

**D-glucurono-1-D-lactone-3,6.** Le sel de sodium est transformé en acide libre par passage sur une colonne Dowex-50 ( $H^+$ ). La solution concentrée à consistance sirupeuse est reprise par l'acide acétique glacial<sup>17)</sup> (30 ml par g d'acide glucuronique); on porte rapidement à l'ébullition, refroidit immédiatement et abandonne quelques heures. Les cristaux de glucurone séparés sont lavés à l'éther; on recristallise par dissolution dans l'alcool méthylique bouillant (4 ml pour 150 mg), suivie d'addition après refroidissement de 1,5 vol. d'éther; F. 178–180°.

**Autres techniques employées.** — *Traitement des animaux.* On a utilisé des rats WISTAR mâles adultes (SPRICH, Biel-Benken) d'un poids allant de 290 à 345 g. La quantité totale de glucuronolactone administrée en 3 injections intrapéritonéales était de 200 mg par animal. Pour le traitement préalable par la phlorizine, l'horaire des injections et l'isolement du glucose urinaire, nous renvoyons à nos indications antérieures<sup>1)</sup><sup>2)</sup>. Le glucose a été isolé dans une série d'expériences A de l'urine de 24 h, dans une autre série B de l'urine des 12 premières heures.

**Dégradations du glucose.** Nous avons effectué, selon les prescriptions décrites antérieurement<sup>1)</sup><sup>2)</sup>, les préparations des dérivés et des produits de dégradation du glucose utilisés pour les dosages de deutérium: p-nitrophénylhydrazone, phénylglucosazone, gluconate de potassium, phénol-2-formyl-4-osotriazole et acide phénol-2-osotriazole-carboxylique-4.

#### RÉSUMÉ

La préparation de l'acide-D-glucuronique-1-D et de la D-glucuronolactone-1-D est décrite. En confirmation du mécanisme indiqué autrefois pour la glucogenèse à partir du ms-inositol, la D-glucuronolactone-1-D se convertit chez le Rat phloriziné en glucose marqué essentiellement en C-1 et en C-3. On en tire des conclusions quant à la stéréospécificité de certaines réactions enzymatiques intermédiaires.

Genève, Laboratoires de chimie biologique et  
organique spéciale de l'Université  
Berne, Institut de Botanique de l'Université

<sup>17)</sup> W. F. GOEBEL & F. H. BABERS, J. biol. Chemistry 700, 574 (1933).

#### 245. Die Glykoside der Knollen von *Raphionacme burkei* N. E. BR.<sup>1)</sup>

Glykoside und Algykone, 220. Mitteilung<sup>2)</sup>

von J. Binkert, O. Schindler und T. Reichstein

(22. VIII. 60)

*Raphionacme* HARV. ist eine zur Familie der Asclepiadaceen gehörende Pflanzengattung, von der etwa 25 Arten aus dem tropischen Afrika sowie aus Südafrika beschrieben sind<sup>3)</sup>; ihre Unterscheidung ist jedoch teilweise nicht gesichert<sup>4)</sup>. Die Gattung scheint nicht viel Stoffe zu produzieren, die für den Säugetier-Organismus toxisch sind, denn verschiedene Arten werden von den Eingeborenen als Nahrungs-

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. J. BINKERT, Basel 1956.

<sup>2)</sup> 219. Mitt.: B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 1570 (1960).

<sup>3)</sup> F. THONNER: Die Blütenpflanzen Afrikas, Berlin 1908, p. 471.

<sup>4)</sup> Über die südafrikanischen Pflanzen schrieb uns Herr A. A. BULLOCK aus den Royal Botanical Gardens Kew am 3. 3. 1960 wie folgt: A whole series of forms has been described from the barren lands stretching from the southwestern seabord to the Transvaal, but the material available is not strictly comparable. I am inclined to think, however, that all belong to the same species.

mittel<sup>5)</sup> oder Genussmittel<sup>10)</sup> verwendet und die bitteren grünen Blätter werden – wie bei vielen anderen Asclepiadaceen – von Haustieren gerne abgeweidet<sup>11)</sup>.

Verschiedene *R.*-Arten werden in der dortigen Volksmedizin<sup>8)</sup> verwendet und teilweise sehr geschätzt<sup>9)</sup><sup>12)</sup>. Wir beschreiben im folgenden eine orientierende Untersuchung der frischen Knollen von *Raphionacme burkei* N. E. BR.<sup>13)</sup>. Diese Art wurde gewählt, weil sie gut beschafft werden konnte und weil die Knollen einen besonders bitteren Geschmack zeigten. Zum Vergleich standen uns auch noch die getrockneten Knollen von *R. divaricata* HARV.<sup>7)</sup> sowie von *R. hirsuta* (E. MEY) R. A. DYER zur Verfügung<sup>14)</sup>.

**Beschaffung des Ausgangsmaterials.** – Sieben grosse Knollen von *R. burkei* wurden im November 1951 von Herrn Dr. I. B. POLE-EVANS in der Umgebung von Irene (Transvaal) persönlich gesammelt. Das Material (16 $\frac{1}{2}$  lbs) wurde am 19. 12. 51 abgeschickt und erreichte uns (7,5 kg) am 8. 2. 52. Zwei Knollen waren verfault und wurden ausgeschieden. Es verblieben 4,15 kg intaktes Material, das bis zur Extraktion (9. 4. 52) bei + 2° gelagert wurde und völlig frisch blieb.

9 kg frische Knollen von *R. divaricata* wurden von Dr. I. B. POLE-EVANS, damals in Irene (Transvaal), persönlich gesammelt, bei ihm in Scheiben geschnitten und getrocknet (1,5 kg). Wir erhielten das Material (mit Herbarmuster) am 6. 7. 1951 in ausgezeichnetem Zustand.

3,5 kg in Scheiben geschnittene und an der Luft getrocknete Knollen von *R. hirsuta*<sup>14)</sup> (mit Herbarmuster) erhielten wir am 26. 1. 1952 von Herrn Dr. R. A. DYER<sup>15)</sup>, ebenfalls in ausgezeichnetem Zustand.

Beide Herren sind ausgezeichnete Kenner der südafrikanischen Flora, die botanische Bestimmung dürfte damit gesichert sein<sup>16)</sup>.

<sup>5)</sup> So z. B. die rohen oder gerösteten Knollen von *R. brownii* Sc. ELLIOT<sup>6)</sup> und die rohen grünen Früchte von *R. divaricata* HARV. (= *R. purpurea* HARV.<sup>7)</sup><sup>9)</sup>).

<sup>6)</sup> J. M. DALZIEL: The Useful Plants of West Tropical Africa, London 1937, p. 389.

<sup>7)</sup> Nach WATT & BREYER-BRANDWIJK<sup>8)</sup> ist *R. purpurea* HARV. synonym mit *R. divaricata* HARV.

<sup>8)</sup> J. M. WATT & M. G. BREYER-BRANDWIJK: The Medicinal & Poisonous Plants of Southern Africa, Edinburgh 1932, p. 146.

<sup>9)</sup> Nach Briefen von Pater Dr. J. GERSTNER (†) vom 26. 1. 1948 und 14. 3. 1949.

<sup>10)</sup> Z. B. *R. purpurea* HARV. als Bitterstoff zur Herstellung von Bier<sup>9)</sup>.

<sup>11)</sup> Briefliche Mitteilung von Dr. I. B. POLE-EVANS vom 11. 11. 1951.

<sup>12)</sup> Herr Dr. I. B. POLE-EVANS (Brief vom 31. 1. 1953) sah in den Bergen von Irene, im nordöstlichen Transvaal, 3 Medizinmänner («witch doctors»), die kleine «Kräutergarten» angelegt hatten. Darin wurden die folgenden Pflanzen kultiviert: *Bovia volubilis*, drei verschiedene *Dioscorea* spec., einige *Raphionacme* spec., einige spec. von *Scilla*, *Hypoxis* und *Eucomis*. Sie kultivierten auch *Kaempferia ethule* (Zingiberaceae) und gaben an, dass die Knollen dieser Pflanze sehr wirksam gegen Husten und Erkältungskrankheiten seien.

<sup>13)</sup> Nach brieflicher Mitteilung von Herrn A. A. BULLOCK (3. 3. 1960) ist der Name korrekt, doch ist es unsicher, ob diese Form als besondere Art aufrecht erhalten werden kann.

<sup>14)</sup> Nach brieflicher Mitteilung von Herrn A. A. BULLOCK (3. 3. 1960) sind *R. divaricata* und *R. hirsuta* synonym.

<sup>15)</sup> Chief Division of Botany and Plant Pathology, Dep. of Agriculture, 590 Vermeulenstreet, Pretoria, South Africa.

<sup>16)</sup> Wir möchten den genannten Herren für ihre Mühe auch hier bestens danken, ebenso Herrn A. A. BULLOCK in den Royal Botanical Gardens Kew für wertvolle Angaben sowie der N. V. ORGANON, Oss (Holland), für ihre Hilfe bei der Beschaffung der Drogen.

### Extraktion, Trennung und biologische Prüfung der Rohextrakte

Die frischen Knollen von *R. burkei* (4,15 kg) wurden zerschnitten, eingestampft und nach Zusatz von etwas Toluol (ohne Wasserzusatz) 48 Std. verschlossen bei 25° stehengelassen<sup>17)</sup>. Dann wurde mit Alkohol in üblicher Weise<sup>18)</sup><sup>19)</sup> extrahiert, mit Pb(OH)<sub>2</sub> gereinigt und aus wässriger Lösung fraktioniert ausgeschüttelt. Erhalten wurden die in Tab. 1 angegebenen Ausbeuten an Extrakten. Bei *R. divaricata* und *R. hirsuta*<sup>14)</sup> wurde das trockene Material gepulvert, mit 10facher Menge Wasser angeteigt und weiter wie oben verfahren.

Tabelle 1. Ausbeuten an Rohextrakten in g und in %<sup>20)</sup>

	<i>R. burkei</i> 4,15 kg frisch (Bezeichnung)	<i>R. divaricata</i> <sup>21)</sup> 0,2 kg trocken (Bezeichnung)	<i>R. hirsuta</i> <sup>22)</sup> 0,25 kg trocken (Bezeichnung)
Pe-Extr. <sup>20)</sup> . . . . .	4,65 (0,112%)		
Ae-Extr. . . . .	1,96 (0,047%) (JB 1)	0,2 (0,1%)	
Chf-Extr. . . . .	18,7 (0,42%) (JB 2)	0,6 (0,3%) (A Hu 108)	
Chf-Alk-(2:1)-Extr.	3,5 (0,084%) (JB 3)	6,3 (3,15%) (A Hu 109)	20,8 (8,32%) (A Hu 119)

Aus der verbliebenen wässrigen Phase liess sich auch nach Halbsättigung mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> durch Ausschütteln mit Chf-Alk-(2:1)-Gemisch praktisch nichts mehr gewinnen, sie wurde daher verworfen<sup>23)</sup>.

Der Pe-Extr. wurde nicht untersucht. Die übrigen Extrakte waren N-frei, zeigten aber stark bitteren Geschmack, und die Prüfung auf gebundenen Zucker<sup>24)</sup> war stark positiv. Keiner der Extrakte zeigte aber am isolierten Froschherz sowie am isolierten Dünndarm des Kaninchens (bis zu einer Konzentration von 10<sup>-4</sup> g/ml) eine Wirkung<sup>25)</sup>. Dementsprechend waren auch die Reaktionen nach RAYMOND<sup>26)</sup> und

<sup>17)</sup> Ob dabei ein fermentativer Abbau eingetreten ist, wurde nicht geprüft.

<sup>18)</sup> J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1821 (1951).

<sup>19)</sup> Die erste Phase der Extraktion (mit wässrigem Alkohol) wurde freundlicherweise von Herrn Dr. M. SUTTER, bei der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, ausgeführt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

<sup>20)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung Exper. Teil.

<sup>21)</sup> Extrahiert von Herrn Dr. A. HUNGER am 3. 9. 1951. Es wurde kein Pe-Extr. bereitet. 9 kg frische Knollen entspr. 1,5 kg trockenem Material.

<sup>22)</sup> Extrahiert von Herrn Dr. A. HUNGER am 31. 1. 1952. Es wurde direkt mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt.

<sup>23)</sup> Die zum Waschen der Extrakte benutzten Sodalösungen lieferten nach Ansäuern 1,2 g rohe Säuren, die aber nicht weiter untersucht wurden.

<sup>24)</sup> Ausführung nach P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1750 (1951).

<sup>25)</sup> Wir danken der biolog. Abteilung der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT auch hier bestens für die Ausführung dieser Prüfungen (Berichte vom 5. 12. 1951, 28. 5. 1952 und 11. 8. 1954).

<sup>26)</sup> W. D. RAYMOND, Analyst 63, 478 (1938); 64, 113 (1939).

KEDDE<sup>27)</sup> negativ. Bei einer orientierenden Prüfung der Extrakte JB 1 und JB 2 auf insekticide Wirkung<sup>28)</sup> waren beide unwirksam. Obwohl der Extrakt JB 2 in Wasser eine stark schäumende Lösung gab, zeigte er mit Hammel-Erythrocyten<sup>29)</sup> in einer Verdünnung 1:1000 keine Hämolyse<sup>30)</sup>.

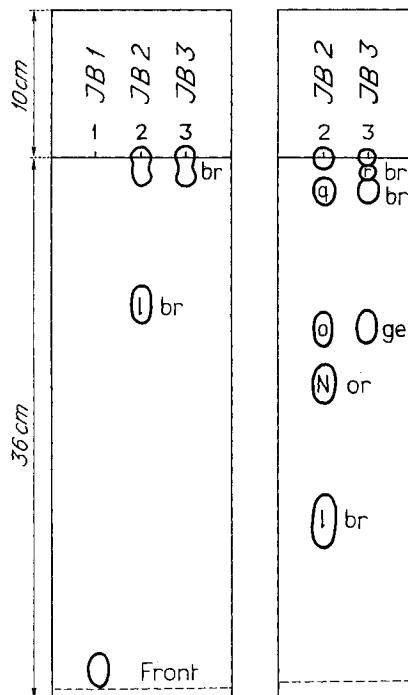


Fig. 1  
To-Bu-(2:1)/W  
5 Std.

Fig. 2  
To-Bu-(1:1)/W  
5 Std.

Fig. 1 und 2 sind schematisierte, aber massgetreue Papierchromatogramme<sup>20)</sup>. Ausführung nach früheren Angaben<sup>32)</sup>. Entwicklung durch Spritzen mit  $SbCl_3$  in Chf und anschliessendes Erhitzen auf 100°<sup>31)</sup>. Bezeichnung der Flecke innen, der Farben (wechseln etwas) aussen: br = braun, ge = gelb, ka = karmin, or = orange.

### Chemische Untersuchung

**1. Vorversuche.** – Bisher wurden nur die drei Extrakte JB 1–3 aus *R. burkei* geprüft. Im Papierchromatogramm zeigten sie das in Fig. 1 und 2 wiedergegebene Bild. Da mit einem unspezifischen Reagens ( $SbCl_3$ )<sup>31)</sup> entwickelt werden musste,

<sup>27)</sup> L. D. KEDDE, Diss. Leyden, 1946, Ausführungen nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).

<sup>28)</sup> Wir danken der J. R. GEIGY AG, Basel, auch hier für die Ausführung dieser Prüfung, sie erstreckte sich auf Stubenfliege und Erdraupe.

<sup>29)</sup> Wir danken Herrn Dr. S. SEIDENBERG, Hygienische Anstalt der Universität Basel, für die Überlassung von Hammel-Erythrocyten. Sie wurden dreimal mit der zehnfachen Menge 0,75-proz. NaCl-Lösung aufgeschlemmt und abzentrifugiert.

<sup>30)</sup> L. KOFLER & PH. A. ADAM, Arch. Pharmaz. 265, 624 (1927).

<sup>31)</sup> R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. 34, 2278 (1951); D. LAWDAY, Nature 170, 415 (1952).

ist unsicher, ob alle Glykoside erfasst wurden und zu was für einer chemischen Klasse die nachgewiesenen Stoffe gehören. Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. (Präp. JB 3) wurde nicht weiter untersucht und der Ae-Extr. (Präp. JB 1) nur orientierend geprüft (siehe 1, Exp. Teil).

Bei der präparativen Untersuchung konzentrierten wir uns auf den Chf-Extr. (Präp. JB 2), der gewichtsmässig den Hauptteil der Glykoside darstellte. Eine eindeutige Abklärung der Inhaltsstoffe gelang trotzdem bisher nicht. Der genannte Extrakt erwies sich als kompliziertes Gemisch schwer trennbarer Esterglykoside. Ein teilweiser Abbau liess sich sowohl mit Glucosidasen wie durch milde saure Hydrolyse erzielen. Für den Hauptversuch wählten wir die letztgenannte Methode, wobei die Spaltung teilweise bis zur Geninstufe führte.

**2. Untersuchung des Chf-Extraktes JB 2.** – 2a. *Abbau mit Pilzamylase (Vorversuch)*, s. 2a, exp. Teil.

2b. *Milde saure Hydrolyse des Chf-Extraktes (JB 2), Hauptversuch.* 14,7 g Material (Präp. JB 2) wurden nach früher beschriebener Methode<sup>33)</sup> hydrolysiert und lieferten dabei 7,3 g Genin-Glykosid-Gemisch (Präp. JB 6) und 4,06 g rohen Zuckersirup<sup>34)</sup>. Die Untersuchung dieser beiden Stoffgruppen wird im folgenden besprochen.

