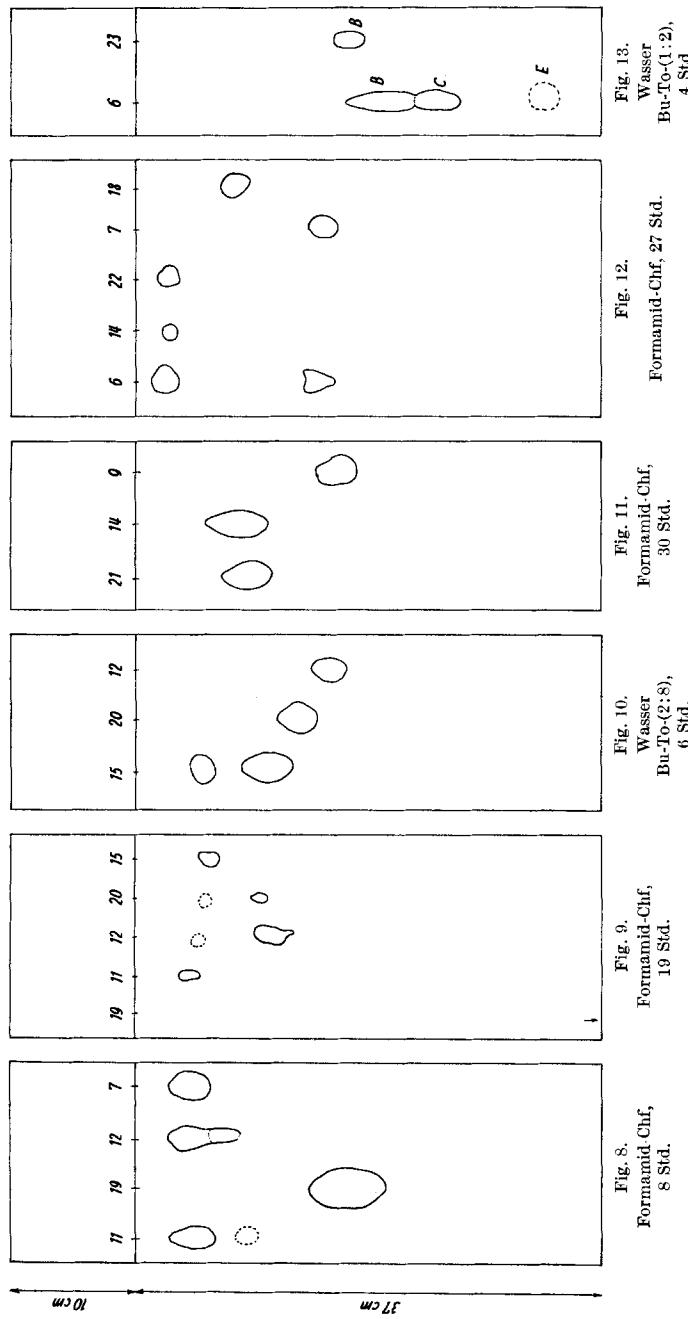
Zu Fig. 1—13.

- 1: 0,50 mg Äther-Extrakt, aus Vorversuch ohne Fermentierung (*Leuenberger*).
- 2: 0,50 mg Chf-Extrakt, aus Vorversuch ohne Fermentierung (*Leuenberger*).
- 3: 0,50 mg Äther-Extrakt aus Vorversuch mit Fermentierung (*Leuenberger*)¹⁾.
- 4: 0,50 mg Chf-Extrakt aus Vorversuch mit Fermentierung (*Leuenberger*)¹⁾.
- 5: 0,20 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Vorversuch ohne Fermentierung (*Leuenberger*).
- 6: 0,20 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Vorversuch mit Fermentierung (*Leuenberger*)¹⁾.
- 7: ca. 0,04 mg Coroglaucigenin, authentisch.
- 8: ca. 0,04 mg Coroglaucigenin aus *C. procera* (Probe *Leuenberger*).
- 9: ca. 0,04 mg Corotoxigenin, authentisch.
- 10: ca. 0,04 mg Corotoxigenin aus *C. procera* (Probe *Leuenberger*).
- 11: 0,05—0,10 mg Calotropin (*Hesse*).
- 12: 0,10 mg Calactin (*Hesse*).
- 13: ca. 0,04 mg Frugosid aus *C. procera* (Probe *Leuenberger*).
- 14: ca. 0,04 mg Frugosid, authentisch.
- 15: 0,05 mg Anhydro-calotropagenin (*Hesse*).
- 16: 0,05 mg Calotropin aus *C. procera* (Probe *Gerstner*).
- 17: 0,05 mg Subst. B (*C. procera*, Probe *Leuenberger*).
- 18: 0,05 mg Gofrusid, authentisch.
- 19: 0,10 mg Uscharin (*Hesse*).
- 20: 0,10 mg Uscharidin (*Hesse*).
- 21: 0,50 mg Chf-Extrakt, Probe aus Nyassaland (*Gerstner*).
- 22: 0,30 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, Probe aus Nyassaland (*Gerstner*).
- 23: ca. 0,04 mg Subst. B aus Probe aus Nyassaland (*Gerstner*).

