

124. Die Cardenolide der Samen von *Erysimum perofskianum* FISCH. et MEY.¹⁾

Glykoside und Aglykone, 216. Mitteilung²⁾

von Z. Kowalewski, Herb. Jäger, O. Schindler und T. Reichstein

(29. III. 60)

Erysimum perofskianum FISCH. et MEY.³⁾ ist eine 1–2jährige Crucifere, die in Belutschistan und Afghanistan heimisch ist, nicht aber im Kaukasus, wie in verschiedenen Werken angegeben. Sie wird vielfach unter dem Namen *E. compactum aureum* oder *E. nanum compactum aureum* HORT.⁴⁾⁵⁾⁶⁾ als Zierpflanze in Gärten kultiviert. Alle in Kultur befindlichen Pflanzen, sofern sie wirklich zu dieser Art gehören⁷⁾, stammen vermutlich von Samen aus Kabul, die zuerst 1837 im Petersburger und 1838 im Edinburgher Botanischen Garten kultiviert wurden. Das dort erzeugte Samenmaterial ist nach und nach an weitere Gärten verteilt worden⁸⁾.

Chemische Untersuchungen scheinen bisher nur wenige vorzuliegen. *Erysimum*⁹⁾- und *Cheiranthus*-Arten sowie viele andere Cruciferen enthalten Senfölglykoside¹⁰⁾. In *E. perofskianum* sind Glucocheirolin¹¹⁾ und Glucoerysolin¹²⁾ gefunden worden. Auch Alkaloide sollen in beiden Gattungen vorkommen¹³⁾. JARETZKY & WILCKE¹³⁾ haben 35 *Erysimum*-Arten (darunter auch *E. perofskianum*) biologisch auf Anwesenheit digitalisartig wirkender Stoffe geprüft. Die Resultate waren bei allen positiv, ebenso bei vielen Vertretern der nahe verwandten Gattungen *Cheiranthus* und *Syrenia*. BORKOWSKI & Mitarb.¹⁴⁾ prüften wässrige Extrakte aus Blättern, Blüten, Stengeln,

¹⁾ Auszug aus der Dissertation von Z. KOWALEWSKI, Poznan.

²⁾ 215. Mitteilung: B. FECHTIG, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 727 (1960).

³⁾ F. E. L. FISCHER & C. A. MEYER, Index sem. Hortus bot. imp. Petrog. 4, 36, n. 846 (1937). Beschrieben auf Grund von kultivierten Pflanzen aus dem Petersburger Botanischen Garten, die aus Samen von Kabul aufgezogen wurden.

⁴⁾ L. H. BAILEY, *The Standard Cyclopedia of Horticulture*, New York 1950.

⁵⁾ R. ZANDER, *Handwörterbuch der Pflanzensamen und ihre Erklärungen*, 7. Aufl., S. 172, Stuttgart/Ludwigshafen 1954.

⁶⁾ PAREY's Blumengärtnerei, 2. Aufl., F. Encke, Berlin 1957–59.

⁷⁾ Es sollen sich unter diesem Namen fälschlicherweise auch andere Arten in Kultur befinden.

⁸⁾ Wir danken Herrn Dr. H. P. FUCHS, Basel, auch hier für alle botanischen Angaben.

⁹⁾ Über die Pharmakologie der *Erysimum*-Arten und ihre pharmazeutische Verwendung, vgl. G. KNORRE, *Die Pharmazie* 73, 692 (1958).

¹⁰⁾ a) A. STOLL & E. JUCKER, Senföle, Lauchöle und andere schwefelhaltige Pflanzenstoffe, in K. PAECH & M. V. TRACEY, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Vol. 4, 688 (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955). b) O. E. SCHULTZ & R. GMELIN, *Papierchromatographie der Senfölglycosid-Drogen*, *Z. Naturforsch.* 7b, 500 (1952); 8b, 151 (1953).

¹¹⁾ W. SCHNEIDER, *Liebigs Ann. Chem.* 375, 207 (1910).

¹²⁾ W. SCHNEIDER & H. KAUFMANN, *Liebigs Ann. Chem.* 392, 1 (1912).

¹³⁾ R. JARETZKY & M. WILCKE, *Arch. Pharmaz.* 270, 81 (1932), und frühere Lit. daselbst. Eine genaue Angabe aller geprüften Cruciferen, auch derjenigen, die sich als unwirksam erwiesen, findet sich in der Dissertation von MARGARETE WILCKE, Kiel 1931. Wir danken Herrn PD. Dr. K. STOPP, Mainz, auch hier für die leihweise Überlassung dieser wertvollen Dissertation.

¹⁴⁾ B. BOROWSKI, J. KOZŁOWSKI & T. WOCINSKI, *Biuletyn Państwowego Instytutu Naukowego Lecznicych Surowców Roslinnych w Poznaniu* 9, 12 (1957).

Früchten und Samen von 13 verschiedenen *Erysimum*-Arten biologisch an der Taube. Sie fanden bei *E. perofskianum* die stärkste Wirkung. Über die Isolierung einheitlicher Cardenolide aus dieser Species ist uns nichts bekannt. Kristallisierte Cardenolide sind aber aus anderen *Erysimum*-Arten¹⁵⁻²²⁾ sowie aus Vertretern der Gattung *Cheiranthus*²³⁾ und *Syrenia*¹⁶⁾ erhalten worden. Da die Samen bei *Erysimum* in der Regel am reichsten an Cardenoliden sind, haben wir für die im folgenden beschriebene Untersuchung von *E. perofskianum* die Samen verwendet.

Beschaffung des Ausgangsmaterials. – Für die Untersuchung standen 920 g Samen zur Verfügung. Die Stammpflanzen wurden am 1. April 1958 im Botanischen Garten des staatlichen Institutes für Heilpflanzenforschung in Poznan (Polen) ausgesät und die Samen im August 1958 geerntet. Die Pflanzen wurden unter der Leitung von Herrn KOZŁOWSKI²⁴⁾ kultiviert, der auch die Kontrolle der botanischen Identität durchführte. Die zur Kultur benützten Samen entstammten dem Botanischen Garten Berlin-Dahlem und waren von dort als einjährige Pflanzen bezeichnet.

¹⁵⁾ Krist. «Erisimin» aus dem Kraut von *E. canescens* ROTH (richtiger als *E. diffusum* ERHART zu bezeichnen⁸⁾). W. W. FEOFILAKTOW & P. M. LOSCHKAREW, Doklady Akad. Nauk SSSR (Russ. Ausgabe) 94, 709 (1954); Chem. Abstr. 49, 6287 (1955).

¹⁶⁾ Krist. Syreniotoxin aus dem Kraut von *Syrenia angustifolia* (EHRH.) REICHENB. (richtiger als *S. cana* (PILLAR ex MITTERSPOCHER) NEILREICH zu bezeichnen⁸⁾) sowie die krist. Alleoside A und B aus den Samen von *Cheiranthus Allionii* hort. (= *Erysimum Allionii* hort., richtiger *Erysimum ex Marshalli* (STARK ex MOORE) BOIS. zu bezeichnen⁸⁾). N. P. MAK SJUTINA & D. G. KOLESNIKOW, Doklady Akad. Nauk SSSR (Russ. Ausgabe) 95, 127 (1954); Chem. Abstr. 49, 6287 (1955); D. G. KOLESNIKOW & N. P. MAK SJUTINA, Medisinskoja Promyschlennost SSSR 71, 14, 27 (1957); Chem. Abstr. 52, 11360, 10416 (1958).

¹⁷⁾ Krist. Helveticosid aus Samen von *Erysimum helveticum* (JAQUIN) A. P. DC. nach Fermentierung. W. NAGATA, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Festschrift für Prof. A. STOLL, p. 715 (Basel 1957).

¹⁸⁾ Krist. Helveticosid und andere aus Samen von *Erysimum crepidifolium* H. G. L. REICHENB. nach Fermentierung. W. NAGATA, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 41 (1956), und weitere Lit. daselbst.

¹⁹⁾ Aus Samen von *E. cheiranthoides* L. isolierten a) J. MUSZYNSKI, Z. JERZMANOWSKA, J. KACZMAREK & J. SUPERSON, Acta Poloniae Pharmac. 13, 304 (1956) über die Acetyl derivative (davon Acetyl A und Acetyl C kristallisiert) drei Cardenolide (A, B und C, davon A und C kristallisiert). b) N. P. MAK SJUTINA, Ž. obsč. Chim. (J. f. allgem. Chem.) 28, 1383 (1958); Chem. Abstr. 52, 17616 (1958), isolierte aus den Samen nach Fermentierung krist. Erysimotoxin sowie krist. Erysin. Ersteres dürfte mit Helveticosid identisch sein. Frühere Lit. daselbst.