2b 1. *Untersuchung des Zuckers.* Der Sirup war ein Gemisch. Mit Aceton-Äther liessen sich etwas Monosaccharide (Präp. JB 29) herauslösen, die teilweise im Vakuum destillierten. Das Destillat (Präp. JB 54) enthielt nach Papierchromatogramm (vgl. Fig. 4 und 5)<sup>35)</sup> Cymarose, Oleandrose, Digitoxose und Boivinose. Ein fünfter, lang-samerer Fleck entsprach vermutlich einem Disaccharid<sup>35)</sup>.

Die Hauptmenge des Zuckers war in Aceton-Äther unlöslich und bestand aus Di- und Trisacchariden (Präp. JB 7). Dieser Teil gab im Papierchromatogramm (Nr. 3 in Fig. 3) vier reduzierende Flecke (A, B, C, D). Ein fünfter, nicht reduzierender Fleck E (entspr. Fleck c von Fig. 7 und 8) war mit  $SbCl_3$  nachweisbar und entsprach dem Genin JB 9. Eine kleine Probe (2 mg) wurde durch präparative Papierchromatographie<sup>36)</sup> getrennt. Die Trennung war gut, das Resultat ist aus Fig. 6 ersichtlich. Es ist bemerkenswert, dass die zwei Hauptkomponenten A und B mit Xanthydrol<sup>37)</sup> keine Färbung gaben, also keine 2-Desoxyzucker enthielten. Solche waren nur in C und D enthalten. Von diesen zeigte C dieselbe Laufstrecke wie Strophanthobiose<sup>38)</sup>.

<sup>32)</sup> E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 680 (1954).

<sup>33)</sup> S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 32, 939 (1949). Unter diesen Bedingungen werden im wesentlichen nur diejenigen Glykosid-Bindungen gespalten, an denen 2-Desoxyzucker beteiligt sind, ferner auch Furanoside.

<sup>34)</sup> Dieser enthielt noch etwas Genin JB 9 (siehe unten), weil die Trennung wegen Emulsionsbildung nicht ganz gut verlaufen war. Der relativ grosse Verlust wurde nicht aufgeklärt.

<sup>35)</sup> Dieselben 5 Flecke gab auch der destillierte Zucker (Präp. JB 5) aus milder saurer Hydrolyse des Ätherextraktes (Präp. JB 1).

<sup>36)</sup> E. v. ARX & R. NEHER, *Helv.* 39, 1664 (1956).

<sup>37)</sup> V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. nac. Cordoba, Argentina* 32, 439 (1945), zitiert nach M. M. PESEZ, *Ann. pharmac. franç.* 70, 104 (1952).

<sup>38)</sup> Strophanthobiose gibt mit  $SbCl_3$  jedoch eine andere Färbung (hellbraun  $\rightarrow$  grau mit Violettstich).

Die Hauptmenge von Präparat JB 7 wurde acetyliert<sup>42)</sup><sup>43)</sup>. Aus dem Gemisch der AcetylDerivate liessen sich durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  bzw.  $\text{SiO}_2$  und anschliessende, recht mühsame fraktionierte Kristallisation die in Tab. 2 angegebenen relativ kleinen Mengen fünf ziemlich scharf schmelzender Kristallisate (JB 24-JB 28) isolieren<sup>44)</sup>.

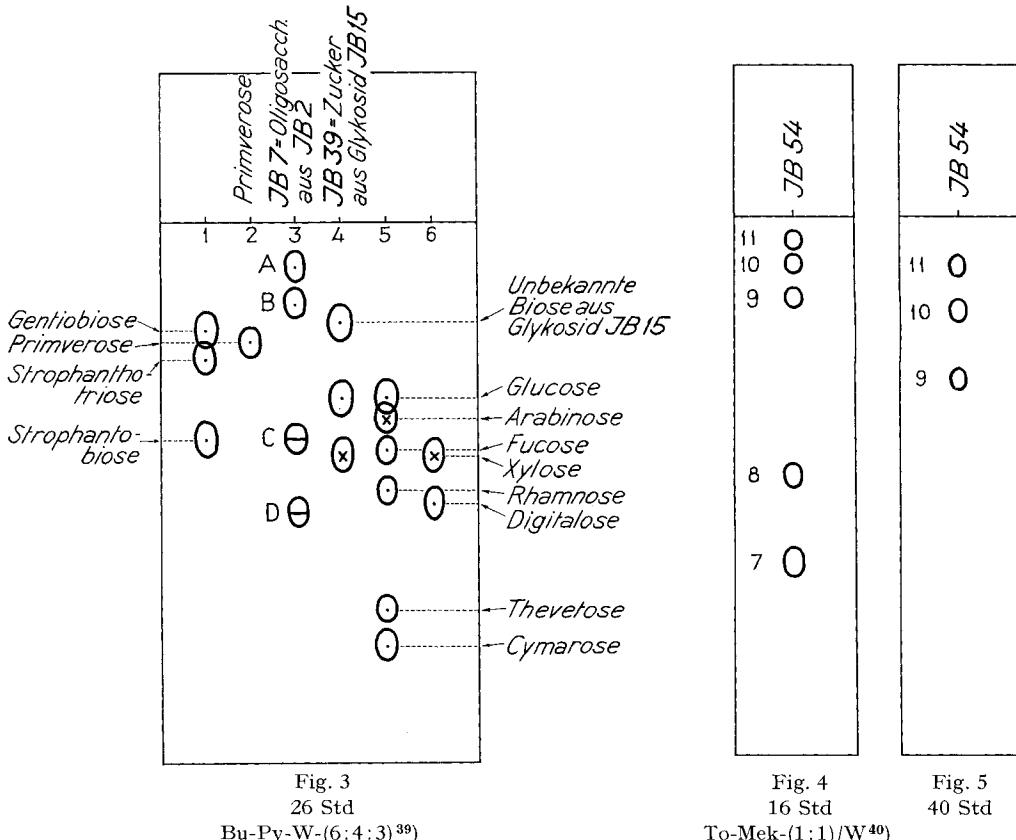


Fig. 3  
26 Std  
Bu-Py-W-(6:4:3)<sup>39)</sup>

Fig. 4  
16 Std  
To-Mek-(1:1)/W<sup>40)</sup>

Fig. 5  
40 Std

Fig. 3-5

Papierchromatographie der Zucker  
Entwickelt mit Anilinhydrogenphthalat<sup>41)</sup>

○ = braun, ⊖ = nur im UV. sichtbar (Fluoreszenz),  
⊗ = rotbraun, 7 = Cymarose, 8 = Oleandrose, 9 = Digitoxose, 10 = Boivinose,  
11 = unbekannter Zucker (evtl. Biose aus JB 29).

<sup>39)</sup> A. JEANES, C. S. WISE & R. J. DIMLER, Analyt. Chemistry 23, 415 (1951).

<sup>40)</sup> O. RENKONEN & O. SCHINDLER, Helv. 39, 1490 (1956).

<sup>41)</sup> S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949); vgl. auch F. CRAMER, Papierchromatographie, p. 69, 2. Aufl., Weinheim 1953.

<sup>42)</sup> Eine Trennung der freien Zucker durch Verteilungschromatographie wie bei Fig. 6 hätte vermutlich bessere Resultate ergeben.

<sup>43)</sup> Ein Teil wurde mit Py-Ac<sub>2</sub>O, ein weiterer mit Na-Acetat und Ac<sub>2</sub>O acetyliert. Die Resultate waren ungefähr gleich.

<sup>44)</sup> Daneben wurden grössere Mengen Kristallgemische erhalten, deren Trennung nicht glückte.

Zone (Abstand vom Start in cm)	Anilin- phthalat <sup>41)</sup>		$SbCl_3$	Xant- hy- drol <sup>37)</sup>	Eluat Menge in mg roh
	Tages- licht	UV- licht			
(1,1-3,75) A	+	+	orange	-	1,3
(4,35-6,5) B	+	+	orange	-	0,3
(14,0-16,5) C	-	+	rosa	+	0,1
(17,2-19,8) D	-	+	grau- blau	+	0,1
(26,4-28,5) E	-	-	gelb	-	0,1

Fig. 6. *Präparative Trennung von 2 mg Oligosaccharid-Gemisch*  
(Präp. JB 7) auf Papier (WHATMAN Nr. 1). System Bu-Py-W-(6:4:3) 15 Std.

Tab. 2. *Ausbeuten und Eigenschaften der fünf relativ scharf schmelzenden, aus Präp. JB 7 gewonnenen O-Acetyl-Derivate*

Be- zeichnung	Aus- beute in mg	Kristall- form	Smp.	$[\alpha]_D$ in Chf	Analysenresultate in % <sup>45)</sup> C H -OCH <sub>3</sub>	Entspr. acetyl- freiem Stoff <sup>46)</sup>
JB 24	25	Spiesse	173-175°	-37,6° ± 2°	77,48 9,15 3,74	E
JB 25	25	schmale Blättchen	147-151°	-20,7° ± 2°	56,48 6,91 1,3	A
JB 26	20	schmale Blättchen	208-210°	-23,4° ± 2°	59,06 7,21 -	B
JB 27	15	Nadeln	161-162°	+19,9° ± 2°	48,62 6,25 0,7	A
JB 28	3	feine Nadeln	193-194°	-2,1° ± 5°	nicht analysiert	

<sup>45)</sup> Die Zahlen sind unsicher, da jeweils nur eine Verbrennung ausgeführt werden konnte und zur damaligen Zeit Störungen auftraten.

<sup>46)</sup> Fleck nach alkalischer Verseifung, Bezeichnung entspr. Figur 6. Fleck E entspr. Fleck c der Fig. 7 und 8.

Von diesen war Subst. JB 24 kein Zuckererivat und, wie erwähnt, identisch mit dem O-Acetyl-Derivat von Genin JB 9 ( $\varrho$  in Fig. 7). Subst. JB 28 war nach Smp., Drehung und Mischprobe identisch mit  $\beta$ -Octacetylgentiobiose<sup>47)</sup>.

Um die anderen Kristallisate mit den freien Zuckern von Fig. 6 zu verknüpfen, wurden kleine Proben nach ZEMPLÉN<sup>48)</sup> verseift und die freigesetzten Zucker im Papierchromatogramm geprüft. Es ergab sich die in der letzten Kolonne von Tab. 2 gegebene Zuordnung. JB 25 dürfte demnach (trotz stark abweichender Analysenresultate<sup>45)</sup>) das Acetyl-Derivat der  $\beta$ -Form von A sein, und JB 27 dasjenige der

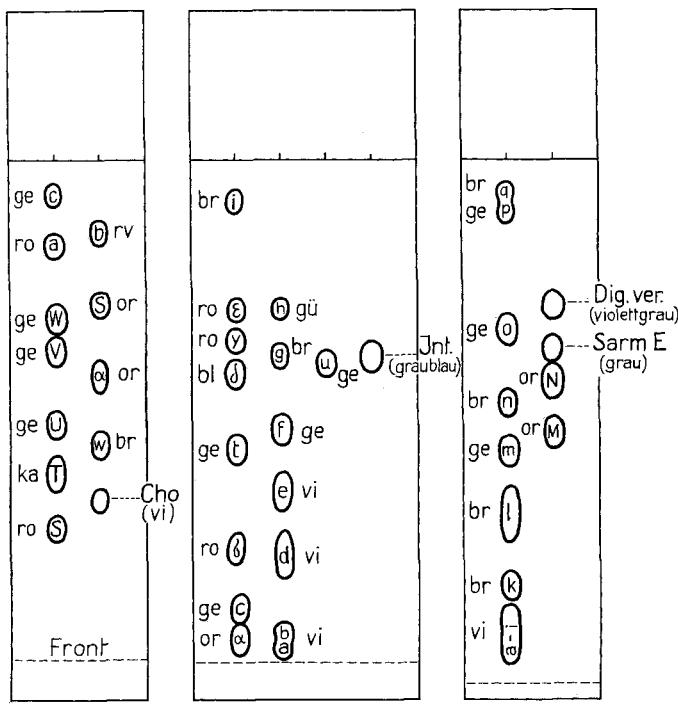


Fig. 7  
Hp-Be-Phencel  
(100:10:1)/Phencel<sup>52)</sup>  
2 Std.

Fig. 8  
Be/Pgl-W-(4:1)  
3 Std.

Fig. 9  
To-Bu-(1:1)/W  
5 Std.

Fig. 7–9 sind schematisierte, aber massgetreue *Papierchromatogramme*<sup>20)</sup>.

Bezeichnungen wie bei Fig. 1–2, ferner bl = blau, gü = grün, ro = rosa, rv = rotviolett, vi = violett. Ch = Cholesterin, Int = Intermediosid<sup>18)</sup>, Dig. ver. = Digitalinum verum<sup>53)</sup>, Sarm. E = Sarmentosid E<sup>54)</sup> als Standard. Korrektur: der zweitoberste Fleck der rechten Reihe von Fig. 7 soll  $\varrho$  und nicht S heißen. Der drittunterste Fleck der linken Reihe von Fig. 8 soll  $\gamma$  heißen.

<sup>47)</sup> Eine nach B. HELFERICH & W. KLEIN, Liebigs Ann. Chem. 450, 219 (1926), bereitete Probe zeigte Smp. 196°,  $[\alpha]_D^{18} = -5,3^\circ$  in Chf; die  $\alpha$ -Form zeigt Smp. 188° und  $[\alpha]_D^{20} = +52,4^\circ$  in Chf.

<sup>48)</sup> G. ZEMPLÉN, A. GERECS & J. HADÁCSY, Ber. deutsch. chem. Ges. 69, 1827 (1936).

<sup>52)</sup> R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. 35, 276 (1952).

<sup>53)</sup> A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 33, 76 (1950), und frühere Lit. daselbst.

<sup>54)</sup> J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 38, 987 (1955).

$\alpha$ -Form. Der relativ geringe Unterschied der spez. Drehungen würde für ein Tri-saccharid sprechen, auch die Laufstrecken im Papierchromatogramm wären damit verträglich. Subst. JB 26 zeigte einen sehr ähnlichen Smp. und eine ähnliche Drehung wie  $\beta$ -Heptacetylprimverose<sup>49</sup>), war aber nach Kristallform und Mischprobe davon

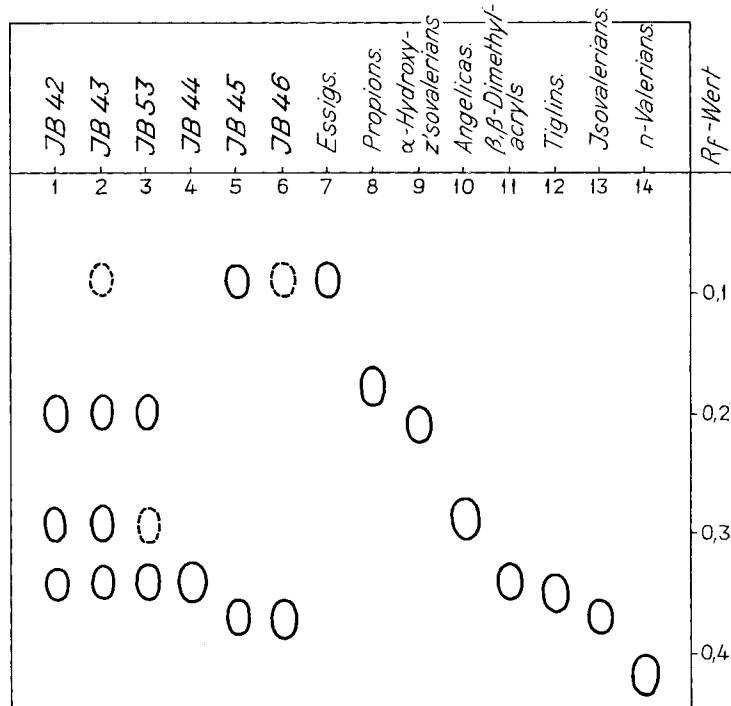


Fig. 10. Papierchromatographie der ätherlöslichen Säuren<sup>64)</sup>

System: Bu/1,4 N NH<sub>3</sub> in W. 23 bis 40 Std.

Entwickelt mit Bromphenolblau-Zitronensäure<sup>65)</sup>.

- 1 = 0,3 mg JB 42 = Säuren aus heißer alk. Verseifung von JB 6
- 2 = 0,3 mg JB 43 = Säuren aus kalter alk. Verseifung von JB 11
- 3 = 0,3 mg JB 53 = Säuren aus heißer alk. Verseifung von JB 11
- 4 = 0,3 mg JB 44 = Säuren aus heißer alk. Verseifung von JB 9
- 5 = 0,5 mg JB 45 = leicht flüchtige Säuren aus Se-Dehydrierung
- 6 = 0,5 mg JB 46 = sodalösliche Säuren aus Se-Dehydrierung
- 7 = 0,2 mg Essigsäure
- 8 = 0,2 mg Propionsäure
- 9 = 0,2 mg  $\alpha$ -Hydroxy-isovaleriansäure
- 10 = 0,2 mg Angelicasäure
- 11 = 0,2 mg  $\beta, \beta$ -Dimethylacrylsäure
- 12 = 0,2 mg Tiglinsäure
- 13 = 0,2 mg Isovaleriansäure
- 14 = 0,2 mg n-Valeriansäure

<sup>49)</sup> Der nach B. HELFERICH & H. RAUCH, Liebigs Ann. Chem. 455, 168 (1927), bereitete Stoff kristallisierte aus An-Ae-Pe in kurzen Prismen, Smp. 215–217°,  $[\alpha]_D^{27} = -22,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,368 in Chf).