Chloroformextrakt: Der reine Chf-Extrakt liess sich in Chloroform nicht mehr gut lösen. Deshalb wurden zuerst die in Methanol löslichen Anteile (die in Methanol unlöslichen Anteile gaben keine positive *Raymond*-Reaktion und wurden verworfen) in einen „chloroformlöslichen Teil“ und „chloroform-unlöslichen Teil“ aufgetrennt und jeder für sich an Al_2O_3 chromatographiert. Nachträglich zeigte es sich, dass diese Fraktionierung nicht nötig war. Aus dem „chloroformlöslichen Teil“ wurde nach Chromatographie an Al_2O_3 als einziger krist. Stoff wieder Coroglaucigenin erhalten. Der „chloroform-unlösliche Teil“ lieferte in den leichter eluierbaren Anteilen eine weitere Menge Coroglaucigenin (vgl. auch Nr. 4 in Fig. 3 und Nr. 7 und 8 in Fig. 5). Mehrere der schwerer eluierbaren Fraktionen enthielten in grösserer Menge einen amorphen, gallertartigen Stoff, der für das Auftreten von Fleck D im Papierchromatogramm (vgl. Nr. 4 in Fig. 3) verantwortlich ist. Dieser Stoff wurde vorläufig nicht weiter untersucht.

Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt: Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurde an Al_2O_3 chromatographiert. Es wurden drei krist. Stoffe erhalten. Aus den ersten Fraktionen liess sich eine weitere Menge Coroglaucigenin abtrennen. Aus den folgenden Fraktionen wurde in geringer Menge ein krist. Stoff vom Smp. 245—255° erhalten, dessen Konstitution nicht aufgeklärt werden konnte und den wir deshalb als Subst. B bezeichnen. Die am schwersten eluierbaren

¹⁾ Der Hauptversuch gab praktisch gleiche Papierchromatogramme.

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie¹⁾.

¹⁾ Alle Papierchromatographien wurden mit Whatman-Papier Nr. 1 bei 20—22° durchgeführt. Es bedeuten: Alk = Äthanol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, To = Toluol.

Fig. 13.
Wasser
Bu-To-(1:2),
4 Std.

Fig. 12.
Formamid-Chf, 27 Std.

Fig. 11.
Formamid-Chf,
30 Std.

Fig. 10.
Wasser
Bu-To-(2:8),
6 Std.

Fig. 9.
Formamid-Chf,
19 Std.

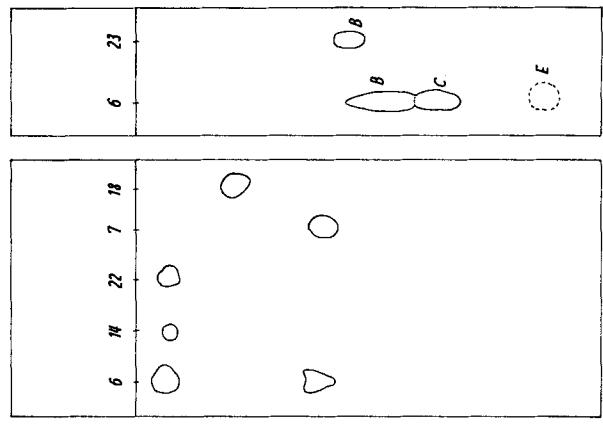


Fig. 13.
Wasser
Bu-To-(1:2),
4 Std.

Fraktionen lieferten einen krist. Stoff vom Smp. 228–238°. Er gab eine positive *Raymond*-Reaktion, enthielt Zucker; die *Keller-Kiliani*-Reaktion war negativ. Er gab im Papierchromatogramm einen einheitlichen Fleck, dessen Laufgeschwindigkeit Fleck C entsprach (vgl. Nr. 6 in Fig. 4). Nach Smp., Misch-Smp., spez. Drehung, Analyse, Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und Verhalten im Papierchromatogramm (vgl. Nr. 13 u. Nr. 14 in Fig. 6) war der Stoff mit Frugosid¹⁾ identisch.

Untersuchung von Subst. B. Subst. B gab eine positive *Raymond*- und *Legal*-Reaktion. Das UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 14) wies ein Maximum bei $218\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,21$) auf. Die *Keller-Kiliani*-Reaktion fiel negativ aus. Für die Ausführung einer Analyse reichte die Menge nicht aus. Wir versuchten zunächst durch Vergleich im Papierchromatogramm sowie durch Farbreaktionen festzustellen, ob Subst. B mit Gofrusid oder mit einem der von *Hesse* und Mitarb. aus dem Milchsaft isolierten Stoffen identisch sein könnte. Die Vergleichsproben wurden uns von Herrn Prof. *G. Hesse*, Erlangen, zur Verfügung gestellt, wofür auch hier bestens gedankt sei. Subst. B gab im System: Wasser-n-Butanol-Toluol-(1:1) einen einheitlichen Fleck, dessen Laufstrecke Fleck B entsprach (vgl. Nr. 6 in Fig. 4). Frugosid (Fleck C) und Gofrusid, dessen Vorliegen wegen des isolierten Corotoxigenins zunächst vermutet wurde, wanderten in einem sehr ähnlichen System bedeutend rascher (vgl. Fig. 7). Subst. B wurde hierauf mit den aus dem Milchsaft von *C. procera* bzw. *gigantea* stammenden krist. Stoffen papierchromatographisch verglichen. Diese sind bisher nicht im Papierchromatogramm untersucht worden. Fig. 8 u. 9 zeigen, dass Uscharin im System Chloroform-Formamid sehr rasch wandert und sich sehr deutlich von Calotropin, das sich nicht ganz einheitlich verhielt, Calaetin und Coroglaucligenin trennen lässt. Im gleichen System, bei längerer Laufzeit (vgl. Fig. 5 u. 9), wandern Calotropin und Anhydrocalotropagenin, die gleiche Laufstrecken aufweisen, am langsamsten. Deutlich rascher wandern Calactin und Uscharidin, die ihrerseits die gleichen Laufstrecken zeigen. Am schnellsten wandert wieder Uscha-