²⁰⁾ Aus Samen von *E. diffusum* EHRH. (ohne Fermentierung) isolierten W. A. MASLENNIKOWA, F. S. CHRISTULAS & N. K. ABUBAKIROW, Doklady Akad. Nauk SSSR 124, 822 (1959); Chem. Abstr. 53, 16204 (1959), amorphes Erysimosid (C₃₅H₅₂O₁₄), das als krist. Penta-O-acetyl-Derivat charakterisiert und als Gluco-helveticosid erkannt wurde. Weitere Lit. daselbst sowie ⁴⁴⁾.

²¹⁾ Reines Strophanthidin-digitoxosid (= Helveticosid) wurde von KAISER & Mitarb.²²⁾ aus den Samen von *E. crepidifolium* REICHENB. und *Cheiranthus allioni* = *E. Marshalli* (STARK ex MOORE) BOIS. isoliert. Aus ersterem isolierten sie auch reines Erysimosid (briefl. Mitteilung, 11. Februar 1960).

²²⁾ F. KAISER, E. HAACK, M. GUBE, U. DÖLBERG & H. SPINGLER, Naturwiss. 46, 670 (1959).

²³⁾ Krist. Cardenolide aus *Cheiranthus cheiri* L., vgl. J. A. MOORE, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 755 (1954) und frühere Lit. daselbst sowie O. SCHINDLER, Die Pharmazie 10, 512 (1951).

²⁴⁾ Wir danken Herrn Magister JAN KOZŁOWSKI auch hier bestens für seine Hilfe.

Extraktion und papierchromatographische Prüfung. – Bei Vorproben zeigten die Samen stark positive Reaktionen auf Alkaloide²⁵⁾, Senfölglykoside und Cardenolide. Wir haben nur die Isolierung der letzteren angestrebt. Zur Kontrolle, ob die Samen Fermente enthalten, die zum Abbau zuckerreicher Di-

Tabelle 1. Ausbeuten an Extrakten und ihre Zusammensetzung beim Vorversuch²⁶⁾

Extrakt	Ohne Fermentierung		Mit Fermentierung	
	Ausbeute in %	KEDDE-Reak- tion ²⁷⁾ oder Flecke im Pchr ²⁸⁾	Ausbeute in %	KEDDE-Reak- tion oder Flecke im Pchr ²⁸⁾
Pe-	24,1	—	24,1	—
Ae- roh	0,66	—	1,32	—
Chf-	0,083	A, B, C, D	1,20	A, B, (C) (D)
Chf-Alk-(2:1)- . .	2,05	D, E, F, G ²⁹⁾	0,76	D, E, F ²⁹⁾
Chf-Alk-(3:2)- . .	0,17	(G)	0,63	(G)

Tabelle 2. Ausbeute an Extrakten und ihre Zusammensetzung beim Hauptversuch²⁸⁾
nach Fermentierung³⁰⁾

Extrakte	Ansatz I, 250 g ³⁰⁾			Ansatz II, 500 g		
	Ausbeute		KEDDE-R. oder Flecke im Pchr ²⁸⁾	Ausbeute		KEDDE-R. oder Flecke im Pchr ²⁸⁾
	in g	in %		in g	in %	
Pe-	62,61	25,0	—	122,78	24,6	—
Ae- gereinigt ³¹⁾ .	0,82	0,33	(A)	0,112	0,022	(A)
Chf-	3,09	1,23	A, B, C, D	2,91 ³²⁾	0,582	A, B, C, D (E) (E') (F)
Chf-Alk-(2:1)- . .	1,61	0,64	E, F, G ²⁹⁾ ³³⁾	6,21	1,24	E, F, G, H, J, K, L, M
Chf-Alk-(3:2)- . .	1,70	0,68	—	1,25	2,50	—

²⁵⁾ In vielen Cruciferen wurde Sinapin, in einer auch Sinapinsäure nachgewiesen^{10b)}. Es ist möglich, dass auch *E. perofskianum* diese oder ähnliche Basen enthält.

²⁶⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exp. Teil. Ausbeuten in % der frischen Samen.

²⁷⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946. Ausgeführt nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952). Alle Butenolide geben mit diesem Reagens eine blauviolette Färbung. Empfindlichkeit bei Tüpfelprobe auf Papier ca. 0,002 mg, im Pchr ca. 0,005 mg.

²⁸⁾ Kursiv gedruckt sind Hauptkomponenten (besonders starke sind fett gedruckt), in Klammern schwache Flecke.

²⁹⁾ Im System Thf-Chf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd durchgeführt, wobei die Komponenten E und E' nicht differenziert werden.

³⁰⁾ Bei Ansatz I wurde die Fermentierung vor der Entfettung mit Pe durchgeführt. Es ist bemerkenswert, dass sie trotzdem gut verlaufen ist. Dagegen ist beim Ansatz II der fermentative Abbau weniger weit erfolgt. Bei diesem Ansatz II wurde genau nach früherer Vorschrift³⁴⁾ nur der wasserlösliche Teil der in den Samen vorhandenen Fermente benützt (2 Std. mit W bei 0° extrahiert). Dies ist hier nicht nötig, weil keine allomerisierenden Fermente vorhanden sind, und scheint weniger wirksam zu sein.

³¹⁾ Gereinigt durch Verteilung zwischen Pe und 80-proz. Methanol.

³²⁾ Bei Ansatz II ist bereits beim Ausschütteln noch weiter fraktioniert worden (vgl. Tab. 8 im Exp. Teil). Die 2,91 g, die hier zusammenfassend als Chf-Extr. bezeichnet sind, wurden in Wirklichkeit mit Be-Chf-Gemischen und reinem Chf erhalten.

³³⁾ In dem verwendeten System ist G stationär, so dass sich daneben J, K, L und M nicht nachweisen lassen.

oder Triglykoside benutzt werden können, wurde der folgende Vorversuch unternommen:

20 g Samen wurden gemahlen und mit Petroläther bei 20° entfettet. Von dem entfetteten Pulver (15,16 g) wurde die Hälfte direkt mit Alkohol extrahiert. Nach Reinigung mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ und Entfernung des Alkohols wurde wie üblich³⁴⁾ aus wässriger Lösung fraktioniert mit Äther, Chloroform sowie Chloroform-Alkohol-Gemischen

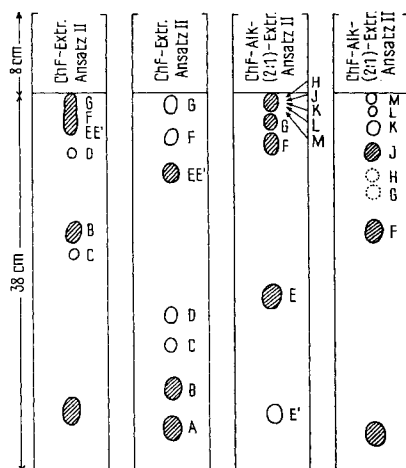


Fig. 1 Chf-Fmd 8 Std.
Fig. 2 Thf-Chf-Fmd (50:50:6,5)/Fmd 6½ Std.
Fig. 3 Be-Bu (1:1)/W 16 Std.
Fig. 4 Be-Bu (1:1)/W 32 Std.

Fig. 1–4 stellen schematisierte, aber massgetreue Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie dar. Ausführung nach früheren Angaben³⁵⁾. Entwickelt mit KEDDE-Reagens²⁷⁾. Die Front ist überall abgetropft. Punktiert schwache, schraffiert besonders starke Flecke. Es wurden überall ca. 0,2 mg Gemisch aufgetropft. Papiersorte: WHATMAN Nr. 1. Identifizierung von A, B und E vgl. Tab. 3. Erysimosid und Olitorisid zeigen im System der Fig. 3 und 4 gleiche Laufstrecken.

ausgeschüttelt. Die zweite Hälfte des entfetteten Samenpulvers wurde zuerst mit Wasser und wenig Toluol vermischt und 3 Tage bei 37° fermentiert. Die weitere Verarbeitung geschah wie oben. Über die erhaltenen Ausbeuten orientiert Tab. 1.

Die verbleibende wässrige Phase war bei beiden Versuchen nicht mehr bitter und gab mit KEDDE-Reagens keine Färbung mehr; sie wurde verworfen.