<sup>64)</sup> R. L. REID & M. LEDERER, Biochem. J. 50, 60 (1951).

<sup>65)</sup> A. R. JONES, E. J. DOWLING & W. J. SKRABA, Analyt. Chemistry 25, 394 (1953).

verschieden. Ausserdem gab der Stoff nach Entacetylierung den Zucker B, der im Papierchromatogramm (Fig. 3) eine merklich kürzere Laufstrecke zeigte als Primverose. Es dürfte sich demnach auch bei B um ein Trisaccharid handeln.

Um einen weiteren orientierenden Einblick in die Zusammensetzung des Zuckergemisches (Präp. JB 7) zu erhalten, wurde eine weitere Probe zur Hydrolyse mit 2N  $H_2SO_4$  3 Std. auf 95–100° erhitzt. 2-Desoxyzucker werden dabei zerstört. Der resultierende Sirup gab im Papierchromatogramm nur noch zwei Flecke mit Laufstrecken wie Glucose und Digitalose (schwach)<sup>50)</sup>. Die Zucker A und B dürften daher Trisaccharide aus Glucose darstellen. Bei B könnte auch Digitalose<sup>50)</sup> beteiligt gewesen sein. Bei den Zuckern C und D dürften Disaccharide mit einem 2-Desoxyzucker am reduzierenden Ende vorgelegen haben.

2b 2. *Untersuchung des Genin-Glykosid-Gemisches (Präp. JB 6).* Dieses Präparat zeigte im Papierchromatogramm in 3 Systemen (vgl. Fig. 7–9) mindestens 16 Flecke (a–q). Von diesen waren nur die Flecke l, o und q im ursprünglichen (nicht hydrolysierten) Chf-Extr. JB 2 sicher nachweisbar. Das Präparat enthielt ausser gebundenem Zucker (der bei der milden sauren Hydrolyse nicht abgespalten worden war)<sup>51)</sup> noch reichlich Estergruppen. Im folgenden werden zwei Vorversuche sowie der Hauptversuch beschrieben, die wir zur Untersuchung dieses Materials durchgeführt haben.

2b 21. *Alkalische Hydrolyse (Vorversuch).* Eine Probe (140 mg Präp. JB 6) wurde mit KOH in Methanol 1 Std. gekocht. Die Aufarbeitung lieferte 70 mg neutrale (Chf-lösliche) Anteile (Präp. JB 32) und 23 mg ätherlösliche Säuren (Präp. JB 42), die schwach nach Valeriansäure rochen<sup>55)</sup>. Im Papierchromatogramm (Nr. 1 in Fig. 10) gaben sie 3 Flecke mit Laufstrecken, wie  $\alpha$ -Hydroxy-isovaleriansäure<sup>56)</sup>, Angelicasäure<sup>57)</sup> und  $\beta,\beta$ -Dimethylacrylsäure oder Tiglinsäure<sup>58)</sup><sup>59)</sup>. Der Neutralteil zeigte im Papierchromatogramm mindestens 6 Flecke. Auf weitere Untersuchung der Verseifungsprodukte wurde zunächst verzichtet und versucht, die Ester selbst (Präp. JB 6) zu trennen<sup>60)</sup>.

<sup>50)</sup> Für das Nonacetat einer Diglucosido-digitalose ergibt sich eine Formel  $C_{37}H_{52}O_{24}$  (880,79) mit C = 50,45, H = 5,95 und  $-OCH_3$  = 3,29%. Da A (entspr. Präp. JB 25 und JB 27) frei von Methoxyl war, käme diese Formel höchstens für B in Frage.

<sup>51)</sup> Also Derivate von Zuckern, die an C-2 noch HO- tragen und deren Glykoside schwer hydrolysierbar sind.

<sup>55)</sup> Der verbleibende Gewichtsverlust (47 mg) könnte durch stark flüchtige oder stark wasserlösliche Verseifungsprodukte verursacht sein, auf die nicht geprüft wurde.

<sup>56)</sup> Die interessanteren Hydroxy-methyl-äthyl-essigsäuren standen zum Vergleich nicht zur Verfügung; sie dürften ähnliche Laufstrecken zeigen.

<sup>57)</sup> Wir danken Herrn Dr. J. RENZ, SANDOZ AG, Basel, auch hier bestens für die Überlassung des Präparats.

<sup>58)</sup>  $\beta,\beta$ -Dimethylacrylsäure und Tiglinsäure laufen im benützten System fast gleich.

<sup>59)</sup> Angelicasäure wurde unter den Bedingungen der Hydrolyse weder merklich in Tiglinsäure umgelagert noch hydratisiert. Eine mit KOH in Methanol in gleicher Weise gekochte Probe gab nach Aufarbeitung nur den ursprünglichen Fleck.

<sup>60)</sup> Auf die alkalische Verseifung der Hauptmenge haben wir verzichtet, weil sich zeigte, dass JB 6  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Ketone enthielt, die durch Alkali langsam weiter verändert wurden. Trotzdem wäre es vermutlich leichter gewesen, die Trennung wie in analogen Fällen<sup>61)</sup><sup>62)</sup><sup>63)</sup> erst nach einer solchen Hydrolyse zu versuchen.

<sup>61)</sup> R. E. WINKLER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 721 (1954).

<sup>62)</sup> EVA ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1014 (1959).

<sup>63)</sup> J. M. NASCIMENTO *et al.*, spätere Mitteilung.

2b 22. *Direkte Chromatographie an  $Al_2O_3$  (Vorversuch).* Eine weitere Probe (1 g Präp. JB 6) wurde direkt an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Dabei zeigte es sich, dass ein beträchtlicher Teil (0,44 g, bezeichnet als Präp. JB 10) sehr fest haftet und erst durch Zusatz von Eisessig vom  $Al_2O_3$  ablösbar war. Dieser Teil gab im Papierchromatogramm nur noch 4 Flecke (k, m, o, p)<sup>66</sup>) und war in Benzol-Chloroform-(2:3) sehr schwer löslich. Dies veranlasste uns, die Hauptmenge zuerst mit diesem Lösungsmittelgemisch vorzutrennen.

Tab. 3. *Trennung von 6,25 g Präparat JB 6 (Hauptversuch). In Klammern Flecke im Pch*

6,25 g getrennt mit Be-Chf-(2:3)	
löslich: 3,68 g JB 12 (a-m)	unlöslich: 2,58 g JB 14 (k, m, o, p, q) (enth. 1,8% Asche)
Chromatogr. an $Al_2O_3$ gab:	aus Me mit Ae gefällt
138 mg krist. Glykosid JB 11(b)	löslich: 1,65 g JB 30 (k, m, o, q), davon 148 mg für Hydrolysen mit KILIANI-Mischung
82 mg krist. Genin JB 9 (c)	1,50 g (vereinigt mit 0,38 g JB 10 aus $Al_2O_3$ -Chromatogr. von Vorversuch) zur Verteilungschromat. 1. Gab noch 30 mg Krist. Glykosid JB 15 (m)
550 mg ML von JB 11 u. JB 9 sowie	Fällung: 0,83 g JB 16 (k, m, p) davon 190 mg für Hydrolysen mit KILIANI-Mischung
1277 mg amorphe Fr. 13-26 von Tab. 7	540 mg für Verteilungschromat. 2; diese gab:
275 mg gleiches Material aus Vorversuch	38 mg rohes JB 20 (p), daraus 6 mg krist. Glykosid JB 20 (p)
2102 mg energisch sauer hydrolysiert	452 mg rohes JB 15 (m), daraus 120 mg krist. Glykosid JB 15 (m)
Aglykonteil mit $NaBH_4$ reduziert, dann mit Se dehydriert.	
980 mg JB 13, amorph erst mit 2% AcOH eluierbar (d, e, g, i). Davon 945 mg acetyliert, gaben keine Kristalle	380 mg rohes JB 15 dienten zur Hydrolyse mit KILIANI-Mischung: 190 mg Zuckersirup JB 39 (3 Flecke wie Xylose, Glucose u. Biosose)
	Getrennt durch Verteilungschromatographie gaben:
	26 mg Biosose (amorph)
	140 mg D-Glucose (roh), daraus 46 mg Kristalle
	15 mg Pentose (roh, amorph)
190 mg Geningemisch JB 19 (T, V, a, c, i u. a)	

2b 23. *Trennung von 6,25 g Präp. JB 6 (Hauptversuch).* Durch Behandlung mit Lösungsmittel, teilweise durch Chromatographie an  $Al_2O_3$  sowie durch Verteilungschromatographie (vgl. Schema bei Tab. 3), konnten aus Präp. JB 6 in schlechter Ausbeute vier krist. Stoffe (Genin JB 9 sowie die Glykoside JB 11, JB 15 und JB 20) isoliert werden. Ihre Eigenschaften, zusammen mit denjenigen von JB 24 (= O-Acetyl-Derivat von JB 9), sind in Tab. 4 zusammengestellt. Sie werden hier noch einzeln besprochen.

<sup>66)</sup> Die Anwesenheit der Stoffe h und i kann nicht ausgeschlossen werden. Zu ihrem Nachweis ist das System von Fig. 8 geeignet, das hier nicht benutzt wurde. 380 mg von diesem Material (JB 10) wurden zusammen mit 1,50 g Präp. JB 30 für die Verteilungschromatographie 1 benutzt.

Tab. 4. Eigenschaften der vier aus Präp. JB 6 isolierten krist. Stoffe sowie des O-Acetyl-Derivats von Genin JB 9

Bezeichnung	Genin JB 9	JB 24 (= O- Acetyl-JB 9)	Glykosid JB 11	Glykosid JB 15	Glykosid JB 20	
Fleck im Pch	c	ρ	b	m	p	
Ausbeute in mg	82	25 <sup>67)</sup>	138	150	6	
Smp.	214-216°	173-175°	153-156°	234-236°	260-266°	
[α] <sub>D</sub>	-35,4° ± 2° (Chf)	-37,6° ± 2° (Chf)	+34,5° ± 2° (Chf)	-23,0° ± 2° (Me)	-35,8° ± 2° (Me)	
Resultat der Zuckerprüfung	-		+	+	+	
Form	farblose Prismen	farblose Spiesse	farblose Nadeln	farblose Prismen	farblose Würfel	
Analyse passt auf (oder Vielfaches)	C <sub>28</sub> H <sub>40</sub> O <sub>3</sub> (424,60) od. C <sub>35</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub> (534,75)	C <sub>39</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub> (466,63) od. C <sub>37</sub> H <sub>52</sub> O <sub>5</sub> (576,79)	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub> (230,25) od. C <sub>25</sub> H <sub>42</sub> O <sub>12</sub> (546,56)	C <sub>40</sub> H <sub>74</sub> O <sub>18</sub> (915,05)	nicht analysiert	
Tetranitromethan	schwach gelb	farblos <sup>68)</sup>	farblos	farblos	farblos	
λ <sub>max</sub> log ε (ber. auf)	240 mμ 4,1 (424) 4,2 (534)	nicht auf- genommen	210-225 mμ 3,98 (230) 4,28 (460)	282-283 mμ 1,96 (915)	nicht auf- genommen	
Alkal. Hydro- lyse liefert Säuren mit Laufstrecke im Pch wie:	β,β-Dime- thylacryls.	nicht geprüft	Essigs. Angelicas. β,β-Dimethyl- acryls. α-Hydroxy- isovalerians.	nicht nach- weisbar	nicht geprüft	
Neutralteil (Flecke)	JB 34 c + u	nicht geprüft	JB 33 w + b + i	JB 35 c + u		
Farbreaktion mit 84-proz. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0' 1' 15' 60' 90' 12 Std.	braungelb gelb gelb röt. orange blass orange verblasst	nicht geprüft	gelb rotbraun rotbraun violettbraun violettbraun violett	orangegegelb orangegegelb röt. orange lila h. grau-braun verblasst	orangegegelb orangegegelb orangegegelb orangegegelb blass rosa verblasst

### Besprechung des Genins und der drei krist. Glykoside

**Genin JB 9.** Dieses Aglykon wurde nach milder saurer Hydrolyse des Chf-Extr. JB 2 erhalten; in kleiner Menge auch nach energischer saurer Hydrolyse der amorphen Präparate JB 16 und JB 30 (siehe unten). Papierchromatographisch liess es sich nachweisen nach milder saurer Hydrolyse des Ae-Extr. JB 1, ferner in den ätherlösli.

<sup>67)</sup> Diese 26 mg von JB 24 wurden zusätzlich aus dem rohen Zuckergemisch JB 7 nach Acetylierung gewonnen.

<sup>68)</sup> Auf Papier mit 0,1 mg ausgeführt.

Teilen nach fermentativem Abbau von JB 2 mit Pilzamylase und nach energischer saurer Hydrolyse des rohen Zuckergemisches JB 7. Vermutlich entstand es auch bei der alkalischen Hydrolyse des Glykosids JB 15 (siehe unten) neben einem weiteren Stoff (entspr. Fleck u), der auch aus Genin JB 9 mit Alkali gebildet wird. Genin JB 9 ist auch gegen heisse Mineralsäure nicht ganz beständig.

Nach den UV.- und IR.-Spektren (Fig. 12 und 14)<sup>69)</sup> enthält Genin JB 9 eine freie HO-Gruppe, eine  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketogruppe und vielleicht eine Ester- oder Lactongruppe. Wenn letzteres zutrifft, stellt die Formel (ca.  $C_{35}H_{50}O_4$ ) mit 4 O-Atomen die einfachste Möglichkeit dar. Die Höhe der Extinktion im UV. wäre damit im Einklang. Im IR. ist dagegen bei  $5,86 \mu$  nur eine schwache Bande sichtbar. Nach Kochen mit KOH in Methanol wurde eine kleine Menge (ca. 4%) ätherlösliche Säure erhalten, die im Papierchromatogramm gleich wanderte wie  $\beta, \beta$ -Dimethylacrylsäure<sup>70)</sup>. Die als Hauptprodukt erhaltenen Neutralteile (JB 34) waren ein Gemisch. Das Papierchromatogramm zeigte zwei Flecke (c und u), von denen der erstere dem Ausgangsmaterial entspricht. Danach wird Genin JB 9 von KOH in siedendem Methanol nur langsam angegriffen. Genin JB 9 liess sich mit Acetanhydrid in Pyridin bei  $20^\circ$  acetylieren. Das krist. O-Acetyl-Derivat (Subst. JB 24) enthielt nach dem IR.-Spektrum (Fig. 17) keine HO-Gruppe mehr.

*Glykosid JB 11.* Dieser Stoff wurde nach der milden sauren Hydrolyse des Chf-Extr. JB 2 erhalten. Im ursprünglichen Extrakt JB 2 war er papierchromatographisch nicht nachweisbar. Das UV.-Spektrum (Fig. 12) zeigt eine breite Kuppe bei ca.  $210-215 m\mu$ , die offenbar durch Überlagerung zweier Maxima von  $\alpha, \beta$ -ungesättigten Estern oder Lactonen entstanden ist<sup>72)</sup>. Das Vorliegen solcher Gruppierungen ist auch mit dem IR.-Spektrum (Fig. 15) vereinbar. Dort findet sich außerdem bei  $5,67 \mu$  eine Bande, die einem gesättigten  $\gamma$ -Lacton entsprechen dürfte. Besonders auffallend ist das völlige Fehlen einer HO-Bande (im  $2,7-3 \mu$  Gebiet), wenn man den hohen O-Gehalt von JB 11 und den positiven Ausfall der Prüfung auf gebundenen Zucker in Betracht zieht. Der Sauerstoff muss demnach ganz in Form von Ester-, Lacton- oder Äther-Gruppen vorliegen. Das würde auch die sehr geringe Polarität von JB 11 im Papierchromatogramm (Fleck b) erklären. Das Vorhandensein von Estergruppen wurde durch das Ergebnis der alkalischen Hydrolyse bestätigt. Beim Kochen mit KOH in Methanol entstand neben neutralem Material (JB 33) ein Gemisch ätherlöslicher Säuren, das im Papierchromatogramm (Nr. 2 und 3 Fig. 10) 4 Flecke gab mit Laufstrecken wie Essigsäure (schwach), Angelicasäure,  $\beta, \beta$ -Dimethylacrylsäure oder Tiglinsäure<sup>58) 59)</sup> und einer vierten Säure, die ähnlich, aber

<sup>69)</sup> Eine Sapogenin- oder Isosapogenin-Gruppierung scheint nach dem IR.-Spektrum aus geschlossen.

<sup>70)</sup> Das Resultat bedarf der Bestätigung. Auf jeden Fall kann der Rest der  $\beta, \beta$ -Dimethylacrylsäure im Genin JB 9 nicht fertig vorgebildet sein (z. B. als Ester), da die entsprechende Absorption (Maximum in Wasser bei  $216 m\mu$ )<sup>71)</sup> fehlt. Möglich wäre eine Dimethylacrylgruppe an C gebunden (die die Absorption als  $\alpha, \beta$ -ungesättigtes Keton veranlassen würde), falls sie mit Alkali eine Säurespaltung erleidet, oder ein entspr. Derivat bzw. ein Ester der  $\beta$ -Hydroxy-isovaleriansäure.