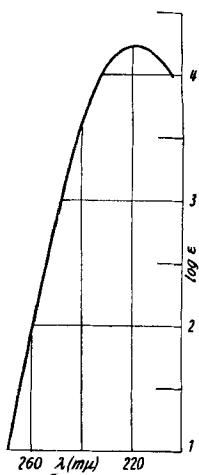


Fig. 14.
UV.-Absorptionsspektrum
in Alkohol²⁾.
Substanz B aus Samen von
C. procera: $\lambda_{\max} = 218\text{ m}\mu$
($\log \epsilon = 4,21$), berechnet auf
Molgewicht $M = 480 \pm 15$.

¹⁾ *A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **35**, 429, 1073 (1952).

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

rin, das nach dieser Zeit das Papier bereits verlassen hat. Calotropin und Calactin zeigen in diesem System einen zusätzlichen schwachen Fleck. Im System Wasser:Butanol-Toluol-(2:8) zeigt auch Anhydrocalotropagenin zwei deutliche Flecke (vgl. Nr. 16 in Fig. 10). In allen diesen Kristallisaten liegen offenbar keine völlig einheitlichen Stoffe vor. Im zuletzt erwähnten System lassen sich auch Uscharidin und Calactin voneinander unterscheiden (vgl. Nr. 12 u. 20 in Fig. 10). Besonders aus Fig. 7 ist ersichtlich, dass Subst. B im Papierchromatogramm eindeutig von den fünf geprüften Stoffen des Milchsafts von *C. procera* verschieden ist. Die Laufstrecke ist noch kürzer als die des langsamsten Stoffes aus dem Milchsaft, nämlich des Calotropins resp. Anhydro-calotropagenins. Aus Tab. 2, wo die Farbreaktionen dieser Stoffe mit 84-proz. H_2SO_4 verglichen werden, ist ersichtlich,

Tabelle 2.
Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 .

Substanz	0'	1'	2'	
Uscharin	blassgelb	blassgelb	blassgelb	
Uscharidin	gelborange	orange	orange	
Calactin	gelb	gelb	gelborange	
Calotropin	gelborange	orange-gelb	orange-gelb	
Anhydro-calotropagenin . .	zitronengelb	zitronengelb	dunkelgelb	
Subst. B	gelb	gelb	gelb	
Substanz	5'	10'	20'	30' und 1 Std.
Uscharin	blassgelb	blassgelb	blassgelb	blassgelb
Uscharidin	orange mit violetter Randzone	rotviolett	blassrosa	blassrosa
Calactin	orange mit violetter Randzone	rotviolett	blassrosa	blassgelb
Calotropin	orange mit violetter Randzone	orange-violett	blassrosa	blassorange
Anhydro-calotropagenin . .	dunkelgelb mit violetter Randzone	rotviolett	blassrosa	blassgelb
Subst. B	gelb	gelb	gelb	gelb

dass einzig Uscharin gleiche Färbungen wie Subst. B zeigt. Die Färbungen der andern Stoffe sind deutlich verschieden. Uscharin kann aber wegen Smp., Drehung und dem Verhalten im Papierchromatogramm nicht mit Subst. B identisch sein. Subst. B ist nach Smp. und spez. Drehung auch von Calotropagenin und Calotoxin, die für den Vergleich im Papierchromatogramm und für die Farbreaktionen nicht zur Verfügung standen, eindeutig verschieden. Es kann daher kein Zweifel sein, dass es sich bei Subst. B, wie erwähnt, um einen neuen Stoff handelt.

Total wurden somit aus dieser Samencharge erhalten (berechnet auf 165 g nicht entfettete, trockene Samen): Coroglaucigenin: 721 mg (entspr. 0,437%), Frugosid: 37 mg (0,0224%), Corotoxigenin: 11 mg (0,00665%), Subst. B: 17 mg (0,0103%) und Subst. D (amorphe Fraktionen): 479 mg (0,290%); total an krist. Stoffen: 0,476%.

2. Samen aus Nyassaland (Probe Pater Dr. J. Gerstner †). Die Extraktion dieser Samen, die bedeutend weniger bitter schmeckten als die obigen, wurde in der Hoffnung unternommen, weitere Mengen der neuen Subst. B zu gewinnen. Diese Erwartung erfüllte sich aber nicht, da diese Samen eine etwas verschiedene Zusammensetzung an Inhaltsstoffen aufwiesen und nur sehr wenig B lieferten.

Die entfetteten Samen wurden wieder mit Wasser geweicht (fermentiert) und die weitere Extraktion im wesentlichen wie oben beschrieben durchgeführt. In diesem Falle wurde eine Reinigung der wässrig-alkoholischen Extrakte mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ eingeschaltet. Da bei der obigen Extraktion Äther- und Chf-Extrakt die gleichen Hauptprodukte ergeben hatten, wurde direkt mit Chloroform, dann mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Es wurden erhalten: 1,50 g (0,35%) Chf-Extrakt und 3,50 g (0,82%) Chf-Alk-(2:1)-Extrakt.