Wie die Ausbeuten zeigen, ist durch die Fermentierung ein weitgehender Abbau der stark wasserlöslichen Glykoside eingetreten. Das Ergebnis wird durch die Resultate der papierchromatographischen Kontrolle bestätigt (Tab. 1 und Fig. 1–4). Die Hauptmenge der Samen (750 g) wurde daher mit Fermentierung extrahiert; dies geschah in 2 Portionen. Ausbeute vgl. Tab. 2.

³⁴⁾ J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1821 (1951).

³⁵⁾ a) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 108 (1951); b) E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 680 (1954); c) F. KAISER, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).

Bei der papierchromatographischen Prüfung in 3 Systemen mit teilweise verschiedener Zeitdauer (Fig. 1–4) liessen sich insgesamt 13 Butenolide nachweisen, die mit den Buchstaben A, B, C, D, E, E', F, G, H, J, K, L und M bezeichnet wurden. Ihre ungefähre Verteilung auf die verschiedenen Extrakte ergibt sich aus Tab. 2. Wie daraus ersichtlich, sind die Cardenolide ganz oder fast vollständig im Chf- sowie im Chf-Alk-(2:1)-Extrakt enthalten. Präparativ wurden daher nur diese Extrakte getrennt.

Päparative Trennung. Resultate. – Durch die weiter unten beschriebenen Trennungen liessen sich aus den Chf- sowie aus den Chf-Alk-(2:1)-Extrakten sieben Cardenolide (A, B, C, D, E, E' und F) in reiner oder nahezu reiner Form isolieren. Ihre wichtigsten Eigenschaften sind in Tab. 3 zusammengestellt. Fünf dieser Stoffe

Tabelle 3. Die wichtigsten Eigenschaften der sieben in papierchromatographisch reiner Form aus den Samen von *Erysimum perofskianum* nach Fermentierung isolierten Stoffe²⁶⁾

	Smp.	krist. aus	$[\alpha]_D$ in Me	Brutto- formel ³⁶⁾	KELLER- KILIANI- Reak- tion ³⁷⁾	Xant- hydrol- Reak- tion ³⁸⁾	UV.-Maxima ³⁹⁾		Ge- schätz- ter Gehalt in % ⁴⁰⁾
							Buten- olid- region m μ (log ϵ)	Car- bonyl- region m μ (log ϵ)	
A = Helveticosid	153–156°	Me-Ae -W	+ 29,6	C ₂₉ H ₄₂ O ₉	+	+	216 (4,18)	300 (1,34)	0,3
B = Corchorosid A	165–167°	W	+ 9,9	C ₂₉ H ₄₂ O ₉	+	+	216 (4,18)	300 (1,34)	0,1
C = Kabulosid	amorph	–	+ 25,5	C ₂₉ H ₄₂ O ₁₀	+	+	216 (4,17)	308 S (2,59)	0,01
D = Perofskosid (neu)	amorph	–	+ 25,5	C ₂₉ H ₄₂ O ₁₀	+	+	216 (4,20)	S	0,02
E = Erysimosid	170–173°	Ipr	+ 16,8	C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄	–	+	216 (4,18)	290 S (1,63)	0,40
Ac-E = Penta-O- acetyl-erysimosid	210–215°	Me-Ae							
E' = Eryperosid (neu)	178–180°	Ipr	+ 43,9	C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄	–	+	216 (4,21)	S	0,20
F = Erycorchosid (neu)	238–240°	Ipr	+ 30,3	C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄	–	+	216 4,20	S	0,30

³⁶⁾ Teilweise indirekt erschlossen; E, E' und F kristallisierten bisher nur aus Isopropanol und waren schwer zu trocknen.

³⁷⁾ Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv. 37*, 883 (1945).

³⁸⁾ V. ARREQUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. Nac. Cordoba 32*, 439 (1945); P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* 8, 471 (1950).

³⁹⁾ Gelöst in Alk. S = Schulter, log ϵ jeweils auf die angegebene Formel berechnet. Die x-E tinktionen für das Butenolid-Maximum sind teilweise etwas zu niedrig, weil die Proben nicht völlig vom Lösungsmittel befreit werden konnten. Bei D, E, E' und F wurde vermutlich wegen Anwesenheit kleiner Mengen stark absorbierender Verunreinigungen das schwache Maximum der Aldehydgruppe nicht deutlich erhalten.

⁴⁰⁾ Rohe Schätzung auf Grund der Ausbeuten sowie der Stärke der Flecke im Pchr. Die Werte beziehen sich auf Ansatz II, der nur unvollständig fermentiert war. Bei Ansatz I waren die Mengen an E, E' und F merklich geringer, dafür war mehr A, B und C vorhanden.

(A, B, E, E' und F) wurden in Kristallen, die zwei weiteren (C und D) nur in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form erhalten. Zwei der isolierten Kristallisate (A und B) waren nach direktem Vergleich mit den bekannten Glykosiden Helveticosid¹⁷⁾¹⁸⁾ und Corchorosid A⁴¹⁾⁴²⁾ identisch. Ein weiteres (E) konnte auf Grund der Abbauresultate⁴³⁾, dann auch durch direkten Vergleich, mit dem Erysimosid von MASLENNIKOWA & Mitarb.²⁰⁾ identifiziert werden; es war weiter identisch mit dem von KAISER & Mitarb.²²⁾ aus *Strophanthus kombé* OLIV. isolierten Strophanthidin-digitoxosido-glucosid⁴⁴⁾⁴⁵⁾. Die Stoffe C, D, E' und F sind höchst wahrscheinlich neu⁴⁷⁾; sie erhielten die in Tab. 3 angeführten Namen. Ihre Konstitution ist ausser einigen Einzelheiten abgeklärt⁴³⁾ und bei der Benennung berücksichtigt. Alle sieben in Tab. 3 genannten Glykoside leiten sich von Strophanthidin ab und unterscheiden sich nur im Zuckeranteil⁴³⁾.

Ausführung der Trennungen. - *Trennung des Chf-Extrakts aus Ansatz I.* Dies Material enthielt nur die Stoffe A, B, C und D. Es wurde zunächst an Al₂O₃ chromatographiert⁵⁰⁾. Dabei wurde B als erster Stoff eluiert und liess sich in reinen Kristallen gewinnen. Aus dem verbleibenden Gemisch konnte nach Chromatographie an SiO₂ die Komponente A in reinen Kristallen abgetrennt werden. Zur Isolierung der nur in kleinen Mengen vorhandenen Komponenten C und D wurde ein Teil der jetzt noch verbleibenden Gemische (A, B, C und D) durch präparative Papierchromatographie⁵¹⁾ im System^{35c)} von Fig. 2 zerlegt. Beide Stoffe wurden nach weiterer Reinigung in papierchromatographisch einheitlicher, aber amorpher Form erhalten.

⁴¹⁾ M. FRÈREJACQUE & M. DURGEAT, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 238, 507 (1954).

⁴²⁾ W. KREIS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 593 (1957).

⁴³⁾ Z. KOWALEWSKI, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 957 (1960).

⁴⁴⁾ Beide Arbeitsgruppen²⁰⁾²²⁾ haben das freie Erysimosid (zuerst nur amorph erhalten) inzwischen auch kristallisiert. Beide waren so freundlich, nicht nur papierchromatographische Vergleiche mit unseren Subst. E, E' und F durchzuführen, sondern haben uns auch Proben ihrer Präparate zum Vergleich gesandt. Wir möchten unseren deutschen und russischen Kollegen auch hier für ihr Entgegenkommen und ihre Hilfe bestens danken.

⁴⁵⁾ Der direkte Vergleich (Mischprobe der Acetylderivate sowie Papierchromatogramme der freien Glykoside) war hier besonders nötig, da E' nicht nur isomer mit E ist, sondern auch aus denselben Bruchstücken besteht. Die zwei Stoffe unterscheiden sich nur durch die Bindungsart des Glucose-Anteils⁴³⁾. Bei der papierchromatographischen Prüfung der Samen von 12 *Erysimum*-Arten⁴⁶⁾ zeigte es sich, dass E in allen, E' jedoch nur in wenigen Arten vorkam.

⁴⁶⁾ Z. KOWALEWSKI, Helv. 43, im Druck (1960).

⁴⁷⁾ F enthält dieselben Bausteine⁴³⁾ wie das kürzlich von ABUBAKIROW *et al.*⁴⁸⁾ isolierte und als Gluco-corchorosid-A aufgeklärte⁴⁹⁾ Olitorisid. Dieses Kristallisat aus Alk-Ae zeigte Smp. 204–206° und $[\alpha]_D^{22} = -4,5^\circ \pm 1^\circ$ in Me. Unser F ist mit Olitorisid isomer aber nicht identisch. Die zwei Stoffe lassen sich im Pchr differenzieren. Wir danken Herrn Dr. ABUBAKIROW auch hier, dass er den Vergleich durchführte und dass er uns Proben von krist. Olitorisid und Penta-O-acetyl-olitorisid zusandte.