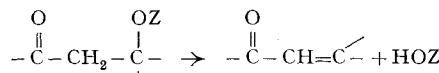
<sup>71)</sup> R. E. BUCKLES, G. V. MOCK & L. LOCATELL, Chem. Reviews 55, 659 (1955).  $\beta, \beta$ -Dimethylacrylsäure-äthylester zeigte in Alk ein Maximum bei  $216 m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,14$ , und in Cyclohexan bei  $214 m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,06$  (eigene Messungen).

<sup>72)</sup> Angelicasäure zeigt nach A. STOLL, R. MORF, A. RHEINER & J. RENZ, Experientia 12, 360 (1960), ein Maximum bei  $217 m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,88$ .

nicht genau lief wie  $\alpha$ -Hydroxy-isovaleriansäure<sup>56)</sup><sup>73)</sup>. Das bei der alkalischen Verseifung entstandene neutrale Material (JB 33) gab im Papierchromatogramm drei Flecke, davon zwei mit Laufstrecken wie i und b, und einen sehr rasch laufenden (zwischen U und T); nach den Färbungen ist es aber zweifelhaft, ob einer der zwei erstgenannten mit i oder b identisch war.

*Glykosid JB 15.* Auch dieses in relativ grösster Menge isolierte Glykosid wurde erst nach milder saurer Hydrolyse von JB 2 erhalten. Im ursprünglichen Chf-Extrakt JB 2 war es papierchromatographisch nicht erkennbar. JB 15 dürfte nach den UV.- und IR.-Spektren (Fig. 12 und 16) eine gesättigte Ketogruppe<sup>74)</sup> enthalten.

Nach dem Resultat der sauren Hydrolyse (die allerdings mit einem Rohpräparat durchgeführt werden musste) (siehe unten) scheint ein Tri- oder Tetra-glykosid mit 2-3 Mol. D-Glucose und einer Mol. Pentose (evtl. Xylose?) vorzuliegen. Glykosid JB 15 war methoxylfrei. Die Analysen passten am besten auf ein Triglykosid  $C_{46}H_{74}O_{18}$ , wären aber auch mit  $C_{45}H_{70}O_{18}$  (entspr.  $C_{45}H_{68}O_{17} + H_2O$ ) sowie einem Tetraglykosid  $C_{58}H_{88}O_{23}$  verträglich. Nach dem Kochen mit KOH in Methanol konnte keine ätherlösliche Säure nachgewiesen werden<sup>75)</sup>. Der Neutralteil (JB 35) zeigte im Papierchromatogramm die Flecke c und u. Genin JB 9 (Fleck c) wird neben anderen Stoffen aus JB 15 auch bei saurer Hydrolyse gebildet (siehe unten). Sollte sich dieses Resultat präparativ bestätigen lassen, so muss die in JB 9 enthaltene  $\alpha, \beta$ -ungesättigte Ketogruppe aus der gesättigten Ketogruppe von JB 15 entstehen. Bei der Behandlung mit Alkali muss dann auch der ganze Zucker abgespalten werden. Da im IR.-Spektrum von JB 15 keine Esterbindungen sichtbar sind, ist es am wahrscheinlichsten, dass der Zucker an einer  $\beta$ -Hydroxy-Ketogruppe glykosidisch gebunden ist und mit Säure oder Alkali durch eine Eliminierungsreaktion (nicht Hydrolyse) abgespalten wird. Dafür spricht auch die Tatsache, dass Glykosid JB 15



bei der Tüpfelprobe mit «Blautetrazolium»<sup>76)</sup> (also in alkalischem Mittel) deutliches Reduktionsvermögen zeigt.

*Glykosid JB 20.* Auch dieses Glykosid wurde nach milder saurer Hydrolyse des Chf-Extraktes JB 2 erhalten. Im ursprünglichen Extrakt JB 2 konnte es papierchromatographisch bisher nicht nachgewiesen werden. Wegen der sehr geringen Menge konnten bisher nur die in Tab. 4 angegebenen Charakterisierungen vorgenommen werden.

*Energische saure Hydrolyse von Glykosid JB 15.* Um einen Einblick in die Zuckerkomponenten des Glykosids JB 15 zu erhalten, wurde eine Probe (380 mg)<sup>77)</sup> zur

<sup>73)</sup> Ein ganz ähnliches Säuregemisch entstand bei der alkalischen Verseifung des rohen JB 6 (vgl. Vorversuch).

<sup>74)</sup> Die Lage der CO-Bande im IR. bei  $5,93 \mu$  (fest in Paraffinöl) deutet auf starke H-Bindung.

<sup>75)</sup> Vielleicht wurde der Versuch mit zu geringer Substanzmenge (10 mg) ausgeführt. Das Resultat bedarf der Bestätigung. Wenn Glykosid JB 15 als Genin tatsächlich JB 9 enthält, so sollten entweder beide Stoffe oder keiner von beiden bei der Verseifung ätherlös. Säuren liefern. Aus JB 9 wurde eine kleine Menge erhalten.

<sup>76)</sup> W. J. MADER & R. R. BUCK, Analyt. Chemistry 24, 666 (1952).

<sup>77)</sup> Verwendet wurden 50 mg reine Kristalle und 330 mg ML, die im Pch aber auch nur den m-Fleck gaben.

Hydrolyse 30 Min. mit KILIANI-Mischung<sup>78)</sup> auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung gab: 190 mg Chf-lösliche Anteile (Präp. JB 19) und 190 mg rohen Zuckersirup (Präp. JB 39). Die Chf-löslichen Anteile waren zuckerfrei und gaben im Papierchromatogramm sieben Flecke (T, V, a, c, δ, i und einen, der im System von Fig. 8 stationär war). Auf eine Trennung wurde bisher verzichtet<sup>79)</sup>.

Der Zuckersirup (Präp. JB 39) enthielt nach Papierchromatogramm (Nr. 4 in Fig. 3) drei Komponenten, entspr. Xylose, Glucose und einer unbekannten Biose. 180 mg davon wurden durch Verteilungschromatographie getrennt<sup>80)</sup>. Erhalten wurden in papierchromatographisch reiner Form: 5,5 mg rohe Pentose, 110 mg rohe Glucose und 26 mg vermutliche Biose. Ausserdem wurden noch 42 mg Gemisch von Pentose und Glucose gewonnen, die nach Vergärung mit Hefe noch 9,5 mg Pentose lieferten. Total enthielt das Gemisch demnach ca. 15 mg Pentose, 145 mg Glucose und 26 mg Biose. Die rohe Pentose zeigte  $[\alpha]_D^{24} = +7,5^\circ \pm 10^\circ$  (in W). Im Papierchromatogramm zeigte sie eine Laufstrecke wie Xylose. Ein Versuch, daraus mit β-Naphtylhydrazin ein krist. Derivat zu fassen, schlug fehl. Aus der rohen Glucose (110 mg) konnten dagegen 46 mg reine Kristalle isoliert werden, die nach Smp., Drehung und Mischprobe mit D-Glucose identisch waren. Die rohe Biose wurde als farbloser Sirup mit  $[\alpha]_D^{24} = +10,8^\circ \pm 5^\circ$  (c = 0,9° in W) erhalten. 2-Desoxyzucker waren erwartungsgemäss darin nicht nachweisbar.

*Energische saure Hydrolyse der amorphen Präparate JB 16 und JB 30 (Bezeichnung vgl. Tab. 3).* Orientierungshalber<sup>81)</sup> wurden auch 190 mg des amorphen Präparats JB 16 (gab Flecke k, m und p) sowie 148 mg des amorphen Präparats JB 30 (gab die Flecke k, m, o und q) mit KILIANI-Mischung<sup>78)</sup> hydrolysiert. Sie gaben die in Tab. 5 genannten Spaltprodukte.

Tab. 5. Spaltprodukte aus den Präparaten JB 16 und JB 30 nach energischer saurer Hydrolyse mit KILIANI-Mischung

Ausgangsmaterial	Spaltprodukte	
	Chf-lösliche Anteile (Flecke im Pch)	Roher Zuckersirup
190 mg JB 16	90 mg Präp. JB 18 (T, V, a, c, δ, i + station.)	110 mg Präp. JB 38
148 mg JB 30	80 mg Präp. JB 17 (S, T, U, V, a, c, δ, y, i + station.)	62 mg Präp. JB 37

Die Zucker zeigten in beiden Fällen im Papierchromatogramm die Flecke von Digitalose, Xylose, Glucose und der unbekannten Biose. Aus beiden liess sich etwas krist. D-Glucose isolieren, das verbleibende Gemisch wurde nicht getrennt.

<sup>78)</sup> Mischung von 35 ml AcOH, 55 ml W und 10 ml konz. HCl, vgl. H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 2866 (1930).

<sup>79)</sup> Isolierung von T, V, und c aus analoger Gemischreihe vergl. unten.

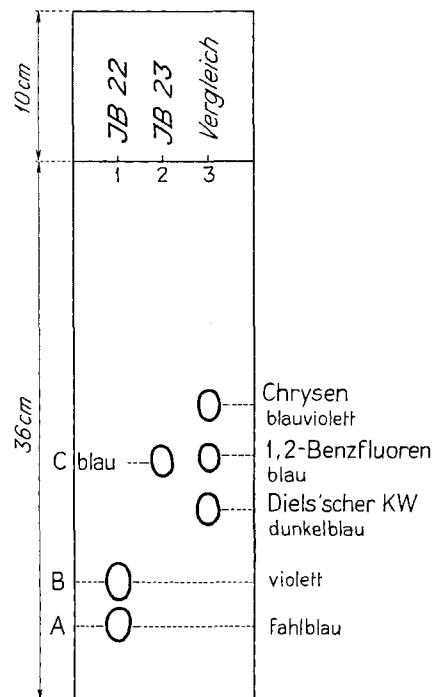
<sup>80)</sup> Verwendet wurde W auf gereinigter Cellulose als ruhender und Bu-Alk-W-Py-(45:5:49:1) als beweglicher Phase.

<sup>81)</sup> Diese zwei Hydrolysen wurden als Vorversuch zur oben beschriebenen Spaltung von Glykosid JB 15 durchgeführt.

Die Chf-löslichen Anteile aus beiden Ansätzen wurden an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, worauf die drei in Tab. 6 genannten krist. Stoffe erhalten wurden.

Tab. 6. *Die drei aus JB 17 und JB 18 isolierten krist. Stoffe*

Vom $\text{Al}_2\text{O}_3$ eluiert mit	Krist. aus	Menge in mg	Smp.	Fleck im Pch	Identisch mit
Pe-Be-(1:2)	Ae	4	136–143°	T	–
Pe-Be-(1:2)	Ae	6	160–166°	V	–
Be-Chf-(9:1)	An-Ae	10	208–211°	c	Genin JB 9

Fig. 11. *Papierchromatographie der Kohlenwasserstoffe. System Hp/Phencel (Front)<sup>52</sup> 2 Std. Farbangaben = Fluoreszenz im UV.*

Das direkt eluierte Kristallisat war mit Genin JB 9 identisch. Die zwei leicht eluierbaren Stoffe (T und V) entstehen nach Papierchromatogramm auch beim Erhitzen von Glykosid JB 15 mit KILIANI-Mischung<sup>82</sup>; es könnte sich um Anhydrogenine handeln.

*Dehydrierungsversuch.* Um einen Einblick in das C-Gerüst der Aglykon-Anteile zu gewinnen, wurde eine Dehydrierung mit Selen durchgeführt. Da von keinem Kristallisat genügend Material dafür zur Verfügung stand, musste ein amorphes Gemisch (1,28 g der amorphen Fr. 13–26 von Tab. 7, sowie 275 mg analoges Material

<sup>82)</sup> Ob sie auch aus Genin JB 9 entstehen, wurde nicht geprüft.

aus Vorversuch) verwendet werden. Dieses Material (1,55 g) zeigte im Papierchromatogramm die Flecke c-i. Es wurde zuerst mit KILIANI-Mischung<sup>78)</sup> wie oben hydrolysiert. Das erhaltene Aglykongemisch (865 mg JB 55) lieferte nach Filtration durch  $\text{Al}_2\text{O}_3$  762 mg Präp. JB 40 (dieses zeigte die Flecke T, c und 3 langsame). Es wurde zur Reduktion vorhandener Ketogruppen 24 Std. bei 22° mit überschüssigem  $\text{NaBH}_4$  behandelt. Von dem erhaltenen Material (750 mg JB 41)<sup>83)</sup> wurden 740 mg mit

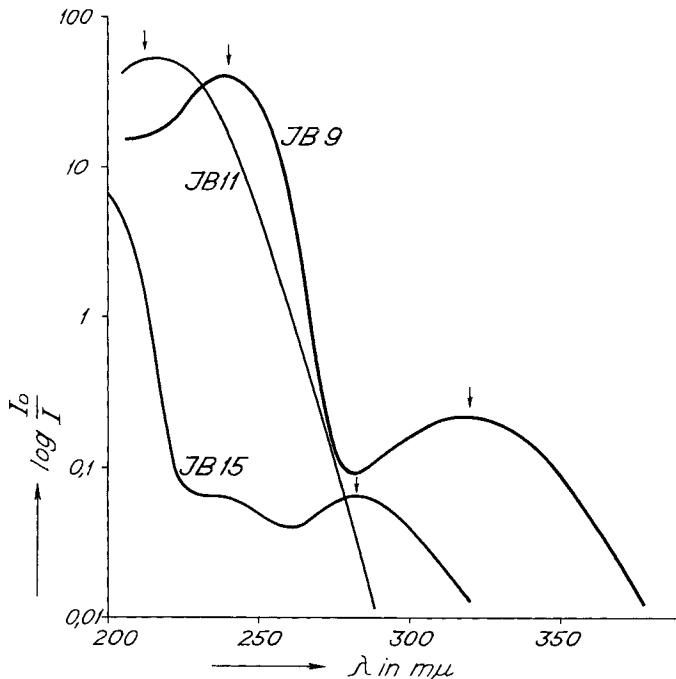


Fig. 12. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>95)</sup>

Ordinaten im logarithmischen Maßstab

Genin JB 9 mit  $c = 0,136\%$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ . Maxima bei 240 (41) und 320 mμ (0,22) entspr.  $\log \epsilon = 4,20$  und 1,92, ber. auf  $\text{C}_{35}\text{H}_{50}\text{O}_4$  (534,75).

Glykosid JB 11 mit  $c = 0,125\%$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ . Maximum bei 212 mμ (52) entspr.  $\log \epsilon = 3,97$ , ber. auf  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}_5$  (230,25).

Glykosid JB 15 mit  $c = 0,0656\%$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ . Maximum bei 282,5 mμ (0,07) entspr.  $\log \epsilon = 1,96$ , ber. auf  $\text{C}_{46}\text{H}_{74}\text{O}_{18}$  (915,05).

Die für die vermutlichen Formeln berechneten  $\epsilon$ -Werte vgl. Tab. 4.

Selen im Einschlusserohr 32 Std. auf 338–348° erhitzt<sup>84)</sup>. Die Aufarbeitung lieferte 5 mg sodalösl. Anteile, die nach Papierchromatogramm Isovaleriansäure und Essigsäure enthielten, sowie 100 mg neutrales Rohprodukt. Aus letzteren wurden nach fraktionierter Destillation, Entfernung von phenolischen Anteilen und Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  die drei folgenden Kohlenwasserstoffpräparate erhalten.

<sup>83)</sup> Dieses zeigte im Pch die Flecke T, W und t sowie langsame; der c-Fleck war erwartungsgemäss verschwunden.

<sup>84)</sup> Zur Isolierung des JACOBS'schen Kohlenwasserstoffs ist diese Temperatur zu hoch, vgl. E. ABISCH *et al.*<sup>82)</sup>, bes. p. 1027.

<sup>85)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER auf einem UNICAM SP 500 Spectrophotometer.

*Präp. JB 21*, farbloses Öl, das nach UV.-Spektrum ein Gemisch von Naphtalin- und Phenanthren-Kohlenwasserstoffen darstellte.

*Präp. JB 22*, farbloses Öl, das sicher noch ein Gemisch war und das im Papierchromatogramm (Nr. 1 in Fig. 11) zwei Flecke gab. Nach dem UV.-Spektrum dürfte es vorwiegend 1,2-Dialkylphenanthrene<sup>85–90)</sup> enthalten haben.

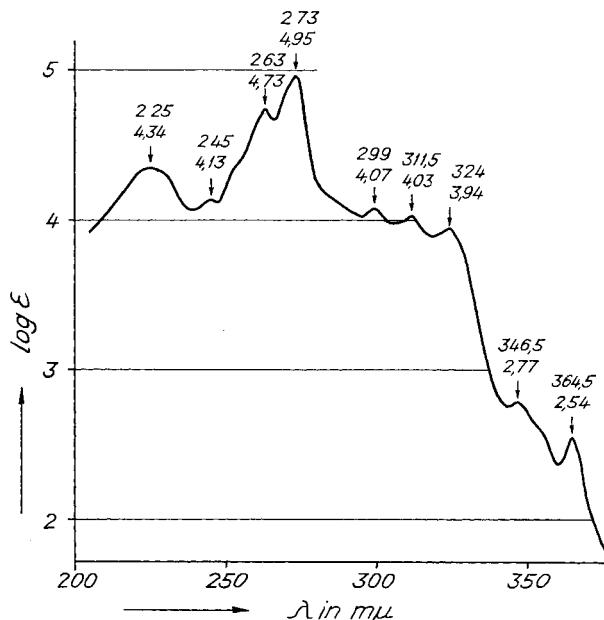


Fig. 13. UV.-Absorptionsspektren des krist. Kohlenwasserstoffs JB 23, Smp. 195–233° in Cyclohexan<sup>95)</sup>. Ber. auf  $C_{20}H_{16}$  ( $M = 256$ ). Die Banden bei 346,5 und 364,5 mμ sind für Chrysene charakteristisch.