Chloroformextrakt: Im Papierchromatogramm zeigte dieser Extrakt einen einzigen Fleck, dessen Laufstrecke der von Frugosid entsprach (vgl. Fig. 12). Ein Coroglaucigenin entsprechender Fleck war nicht sichtbar. Die Chromatographie an Al_2O_3 lieferte zwei krist. Stoffe. Der erste, leichter eluierbare, in sehr geringer Menge erhaltene Stoff vom Smp. 198–212° gab trotz des schlechten Smp. nur einen einzigen Fleck im Papierchromatogramm, dessen Laufstrecke mit der von Calotropin übereinstimmte. Die Mischprobe gab keine Depression, und die Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 war gleich, so dass höchstwahrscheinlich Calotropin vorliegt. Die isolierte Menge war zu gering, um die Identität sicher zu beweisen. Der später eluierte krist. Stoff, der das Hauptprodukt darstellte, war wieder mit Frugosid identisch. Zur Sicherheit wurde noch das krist. Benzoat bereitet, das ebenfalls mit authentischem Material identisch war.

Chf-Alk-(2:1)-Extrakt: Dieser Rohextrakt wurde zunächst mit dem Chf-Alk-(2:1)-Extrakt der Samenprobe von Eritrea verglichen. Aus Fig. 12 ist ersichtlich, dass ebenfalls ein Frugosid entsprechender Fleck auftritt, dass aber Gofrusid und Coroglaucigenin entsprechende Flecke fehlen. Die Chromatographie an Al_2O_3 lieferte zwei krist. Stoffe, von denen der schwerer eluierbare (Hauptprodukt) wieder mit Frugosid identisch war. Aus den vorangehenden Fraktionen liess sich mit Mühe in Spuren ein krist. Stoff vom Smp. 253–265° isolieren, der sich im Papierchromatogramm und bei der Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 gleich wie Subst. B aus den Samen von Eritrea verhielt und bei der Mischprobe keine Depression gab. Es dürfte höchstwahrscheinlich Subst. B vorliegen.

Somit wurden aus diesen Samen (berechnet auf 426 g nicht entfettete Samen) erhalten: 981 mg (0,231%) Frugosid, 4 mg (0,00094%) Calotropin (?) und 3,5 mg (0,00082%) Subst. B, total 0,233% Kristalle.

Diskussion der Ergebnisse.

Die Prüfung der Gesamtextrakte aus den Samen von Eritrea im Papierchromatogramm ergab einen deutlichen Unterschied zwischen fermentierter und nicht-fermentierter Probe. Bei der letzteren traten neben den Flecken für Frugosid, Coroglaucigenin und Corotoxigenin ein zusätzlicher intensiver, sehr langsam laufender Fleck A auf, der nach Einwirkung der Samenenzyme nicht mehr sichtbar war. Statt dessen waren die Flecke von Coroglaucigenin und Frugosid merklich intensiver geworden. Fleck A dürfte eines der glucosereicheren, genuinen Glykoside darstellen, wobei vor allem an Glucosido-Frugosid zu denken wäre. Das reichliche Auftreten von Coroglaucigenin lässt vermuten, dass die Samen auch Enzyme enthalten, die die glykosidische Bindung zwischen Aglykon und Zucker zu lösen vermögen. Auf ähnliche Verhältnisse waren früher Stoll et al.¹⁾ bei der Untersuchung der Samen von *Coronilla glauca* (Papilionaceae) gestossen, aus denen sie statt der erwarteten genuinen Glykoside ein Gemisch von Aglykonen, das u. a. auch Coroglaucigenin und Corotoxigenin enthielt, erhalten hatten. Wegen Materialmangel konnten wir die Isolierung von Subst. A noch nicht in Angriff nehmen, um diese Vermutung zu prüfen.

Die Samen aus Nyassaland enthielten nach Weichen mit Wasser (Fermentierung) weder Coroglaucigenin noch Corotoxigenin, sondern Frugosid als Hauptglykosid. Die glykosidspaltenden Enzyme waren, sofern ursprünglich vorhanden, durch das längere Lagern der Samen unwirksam geworden. Der Gehalt an krist. Glykosiden war auch bedeutend niedriger.

Beide untersuchten Samenproben enthielten nicht die gleichen Stoffe, die Hesse aus dem Milchsaft, den Stengeln und Blättern isoliert hatte. Bei der Probe von Eritrea ist auch die nicht-identifizierte Subst. B und die amorphe Subst. D eindeutig von jenen verschieden. Die Probe aus Nyassaland enthielt in sehr geringer Menge vermutliches Calotropin. Obwohl die Inhaltsstoffe der Blätter, Stengel und des Milchsafts von denen der Samen verschieden sind, dürften ihnen doch gewisse chemische Strukturelemente gemeinsam sein, wie dies z. B. beim Vergleich der Samen und Wurzeln von *Xysmalobium undulatum R. Br.* (Asclepiadaceae)²⁾ beobachtet

¹⁾ A. Stoll, A. Pereira & J. Renz, Helv. **32**, 293 (1949).

²⁾ H. R. Urscheler & Ch. Tamm, Helv. **38**, 865 (1955).

worden ist¹⁾. Bei *Xysmalobium undulatum* weisen die verschiedenen Glykoside der verglichenen Pflanzenteile die Ringe A und B ihrer Genine in trans-ständiger Verknüpfung als gemeinsames Merkmal auf. (Uzarigenin, Urezigenin, Coroglaucigenin). So dürfte die Isolierung von Coroglaucigenin, Corotoxigenin und Frugosid aus den Samen von *C. procera* ebenfalls ein Hinweis auf eine mögliche trans-ständige Verknüpfung der Ringe A und B in den Stoffen des Milchsafts bzw. der Blätter und Stengel sein, sofern sie ein normales Steringerüst besitzen, was nicht bewiesen ist. *Hesse & Gampp*²⁾ vermuteten, wie bereits erwähnt, dass Uscharin einen Thiazolring besitzt, da es sich mit Hg^{II} -Salzen zu NH_3 und dimerem Mercapto-acetaldehyd und Uscharidin spalten liess. In Uscharidin bildete sich dabei eine neue Carbonylgruppe. Diese Ketogruppe könnte in Analogie zu Coroglaucigenin sehr wohl mit C-10 verknüpft sein, sofern Uscharidin ein normales Steringerüst besitzt.