⁴⁸⁾ N. K. ABUBAKIROW, W. A. MASLENNIKOWA & M. B. GOROWITZ, Doklady Akad. Nauk Uzbek. S.S.R. 7957, 23; Chem. Abstr. 53, 6290 (1959); Ž. obsč. Chim. (J. f. allgem. Chemie) 28, 2279 (1958); Chem. Abstr. 53, 2280 (1959).

⁴⁹⁾ N. K. ABUBAKIROW, W. A. MASLENNIKOWA & M. B. GOROWITZ, Ž. obsč. Chim. (J. f. allgem. Chemie) 29, 1235 (1959).

⁵⁰⁾ In einem Vorversuch wurde festgestellt, dass Al₂O₃ keine Veränderung der genannten Stoffe bewirkt.

⁵¹⁾ Ausführungsform nach E. v. ARX & R. NEHER, Helv. 39, 1664 (1956).

Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts aus Ansatz I. Dieses Material zeigte im Papierchromatogramm im System von Fig. 2 die Flecke E, F und G²⁹⁾³³⁾. Nach Chromatographie an SiO₂ liess sich E in Kristallen gewinnen. Aus den verbleibenden Gemischen liess sich KEDDE-negatives Material durch Chromatographie an Al₂O₃ abtrennen. Das erhaltene Konzentrat wurde durch präparative Papierchromatographie zerlegt, wobei kleine Mengen von E, F und G erhalten, nicht aber kristallisiert werden konnten.

Trennung des Chloroform-Extrakts³²⁾ aus Ansatz II. Die 2,91 g Material enthielten nach Papierchromatogramm ausser A, B, C, D noch etwas E, E', F und G. Hier wurde nur die Isolierung der in relativ kleiner Menge vorhandenen Subst. D angestrebt, da sie einen Zucker enthielt, der in Cardenoliden bisher noch nicht aufgefunden worden war⁵²⁾. Die Trennung gelang durch wiederholte Gegenstromverteilung in Scheidetrichtern, zwischen Wasser und Benzol-Chloroform-Gemischen, wobei schliesslich die 6 in Tab. 4 genannten Gruppen (1–6) resultierten.

Tabelle 4. *Trennung von 2,91 g Chf-Extr. aus Ansatz II (500 g Samen) durch wiederholte Gegenstromverteilung (vgl. Exp. Teil, S. 968).*

Gruppe	Ausbeute in mg	Flecke im Pchr ²⁸⁾	Gruppe	Ausbeute in mg	Flecke im Pchr ²⁸⁾
1	1240	A, B	4	188	D
2	699	A, B (C) (D)	5	58	D, E, E', F
3	44	B (C) D	6	168	E, E', F, G
			Total	2397	

Durch chromatographische Reinigung von Gruppe 4 an SiO₂ liessen sich 70,6 mg reine Subst. D als amorphes Glas gewinnen. Die anderen Gruppen wurden bisher nicht getrennt.

Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus Ansatz II. Dieses Material (6,213 g) wurde zunächst auch einer Gegenstromverteilung zwischen Wasser und Chloroform-Alkohol-Gemischen unterworfen, wobei jedoch nur eine teilweise Trennung eintrat. Erhebliche Mengen KEDDE-negatives Material (vorwiegend Säuren) liessen sich je-

Tabelle 5. *Vortrennung von 6,21 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Ansatz II in 4 Gruppen*

Gruppe	Ausbeute in mg	Flecke im Pchr ²⁸⁾	Tabelle im Exp. Teil, in der die Gewinnung des Materials beschrieben ist	Trennung durch Ver- teilungs- chromatogr. Nr.	Daraus rein isoliert
7	1053	E (F) (G) (H)	Fr. 1–3, Tab. 9	1	E', E
8	420	(E) F, G (H) J, K	Neutralteil von Fr. 4–9, Tab. 9	2	E, F
9	930	(E) F, G, H	Fr. 10–12, Tab. 9	3	E, F
10	593	(E) F, G, H, J, K, L, M	Neutralteil von Fr. 25–28, Tab. 8	4	E', E, F

⁵²⁾ A und B waren bereits bei Ansatz I erhalten worden. E, E', F und G waren in grösserer Menge im Chf-Alk-(2:1)-Extrakt enthalten und wurden aus diesem isoliert. Auch C enthält einen für Cardenolide neuen Zucker.

doch durch Waschen der Auszüge mit K_2CO_3 -Lösung entfernen. Zuletzt standen die vier in Tab. 5 genannten Gruppen 7–10 zur Verfügung.

Gruppe 7 gab nach Chromatographie an SiO_2 Kristalle, die aber ausser E noch E' und eine Spur F enthielten. Die Mutterlaugen wurden durch Verteilungschromatographie⁵³⁾ getrennt und gaben E' und E in reinen Kristallen. Hierauf wurden auch die Gruppen 8, 9 und 10 durch Verteilungschromatographie⁵³⁾ getrennt, worauf sich, wie in Tab. 5 erwähnt, weitere Mengen E' und E sowie auch F in reinen Kristallen erhalten liessen.

Die stärker polaren Stoffe G, H, J, K, L und M wurden bei der Verteilungschromatographie in den letzten Fraktionen erhalten. Sie wurden bisher nicht getrennt. Proben solcher Gemische wurden mit Strophanthobiase⁵⁶⁾ sowie Pilyamylase⁵⁷⁾ behandelt. Nach dem Ergebnis der papierchromatographischen Prüfung wirkten beide Fermentpräparate etwa gleich. Die Flecke G, H, J, K, L und M nahmen an Intensität stark ab, dafür entstanden A, B, C, D, E, E' und F.

Besprechung der isolierten Stoffe. – Die physikalischen und analytischen Daten sind in Tab. 3 zusammengestellt. Fig. 5 gibt die Kurven der UV.-Absorptionsspektren, Tab. 6 die Farbreaktionen mit H_2SO_4 . Ferner hatten die Herren Dr. CHEN & Dr. HENDERSON die Freundlichkeit, die Toxizität unserer drei Präparate von E, E' und F an der Katze zu prüfen⁶⁰⁾. Die Resultate sind aus Tab. 7 ersichtlich, in der auch die früher von ihnen bestimmten Werte für Helveticosid (A) und Corchorosid A (B) aufgeführt sind.

Die hohe Toxizität von Helveticosid und Corchorosid A ist somit bei den drei anderen Glykosiden durch den Eintritt einer zusätzlichen Glucose-Molekel merklich herabgesetzt worden.

Tabelle 7. *Biologische Prüfung der 5 krist. Stoffe an der Katze⁶⁰⁾ bei intravenöser Infusion*

Stoff	Zahl der eingesetzten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg
A = Helveticosid	10	0,0803 \pm 0,0052 ¹⁷⁾
B = Corchorosid A	10	0,0768 \pm 0,053 ⁴¹⁾
E = Erysimosid	10	0,1595 \pm 0,0068
E' = Eryperosid (neu)	10	0,1754 \pm 0,012
F = Erycorchosid (neu)	10	0,3007 \pm 0,0281

⁵³⁾ Ausführung wie bei H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953). Hier diente aber Wasser an Cellulosepulver⁵⁴⁾ als ruhende und Benzol-Butanol-(2:1)- oder -(1:1)-Gemisch als bewegliche Phase.

⁵⁴⁾ WHATMAN *ashless powder for chromatography, standard grade*. Die Reinigung erfolgte nach früherer Vorschrift⁵⁵⁾ und die Imprägnierung mit Wasser nach der Methode von TRABERT⁵⁵⁾, nach Einfüllen in die Säule.

⁵⁵⁾ T. GOLAB, C. H. TRABERT, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 2418 (1959).

⁵⁶⁾ Glucosidase aus den Samen von *Strophanthus kombé* bereitet; vgl. A. STOLL & J. RENZ, *Enzymologia* **7**, 362 (1939); J. SCHMUTZ, *Pharmac. Acta Helv.* **22**, 373 (1947).

⁵⁷⁾ Wir danken der SCHWEIZ. FERMENT AG., Basel, für dieses Präparat. Es handelt sich um ein Glucosidasenpräparat aus *Aspergillus oryzae*.

⁵⁸⁾ Aufgenommen von den Herren R. BÜHRER, A. SIEBER & K. STICH auf einem selbstregistrierenden UV.-Spektrophotometer BECKMAN, Modell DK 2.