*Präp. JB 23*, farblose Kristalle, ca. 2 mg von Smp. 195–233° (daraus Spitzentraktion, ca. 0,3 mg Smp. 250–258°). Es gab im Papierchromatogramm (Nr. 2 in Fig. 11) nur einen Fleck mit einer Laufstrecke wie 1,2-Benzfluoren, war damit aber nicht identisch. Nach dem UV.-Spektrum (Fig. 13) lag wahrscheinlich ein subst. Chrysene vor. Ähnliche Kohlenwasserstoffe wurden von RUZICKA und Mitarb.<sup>91)</sup> aus Hederagenin, von JACOBS & ISLER<sup>92)</sup> aus Senegenin und von ABISCH *et al.*<sup>62)</sup> aus Sarcostin bei der Dehydrierung mit Selen erhalten.

<sup>85)</sup> F. A. ASKEW, J. chem. Soc. 1935, 509.

<sup>86)</sup> E. HEILBRONNER, H. U. DÄNIKER & PL. A. PLATTNER, Helv. 32, 1723 (1949).

<sup>87)</sup> W. STEIDLE, Diss. Tübingen 1953.

<sup>88)</sup> A. BUTENANDT, H. DANNENBERG & W. STEIDLE, Z. Naturforsch. 9b, 288 (1954).

<sup>89)</sup> H. DANNENBERG & W. STEIDLE, Z. Naturforsch. 9b, 294 (1954).

<sup>90)</sup> 1,2-Cyclopentenophenanthrene sollen bei ca. 322, 338 und 354 mμ ausgeprägte Maxima geben<sup>86</sup>). Da JB 22 aber ein Gemisch war, ist auf so feine Unterschiede kein Gewicht zu legen.

<sup>91)</sup> L. RUZICKA, H. BRÜNGGER, R. EGLI, L. EHMANN, M. FURTER & H. HÖSLI, Helv. 15, 431 (1932), vergl. besonders L. EHMANN p. 447.

<sup>92)</sup> W. A. JACOBS & O. ISLER, J. biol. Chemistry 119, 155 (1937).

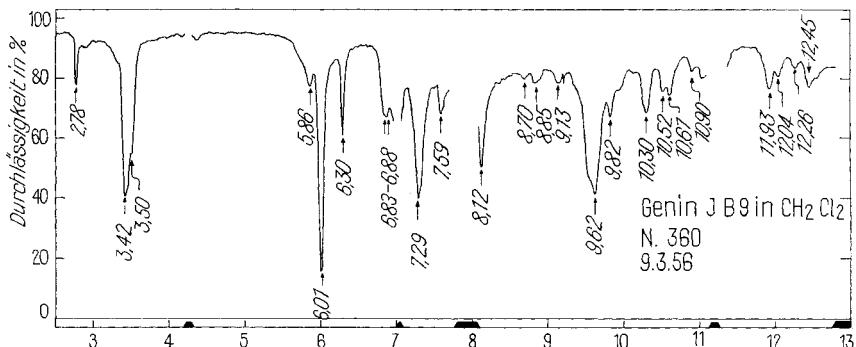


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum des krist. Genins JB 9, Smp. 202–208°, in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   
 $(c = 0,278\%, d = 0,206 \text{ mm}^{96})$

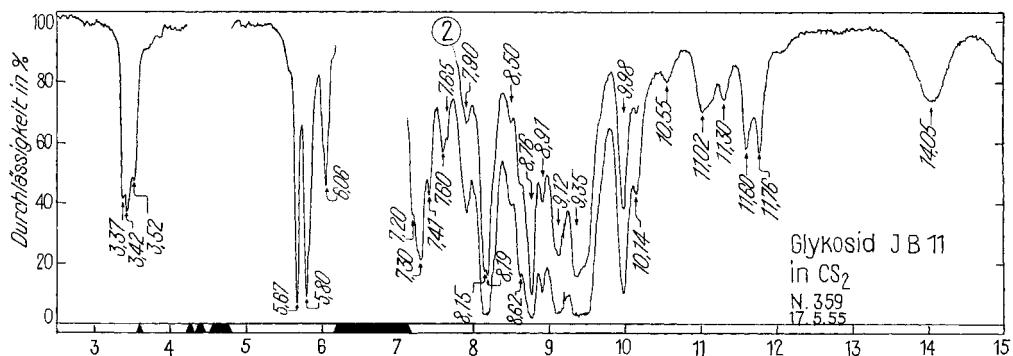


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum des krist. Glykosids JB 11, Smp. 153–156° in  $\text{CS}_2$   
(gesättigte Lösung,  $d = 0,504$  und  $0,208 \text{ mm}^{96}$ )

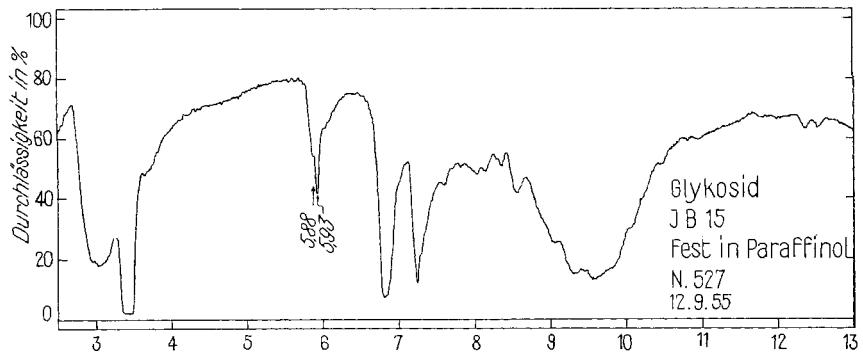


Fig. 16. IR.-Absorptionsspektrum des krist. Glykosids JB 15, Smp. 215°, fest in Paraffinöl  
 $(d = \text{ca. } 0,02 \text{ mm}^{96})$

<sup>96)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER auf einem PERKIN-ELMER double beam IR.-Spektrophotometer Modell 21 mit NaCl-Prisma.

**Diskussion der Resultate.** – Nach den beschriebenen Untersuchungen enthalten die Knollen von *Raphionacme burkei* reichliche Mengen von Esterglykosiden, die schwer zu trennen sind. Esterglykoside mit ähnlichen Eigenschaften, die im Aglykongrundteil höchst wahrscheinlich das C-Nor-D-homo-steroid-Gerüst enthalten, sind in einer Reihe von Asclepiadaceen gefunden worden<sup>93)</sup>. Besonders gut begründet ist die neue Formel für Sarcostin von CORNFORTH<sup>94)</sup>.

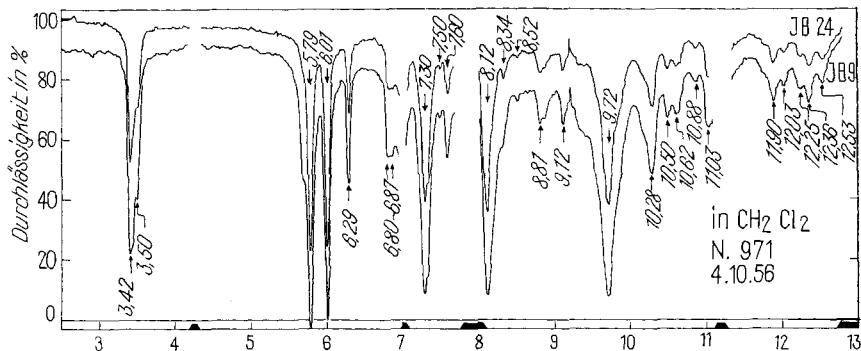


Fig. 17. IR-Absorptionsspektrum des krist. Präparats JB 24, Smp. 173–175°  
(= O-Acetyl-derivat von Genin JB 9) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $c = 0,058$ ,  $d = 0,2 \text{ mm}$ <sup>96)</sup>)

Die bisherigen Resultate erlauben keine eindeutige Aussage über den Bau der Glykoside aus *Raphionacme burkei*. Sie sprechen dafür, dass ihnen polycyclische Aglycone zugrunde liegen. Das Vorliegen des Steroid- oder C-Nor-D-homo-steroid-Gerüstes ist zumindestens nicht ausgeschlossen. Das isolierte krist. Glykosid JB 15 sowie das Genin JB 9 scheinen typische Abbauprodukte darzustellen, wobei letzteres vermutlich in JB 15 enthalten ist. Das Genin JB 9 wird aus verschiedenen Fraktionen bei saurer und (in schlechterer Ausbeute) alkalischer Hydrolyse erhalten. Es wird aber selber von Säuren und Basen langsam weiter verändert. Die Glykoside enthalten aliphatische Säuren in gebundener Form. Nach papierchromatographischen Befunden handelt es sich vermutlich um Essigsäure, Angelicasäure,  $\beta,\beta$ -Dimethylacrylsäure (od. Tiglinsäure) sowie eine Hydroxy-Valeriansäure. Bei den Zuckern ist D-Glucose mengenmäßig vorherrschend, daneben sind eine Pentose (evtl. Xylose), Digitalose sowie kleine Mengen von Cymarose, Oleandrose, Digitoxose und Boivinose anwesend.

#### Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Substanzproben zur Drehungsbestimmung wurden 45 Min. bei 0,01 Torr und 70° getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes erwähnt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 70° über  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von W, Ausschütteln mit Chf oder anderem Lösungsmittel, falls angegeben, 2N Sodalösung und W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen im Vakuum bei 40°.

Es wurden die folgenden Abkürzungen benutzt: AcOH = Eisessig,  $\text{Ac}_2\text{O}$  = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, «Gemisch» = Mischung gleicher Teile Chf-Äthylacetat-Me, Hp = Heptan, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, Pgl = Propylenglykol, Phencel = Äthylenglykol-monophenyl-

<sup>93)</sup> Vgl. E. ABISCH *et al.*<sup>62)</sup>, bes. Diskussion p. 1028 u. frühere Lit. daselbst.

<sup>94)</sup> J. W. CORNFORTH, Chemistry & Ind. 1959, 602.

äther (= Phenyl-Cellosolve), Pe = Petroläther Sdp. 45–55°, Pn = n-Pantan, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser, ML = eingedampfte Mutterlauge, n. u. = nicht weiter untersucht, Pch = Papierchromatographie und Papierchromatogramm. Verhältniszahlen bedeuten, wo nichts anderes vermerkt, immer das Verhältnis der Volumina.

Ausführung der Adsorptionschromatographie<sup>97)</sup> an alkalifreiem  $\text{Al}_2\text{O}_3$ <sup>98)</sup> (reaktiviert nur bei 180–190°), der Verteilungschromatographien<sup>99)</sup>, des LEGAL-Tests<sup>100)</sup>, der LIEBERMANN-Reaktion<sup>101)</sup> und der KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>102)</sup> nach früheren Angaben.

Das Cellulosepulver (WHATMAN Nr. 1) für Verteilungschromatographie wurde zur Reinigung der Reihe nach mit Chf, Be, Bu, Alk, W, Alk und An gewaschen, dann 1 Std. bei 60° im Trockenschrank und anschliessend 30 Min. bei 50° und 12 Torr getrocknet.

### Extraktion der Knollen

4,15 kg frische grosse saubere Knollen wurden maschinell in Scheiben geschnitten, eingestampft, mit 100 ml To vermischt und ohne W-Zusatz 48 Std. verschlossen bei 20° stehengelassen. Dann wurde dreimal mit Alk extrahiert. Vor jeder neuen Extraktion wurde das Material jeweils mit einer Steinwalze frisch zerquetscht<sup>19)</sup>. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum auf 2 l eingeengt und mit 2 l Alk versetzt. Die Reinigung mit  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  (aus 1 kg Pb-Acetat-trihydrat) usw. wurde nach Vorschrift<sup>18)</sup> ausgeführt, Ausbeuten vgl. Tab. 1.

**1. Untersuchung des Ae-Extr. (Präp. JB 1).** – Das Präparat war N-frei. RAYMOND- und LEGAL-Reaktionen negativ. Zuckerprüfung: positiv. KELLER-KILIANI-Reaktion gab Rotfärbung. Im Pch zeigte es die Flecke a und b (nicht deutlich differenziert).

1a. *Milde saure Hydrolyse von Präp. JB 1.* 495 mg Ae-Extr. JB 1 wurden in 25 ml Me und 25 ml 0,1 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  nach Vorschrift<sup>33)</sup> hydrolysiert. Sie lieferten 399 mg Chf-lösl. Neutralteile (Präp. JB 4) als braunes Harz und ca. 100 mg rohen Zuckersirup. Letzterer wurde mit 1 ml An aufgenommen, mit 6 ml abs. Ae versetzt und die klare Lösung abgetrennt. Der unlösliche Teil wurde noch zweimal analog behandelt. Die vereinigten Filtrate lieferten beim Eindampfen 19 mg rohen Zucker. Er wurde im Molekularkolben bei 0,01 Torr bis 110° destilliert. Das Destillat (10 mg Präp. JB 5) gab im Pch 5 Flecke wie JB 54 in Fig. 4, entspr. Cymarose, Oleandrose, Digitoxose, Boivinose und einen nicht identifizierten Fleck, vermutlich einer Biosse entsprechend.

Die 399 mg Genin-Glykosid-Gemische zeigten im Pch 7 Flecke ( $\alpha$ , c,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\varepsilon$ ,  $\iota$ , sowie einen stationären).

Das Material wurde an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, gab aber keine Kristalle; es trat nur teilweise Trennung ein.

**2. Untersuchung des Chf-Extrakts (Präp. JB 2).** – Auch dieses Präparat war N-frei. RAYMOND- und LEGAL-Reaktionen: negativ. Zuckerprobe: positiv. KELLER-KILIANI-Reaktion: violett. LIEBERMANN-Reaktion: grünlich (nach 20 Min.). Im Pch (System von Fig. 2 und 9) zeigte es die Flecke l, N, o, q und einen stationären, der sich im System To-Bu-(1:4)/W in 2–3 Flecke auflösen liess.

2a. *Fermentativer Abbau von Präp. JB 2 mit Pilzamylase<sup>103)</sup><sup>104)</sup> (Vorversuch).* 1,05 g Chf-Extr. (JB 2) wurden in 5 ml Me gelöst, mit 60 ml W versetzt und im Vakuum auf 50 ml eingeengt. Dann wurden 2 g Pilzamylase<sup>103)</sup> zugegeben und geschüttelt, bis diese fast gelöst war. Nach Zusatz von 1 ml To wurde 92 Std. bei 37° unter gelegentlichem Umschütteln verschlossen stehen gelassen, wobei sich ein grauer, schleimiger Niederschlag ausschied. Dann wurde mit 250 ml abs. Alk versetzt, kurz aufgekocht und durch ein mit Kieselgur (Celite 535 mit Alk gewaschen) gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum auf 30 ml eingeengt, dann viermal mit je 40 ml Ae und siebenmal mit je 50 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Waschen,

<sup>97)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Trans. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

<sup>98)</sup> J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1292, Fussnote 2 (1944).

<sup>99)</sup> H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1955), und frühere Lit. daselbst.

<sup>100)</sup> Ausgeführt nach K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 98 (1952).

<sup>101)</sup> Ausgeführt nach A. STOLL, E. SUTER, W. KREIS, B. B. BUSSEMAKER & A. HOFMANN, Helv. 16, 703 (1933).

<sup>102)</sup> Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).

<sup>103)</sup> Präparat der SCHWEIZERISCHEN FERMENT AG. Basel aus *Aspergillus oryzae*, das reichlich  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glucosidasen enthält.

Trocknen und Eindampfen gab: 115 mg Ae-lösl. Anteile (Präp. JB 31) als gelbbraunes Harz und 570 mg Chf-Alk-(2:1)-lösl. Anteile (Präp. JB 8) als gelben Schaum. JB 31 zeigte im Pch nur die Flecke c und g. Präp. JB 8 gab bei der KELLER-KILIANI-Reaktion violettblaue Färbung und zeigte im Pch die Flecke k, l, M, N und q.

2b. *Milde saure Hydrolyse von Präp. JB 2 (Hauptversuch).* 12,7 g Präp. JB 2 wurden mit 450 ml Me und 450 ml 0,1N  $H_2SO_4$  25 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen der trüben Emulsion wurde das Me im Vakuum bei 35° abdestilliert und der Rückstand 30 Min. auf 60° erwärmt. Dann wurde abgekühlt und siebenmal mit je 450 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt<sup>105)</sup>. Waschen, Trocknen und Eindampfen im Vakuum gab 6,25 g Präp. JB 6.