Der eine von uns (*S.R.*) möchte der *Volkart-Stiftung*, Winterthur, für ein Stipendium danken. Es standen auch Mittel aus den *Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes* zur Verfügung, wofür ebenfalls bestens gedankt sei.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführung bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 70° , zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 mit Einwaage im Schweinchen getrocknet, sofern nichts anderes vermerkt. Die Chromatogramme an Al_2O_3 wurden an alkalifreiem Al_2O_3 ³⁾, das nur bei $180-185^\circ$ reaktiviert wurde, nach der Durchlaufmethode⁴⁾, die Papierchromatographie^{5) 6)}, die Tüpfelprobe mit *Raymond*- oder *Kedde*-Reagens auf Papier^{5) 7)}, die *Legal*-Reaktion⁸⁾, die *Keller-Kilian*-Reaktion⁹⁾ und die Zuckerprüfung¹⁰⁾ nach den beschriebenen Angaben durchgeführt.

¹⁾ Vgl. auch *Digitalis lanata* und *Digitalis purpurea* (Scrophulariaceae), die ebenfalls verschiedene Glykoside in den verschiedenen untersuchten Pflanzenteilen enthalten. Aus den Blättern von *Dig. lanata* wurden die Lanatoside A, B und C (= Digilanid A, B und C) (vgl. *A. Stoll & W. Kreis*, *Helv.* **16**, 1049 (1933); *A. Stoll*, *Schweiz. med. Wschr.* **70**, 594 (1940)) und aus den von *Dig. purpurea* die Purpureaglykoside A und B (= Desacetyl-digilanid A und B) (*A. Stoll & W. Kreis*, *Helv.* **18**, 120 (1935)) und Strospesid (*D. Satoh, K. Yoshida, H. Ishii & Y. Nishimura*, *Pharm. Bull. (Japan)* **1**, 396 (1953)) als Hauptglykoside isoliert, während die Samen der beiden Digitalisarten Digitalinum verum als Hauptglykosid enthalten (*K. Mohr & T. Reichstein*, *Pharmac. Acta Helv.* **24**, 246 (1949); *M. Ishidate & M. Okada*, *Pharm. Bull. (Japan)* **1**, 186 (1953)). Im allgemeinen werden aber in den verschiedenen Pflanzenteilen die gleichen Hauptglykoside angetroffen, wobei die Mengenverhältnisse stark variieren können (vgl. die Analysen von Strophanthusarten, Acokantheraarten und Adeniumarten).

²⁾ *G. Hesse & H. W. Gampp*, *Chem. Ber.* **85**, 933 (1952).

³⁾ *J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1292 (1944).

⁴⁾ *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, *Trans. Faraday Soc.* Nr. 7, 305 (1949).

⁵⁾ *O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 108 (1951).

⁶⁾ *E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 680 (1954).

⁷⁾ *I. E. Bush & D. A. H. Taylor*, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).

⁸⁾ *K. Reyle & T. Reichstein*, *Helv.* **35**, 98 (1952).

⁹⁾ *J. v. Euw & T. Reichstein*, *Helv.* **31**, 883 (1948).

¹⁰⁾ *P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 1750 (1951).

1. Untersuchung der Samenprobe von *H. Leuenberger* aus Eritrea.

Entfettung des Samenpulvers. 200 g Samen wurden in der Fleischhackmaschine zerkleinert und mit Petroläther bei 35° entfettet, dann im Turmix nochmals zerkleinert und mit Petroläther bei 35° entfettet. Es wurden 42,6 g Petrolätherextrakt (21,3% gelbes Öl, verworfen) und 178 g entfettetes Samenpulver erhalten.

Vorversuche. a) *Ohne Fermentierung*. 10 g entfettetes Samenpulver wurden zehnmal mit je 30 cm³ 95-proz. Alkohol von zunehmendem Wassergehalt bis 50-proz. Alkohol bei 50° extrahiert, die vereinigten Extrakte im Vakuum bei 35–40° auf 25 cm³ eingeengt, dann nacheinander fünfmal mit je 40 cm³ Äther, siebenmal mit je 40 cm³ Chf und sechsmal mit je 40 cm³ Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die wässrige Phase gab keine positive *Kedde*-Reaktion mehr und wurde verworfen. Alle Auszüge wurden zweimal mit 4 cm³ Wasser, einmal mit 4 cm³ 2-n. Sodalösung und einmal mit 5 cm³ Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Es resultierten 50 mg Ätherextrakt, 88 mg Chf-Extrakt und 146 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (vgl. Tab. 1). Papierchromatographie dieser Extrakte siehe Fig. 1, 2 und 4.

b) *Mit Fermentierung*. 10 g entfettetes Samenpulver wurden mit 42 cm³ Wasser angefeuchtet und nach Zusatz von 1 cm³ Toluol 3 Tage bei 37° stehengelassen. Hierauf wurden 42 cm³ 95-proz. Alkohol zugegeben, vom Samenpulver abgenutscht und dieses zehnmal mit je 40 cm³ wässrigem Alkohol von steigendem Alkoholgehalt (bis 95-proz. Äthanol) bei 37° extrahiert. Die vereinigten Extrakte gaben nach Einengen und Ausschütteln wie oben bei a) beschrieben 150 mg Ätherextrakt, 142 mg Chf-Extrakt und 98 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (vgl. Tab. I). Papierchromatographie dieser Extrakte siehe Fig. 3 und 4. Die nach dem Ausschütteln verbliebene wässrige Phase gab keine positive *Kedde*-Reaktion mehr und wurde verworfen.