⁶⁰⁾ Wir danken den Herren Dr. K. K. CHEN & Dr. F. G. HENDERSON, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung ihrer Resultate (Briefe vom 22. Juli und 21. August 1959).

Tabelle 6a. *Farbreaktionen der 7 aus den Samen von Erysimum perofskianum isolierten Stoffe mit 84-proz. H₂SO₄⁵⁹⁾*

Zeit in Min.	A	B	C	D	E	E'	F
0'	grün-orange	braun-gelb	gelb-orange	gelb-orange	grün	grün-gelb	grün
1'	grün-orange	gelb-braun	gelb-grün	gelb-braun	grün	gelb	grün-gelb
2'	gelb-braun	gelb-braun	braun-gelb	gelb-braun	grün	gelb	grün-gelb
3'	gelb-braun	gelb-braun	braun	gelb-grün	grün	gelb	grün-gelb
5'	gelb-braun	gelb-braun	braun	braun-grün	grün	gelb	grün-gelb
10'	gelb-braun	gelb-braun	braun	braun-grün	grün stark	gelb-braun	grün-gelb
30'	grün-braun	gelb	braun	braun-grün	grün stark	gelb-braun	grün-braun
60'	braun-grün	braun-gelb	braun	braun-grün	grün stark	braun-gelb	grün-braun
90'	braun-grün	braun-gelb	braun	braun-grün	grün-gelb	braun-gelb	grün-braun
120'	braun-grün	braun-gelb	braun	braun-grün	grün-gelb	braun-gelb	grün-braun
180'	braun-grün	braun-gelb	braun	braun	grün-braun	braun	grün-braun
240'	braun	braun-gelb	braun-dunkel	braun	grün-braun	braun	braun

Tabelle 6b. *Farbreaktionen der 7 aus den Samen von Erysimum perofskianum isolierten Stoffe mit konz. H₂SO₄⁵⁹⁾*

Zeit in Min.	A	B	C	D	E	E'	F
0'	braun-gelb	braun-gelb	gelb	gelb-orange	grün	grün-gelb	gelb
1'	braun-gelb	braun-gelb	gelb	gelb-orange	grün stark	grün-gelb	gelb
2'	braun-grün	braun-gelb	gelb	gelb-orange	grün stark	gelb-braun	gelb-braun
3'	braun-grün	braun-gelb	gelb	gelb-orange	grün-braun	gelb-braun	gelb-braun
5'	braun-grün	braun-gelb	gelb	gelb-orange	grün-braun	gelb-braun	gelb-braun
10'	braun-grün	braun-gelb	gelb-braun	gelb-orange	grau-braun	gelb-braun	gelb-braun
30'	braun-grün	braun-gelb	gelb-braun	gelb-orange	braun	gelb-braun	gelb-braun
60'	braun-grün	braun	gelb-braun	gelb-orange	braun	gelb-braun	gelb-braun
90'	braun	braun	braun-gelb	braun-orange	braun	braun	braun-gelb
120'	braun	braun	braun-gelb	braun-orange	braun	braun	braun-gelb
180'	braun-dunkel	braun-dunkel	braun-gelb	braun-orange	braun	braun	braun-gelb
240'	braun-dunkel	braun-dunkel	braun-gelb	braun-orange	braun	braun	braun-gelb

⁵⁹⁾ Auf weisser Porzellan-Tüpfelplatte im Tageslicht, vgl. J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv. 31*, 883 (1948).

Die Identifizierung von A, B und E mit Helveticosid, Corchorosid A und Erysimosid erfolgte durch direkten Vergleich und ist völlig gesichert. Über die teilweise Strukturermittlung der Stoffe C, D, E, E' und F wird demnächst berichtet⁴³⁾.

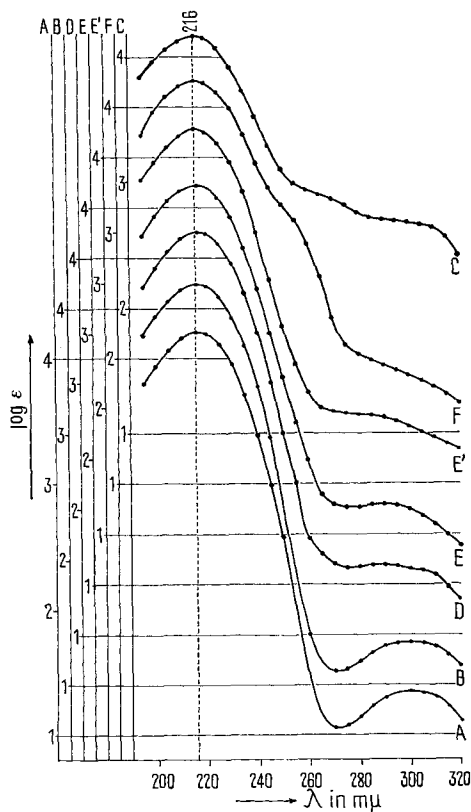


Fig. 5. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol⁵⁸⁾

Berechnet auf die in Tab. 3 angegebenen Formeln³⁹⁾. Genaue Lage und Höhe der Maxima vgl. Tab. 3.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Der eine von uns (Z. K.) dankt dem polnischen Gesundheitsministerium für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichte.

Experimenteller Teil

Die Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung und für die UV.-Spektren wurden 1 Std. bei 80° und 0,05 Torr getrocknet, zur Analyse wie einzeln angegeben. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf-Ac-(1:4) , Waschen mit 2N HCl, Na_2CO_3 -Lösung und W, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. Die Adsorptionschromatogramme erfolgten nach dem Durchlaufverfahren⁶¹⁾ an alkalifreiem Al_2O_3 oder an SiO_2 (feinporig, Korngrösse 0,15–0,30 mm). Ausführung der Papierchromatogra-

⁶¹⁾ T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Trans. Farad. Soc. 7, 305 (1949).

phie nach früheren Angaben³⁵). Für das System von Fig. 2 wurde das Papier nach KAISER^{35c}) durch eine Lösung von Formamid in Aceton (1:4) gezogen; nach Verdunsten des Acetons und Auftragen der Substanz wurde es in den Trog gehängt und sofort mit der homogenen Mischung von Thf-Chf-Fmd-(50:50:6,5) entwickelt.

Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: AcOH = Eisessig, (Ac)₂O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid, Ipr = Isopropanol, Me = Methanol, Mek = Butanon, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser. ML = eingedampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramm und Papierchromatographie. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

Vorproben. – 20 g Samen wurden gemahlen und bei 20° mit Pe entfettet. Es resultierten 4,82 g (= 24,1% fettes Öl, KEDDE-Reaktion negativ, verworfen) sowie 15,16 g entfettetes Samenpulver.

1. *Extraktion ohne Fermentierung.* 7,58 g Samenpulver (entfettet) wurden je zweimal mit je 50 ml 95-, 80-, 60- und 50-proz. Alk bei 40° extrahiert. Das verbleibende Pulver zeigte keinen bitteren Geschmack mehr und wurde verworfen. Die vereinigten Auszüge wurden im Vakuum bei 50° auf 20 ml eingengt, mit 20 ml Alk versetzt und zweimal mit je 75 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Lösungen wurden zweimal mit je 50 ml 50-proz. Alk gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, und gaben nach Eindampfen noch 0,15 g fettes Öl (verworfen). Die alkoholisch-wässrigen Lösungen wurden mit dem frisch aus 15 g Pb-Acetat-trihydrat bereiteten, neutral gewaschenen und in 80 ml Alk suspendierten Pb(OH)₂ versetzt, 10 Min. kräftig geschüttelt, durch eine Schicht von gewaschener Kieselgur (Hyflo Super Cel) abgenutscht und mit 50-proz. Alk gewaschen. Die klaren Filtrate wurden mit verd. H₂SO₄ auf pH = 6 gebracht und unter Kontrolle des pH im Vakuum bei 40° auf 30 ml eingengt. Dann wurde fünfmal mit je 50 ml Ae, fünfmal mit je 50 ml Chf und achtmal mit je 50 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit je 8 ml W (zweimal), 2N Sodalösung (zweimal) und W (zweimal) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Die wässrige Phase und die ersten Waschwässer wurden vereinigt, im Vakuum auf 12 ml eingengt, mit 12 ml gesättigter Na₂SO₄-Lösung versetzt und viermal mit je 50 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit wenig halbgesättigter Na₂SO₄-Lösung, der 10% 2N Sodalösung beigemischt waren, dann mit reiner halbgesättigter Na₂SO₄-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Ausbeuten und Pchr vgl. Tab. I.