Die saure wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden vereinigt, im Vakuum von Chf-Resten befreit und durch eine frisch bereitete und gut gewaschene Säule mit Anionen-Austauscher (30 g Amberlite IR-4 B in HO<sup>-</sup>-Form) filtriert. Das neutrale Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand 3 mal mit je 30 ml An bei 20° ausgezogen. Diese Auszüge lieferten nach Eindampfen im Vakuum 260 mg Präp. JB 29. Der in An unlösliche Rückstand wurde mit 80 ml Me ausgekocht; die unlöslichen Anteile wurden noch zweimal mit je 5 ml Me gleich behandelt. Der in Me unlösliche Rest zeigte kein Reduktionsvermögen mehr (verworfen). Die Me-Lösungen gaben nach Eindampfen im Vakuum 3,5 g Präp. JB 7 als hellgelben Schaum. – Eine gleiche Hydrolyse mit 2 g Präp. JB 2 gab noch 1,05 g Präp. JB 6, 26 mg Präp. JB 29 und 374 mg Präp. JB 7. Untersuchung der wasserlöslichen Teile (Zucker) siehe unten.

2b 1. *Untersuchung der Zucker.* – 2b 11. *Untersuchung von Präp. JB 29 (acetonlös. Zucker).* Die KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>102)</sup> war positiv. Die 26 mg Präp. JB 29 aus Vorversuch wurden in 0,5 ml An gelöst, mit 2 ml abs. Ae versetzt und 30 Min. bei 20° stehengelassen. Die klare Lösung lieferte 10 mg Material. Diese gaben bei der Destillation im Molekulkolben bei 0,01 Torr bis 100° 4 mg farbloses Destillat (= Präp. JB 54). Dieses gab im Pch (Fig. 4 u. 5) 5 Flecken entspr. Cymarose, Oleandrose, Digitoxose, Boivinose und einem unbekannten Zucker (vermutlich Birose). Die in An-Ae unlöslichen Teile sowie der Destillationsrückstand zeigten mit 0,05 mg bei der Tüpfelprobe gegenüber Anilinhydrogenphtalat und alkalischer Silberdiammin-lösung kein Reduktionsvermögen.

2b 12. *Untersuchung von Präp. JB 7 (acetonunlösliche Zucker).* Farbreaktionen und Pch vgl. Theoret. Teil. Es wurde nur die in Fig. 6 dargestellte Trennung von 2 mg durchgeführt.

2b 121. *Erste Nachhydrolyse von Präp. JB 7.* 30 mg Präp. JB 7 wurden in 0,5 ml Alk, 1,5 ml W und 2 ml 2N  $H_2SO_4$  1 Std. auf 90° erhitzt, wobei ein Niederschlag ausfiel. Nach Erkalten wurde 4 mal mit je 5 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Waschen, Trocknen und Eindampfen gab 10 mg Präp. JB 47 (gab im Pch, System wie Fig. 7 drei Flecke entspr. T, c und stat.). Die saure wässrige Lösung wurde im Vakuum von Alk und Chf-Resten befreit, mit frisch gefälltem  $BaCO_3$  heiss neutralisiert, zentrifugiert und die klare Lösung im Vakuum eingedampft. Der bei 0,01 Torr getrocknete rohe Rückstand wurde 2 mal mit wenig Me ausgekocht und die klare Lösung eingedampft. Der Rückstand (= Präp. JB 48) wog 18 mg und gab im Pch 3 Flecke entspr. Glucose, A und B (vgl. Fig. 3).

2b 1211. *Zweite Nachhydrolyse.* Die 18 mg Präp. JB 48 wurden in 1 ml 2N  $H_2SO_4$  3 Std. auf 95–100° erhitzt. Die Aufarbeitung wie oben gab nur 1 mg mit Chf-Alk-(2:1) ausschüttelbare Anteile = Präp. JB 49 (gab im System von Fig. 7 Fleck T und stat.) und 16 mg Zuckersirup = Präp. JB 50. Letzterer zeigte im Pch (vgl. Fig. 3) nur noch zwei Flecke mit Laufstrecken wie Digitalose (schwach) und Glucose (stark).

2b 122. *Acetylierung von Präp. JB 7 und Trennung der Acetylervariate.* – a) *Mit Py-Ac<sub>2</sub>O.* 370 mg Präp. JB 7 wurden in 10 ml abs. Py und 8 ml Ac<sub>2</sub>O bei 50° aufgenommen und die trübe Lösung unter gelegentlichem Umschütteln 3 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) (Waschen auch mit verd. HCl) gab 326 mg neutrales Rohprodukt, das an 9,6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde (je 32 ml Lösungsmittel pro Fraktion).

Die Fr. 1–7 (eluiert mit Pe-Be) gaben nur 3 mg amorphes Material.

Die Fr. 8–10 (9 mg, eluiert mit Be) gaben aus Ae-Pn 6 mg krist. JB 24, Smp. 173–175°.

Die Fr. 11–15 (5 mg, eluiert mit Be-Chf-(99:1)) blieben amorph.

<sup>104)</sup> A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 687 (1952).

<sup>105)</sup> Mit diesem Gemisch werden offenbar auch kleine Mengen Cymarose ausgeschüttelt.

Die Fr. 16–21 (total 178 mg, eluiert mit Be-Chf von 10–20% Chf-Gehalt) gaben aus Ae oder Ae-Me total 74 mg Kristallgemische ähnlicher Zusammensetzung wie bei folgendem Versuch. Sie wurden nicht getrennt.

Die Fr. 22–46 (eluiert mit Be-Chf-(3:2) bis Chf-Me-(1:1)) gaben nur 98 mg amorphes Material.

b) *Mit  $Ac_2O + Na\text{-Acetat}$ .* 1,9 g Präp. JB 7 wurden mit 100 ml  $Ac_2O$  und 10 g wasserfreiem Na-Acetat  $2\frac{1}{2}$  Std. auf 100° erhitzt. Ein kleiner Teil blieb ungelöst. Nach Erkalten wurde in 1000 ml W eingegossen und 16 Std. bei –8° stehengelassen. Ausschütteln mit Chf-Ae-(1:3), Waschen usw. wie oben gab 2,6 g neutrales Rohprodukt, das an 78 g Silicagel chromatographiert wurde (je 260 ml pro Fraktion).

Fr. 1–6 (6 mg eluiert mit Pe-Be und reinem Be) blieben amorph.

Fr. 7 (67 mg, eluiert mit Be) gab aus Ac 20 mg krist. Präp. JB 24, Smp. 173–175°.

Fr. 8 (142 mg, eluiert mit Be-Ae-(3:2)) blieb amorph.

Fr. 9 (239 mg, eluiert mit Be-Ae-(3:2)) gab aus Ac 150 mg Kristallgemisch, Smp. 140–195°. Zusammen mit Kristallen aus Fr. 11 getrennt.

Fr. 10 (196 mg, eluiert mit Be-Ae(3:2)) gab aus Ae 102 mg Kristalle, Smp. 140–194°. Nach fraktionierter Kristallisation aus Me und An-Ae-Pn wurden die 3 folgenden Kristallivate erhalten, von denen *a* und *b* vermutlich reine oder nahezu reine Stoffe waren.

a) 3 mg *Präp. JB 28* in farblosen kleinen verfilzten Nadeln, Smp. 193–194° (aus An-Pn ebenso),  $[\alpha]_D^{28} = -2,1^\circ \pm 5^\circ$  ( $c = 0,226$  in Chf). Synthetische  $\beta$ -Octa-O-acetyl-gentibiose<sup>47</sup>) und die Mischprobe schmolzen gleich.

b) 14 mg *Präp. JB 26* in Form schmaler zu Büscheln vereinigter Lamellen, Smp. 208–213° (aus An-Ae-Pe, Smp. 208–210°). Vgl. Tab. 2. Synth.  $\beta$ -Hepta-O-acetylprimverose<sup>48</sup>) kristallisierte in kurzen Prismen, Smp. 215–217°, Misch-Smp. 194–200°.

c) 6 mg farblose Nadeln, mit Doppel-Smp. 154–158°/184–192° (aus An-Ae-Pe) vermutl. Gemisch.

Die Fr. 11 (253 mg, eluiert mit Be-Ae-(3:2)) gab aus Ae 103 mg Kristallgemisch, Smp. 130–195°. Es wurde mit den 150 mg Kristallen aus Fr. 9 vereinigt und das Ganze (253 mg) an 25 g  $SiO_2$  chromatographiert (je 25 ml pro Fraktion). Die ersten mit Be bis Be-Ac-(7:3) eluierten Anteile (15 mg) blieben amorph. Die mit Be-Ae-(7:3) eluierten Anteile (121 mg) gaben aus Spur An mit Ae-Pn Kristallgemische (Nadeln u. Würfel), aus denen sich schliesslich 3 mg reines Präp. JB 26 (Nadeln) Smp. 208–213° abtrennen liessen. Die mit Chf eluierten Anteile (32 mg) blieben amorph. Die mit Chf-Me-(9:1) eluierten Anteile (91 mg) gaben aus An-Ae-Pn 25 mg reines Präp. JB 25 in farblosen Blättchen, Smp. 147–151°, vgl. Tab. 2. Die letzten mit Chf-Me-(9:1) eluierten Anteile (5 mg) blieben amorph.

Die Fraktion 12 (385 mg, eluiert mit Be-Ae-(3:2)) gab aus Ae 296 mg ähnliches Kristallgemisch, Smp. 145–195°, das nicht getrennt wurde.

Die Fraktionen 13–15 (633 mg, eluiert mit Be-Ae-(3:2)) gaben aus Ae 305 mg Kristallgemisch, Smp. 135–195°. Es wurde nochmals an 9 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Chf eluierten Anteile (66 mg) gaben aus An-Ae-Pe 15 mg Präp. JB 27 in feinen Nadeln, Smp. 161–162° vgl. Tab. 2. Weitere mit Chf eluierte Anteile (41 mg) blieben amorph. Die letzten, mit reinem Chf eluierten Anteile (16 mg) gaben aus An-Pn 4 mg Körner, Smp. 130–134°. Die Mischprobe mit  $\beta$ -Pentacetylglucose schmolz bereits bei 105–108°.

2b 2. *Untersuchung des Genin-Glykosid-Gemisches Präp. JB 6.* Präp. JB 6 zeigte im Pch 16 Flecke (a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p und q). Die KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>102</sup>) war positiv (blau), Tüpfelprobe mit  $SbCl_3$  auf Papier braunviolett, im UV. rotorange.

2b 21. *Alkalische Hydrolyse (Vorversuch).* 140 mg Präp. JB 6 wurden mit 4 ml 5-proz. KOH in 90-proz. Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 3 ml W versetzt, das Me im Vakuum entfernt und die alkalische Lösung 4 mal mit je 12 ml Chf ausgeschüttelt. Waschen mit W, Trocknen und Eindampfen gab 70 mg neutrale Anteile = Präp. JB 32. Diese gaben im Pch ca. 9 Flecke (a/b (?), zwei mit Laufstrecken zwischen d und f, sowie g, i, k, l, m und n).

Die alkalische wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden mit  $H_3PO_4$  gegen Kongo angesäuert und 3 mal mit je 10 ml Ae ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über  $Na_2SO_4$  getrockneten Auszüge gaben bei vorsichtigem Eindampfen (maximal 50°) 23 mg rohe ätherlösliche Säure = Präp. JB 42 von schwachem Valeriansäuregeruch. Sie gaben im Pch drei Flecke (Nr. 1 in Fig. 10).

2b 22. *Chromatographie an  $Al_2O_3$  (Vorversuch)*. 1,0 g Präp. JB 6 wurden an 30 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Mit Be, Be-Chf und Chf-Me-(1:1) liessen sich total nur 420 mg cluieren. Weitere 440 mg (= Präp. JB 10) konnten erst mit Chf-Me-(1:1) unter Zusatz von 1-4% AcOH abgelöst werden. JB 10 war in Be-Chf-(2:3) fast unlöslich und gab im Pch die Flecke k, m, o und p, sowie rascher laufende. 380 mg davon wurden (zusammen mit 1,50 g JB 30) für Verteilung 2 verwendet.

2b 23. *Trennung mit Be-Chf-(2:3) (Hauptversuch)*. 6,25 g Präp. JB 6 wurden mit 100 ml Be-Chf-(2:3) versetzt und 5 Min. bei 22° energisch geschüttelt. Dann wurde absitzen gelassen, die klare Lösung abdekantiert und die unlöslichen Anteile noch zweimal gleich behandelt. Die zum Schluss abgenutzten und gewaschenen Teile gaben 2,58 g Präp. JB 14, die klaren Lösungen lieferten beim Eindampfen 3,68 g Präp. JB 12.

2b 231. *Trennung von Präp. JB 12*. Die 3,68 g Präp. JB 12 wurden an 185 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Über das Resultat orientiert Tab. 7.

Tab. 7. *Chromatographie von 3,68 g Präp. JB 12 an  $Al_2O_3$* 

Frak-tions-Nr.	Lösungsmittel 500 ml pro Fr.	Eindampfrückstand					Bezeich-nung bzw. weitere Verarb.	
		roh		Kristalle <sup>107)</sup>				
		Menge in mg	Flecke im Pch <sup>106)</sup>	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pch <sup>106)</sup>		
1- 5	Be bis Be-Chf-(95:5)	194	a, b	—	amorph			
6	Be-Chf-(95:5)	90	a, b	—	amorph			
7	Be-Chf-(95:5)	210	a, b	128	153-156°	b	JB 11	
8	Be-Chf-(95:5)	285	a, b, c	—				
9	Be-Chf-(95:5)	88	c, d	39	214-216°	c		
10-11	Be-Chf-(95:5)	81	c, d, e	22	214-216°	c	JB 9	
12	Be-Chf-(90:10)	30	c, d, e	3	212-215°	c		
13-22	Be-Chf-(90:10) bis (40:60)	984	c, d, e f, g	—	amorph		Zur Se- Dehy- drie- rung	
23	Be-Chf (40:60)	162	d, e, f g, h, i	3	228-238°	d, g		
24-26	Be-Chf-(40:60)	131		—	amorph			
27	400 ml «Gemisch» + 2% AcOH	1150	d, e, g, i + stat.	—	amorph		JB 13	

Die Fr. 6, die ML der Fr. 7-12 (428 mg) und 114 mg gleiches Material aus Vorversuch (total 632 mg) wurden nochmals an  $Al_2O_3$  chromatographiert und gaben noch 10 mg krist. Glykosid JB 11 sowie 18 mg krist. Genin JB 9.

Fr. 27 wurde in 40 ml Chf-Alk-(5:1) gelöst, mit 2N HCl, 2N Sodalösung und W gewaschen und über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Eindampfen im Vakuum gab 980 mg Präp. JB 13 (braunes Harz). Es gab im Pch (System von Fig. 8) 5 Flecke (d, e, g, i und stat.), war aschefrei, und enthielt nach Titration höchstens Spuren von Säuren. Es wurde acetyliert; das Reaktionsprodukt lieferte aber auch nach Chromatographie keine Kristalle.

2b 232. *Trennung von Präp. JB 14 (unlöslich in Be-Chf-(2:3))*. Präp. JB 14 war schwer löslich in Ae, Be, Chf und An, mässig löslich in W und gut löslich in Me. Es enthielt 1,8% Asche, die Prüfung auf gebundene Zucker<sup>24)</sup> war positiv, freie Säuren waren höchstens spurenweise vorhanden. Im Pch zeigte es die Flecke k, m, o, p und q.

Zur Vortrennung wurden die 2,58 g in 10 ml Me gelöst und mit 100 ml Ae versetzt, wodurch eine starke Fällung entstand. Lösen und Fällen wurde mit den löslichen Anteilen und den Fällungen nochmals wiederholt, bis nach Pch keine weitere Trennung mehr erfolgte. Erhalten wurden 1,65 g lösliche Anteile = Präp. JB 30 (gab im Pch die Flecke k, m, o und q) sowie 0,83 g unlösliche Anteile = Präp. JB 16 als farbloses Pulver, Smp. 215-220° (gab im Pch die Flecke m, p und k schwach).

<sup>106)</sup> Fr. 1-8 im System von Fig. 7. Fr. 6-24 im System von Fig. 8.

<sup>107)</sup> JB 11 aus Ae-Pe, die weiteren aus Ae.

2b 2321. *Trennung von Präp. JB 30, Verteilung 1.* 1,50 g Präp. JB 30 wurden mit 0,38 g Präp. JB 10 (siehe bei 2b 12) vereinigt und in Säule Nr. 1,5<sup>99)</sup><sup>108)</sup>, die mit 300 g Cellulose-W-(2:1) (Gewichtsteile) beschickt war, in 136 Fraktionen aufgetrennt. Zum Eluieren dienten die folgenden (zu 90% mit W gesättigten) Lösungsmittel: Für Fr. 1–80 Be-Bu-(1:1); für Fr. 81–100 Be-Bu-(1:2); für Fr. 101–136 Bu. Durchlaufgeschwindigkeit 12 ml pro Std. Die Fr. 1–50 wurden jede Std. abgenommen, die Fr. 51–100 jede zweite Std. und die Fr. 101–136 jede 5. Std. Alle Fr. erwiesen sich nach Pch als Gemische. Jede Fr. wurde einzeln mit Me und Me-Ae zur Kristallisation angesetzt, aber nur aus den Fr. 31–38 (zusammen 203 mg) ließen sich aus Me-Ae 30 mg Glykosid JB 15 in Prismen, Smp. 230–234° gewinnen.