Präparative Extraktion. 130 g entfettetes Samenpulver wurden mit Fermentierung wie bei b) beschrieben extrahiert und ausgeschüttelt. Es resultierten 2,70 g Ätherextrakt, 2,40 g Chf-Extrakt und 0,42 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Der Ätherextrakt wurde zur Entfernung des restlichen Öls in 120 cm³ 70-proz. wässrigem Methanol aufgenommen und dreimal mit je 120 cm³ Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherauszüge wurden mit 120 cm³ 70-proz. wässrigem Methanol gewaschen. Nach Eindampfen der vereinigten 70-proz. wässrig-methanolischen Lösungen wurden 0,43 g gereinigter Ätherextrakt erhalten (vgl. Tab. 1). Papierchromatographische Untersuchung dieser Extrakte siehe Fig. 3 und 4.

Untersuchung des Ätherextrakts. Die 430 mg gereinigter Ätherextrakt wurden an 15 g Al₂O₃ chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 50 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1–8, eluiert mit Be-Chf (7:3), (1:1) und (3:7), gaben 55 mg amorphes Material (Öl, verworfen).

Die Fraktionen 9 und 10, eluiert mit Chf (36 mg), gaben aus Me-Äther 11 mg Kristalle vom Smp. 219–253°, die im Papierchromatogramm einen Corotoxigenin entsprechenden Fleck gaben. Nach Umkristallisieren aus Me-Äther Prismen vom Smp. 224–227°; [α]_D²⁵ = +40,7° ± 3° (c = 0,5973 in Me).

Legal-Reaktion positiv, Zuckerprobe und *Keller-Kiliani*-Reaktion negativ, Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ gleich wie bei Corotoxigenin.

Die Mischprobe mit authentischem Corotoxigenin gab keine Depression. Stoll et al.¹⁾ fanden den Smp. 221° und [α]_D²⁰ = +43° (Me), Schindler & Reichstein²⁾ fanden den Smp. 215–219° und [α]_D²² = +42,0° (Me).

Die Fraktionen 11 und 12, eluiert mit Chf (21 mg), gaben aus Me-Äther 12 mg Kristalle vom Smp. 230–243°, die nach Papierchromatogramm ein Gemisch von Corotoxigenin und Coroglaucigenin waren.

Die Fraktionen 13–22, eluiert mit Chf und Chf-Me (99:1) (90 mg), gaben aus Me-Äther 64 mg Kristalle vom Smp. 226–248°, die im Papierchromatogramm einen Coro-

¹⁾ A. Stoll, A. Pereira & J. Renz, Helv. **32**, 293 (1949).

²⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **35**, 730 (1952).

glaucigenin entsprechenden Fleck gaben. Nach Umkristallisieren aus Me-Äther feine Nadeln vom Smp. 236—243°; $[\alpha]_D^{22} = +27,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,256$ in Me).

$C_{23}H_{34}O_5$ (390,50) Ber. C 70,76 H 8,72% Gef. C 70,40 H 8,81% (OAB)
Gef., 70,47 „ 8,61% (A.P.)

Legal-Reaktion positiv, Zuckerprobe und *Keller-Kilian*-Reaktion negativ, Farbreaktionen gleich wie bei Coroglaucigenin. UV.-Absorptionsspektrum: $\lambda_{\text{max}} = 218 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 4,21$ (in Alk). Misch-Smp. mit authentischem Coroglaucigenin ohne Depression. Stoll et al.¹⁾ fanden den Smp. 249—250° und $[\alpha]_D^{20} = +23,0^\circ$ (Me), Hunger & Reichstein²⁾ fanden den Smp. 244—248° (aus Me-Wasser) und 250—255° (aus Me-Äther) und $[\alpha]_D^{16} = +25,7^\circ \pm 3^\circ$ (Me).

Die Fraktionen 23—32, eluiert mit Chf-Me (98:2) (95:5) (9:1) (8:2) und (6:4) gaben 38 mg amorphes Material (verworfen).

Di-O-acetyl-coroglaucigenin: 52 mg Coroglaucigenin (obiges Präparat) wurden wie früher beschrieben²⁾ acetyliert. Aus Aceton-Äther 42 mg Prismen, Smp. 215—217°; $[\alpha]_D^{20} = +6,2^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,567$ in Chf).

$C_{27}H_{38}O_7$ (474,57) Ber. C 68,34 H 8,02% Gef. C 68,20 H 8,07% (A.P.)

Die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren genau gleich wie bei Coroglaucigenin. Hunger & Reichstein²⁾ fanden den Smp. 210—214°/216—219° und $[\alpha]_D^{19} = +9,4^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf). Misch-Smp. mit diesem Material: 218—222°.

Untersuchung des Chloroformextrakts. Da der Chf-Extrakt (2,40 g) in Chloroform sehr schwer löslich war, wurde er in warmem Methanol aufgenommen. Nach Abfiltrieren der methanolunlöslichen Anteile (0,40 g, Raymond-Reaktion negativ, verworfen) und Eindampfen wurden die resultierenden 2,0 g in Chloroform aufgenommen und filtriert. Es resultierten 0,67 g „chloroform-lösliche“ Anteile und 1,3 g „chloroform-unlösliche“ Anteile.