2. *Extraktion mit Fermentierung.* 7,58 g Samen wurden mit 35 ml W gleichmässig durchfeuchtet, mit 2 ml To versetzt und verschlossen 3 Tage bei 37° stehengelassen. Dann wurde mit 35 ml Alk versetzt, auf 50° erwärmt und wie bei 1., aber mit Alk von ansteigendem Gehalt von 50–95%, extrahiert. Weitere Aufarbeitung wie bei Vorversuch 1). Ausbeuten und Pchr vgl. Tab. I.

Hauptversuche. – Ansatz I. 250 g Samen wurden gemahlen und ohne Entfettung mit 875 ml W durchfeuchtet, mit 10 ml To versetzt und 4 Tage bei 37° verschlossen stehengelassen. Die weitere Extraktion geschah wie bei Vorversuch 2 (zur Reinigung wurde das Pb(OH)₂ aus 250 g Pb-Acetat-trihydrat verwendet), die Ausschüttelungen wie bei Vorversuch 1. Ausbeuten vgl. Tab. 1.

Reinigung der rohen Ae-Extrakte. 3,75 g roher Ae-Extr. aus Ansatz I wurden in 50 ml Me gelöst, mit 15 ml W versetzt und viermal mit je 100 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Auszüge wurden zweimal mit je 25 ml 85-proz. Me gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (2,79 g fettes Öl, KEDDE-negativ) wurde verworfen. Die vereinigten Me-W-Lösungen gaben beim Eindampfen im Vakuum 0,82 g gereinigten Ae-Extr. KEDDE-Reaktion erst mit 0,5 mg positiv, Pchr zeigte nur Fleck (A).

1,903 g roher Ae-Extr. aus Ansatz II gaben analog 1,78 g Pe-lösl. Material (verworfen) und 0,112 g gereinigten Ae-Extr.

Trennung des Chf-Extr. aus Ansatz I. Dieses Material zeigte im Pchr die Flecke A, B, C und D. Eine Probe (50 mg) wurde in Chf gelöst, an 5 g Al₂O₃ adsorbiert und 24 Std. im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde mit Chf-Me-(95:5) vollständig eluiert. Das eingedampfte Eluat zeigte im Pchr dieselben Flecke A, B, C und D.

3,0 g Extrakt (entspr. 244 g Samen) wurden an 120 g Al₂O₃ chromatographiert; dabei wird B vor A eluiert. Jede Fr. wurde im Pchr geprüft. Mit Chf und Chf-Me-(99:1) liessen sich 69 mg

KEDDE-negatives Material eluieren (verworfen). Die Fr. 15–16 (368 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gaben aus Me-W 215 mg reines B, Smp. 165–167°.

Die späteren Fraktionen (1,8 g, eluiert mit Chf-Me-Gemischen bis zu 50%-Me-Gehalt) enthielten nach Pchr A, B, C und D. Sie wurden an 78 g SiO₂ chromatographiert; dabei wird A vor B eluiert. Die ersten KEDDE-positiven Anteile (658,8 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) gaben aus Me-feuchtem Ae 246 mg reines A, Smp. 151–157°.

Das später eluierte Material (754,3 mg) wurde erneut an 30 g Al₂O₃ chromatographiert. Mit Chf liessen sich zuerst 23 mg KEDDE-negatives Material ablösen (verworfen), dann mit Chf-Me-(99:1) 162,7 mg Gemisch, das nur A und B enthielt (nicht getrennt). Die folgenden Fraktionen (9–23; total 582,9 mg) waren Gemische von A, B, C und D. Davon wurden 300 mg durch präparative Pchr getrennt.

Trennung von 300 mg der Fr. 9–23 durch präparative Pchr. 300 mg des genannten Materials wurden auf 50 Papierblättern (WHATMAN Nr. 1, 19 cm breit) im System Thf-Chf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd präparativ getrennt. Dauer 8 Std. Die Zonen wurden im UV.-Licht auf dem Fluoreszenzschirm⁶²⁾ lokalisiert. Es wurden nur die Zonen der Subst. C und D ausgeschnitten und eluiert. Die übliche Aufarbeitung⁶³⁾ gab 42 mg rohes C-Eluat (von Fmd befreit) und 16 mg rohes D-Eluat. Nach Reinigung an Al₂O₃ wurden erhalten 18 mg C und 11 mg D. Beide waren nach Pchr einheitlich, gaben aber keine Kristalle.

Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts aus Ansatz I. 1,60 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. (aus 248 g Samen) wurden an 80 g SiO₂ chromatographiert. Die Fr. 1–2 (eluiert mit Chf sowie Chf-Me-(98:2) und -(96:4)) gaben 104,2 mg KEDDE-negatives Material (verworfen). Die Fr. 9–12 (373,0 mg eluiert mit Chf-Me-(98:2)) enthielten nach Pchr (A) (B) (C) D und E (nicht getrennt). Fr. 13 (46 mg, eluiert mit Chf-Me-(92:8)) gab aus Isopropanol 21 mg E, Smp. 173–176°, das noch eine Spur E' enthielt. Die folgenden Fraktionen (354,9 mg, eluiert mit Chf-Me-Gemischen bis zu 30% Me-Gehalt) wurden an Al₂O₃ chromatographiert. Da keine Trennung eintrat, wurde das regenerierte Material auf 22 Papierblättern (WHATMAN Nr. 1, 19 cm breit) im System Thf-Chf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd präparativ getrennt. Dauer 24 Std. Nach üblicher Eluierung und Vorreinigung zur Entfernung des Fmd wurden erhalten: 42,5 mg E⁶⁴⁾, 20,3 mg F und 15,6 mg G. Keines der Konzentrate gab Kristalle; sie wurden für fermentativen Abbau benützt.

Ansatz II. – 500 g Samen wurden gemahlen und mit Pe bei 40° entfettet (121 g Pe-Extr., verworfen). Das entfettete Pulver wurde nach früherer Vorschrift⁶⁴⁾ zuerst mit W bei 0° extrahiert. Dann wurde mit Alkohol von steigender Konzentration heiss extrahiert und die vom Alkohol im Vakuum befreiten Anteile mit dem ersten wässrigen Extrakt fermentiert. Nach Zusatz desselben Volumens Alkohol wurde mit Pb(OH)₂ gereinigt und das Filtrat bei pH = 6 im Vakuum auf 120 ml eingengt. Dann wurde mit je 500 ml Ae und anschliessend mit Be-Chf-Gemischen sowie mit Chf-Alk-(2:1) nach Tab. 8 fraktioniert ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach gewaschen, mit je 20 ml W, 2N Sodalösung und W. Dann wurde über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der rohe Ae-Extr. wog 1,9 g und gab nach Verteilung zwischen 80-proz. Me und Pe (wie bei Ansatz I) noch 1,783 g Pe-Extr. (verworfen) sowie 0,112 g gereinigten Ae-Extr. (nicht getrennt). Die weiteren Ausbeuten sind aus Tab. 8 ersichtlich.

Die Fr. 1–20 (total 2,911 g) von Tab. 8 entsprachen dem Chf-Extr. von Ansatz I, die Fr. 21–28 (total 6,213 g) dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. Fr. 1–2 (Gruppe 1) wurden nicht getrennt. Die Fr. 18–20 dienten für fermentativen Abbau (siehe unten).

Zur Isolierung von D wurden zunächst 400 mg der Fr. 3–5 erneut zwischen W und Be-Chf-Gemischen sowie reinem Chf verteilt. Dabei liessen sich mit Be-Chf-Gemischen 356 mg Material abtrennen, das nur A, B und (C) enthielt. Die drei letzten Auszüge (mit reinem Chf) enthielten 36 mg Gemisch, nach Pchr B, C und D.

In gleicher Weise wurden die Fr. 6–11, 12–13 und 14–17 von Tab. 8 getrennt. Zum Schluss wurde das an D stark angereicherte Material nochmals für sich verteilt. Insgesamt resultierten die in Tab. 4 genannten 6 Gruppen.

⁶²⁾ E. VON ARX & R. NEHER, *Helv.* 39, 1664 (1956).

⁶³⁾ HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 977 (1959).

⁶⁴⁾ Geprüft im System von Fig. 3 zeigte dieses Präparat neben E als Hauptkomponente noch Spuren von E'.