2b 2322. *Trennung von Präp. JB 16, Verteilung 2.* 540 mg Präp. JB 16 wurden in Säule Nr. 1<sup>99)</sup> an 200 g Kieselgur-W-(1:1) (Gewichtsteile) in 42 Fraktionen aufgetrennt. Zum Eluieren diente Be-Bu-(3:1) zu 90% mit W gesättigt. Durchlaufgeschwindigkeit 5 ml pro Std. Fr. 1–20 wurden jede 2. Std. (je 10 ml), Fr. 21–42 jede 4. Std. (je 20 ml) abgenommen.

Die Fr. 1–10 gaben total nur 4 mg Material, amorph, nach Pch k und m.

Die Fr. 11–15 (452 mg) gaben aus Me-Ac 120 mg krist. Glykosid JB 15 vom Smp. 234–236°.

Die Fr. 16–21 lieferten 19 mg Rohprodukte, die nicht kristallisierten und nach Pch m und p enthielten.

Die Fr. 22–26 (38 mg) gaben aus Me 6 krist. Glykosid JB 20, Smp. 260–266°.

Die Fr. 27–42 gaben noch 12 mg amorphes Material.

### Beschreibung der isolierten Stoffe

**Genin JB 9.** – Aus Ae kurze farblose Prismen, Smp. 214–216° nach Umwandlung zu dünneren Stäbchen bei ca. 190°.  $[\alpha]_D^{20} = -35,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,92$  in Chf). Gewichtsverlust bei Trocknung (3 Std. 100°, 0,01 Torr über  $P_2O_5$ , teilweise sublimiert) 4,1%.

$C_{28}H_{40}O_3$ (424,60)	Ber. C 79,20	H 9,49	O 11,31%
$C_{35}H_{50}O_4$ (534,75)	„ „ 78,61	„ 9,43	„ 11,96%
$C_{36}H_{52}O_4$ (548,78)	„ „ 78,79	„ 9,55	„ 11,66%
	Gef. „ 78,21; 78,86	„ 9,43; 9,58	„ 11,60%

Der Stoff zeigte schwaches Reduktionsvermögen gegenüber «Blautetrazolium»<sup>76)</sup> (Tüpfelprobe auf Papier schwach violettblau). Weitere Reaktionen vgl. Tab. 4, UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 12 und 14.

*Alkalische Verseifung von Genin JB 9.* 10 mg wurden mit 1 ml 5-proz. KOH in 90-proz. Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung (wie bei 2b 21) gab 9,5 mg rohes Neutralprodukt = JB 34 und 0,4 mg ätherlösliche Säure = JB 44. Das erstere kristallisierte in Blättchen, Smp. roh 100–110°, und gab im Pch zwei Flecke (c und u). JB 44 gab im Pch (Nr. 4 in Fig. 10) nur einen Fleck entspr.  $\beta,\beta$ -Dimethylacrylsäure (od. Tiglinsäure).

*O-Acetyl-JB 9 = JB 24.* 8 mg Genin JB 9 wurden in 0,3 ml abs. Py und 0,2 ml  $Ac_2O$  50 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab 8 mg neutrales Rohprodukt. Nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  aus Ae 4 mg Nadeln, Smp. 173–175°. Nach Mischprobe, Pch und IR.-Spektrum (Fig. 17) identisch mit Präp. JB 24, vgl. 2b 22. Letzteres gab aus Ae lange farblose Spiesse, bei rascher Kristallisation aus Ae-Pn zu Rosetten vereinigte Nadeln, Smp. 173–175°,  $[\alpha]_D^{22} = -37,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,27$  in Chf). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung.

$C_{30}H_{42}O_4$ (466,63)	Ber. C 77,21	H 9,07	O 13,72%
$C_{32}H_{46}O_4$ (494,69)	„ „ 77,69	„ 9,37	„ 12,94%
$C_{37}H_{52}O_5$ (576,79)	„ „ 77,04	„ 9,09	„ 13,87%
$C_{38}H_{54}O_5$ (590,81)	„ „ 77,25	„ 9,21	„ 13,54%
	Gef. „ 77,48	„ 9,15	„ 16,35 <sup>109)</sup> -OCH <sub>3</sub> 3,74% <sup>110)</sup>

Der Stoff zeigte gegenüber «Blautetrazolium»<sup>76)</sup> kein Reduktionsvermögen, auch nicht gegenüber Anilinhydrogenphtalat beim Erhitzen<sup>41)</sup>.

<sup>108)</sup> Länge 750 mm, Durchmesser 35 mm.

<sup>109)</sup> Für die O-Bestimmung nach UNTERZAUCHER waren nur 0,84 mg verfügbar, sie wurde lediglich statt anderen Prüfungen auf fremde Elemente ausgeführt.

<sup>110)</sup> Dieses Resultat ist unsicher, vermutlich ist JB 24 methoxylfrei.

*Verseifung von JB 24 mit Na-Methylat.* 8 mg JB 24 (aus ML) wurden getrocknet, in 1 ml abs. Me gelöst, bei 20° mit 0,1 ml frisch bereiteter 1N Na-Methylat-Lösung versetzt und 5 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde die noch leicht alkalische Lösung mit 1 ml 0,1N HCl versetzt und im Vakuum bei 30° eingedampft. Der Rückstand wurde mit 0,5 ml Me ausgezogen. Die filtrierte Lösung hinterliess beim Eindampfen 8 mg Rückstand. Im Pch gab er nur den c-Fleck.

**Glykosid JB 11.** – Aus Ae-Pn farblose Nadeln, Smp. 153–156°,  $[\alpha]_D^{23} = +34,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,223$  in Chf). Die Substanz sublimierte bei 100° und 0,01 Torr bereits merklich.

$C_{11}H_{18}O_5$ (230,25)	Ber. C 57,38	H 7,88%	Gef. C 57,44	H 7,85%
$C_{25}H_{42}O_{12}$ (546,56)	„ „ 57,12	„ 7,74%		

Der Stoff zeigte gegen «Blautetrazolium» kein Reduktionsvermögen. Übrige Reaktionen vgl. Tab. 4. UV.- und IR.-Spektrum siehe Fig. 12 und 15.

*Alkalische Verseifung von JB 11.* – a) Bei 22°. 11,5 mg Glykosid JB 11 wurden mit 1 ml 4-proz. KOH in 70-proz. Me 29 Std. bei 22° stehengelassen. Die Aufarbeitung wie bei gleicher Reaktion mit Präp. JB 6 (vgl. 2b 21) gab 7,5 mg amorphes Neutralprodukt (diente zur heißen Verseifung, vgl. b) und 1,4 mg ätherlösliche Säuren mit schwachem Valeriansäuregeruch = Präp. JB 43. Letztere gaben im Pch (Nr. 2 in Fig. 10) vier Flecke. Die  $H_3PO_4$ -saure wässrige Phase wurde mit der analogen Lösung von Versuch b vereinigt.

b) *Heiss.* Die 7,5 mg Neutralprodukt von Versuch a) wurden mit 1 ml 5-proz. KOH in 90-proz. Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung wie oben gab 3 mg Neutralprodukt = JB 33 sowie 0,2 mg ätherlösliche, geruchlose Säuren = JB 53. Das Neutralprodukt JB 33 zeigte im Pch drei Flecke mit Laufstrecke wie w, b und i (letzterer aber rotviolett). Die Säuren JB 53 gaben im Pch (Nr. 3 in Fig. 10) noch drei Flecke (von diesen war der Angelicasäure-Fleck sehr schwach).

Die mit Ae ausgeschüttelten sauren wässrigen Phasen der Versuche a) und b) wurden vereinigt, mit 2N NaOH gerade alkalisch gemacht und im Vakuum auf 4 ml eingeengt. Dann wurde mit  $H_3PO_4$  wieder bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit 2 ml W versetzt. Im Vakuum bei 80 Torr wurden 5 ml abdestilliert, die bei der Titration 2 ml 0,01N NaOH entspr. 1,2 mg Essigsäure verbrauchten.

**Glykosid JB 15.** – Aus Me-Ae farblose kurze Prismen, Smp. 234–236°,  $[\alpha]_D^{25} = -23,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,13$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 4,8%.

$C_{45}H_{70}O_{18}$ (899,01) <sup>111)</sup>	Ber. C 60,12	H 7,85	O 32,03%
$C_{46}H_{74}O_{18}$ (915,05)	„ „ 60,38	„ 8,15	„ 31,47%
$C_{58}H_{88}O_{23}$ (1153,28) <sup>112)</sup>	„ „ 60,40	„ 7,69	„ 31,91%
	Gef. „ 60,25	„ 8,22	„ 32,52%

Der Stoff war methoxylfrei. Die Reduktionsprobe auf Papier mit «Blautetrazolium»<sup>76)</sup> war positiv (violettblau). Weitere Reaktionen vgl. Tab. 4. UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 12 und 16. Eine Lösung von 0,1 g JB 15 in 100 ml 0,75-proz. wässriger NaCl-Lösung gab mit Hammel-Erythrocyten nach 8 Std. bei 22° keine Hämolyse. Die saure Hydrolyse wird weiter unten beschrieben.

*Alkalische Verseifung von JB 15.* 10 mg Glykosid wurden mit 1 ml 5-proz. KOH in 90-proz. Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Aufarbeitung wie bei 2b 21 gab 6 mg Neutralprodukt = JB 35, das im Pch dieselben zwei Flecke (c und u) gab wie das Verseifungsprodukt aus JB 9. Bei diesem Versuch wurden keine ätherlöslichen Säuren gefunden.

**Glykosid JB 20.** – Aus Me farblose Rhomboeder, Smp. 260–266°,  $[\alpha]_D^{26} = -35,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,68$  in Me). Es konnte keine Analyse ausgeführt werden. Farbreaktionen vgl. Tab. 4. KELLER-KILIANI-Reaktion: negativ (hellgelb).

**Subst. JB 25.** – Aus An-Ae-Pn schmale farblose Blättchen, Smp. 147–151°,  $[\alpha]_D^{22} = -20,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,04$  in Chf). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung.

$C_{37}H_{54}O_{18}$ (786,80)	Ber. C 56,48	H 6,92	O 36,60%
	Gef. „ 56,48	„ 6,91	„ 36,44% <sup>45)</sup>

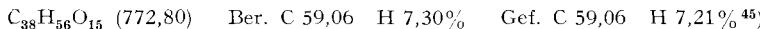
<sup>111)</sup> Triglykosid (2 Mol. Glucose u. 1 Mol. Pentose) von  $C_{28}H_{46}O_8 + H_2O$ .

<sup>112)</sup> Tetraglykosid (3 Mol. Glucose u. 1 Mol. Pentose) von  $C_{35}H_{56}O_4$ .

Der Stoff war methoxylfrei. Die Xanthydrolprobe<sup>37)</sup> sowie die p-Nitrophenylhydrazinprobe nach WEBB & LEVY<sup>113)</sup> waren negativ.

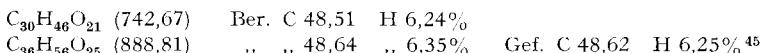
*Verseifung von JB 25 mit Na-Methylat.* 6 mg JB 25 (aus ML) wurde gut getrocknet in 1 ml Me mit 0,1 ml 1N Na-Methylat-Lösung versetzt und 5 Std. bei 20° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei gleicher Reaktion mit JB 24 gab ca. 4 mg Rohprodukt. Xanthydrolprobe<sup>37)</sup>: negativ. Es gab im Pch (vgl. Fig. 3) den A-Fleck.

**Subst. JB 26.** – Aus Me schmale farblose zu Büscheln vereinigte Lamellen, Smp. 208–213°, aus An-Ae-Pe dünne Stäbchen, Smp. 208–210°,  $[\alpha]_D^{23} = -23,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,18$  in Chf). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung. Die p-Nitrophenylhydrazinprobe nach WEBB & LEVY<sup>113)</sup> war negativ.



*Verseifung von JB 26 mit Na-Methylat*, mit 6 mg Material aus ML ausgeführt wie oben, gab ca. 4 mg Rohprodukt. Dieses gab im Pch (vgl. Fig. 3) den B-Fleck. Xanthydrolprobe<sup>37)</sup>: negativ.

**Subst. JB 27.** – Aus An-Ae-Pn feine, zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 161–162°  $[\alpha]_D^{22} = +19,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,207$  in Chf). Kein Gewichtsverlust bei Trocknung. Methoxylfrei.



*Verseifung von JB 27 mit Na-Methylat.* Ca. 6 mg JB 27 aus ML wurden wie oben behandelt und gaben ca. 4 mg Rohprodukt. Dieses zeigte im Pch (vgl. Fig. 3) den A-Fleck. Xanthydrolprobe<sup>37)</sup>: negativ.

**Energische saure Hydrolyse von Glykosid JB 15.** – 50 mg krist. JB 15 sowie 330 mg ML dieser Kristalle, die im Pch auch nur den m-Fleck gaben, wurden mit 10 ml «KILIANI»-Mischung<sup>78)</sup> 30 Min. auf 100° erhitzt. Nach Erkalten wurde 5 mal mit je 10 ml Chf ausgeschüttelt. Waschen, Trocknen und Eindampfen dieser Auszüge gab 190 mg Aglykongemisch = Präp. JB 19. Die saure wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum von Chf-Resten befreit, dann wurde mit frisch gefälltem  $Ag_2CO_3$  geschüttelt, bis eine Probe frei von  $Cl^-$ -Ionen war. Es wurde filtriert, das klare Filtrat bei 0° ca. 3 Min. mit  $H_2S$  behandelt und durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das klare, von  $Ag^+$  und  $Cl^-$  freie Filtrat wurde im Vakuum eingedampft. Der verblichene Sirup wurde in wenig Me gelöst und die filtrierte Lösung eingedampft. Der Rückstand wurde bei 0,01 Torr und 30° getrocknet. Es verblieben 190 mg farbloser Zuckersirup = Präp. JB 39.

*Prüfung von Präp. JB 19.* Dieses Material zeigte im Pch 7 Flecke (T, V, a, c, δ, i und einen stationären). Eine Probe (16 mg) wurde mit 1,5 ml 5-proz. KOH in 90-proz. Me 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung wie bei 2b 21 gab 14 mg neutrale Anteile = Präp. JB 36; dieses zeigte im Pch nur noch stärker polare Flecke (T, V und a waren verschwunden). Es wurden keine merklichen Mengen von ätherlöslichen Säuren erhalten.

*Trennung des Zuckersirups JB 39.* Dieses Material zeigte im Pch (Nr. 4 in Fig. 3) drei Flecke (entspr. Xylose, Glucose und vermutlich Biose). Es wurde durch Verteilungschromatographie in Säule Nr. 1<sup>99</sup>), die mit 100 g Cellulosepulver-W-(2:1) (Gewichtsteile) gefüllt war (Füllhöhe 49 cm), getrennt. Als bewegliche Phase diente Bu-Alk-W-Py-(45:5:49:1)<sup>114</sup>). Durchflussgeschwindigkeit ca. 10 ml pro Std. Die Fr. 1–45 wurden alle 4 Std., die späteren alle 20 Std. entnommen<sup>115</sup>). Alle wurden im Pch geprüft.

Die Fr. 1–10 (400 ml) gaben 10 mg Rückstand, Reduktionsprobe negativ, verworfen.

Die Fr. 11–16 (240 ml) gaben 5,5 mg Rückstand, nach Pch reine Pentose.

Die Fr. 17–19 (120 ml) gaben 42 mg Rückstand, nach Pch Gemisch von Pentose + Glucose.

Die Fr. 20–45 (1040 ml) gaben 110 mg Rückstand, nach Pch reine Glucose. Nach Reinigung mit einer Spur Kohle aus Me-An (Impfen) nach 4 Tagen bei 4° 46 mg krist. D-Glucose, Smp. 143–

<sup>113)</sup> J. M. WEBB & H. B. LEVY, J. biol. Chemistry 213, 107 (1955); Ausführungsform nach W. NAGATA, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 41 (1957).

<sup>114)</sup> S. M. PARTRIDGE, Biochem. J. 42, 238 (1948). Es wurde Py anstelle von Ammoniak verwendet.

<sup>115)</sup> Die Trennung war etwas weniger gut als erwartet, vermutlich weil die Temperatur nicht konstant gehalten werden konnte. Sie betrug am Anfang 16°, sank nach 3 Tagen auf 8° und stieg nach 8 Tagen langsam auf 12°.

145°,  $[\alpha]_D^{22} = +77,7^\circ$  (nach 10 Min.)  $\rightarrow +51,3^\circ$  (nach 19 Std.,  $c = 1,5$  in W). Die Mischprobe schmolz gleich. Eine Probe (40 mg) der Kristalle wurden mit 2 ml 1-proz. HCl in Me 24 Std. gekocht. Neutralisation mit  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  und Eindampfen gab 50 mg Neutralprodukt. Aus Me-Ae 25 mg farblose Kristalle, Smp. 165–166°. Authentisches  $\alpha$ -Methyl-D-glucosid und die Mischprobe schmolzen gleich.

Die Fr. 46–47 (400 ml) gaben nur 1 mg Rückstand (verworfen).

Die Fr. 48–57 (2000 ml) gaben 26 mg Rückstand, nach Pch reine Biose. Der Sirup zeigte nach 6ständigem Trocknen bei 70° und 0,01 Torr  $[\alpha]_D^{24} = +10,8^\circ \pm 5^\circ$  ( $c = 0,93$  in W). Die KELLER-KILIANI-Reaktion und die Xanthydrolyprobe waren negativ.