Der „chloroform-lösliche“ Anteil (0,67 g) wurde an 20 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 70 cm³ Lösungsmittel.

Dic Fraktionen 1—7, eluiert mit Be-Chf (2:8) und Chf, gaben 228 mg amorphes Material (Raymond-Reaktion negativ, verworfen).

Die Fraktionen 8—18, eluiert mit Chf und Chf-Me (99:1) (185 mg) gaben aus Me-Äther 142 mg Kristalle vom Smp. 223—253°. Nach Umkristallisieren aus Me-Äther feine Nadeln vom Smp. 243—253°. Nach Papierchromatogramm, Färbungen mit 84-proz. H_2SO_4 und Mischprobe identisch mit Coroglaucigenin.

Die Fraktionen 19—27, eluiert mit Chf und Chf-Me (98:2) (95:5) (9:1) und (8:2) gaben 28 mg amorphes Material (verworfen).

1,0 g des „chloroform-unlöslichen“ Anteils wurde an 30 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 100 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1 und 2, eluiert mit Chf-Me (9:1) (506 mg), gaben aus Me-Äther 385 mg Kristalle vom Smp. 240—253°. Nach Umkristallisieren rechtwinklige Platten vom Smp. 243—252°, die nach Papierchromatogramm, Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und Mischprobe mit obigem Coroglaucigenin identisch waren.

Die Fraktionen 3—11, eluiert mit Chf-Me (9:1) (8:2) (6:4) und (4:6), gaben 43 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 12—14, eluiert mit Me gaben 369 mg gelartiges Produkt, das bisher nicht kristallisierte (Substanz D). Mit Raymond- und Kedde-Reagens Blaufärbung. Keller-Kilian-Reaktion: negativ. Papierchromatogramm vgl. Fig. 3.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (0,40 g) wurde an 12 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 40 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—5, eluiert mit Be-Chf (3:7) und Chf, gaben 5 mg amorphes Material (verworfen).

¹⁾ A. Stoll, A. Pereira & J. Renz, Helv. **32**, 293 (1949).

²⁾ A. Hunger & T. Reichstein, Helv. **35**, 1073 (1952).

Die Fraktionen 6—8, eluiert mit Chf-Me (99:1) (34 mg), gaben aus Me-Äther 21 mg krist. Coroglauigenin vom Smp. 234—248° (nach Mischprobe, Papierchromatogramm, Färbungen mit 84-proz. H₂SO₄).

Fraktion 9, eluiert mit Chf-Me (99:1) gab 3 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 10—12, eluiert mit Chf-Me (95:5) (32 mg), gaben aus Me-Äther 17 mg Kristalle vom Smp. 245—255°. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurde Subst. B in Blättchen vom Smp. 247—249° erhalten. $[\alpha]_D^{26} = +23,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7561$ in Me).

UV.-Absorptionsspektrum vgl. theoret. Teil. Die Keller-Kilian-Reaktion war negativ. Die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ war gelb (0') und blieb unverändert gelb bis 1 Std. Papierchromatographische Untersuchung siehe im theoret. Teil.

Die Fraktionen 13—16, eluiert mit Chf-Me (95:5) und (90:10), gaben 26 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 17—22, eluiert mit Chf-Me (80:20) und (50:50) (99 mg), gaben aus Me-Äther 37 mg Kristalle vom Smp. 228—240°. Nach Umkristallisieren aus Me-Äther wurde Frugosid in Nadeln vom Smp. 228—238° erhalten; $[\alpha]_D^{25} = -12,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0404$ in Me).

Die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ und die Laufstrecke im Papierchromatogramm waren genau gleich wie bei authentischem Frugosid. Hunger & Reichstein¹⁾ fanden den Smp. 160—170°/237—242° und $[\alpha]_D^{21} = -17,4^\circ \pm 2^\circ$ (in 80-proz. wässer. Me). Die Mischprobe mit diesem Material schmolz bei 240—241°.

Die Fraktionen 23—25, eluiert mit Me, und die Fraktionen 26—31, eluiert mit Chf-Me-Äthylacetat-(1:1:1) mit 0,5—5% Eisessig, gaben 30 mg resp. 95 mg amorphes Material.

2. Untersuchung der Samenprobe von Pater Dr. J. Gerstner† aus Nyassaland.

Entfettung und Extraktion. 426 g Samen, die merklich weniger bitter waren als diejenigen von Eritrea, wurden wie oben beschrieben mit Petroläther entfettet und nach Fermentierung mit Wasser-Alkohol-Gemischen extrahiert. Die stark eingeeigte alkoholisch-wässrige Lösung (50-proz.) wurde zur Entfernung des restlichen fetten Öls zweimal mit Petroläther ausgeschüttelt, dann mit gründlich gewaschenem Pb(OH)₂, bereitet aus 425 g Pb-Diacetat-trihydrat, 15 Min. geschüttelt, durch eine gewaschene Schicht Kieselgur (Celite Nr. 535) genutscht, im Vakuum bei 40—45° auf 220 cm³ eingengt und direkt zehnmal mit je 500 cm³ Chf und zehnmal mit je 100 cm³ Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die verbleibende wässrige Phase gab keine positive Raymond-Reaktion mehr und wurde verworfen. Die Auszüge wurden wie oben beschrieben mit Wasser, 2-n. Na₂CO₃ und H₂O gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Es resultierten 1,5 g Chf-Extrakt und 3,5 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt.