Tabelle 8. *Fraktioniertes Ausschütteln der wässerigen Extrakte bei Ansatz II*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 500 ml	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung
1	Be-Chf-(40:60)	788	A (B)	Gruppe 1, nicht getrennt
2	„ „ -(30:70)	452	A, B	
3	„ „ -(20:80)	311	A, B (C)	Total 500 mg, davon 400 mg nochmals verteilt. Gab 36 mg D-Konzentrat
4	„ „ „	132	A, B (C) (D)	
5	„ „ „	57	A, B (C) (D)	
6–8	„ „ „	213	A, B, C, D	Total 495 mg, vereinigt mit 36 mg D-Konzentrat von Fr. 3–5 und nochmals verteilt. Gab 98 mg rohes D
9	„ „ „	70	A, B (C) D	
10	„ „ „	74	(A) B (C) D	
11	„ „ -(10:90)	138	(A) B (C) D	
12	„ „ „	67	(B) D (E)	Total 141 mg. Vereinigt mit 110 mg D-Konzentrat von Fr. 14–17, verteilt. Gab 90 mg rohes D
13	„ „ -(5:95)	74	D (E)	
14	„ „ „	94	D, E, F	Total 323 mg; nochmals verteilt gab 110 mg D-Konzentrat
15	„ „ „	77	D, E, F	
16	Chf	62	(D) E, F	
17	„	90	(D) E (F)	
18–19	„	117	E (F)	Total 218 mg für fermentat. Abbau
20	„	101	E, F (G)	
21–22	Chf-Alk-(2:1)	2196	E, F, G	Total 3,53 g, nochmals verteilt, vgl. Tab. 9
23–24	„ „ „	1332	E, F, G	
25–26	„ „ „	1222	F, G, H, J, K, L, M	Reinigung mit K ₂ CO ₃ usw. gab 593 mg Gruppe 10 für Verteilungschromatographie 4
27–28	„ „ „	1463	(F) (G) (H) (J) (K) (L) (M)	

Reinigung von Peroxskosid (D). Von Gruppe 4 (188 mg) wurden 163,2 mg an 5 g SiO₂ chromatographiert. Fr. 1 (16,4 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)) war KEDDE-negativ; verworfen. Fr. 2 (eluiert mit Chf-Me-(96:4)) lieferte 70,6 mg farbloses Harz, das im Pchr nur den D-Fleck zeigte. Es stellte das bisher reinste Präparat von D dar. Es diente zur Aufnahme des UV.-Spektrums (Fig. 5) sowie zur Ermittlung der Konstitution⁴³⁾. Fr. 3 (18,6 mg, eluiert mit Chf-Me-(96:4)) enthielt neben D noch wenig C. Die Fr. 4–5 (51,5 mg, eluiert mit Be-Chf-(92:8) und -(85:15)) zeigten im Pchr die Flecke D, (C) und (E).

Tabelle 9. *Fraktioniertes Ausschütteln von 3,53 g Fr. 21–24 von Tab. 8*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 200 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung	Gruppe
1–3	Chf-Alk-(95:5)	1053	E (F) G (H)	Chromat. an SiO ₂ , dann Verteilungschromat. 1	7
4–6	„ „ -(90:10)	276	(E) (F) G, H	Mit K ₂ CO ₃ usw. gereinigt (420 mg) zur Verteilungschromatographie 2	8
7–9	„ „ -(80:20)	290	(E) (F) G, H		
10–12	„ „ -(70:30)	930	(E) F, G, H	Verteilungschromatogr. 3	9
Total		2549			

Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts aus Ansatz II. Die Fr. 21–24 von Tab. 8 (zusammen 3,53 g) wurden in 200 ml W gelöst und erneut fraktioniert ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden je zweimal mit je 30 ml 2N Sodalösung und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Die Resultate sind in Tab. 9 zusammengestellt.

Die Fr. 25–26 von Tab. 8 (1222 mg) wurden zur Entfernung saurer Anteile in 500 ml W gelöst und fünfmal mit je 500 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit 30 ml W, 30 ml 2N K_2CO_3 -Lösung und zweimal mit je 30 ml W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es resultierten total 303 mg neutrales Rohprodukt; im Pchr zeigte es die Flecke E, E', F, G und H. Es diente zur Verteilungschromatographie 4 (zusammen mit 290 mg entsäuertem Material aus Fr. 27–28 von Tab. 8 = Gruppe 10, siehe unten). Die mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelte wässrige Phase gab mit KEDDE-Reagens keine Färbung mehr.

Die Fr. 27–28 von Tab. 8 (1463 mg) wurden wie oben mit K_2CO_3 gereinigt und gaben 290 mg neutrales Rohprodukt. Im Pchr zeigte es die Flecke F, G, H, J, H, L und M. Dies Material wurde mit den 303 mg neutralen Anteilen aus Fr. 25–26 von Tab. 8 vereinigt und diente zur Verteilungschromatographie 4.

Die Fr. 4–9 von Tab. 9 (566 mg) wurden analog mit K_2CO_3 gereinigt und gaben 420 mg neutrales Rohprodukt (= Gruppe 8). Im Pchr zeigte es die Flecke E', E, F, G, (H), J, K, L und M. Es diente nun zur Verteilungschromatographie 2.

Fr. 1–3 von Tab. 9 (1053 mg) wurden an 40 g SiO_2 chromatographiert, wobei sich 421 mg KEDDE-negatives Material abtrennen liessen. Nach Wiederholung der Chromatographie wurden 210 mg Material erhalten, das nur E, E' und wenig F enthielt. Es gab aus Ipr 34 mg Kristalle, 172–176°, die aber auch noch ein Gemisch von E, E' und F waren. Die ML dieser Kristalle und die nächsten Fraktionen (total 215 mg) dienten zur Verteilungschromatographie 1 (Tab. 10). Die weiteren Fraktionen (456 mg) zeigten im Pchr noch die Flecke E, F und G; sie wurden nicht getrennt.

Tabelle 10. *Verteilungschromatographie von 215 mg Gruppe 7 (Gemisch E, E' und F)*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 200 ml pro Fraktion	Eindampfrückstand					Weitere Verarbeitung
		roh		Kristalle			
		Menge in mg	KEDDE- R. oder Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr	
1-4	Be-Bu-(2:1) ⁶⁵⁾	36,4	—	—			nicht untersucht
5-7	„ „ „	35,6	—	—			„ „
8	„ „ „	23,9	(E')	—			„ „
9	„ „ „	134,6	E'	80,1	178-180°	E'	Endprodukt
10-11	„ „ „	30,3	(E')	—			nicht getrennt
12-13	„ „ „	21,5	(E') E	—			„ „
14	„ „ „	28,7	E	10,1	170-176°	E	Endprodukt
15-16	„ „ „	23,6	(E)	—			nicht getrennt
17-21	„ „ „	17,8	—	—			„ „

Verteilungschromatographie 1 von 215 mg Gruppe 7 (Gemisch von E, E' und F). 150 g Cellulose-Pulver (WHATMAN ashless powder for chromatography, standard grade) wurden im Vakuum bei 80° 3 Std. getrocknet und durch ein Sieb von 0,25 mm Maschenweite geschlagen. Dann wurde in einer Mischung von 300 ml An, 200 ml n-Pentanol und 480 ml Chf aufgeschlämmt, in ein Chromatographierohr von 50 cm Länge und 4,5 cm Durchmesser eingefüllt und gut absetzen gelassen. Dann wurde das Lösungsmittel bis zur oberen Grenze der Celluloseschicht abtropfen gelassen und hierauf die untere Schicht einer geschüttelten Mischung von 340 ml An, 200 ml n-Pentanol, 460 ml Chf und 60 ml W aufgegossen. Das abgetropfte Gemisch wurde mit der

⁶⁵⁾ Bei Fr. 1–4 wurden total 2000 ml eluiert.

kleinen Menge der verbliebenen wässrigen Phase erneut geschüttelt und wieder auf die Säule gegossen, und dies wiederholt, bis alles W gelöst und auf der Cellulose absorbiert war. Dann wurde mit Be-Bu-(2:1), das mit W gesättigt war, nachgewaschen bis das aus der Säule abtropfende Gemisch nach spez. Gewicht der oben angegebenen Mischung entsprach. Hierauf wurden 215 mg Substanzgemisch, in einem Minimum an Be-Bu-(2:1) gelöst, auf die Säule gegeben und normal eluiert. Vgl. Tab. 10.

Nach beendeter Elution wurde die Säule noch mit 2,5 l Be-Bu-(2:1), gesättigt mit W, nachgewaschen, dann wurde sie für die nächste Verteilungschromatographie verwendet.