Die Fr. 11–19 wurden vereinigt (47 mg) in 2 ml Leitungswasser gelöst, mit 2 ml 5-proz. Hefebouillon (5 g Bäckerhefe mit 100 ml Leitungswasser 5 Min. gekocht, dann filtriert) vermischt, aufgekocht, auf 20° abgekühlt, mit 2 ml 20-proz. Suspension von Bäckerhefe in Leitungswasser versetzt und verschlossen unter gelegentlichem Umschwenken bei 21° stehengelassen. Die Gärung war nach 12 Std. beendet. Die  $\text{CO}_2$ -Entwicklung (8,5 ml  $\text{CO}_2$  über W aufgefangen) entsprach ca. 31 mg D-Glucose. Es wurde aufgekocht, mit wenig gewaschener Kohle versetzt und filtriert. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der trockene Rückstand mehrmals mit Me ausgekocht. Eindampfen gab 25 mg Rückstand. Er wurde mit wenig Me verflüssigt und mit abs. Alk versetzt. Die filtrierte Lösung gab beim Eindampfen 15 mg blassgelben Zuckersirup. Er gab im Pch nur einen Fleck entspr. Xylose. Aufnehmen in W, Behandlung mit Spur gewaschener Tierkohle, Filtration u. Eindampfen gab einen farblosen Sirup,  $[\alpha]_D^{24} = +7,5^\circ \pm 10^\circ$  ( $c = 0,8$  in W)<sup>116</sup>). Überführung ins  $\beta$ -Naphthylhydrazon in üblicher Weise<sup>117</sup>) gab ein Derivat, das nach Impfen mit dem krist.  $\beta$ -Naphthylhydrazon von D-Xylose nicht kristallisierte.

**Energische saure Hydrolyse von Präp. JB 30.** – 148 mg wurden mit 4,5 ml KILIANI-Mischung<sup>78</sup>) 50 Min. auf 100° erhitzt. 10 Min. nach Beginn des Erwärmens begann sich aus der klaren braunen Lösung ein harziger Niederschlag abzuscheiden. Die Aufarbeitung wie bei Hydrolyse von JB 15 (siehe oben) gab 80 mg rohes Gelingemisch = Präp. JB 17 und 62 mg Zuckersirup = JB 37. Letzterer gab aus wenig Me mit Spur An nach Impfen und 6-tägigem Stehen bei 0° 10 mg krist. D-Glucose, Smp. 134–142° (Mischprobe, Pch, Überführung in krist.  $\alpha$ -Methyl-D-glucosid). Die ML zeigte im Pch (vgl. Fig. 3) vier Flecke entspr. Digitalose, Xylose, Glucose und der vermutl. Biose.

**Trennung von Präp. JB 17.** Dieses Material (dunkelbraunes Harz) gab im Pch mindestens 9 Flecke (S, T, U, V, a, c,  $\delta$ , y und einen langen, teilweise stationären Fleck). Es wurde an 2,4 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, über das Resultat orientiert Tab. 8.

Tab. 8. Chromatographie von 80 mg Präp. JB 17 an  $\text{Al}_2\text{O}_3$

Frak-tions-Nr.	Lösungsmittel je 8 ml pro Fr.	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		
		Menge in mg	Flecke im Pch <sup>118</sup> )	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pch <sup>118</sup> )
1	Pe-Be-(1:2)	14	S, T	4	136–143°	T
2–3	Pe-Be-(1:2)	13	S, T, U, V, a	–	amorph	
4	Pe-Be-(1:2)	2	V, a	0,5	160–166°	V, (a)
5–6	Pe-Be-(1:2)	3	V, a	–	amorph	
7–10	Be	9,5	a, c	–	amorph	
11	Be-Chf-(9:1)	14	a, c	3	208–211°	c
12–18	Be-Chf-(9:1) bis Chf	9,3	a, c, $\delta$	–	amorph	
19–23	Chf-Me-(1:1)	3,7	a, c, y u. stat.	–	amorph	

<sup>116</sup>) Die Lösung opaleszierte etwas.

<sup>117</sup>) A. W. VAN DER HAAR, Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren, Berlin 1920, p. 174.

<sup>118</sup>) Fr. 1–11 in System von Fig. 7, Fr. 9–23 in System von Fig. 8.

Die Kristalle aus Fr. 11 waren auch nach Mischprobe identisch mit Genin JB 9.

**Energische saure Hydrolyse von Präp. JB 16 (vgl. Tab. 3).** – 190 mg Präp. JB 16, mit 6 ml KILIANI-Mischung<sup>78)</sup> wie oben hydrolysiert, gaben 90 mg Chf-lösliche Anteile = JB 18 und 110 mg farblosen Zuckersirup = JB 38. Letzterer lieferte aus Me + Spur An wie oben 32 mg krist. D-Glucose (Mischprobe, Pch, Überführung in krist.  $\alpha$ -Methyl-D-glucosid). Die ML gab im Pch wieder 4 Flecke entspr. Digitalose, Xylose, Glucose und der vermutl. Biosse.

Das Aglykongemisch JB 18 (hellbraunes Harz) war zuckerfrei und gab im Pch sieben Flecke (T, V, a, c,  $\delta$ , i und einen stationären Fleck). Die 90 mg wurden an 3 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, worauf sich die folgenden drei Kristallisate isolieren liessen: 0,3 mg Smp. 120–124° (T + V); 5,5 mg Smp. 160–168° (V); 7 mg Smp. 205–208° (c),  $[\alpha]_D^{25} = -37,5^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,412$  in Chf) auch nach Mischprobe identisch mit Genin JB 9.

**Selendehydrierung von JB 41.** – Die Fr. 13–26 von Tab. 7 (1277 mg) wurden mit 275 mg analogem Material aus Vorversuch vereinigt und das Ganze (1,55 g) mit 40 ml KILIANI-Mischung<sup>78)</sup> 30 Min. auf 100° erhitzt. Aufarbeitung wie oben gab 865 mg Chf-lösliches Material = JB 55 (braunes Harz). Es wurde in Chf gelöst und zur Reinigung durch 20 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  filtriert und mit Chf nachgewaschen. Das eingedampfte Filtrat = 762 mg Präp. JB 40 gab im Pch 4–5 Flecke (T, c, zwei langsam laufende, dabei evtl. i, sowie einen stationären Fleck). Es wurde in 2 Portionen mit  $\text{NaBH}_4$  reduziert. Im Hauptversuch wurden 632 mg JB 40 in 20 ml Me heiss gelöst und nach Erkalten mit 150 mg  $\text{NaBH}_4$  in 12 ml Me versetzt und 24 Std. bei 22° stehengelassen. Dann wurde mit AcOH auf Lackmus neutralisiert und im Vakuum bei 30° eingedampft. Der Rückstand wurde mit 40 ml W versetzt und je 5mal mit je 40 ml Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Diese mit wenig HCl, Soda in 15-proz.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung und 15-proz.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen 645 mg braunes Neutralprodukt = JB 41, das nach Tüpfeltest auf Curcumapapier<sup>119)</sup> frei von Bor war. Aus analogem Vorversuch mit 124 mg JB 40 resultierten noch 105 mg. Totalausbeute 750 mg JB 41. Es gab im Pch vier Flecke (T, W, t und einen stationären).

740 mg Präp. JB 41 wurden mit 2 g pulverisiertem Selen (schwarze Modifikation) im Vakuum im Bombenrohr eingeschmolzen, innerhalb 3 Std. auf 346° erhitzt und anschliessend noch 32 Std. bei 338–348° gehalten<sup>120)</sup>. Nach Abkühlen wurde geöffnet und 10 Min. bei 13 Torr und 40° Badtemp. geschüttelt, wobei die entweichenden leicht flüchtigen Anteile bei –80° kondensiert wurden. Dieses Kondensat roch nach niederen Fettsäuren und gab im Pch (Nr. 5 in Fig. 10) zwei Flecke mit Laufstrecken wie Essigsäure und Isovaleriansäure. Der verbliebene Rohrinhalt wurde nochmals mit Ae ausgckocht, bis das zusammengeschmolzene Se sich herausklopfen liess. Dieses wurde pulverisiert und mehrmals mit Ac extrahiert. Die vereinigten Ae-Auszüge wurden mehrmals mit 2N HCl, 2N Sodalösung und W gewaschen. Sie gaben nach Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen 100 mg Rückstand = Präp. JB 51 als braunes Öl, das im UV. schwach gelbbraun fluoreszierte. Der HCl-Auszug lieferte nach Alkalizusatz und Ausschütteln mit Ae nur Spuren Material (verworfen). Die Sodalösung lieferte 5 mg ätherl. Säuren = JB 46. Diese gaben im Pch wieder die zwei Flecke entspr. Essigsäure (sehr schwach) und Isovaleriansäure (stark).

Die 100 mg Präp. JB 51 wurden im Molekularkolben grob fraktioniert und gaben die in Tab. 9 angegebenen Fraktionen.

Fr. I–III wurden vereinigt (36 mg) in Pn gelöst und nochmals mit NaOH ausgeschüttelt. Dies gab 27 mg Neutralteil a (Trennung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  siehe unten) sowie 5 mg phenolisches Material. Letzteres gab mit 0,2 mg auf Papier beim Besprühen mit 2-proz.  $\text{FeCl}_3$ -Lösung in W eine braun-violette Färbung und beim Besprühen mit  $\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ -Reagens<sup>121)</sup> einen blauen Fleck.

Fr. IV gab aus Alk 1,2 mg schuppige Blättchen, Smp. 148–155° (Fluoreszenz im UV.-Licht: blauviolett). Sie dienten zur Isolierung von Subst. JB 23, siehe unten).

Die ML von Fr. IV und die Fr. V und VI wurden vereinigt und ebenfalls in Pn-Lösung mit wässriger NaOH ausgeschüttelt. Es resultierten 27 mg Neutralteil b und 3 mg phenolisches Material. Letzteres gab dieselben Farbreaktionen wie das analoge Material aus Fr. I–III.

<sup>119)</sup> F. FEIGL, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, p. 339, 3. Aufl. (Leipzig 1938).

<sup>120)</sup> Diese Temperatur war offenbar zu hoch, vgl. ABISCH *et al.*<sup>84)</sup>.

<sup>121)</sup> G. M. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARDNER, Nature 170, 249 (1952).

Die 27 mg Neutralteil a (aus Fr. I–III) wurden an 2,7 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Keine der Fr. zeigte Fluoreszenz im UV., und keine lieferte Kristalle. Zwei mit Pn eluierte Hauptfraktionen (zusammen 8 mg farbloses Öl) wurden als Präp. JB 21 bezeichnet. UV.-Spektrum entspr. Gemisch von Naphtalin- und Phenanthrenkohlenwasserstoffen. 3 mg Präp. JB 21 wurden mit 4 mg Pikrinsäure in heiß ges. alkoholischer Lösung versetzt. Die Mischung färbte sich orange, gab aber kein krist. Pikrat.

Die 27 mg Neutralteil b (aus Fr. IV–VI) wurden an 2,7 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 3 ml der in Tab. 10 genannten Lösungsmittel.

Tab. 9. *Fraktionierte Destillation von 100 mg Präp. JB 51*

Frak-tions-Nr.	Torr	Badtemp.	Destillat		
			Menge in mg	Habitus	Fluoreszenz im UV.-Licht
I	12	20–70°	6	farbl. Öl	keine
II	12	70–110°	16	hellgelbes Öl	fahlblau
III	0,01	20–100°	14	gelbes Öl	violettblau
IV	0,01	100–135°	23	gelbes Öl u. wenig Krist.	grünlich-blau
V	0,01	135–180°	6	gelbes Öl	gelb
VI	0,01	180–220°	6	gelbes Öl	gelb
VII	0,01	220–270°	2,5	gelbes Öl	gelb
Rückst.	0,01		19	braunes Harz	keine

Tab. 10. *Chromatographie von 27 mg Kohlenwasserstoff-Gemisch (Neutralteil a)*

Frak-tions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Fluoresz. im UV.	Aussehen	Flecke im Pch Fig. 11
1–2	Pn	2,5	keine	farbl. Öl	
3–4	Pn	6	fahlblau	farbl. Öl	A, B
5–9	Pn bis Hexan	2,3	blau	farbl. Öl	
10–12	Hexan-Be-(8:2)	2,7	blau	Schaum	C
13–16	Hexan-Be-(8:2) bis-(3:2)	0,2	grünlich	gelbliches Öl	C und langgezogener Schwanz
17–34	Be bis Chf-Me-(1:1)	5,5	gelb	gelbes Öl	

Die Fr. 3–4 wurden als Präp. JB 22 bezeichnet. Im Pch (Nr. 1 in Fig. 11) gab es zwei Flecke. Das UV.-Spektrum entsprach einem 1,2-Dialkylphenanthren. 3,5 mg JB 22 gaben mit 4,5 mg Pikrinsäure (heiss gesättigte Lösung in Alk) eine orangefarbene Lösung, aber kein krist. Pikrat.

Die Fr. 10–12 gaben aus Alk ca. 0,3 mg Blättchen, Smp. 195–233° = Präp. JB 23, die nach Pch (Nr. 2 in Fig. 11) nur C enthielten. UV.-Spektrum (vgl. Fig. 13) entspr. substit. Chrysen.

Die weiteren Fr. wurden nicht untersucht.

Die stark gelb gefärbten ML der Fr. 10–12 (2,2 mg) wurden nochmals an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Die krist. Spaltenfraktion (1,0 mg, mit Hexan eluiert) wurde mit den regenerierten Kristallen JB 23 (0,3 mg) und den 1,2 mg Kristallblättchen aus Fr. IV von Tab. 9 vereinigt. Das Ganze (2,5 mg) gab nach Kristallisation aus Spur Ae mit Pn bei 0° und Waschen mit Pn bei –80° 0,5 mg Blättchen von Smp. 250–258°. Dies war die bisher reinste Probe des Chrysenkohlenwasserstoffs.

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Knollen von *Raphionacme burkei* N. E. Br. enthalten ein Gemisch von Esterglykosiden, von denen bisher keines in unversehrter Form rein isoliert wurde. Sie werden von Säuren und Alkalien leicht angegriffen und enthalten zahlreiche Zucker, darunter reichlich D-Glucose. Ein teilweiser Abbau war auf fermentativem Wege oder durch milde saure Hydrolyse möglich. Bei letzterer erfolgte die Spaltung teilweise bis zur Geninstufe. Von den freigesetzten Zuckern bestand nur ein sehr kleiner Teil aus Monosacchariden, wobei sich papierchromatographisch Cymarose, Oleandrose, Digitoxose und Boivinose nachweisen liessen. Die Hauptmenge bestand aus Di- und Tri-sacchariden, vermutlich waren auch Tetrasaccharide anwesend. Diese Oligosaccharide bestanden vorwiegend aus D-Glucose, daneben waren nach Spaltung papierchromatographisch Xylose und Digitalose nachweisbar. Aus den bei der sauren Hydrolyse erhaltenen chloroformlöslichen Anteilen liessen sich vier krist. Stoffe (Genin JB 9 und die drei Glykoside JB 11, JB 15 und JB 20) isolieren. Papierchromatographische Resultate deuten darauf hin, dass beim Kochen des Glykosids JB 15 mit Alkali der ganze Zucker unter Bildung des Genins JB 9 abgespalten wird. Das Genin JB 9 wird aber von Alkali auch langsam weiter angegriffen. Nach vorläufigen Resultaten enthält es ein polycyclisches Grundgerüst. Das Glykosid JB 11 lieferte mit Alkali 4 Säuren, vermutlich Essigsäure, Angelicasäure,  $\beta,\beta$ -Dimethylacrylsäure (oder Tiglinsäure) und eine Hydroxyvaleriansäure.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

**246. Die anti- und prooxydative Wirkung von Äthylendiamin-tetracetat (EDTA) und Propylgallat auf metallkatalysierte Oxydationen in verschiedenen Puffern**

von C. FLESCH, W. SCHULER und R. MEIER

(24. VIII. 60)

TANNER<sup>1)</sup> hat die Autoxydation und metallkatalysierte Oxydation verschiedener autoxydabler Substanzen untersucht, sowie die Wirkung bestimmter Chelatbildner auf diese Oxydationssysteme. Es wurde gefunden, dass bereits die Änderung der Pufferkonzentration (Phosphatpuffer) die Stärke der Katalyse verändert. Versuche von TANNER, SCHULER und MEIER<sup>2)</sup> zeigten ferner, dass einzelne Komplexbildner, die im allgemeinen hemmen, im  $M/2$  Phosphatpuffer nach SÖRENSEN Metallkatalysen, aber auch die Autoxydation bestimmter Substrate verstärken können. Die von UDENFRIEND *et al.*<sup>3)</sup> gemachte Beobachtung, dass EDTA die Fe<sup>++</sup>-katalysierte Ascorbinsäureoxydation im Phosphatpuffer fördert, wurde bestätigt, und weitere Beispiele derartiger Reaktionsumkehr wurden festgestellt.

<sup>1)</sup> E. TANNER, Dissertation, Bern 1958.

<sup>2)</sup> E. TANNER, W. SCHULER & R. MEIER, *Helv.* **42**, 445 (1959).

<sup>3)</sup> S. UDENFRIEND, C. T. CLARK, J. AXELROD & B. B. BRODIE, *J. biol. Chemistry* **208**, 731 (1954).