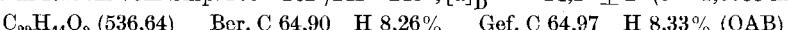
Untersuchung des Chloroformextrakts. Der Chf-Extrakt (1,5 g) wurde an 45 g Al₂O₃ chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 150 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—17 (eluiert mit Chf-Be (7:3), Chf und Chf-Me (99:1)) gaben 255 mg amorphes Material.

Fraktion 18, eluiert mit Chf-Me (98:2) (22 mg), gab aus Me-Äther 4 mg Calotropin in Blättchen vom Smp. 198—212°. Die Mischprobe mit Calotropin vom Smp. 205° (Zers.)/219—220° (auf unserem Apparat bestimmt, Lit. Smp. 221°) schmolz bei 204—210°. Die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren: orange (0'), orange-rot (1'), karminrot (5'), lila-rot (15') und lila-braun (1 Std.). Farbreaktionen und die Laufstrecke im Papierchromatogramm (siehe theoret. Teil) waren genau gleich wie die von authentischem Calotropin.

Die Fraktionen 19—21, eluiert mit Chf-Me (95:5), gaben 118 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 22—51, eluiert mit Chf-Me (90:10) (80:20) (60:40) (607 mg) gaben aus Me-Äther 331 mg Kristalle vom Smp. 228—244°. Nach Umkristallisieren aus Me-Äther Frugosid in Nadeln vom Smp. 160—162°/241—243°; $[\alpha]_D^{26} = -14,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0788$ in Me).



Die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ und Laufstrecke im Papierchromatogramm waren genau gleich wie bei authentischem Frugosid. Die Mischprobe schmolz bei 240—242°.

¹⁾ A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 35, 429, 1073 (1952).

Tetra-O-benzoyl-frugosid: 55 mg Frugosid wurden wie früher beschrieben¹⁾ benzoyliert. Es wurden nach Chromatographie an Al_2O_3 aus Chf-Äther 48 mg Tetrabenzyol-frugosid vom Smp. 160—162° erhalten; $[\alpha]_D^{20} = +15,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1886$ in Chf). Hunger & Reichstein¹⁾ fanden den Smp. 160—162° und $[\alpha]_D^{24} = +15,5^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf). Die Mischprobe mit authentischem Material schmolz gleich.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. 2,0 g des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts wurden an 60 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 200 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen 1—8, eluiert mit Chf, Chf-Me (99:1) und (98:2), gaben 69 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 9—13, eluiert mit Chf-Me (95:5) (172 mg), gaben nach Aufnehmen in Methanol unlösliches Material, von dem abfiltriert wurde. Das Filtrat gab aus Me 2 mg Blättchen vom Smp. 253—263° (sintet. bei 213°). Die Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und die Laufstrecke im Papierchromatogramm sind genau gleich wie bei Substanz B. Die Mischprobe mit Subst. B vom Smp. 247—249° schmolz bei 242° → 253—258°.

Die Fraktionen 14—32, eluiert mit Chf-Me (90:10) (80:20) und (50:50) (605 mg), gaben aus Me-Äther 372 mg Kristalle vom Smp. 226—242°. Nach Umkristallisieren Frugosid vom Smp. 230—235°. Die Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 und die Laufstrecke im Papierchromatogramm war genau gleich wie bei authent. Material. Die Mischprobe schmolz gleich.

Die Fraktionen 33—41, eluiert mit Chf-Me (50:50) und Me, gaben 196 mg amorphes Material.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium unseres Instituts (OAB) (Leitung E. Thommen) und bei A. Peisker, Brugg (A. P.) durchgeführt.

Zusammenfassung.

Zwei Samenproben von *Calotropis procera*, R. Br. (Asclepiadaceae) (aus Eritrea bzw. Nyassaland stammend) gaben nach Einwirkung ihrer Enzyme die folgenden Glykoside und Aglykone: 1. Samenprobe von Eritrea: Coroglaucigenin (0,437%), Frugosid (0,0224%), Corotoxigenin (0,00665%) und ein neuer krist. Stoff, der Subst. B (0,00103%) genannt wird. Ein weiterer Stoff, der Subst. D genannt wird, konnte bisher nicht kristallisiert, sondern nur stark angereichert werden. 2. Samenprobe aus Nyassaland: Frugosid (0,231%), Subst. B (0,00082%) und ein Stoff, der höchstwahrscheinlich mit Calotropin (0,00094%) identisch ist. Subst. B zeigt im Papierchromatogramm andere Laufstrecken als die verglichenen krist. Stoffe des Milchsafts von *C. procera* und gigantea von *G. Hesse* und Mitarb. Dabei zeigte sich, dass die letzteren Substanzen sich zum Teil im Papierchromatogramm nicht völlig einheitlich verhalten.

Wird bei der Isolierung der Glykoside aus der Samenprobe von Eritrea die Einwirkung ihrer Enzyme verhindert, so tritt im Papierchromatogramm des Gesamtextrakts ein zusätzlicher, intensiver, relativ langsam laufender Fleck auf, der von einem stärker wasserlöslichen Stoff, der Subst. A genannt wird, herrührt. Subst. A wurde noch nicht isoliert. Vermutlich handelt es sich um das glucose-reichere genuine Hauptglykosid (Glucosido-Frugosid?).

Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ A. Hunger & T. Reichstein, Helv. 35, 429, 1073 (1952).