Verteilungschromatographie 2 von 420 mg Gruppe 8 (entsäuertes Material aus Fr. 4–9 von Tab. 9). Das Material wurde auf die obige Säule gegeben und gleich getrennt. Erhalten wurden 50 mg krist. E, Smp. 173–176°, und 15,1 mg krist. Subst. F, Smp. 238–240°. Ausserdem am Anfang noch wenig amorphe Gemische mit (E') + E sowie am Schluss solche mit F, G und H, die nicht weiter getrennt wurden.

Verteilungschromatographie 3 von 900 mg Gruppe 9 (Fr. 10–12 von Tab. 9). Hier wurde die Säule aus 300 g Cellulosepulver in einem Rohr von 60 cm Länge und 5,4 cm Durchmesser zunächst wie oben bereitet. Dann wurde Be-Bu-(1:1), gesättigt mit W, so lange durchfliessen gelassen, bis das ablaufende Gemisch etwa gleiche Zusammensetzung zeigte. Das Material wurde wieder in wenig Be-Bu-(1:1) gelöst aufgegeben. Erhalten wurden 105 mg krist. E, Smp. 173–176° (aus Fr. 16), und 46 mg krist. F, Smp. 238–240° (aus Fr. 27). Auch hier liess sich am Anfang etwas E' eluieren (56 mg, Fr. 14), das aber nicht kristallisierte. Die Fr. 34–35 enthielten F, G und H.

Verteilungschromatographie 4 von 593 mg Gruppe 10 (neutrale Anteile aus Fr. 25–28 von Tab. 8). Die Säule wurde mit 3 l Be-Bu-(1:1) gewaschen, dann wurden 593 mg der entsäuerten Fr. 25–28 von Tab. 8 aufgegeben und wie oben getrennt. Erhalten wurden 42 mg krist. E', Smp. 178–180°, 61 mg krist. E, Smp. 173–176°, und 18,2 mg krist. F, Smp. 238–240°.

Die letzten Fraktionen (82,9 mg) enthielten Gemische von F, G, H, J, K, L und M.

Fermentativer Abbau eines Gemisches der stark polaren Stoffe G, H, J, K, L und M. 10 mg eines Gemisches, das im Pchr die Flecke (G), H, J, (K), (L) und (M) zeigte, wurde in 5 ml W gelöst, mit 40 mg Pilzamyrase⁶⁷ sowie 0,2 ml To versetzt und nach Durchmischung 3 Tage bei 35° stehengelassen. Die wie früher⁶⁶) durchgeführte Aufarbeitung gab mit Chf ausschüttelbare Anteile (Pchr A, B, C und D) sowie solche, die sich erst mit Chf-Alk-(2:1) ausschütteln liessen. Letztere zeigten vor allem die Flecke (D), E', E, F und G. Die Flecke H, J, K, L und M waren nur noch sehr schwach sichtbar.

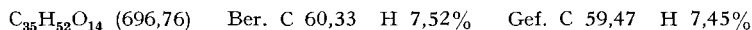
Beschreibung der isolierten Stoffe. – *A* = *Helveticosid*. Aus Me mit feuchtem Ae farblose schmale Blättchen, Smp. 153–156°, $[\alpha]_D^{26} = +29,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2$ in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr identisch mit authentischem Material. Hydrolyse im Mikromaßstab gab rohes Genin, das im Pchr gleich lief wie Strophanthidin, und rohen Zucker, nach Pchr identisch mit Digitoxose.

B = *Corchorosid A*. Aus Me-W nach Einengen im Vakuum und Impfen farblose kurze Nadeln, Smp. 165–167°, $[\alpha]_D^{26} = +9,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2$ in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktionen und Pchr identisch mit authentischem Material. Mikrospaltung wie oben, gab im Pchr Flecke entspr. Strophanthidin und Boivinose.

C = *Kabulosid*. Das zuletzt durch Chromatographie an Al_2O_3 gereinigte Material war ein farbloses Glas. Im Pchr einheitlich. Eigenschaften wie in Tab. 3 und 6 angegeben. UV.-Spektrum vgl. Fig. 5, Teilformel vgl. ⁴³).

D = *Perofskosid*. Das zuletzt durch Chromatographie an SiO_2 gereinigte Material war ein farbloses Glas. Im Pchr einheitlich, $[\alpha]_D^{23} = +25,5^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,6$ in Me). Eigenschaften in Tab. 3 und 6. UV.-Spektrum vgl. Fig. 5, Konstitution ⁴³).

E = *Erysimosid*²⁰) = *Strophanthidin-digitoxosido-glucosid*²²). Aus Isopropanol farbloses, feines Kristallpulver, Smp. 173–176°, $[\alpha]_D^{22} = +16,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,5$ in Me). Trocknung zur Analyse 24 Std. bei 100°, 0,01 Torr über P_2O_5 , Gewichtsverlust 8,4%.



⁶⁶) R. REES, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 1052 (1959).

Eigenschaften vgl. Tab. 3, 6 und 7; UV.-Spektrum vgl. Fig. 5; Abbau vgl.⁴³⁾. Der Stoff war auch beim direkten Vergleich im Pchr identisch mit authentischem Erysimosid²⁰⁾⁴⁴⁾ sowie mit dem Strophanthidin-digitoxosido-glucosid aus *Strophanthus kombé*²²⁾⁴⁴⁾.

Penta-O-acetyl-erysimosid. 10,3 mg Erysimosid (aus *E. perofskianum*) wurden in 0,08 ml (Ac)₂O und 0,1 ml abs. Py im Vakuum eingeschmolzen und 3 Tage bei 37° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae gab 6,4 mg neutrales Rohprodukt. Es wurde an 1 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Be-Äthylacetat eluierten Anteile (4,9 mg) zeigten $[\alpha]_D^{26} = +35,2^\circ \pm 5^\circ$ ($c=0,49$ in Me); sie gaben aus Me-Ae 1,3 mg farblose kurze Nadeln, Smp. 210–215°. Misch-Smp. mit authentischem Material (aus *E. diffusum* sowie aus *Strophanthus kombé*²⁰⁾⁴⁴⁾) ohne Depression. Genau gleich verhielt sich eine Probe des Präparates aus *S. kombé*²²⁾⁴⁴⁾.

E' = Eryperosid = isomeres Glucohelveticosid. Aus Isopropanol farbloses Kristallpulver, Smp. 178–180°, $[\alpha]_D^{23} = +43,9^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,8$ in Me). Trocknung zur Analyse 6 Std. bei 100° dann 8 Std. bei 110° und 0,01 Torr über P₂O₅, Gewichtsverlust 8,52% (Schweinchen). Eigenschaften vgl. Tab. 3, 6 und 7. UV.-Spektrum vgl. Fig. 5; Konstitution⁴³⁾.

C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄ + H ₂ O (714,78)	Ber. C 58,81	H 7,62%	Gef. C 59,24	H 7,6%
C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄ (696,76)	Ber. C 60,33	H 7,52%		

*F = Erycorchosid = Glucocorchosid, vermutlich isomer mit Olitorosid*⁴⁸⁾⁴⁹⁾. Aus Isopropanol farblose kleine Körner, Smp. 238–240°, $[\alpha]_D^{23} = +30,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,4$ in Me). Trocknung zur Analyse wie bei E'. Gewichtsverlust 9,12%. Eigenschaften vgl. Tab. 3, 6 und 7; UV.-Spektrum vgl. Fig. 5; Konstitution⁴³⁾.

C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄ (696,76)	Ber. C 60,33	H 7,52%	Gef. C 58,78	H 7,19%
C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄ + H ₂ O (714,78)	„ 58,81	„ 7,62%		

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel ausgeführt.

ZUSAMMENFASSUNG

In den Samen von *Erysimum perofskianum* FISCH. et MEY. liessen sich papierchromatographisch 13 Cardenolidglykoside (A, B, C, D, E, E', D, F, G, H, J, K, L und M) nachweisen. Nach fermentativem Abbau mit den eigenen Fermenten konnten sieben (A, B, C, D, E, E' und F) in papierchromatographisch reiner Form isoliert werden. Davon waren fünf (A, B, E, E' und F) kristallisiert. A, B und E waren mit bekannten Stoffen (Helveticosid, Corchorosid A und Erysimosid) identisch. C, D, E' und F sind höchst wahrscheinlich neue Stoffe. Über ihre Struktur wird demnächst berichtet.

Die Stoffe G, H, J, K, L und M wurden nach papierchromatographischen Resultaten von einem Glucosidasepräparat aus *Aspergillus oryzae* abgebaut, wobei ein Gemisch der schwächer polaren Stoffe (A, B, C, D, E', E, F und G) verblieb.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel