

a) *Isomère d,l-XI*: Le filtrat étheré initial est agité avec 100–150 ml d'acide chlorhydrique 1 N; il en résulte un précipité volumineux de chlorhydrate de *d,l-XI*, une solution étherée qui contient un peu de *méso-XI* et une solution aqueuse d'où l'on peut extraire 2–3 g de N-benzyl-p-anisidine.

Pour obtenir *d,l-XI*, on traite le chlorhydrate par 50 ml d'ammoniaque 2 N et 150 ml d'éther, puis sèche la solution étherée sur MgSO_4 anhydre, chasse le solvant et recristallise le résidu dans l'éthanol absolu. Rendement: 7–8 g (46–53%); F. 110–111°.

$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{N}_2$ Calc. C 79,21 H 6,65% Tr. C 79,36 H 6,64%

b) *Isomère méso-XI*: Le précipité P initial est extrait 24 h au soxhlet avec 250 ml de benzène; après évaporation du solvant sous pression réduite, le résidu huileux est repris dans un mélange acétate d'éthyle – éthanol absolu bouillant: le *méso-XI* cristallise par refroidissement. Rendement après une nouvelle cristallisation dans le même mélange: 5–5,5 g (33–36%); F. 141–142°.

$\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{N}_2$ Calc. C 79,21 H 6,65% Tr. C 79,39 H 6,77%

Une quantité supplémentaire de *méso-XI* peut être retirée de la solution étherée obtenue après extraction de *d,l-XI* (voir sous a)). On sèche sur MgSO_4 anhydre, chasse l'éther et recristallise le résidu dans un mélange acétate d'éthyle – éthanol absolu; on obtient 1–2 g (7–13%) de *méso-XI*, F. 141–142°.

SUMMARY

Several new 1,2-diarylamino-1,2-diphenylethanes have been synthesized by reductive condensation of the corresponding N-benzylidene-arylamines. In each case, the *d,l*- and *meso*-forms have been separated by a convenient process and characterized.

For the general differentiation of the *d,l*- and *meso*-forms of 1,2-diarylamino-1,2-diphenylethanes, three criteria are discussed: 1° melting points, 2° ability to give complexes with dimethylformamide, 3° UV. spectra.

Lausanne, Laboratoire de Chimie organique de l'Université

249. Die Cardenolide der Wurzeln von *Pachycarpus distinctus* (N. E. BR.) BULLOCK¹⁾

Glykoside und Aglykone, 221. Mitteilung²⁾

von T. Golab, Herb. Jäger und T. Reichstein

(23. IX. 60)

Pachycarpus distinctus (N. E. BR.) BULLOCK ist eine in Südafrika heimische *Asclepiadacee*³⁾. Über eine chemische Untersuchung der Pflanze ist uns nichts bekannt. Andere Vertreter der Gattung *Pachycarpus*, z. B. *P. schinzianus* (SCHLTR.) N. E. BR.⁴⁾ und *P. concolor* E. MEYER⁵⁾ sind relativ reich an digitaloiden Glykosiden. Im folgenden beschreiben wir eine Analyse der Wurzeln von *P. distinctus*.

¹⁾ Auszug aus Diss. T. GOLAB, Basel 1960.

²⁾ 220. Mitt.: J. BINKERT, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 1984 (1960).

³⁾ Zur Systematik vgl. A. A. BULLOCK, Notes on African *Asclepiadaceae* III, *Kew Bulletin* 1953, 334 (1953).

⁴⁾ W. SCHMID, H. P. UEHLINGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 72 (1959).

⁵⁾ Orientierende Untersuchung von Frau Dr. E. ABISCH in unserem Institut, sowie genaue Analyse, siehe spätere Publikation.

Beschaffung und Identifizierung des Ausgangsmaterials. – Von Herrn Dr. POLE EVANS erhielten wir aus Südrhodesien die als a), b) und c) bezeichneten Proben⁶⁾. Das zur Probe a) gehörige Herbarmuster (vgl. Fig. 1) wurde zur Bestimmung an die ROYAL BOTANICAL GARDENS, Kew, gesandt. Herr BULLOCK war so freundlich diese auszuführen⁷⁾, so dass die Identität mit *P. distinctus* eindeutig gesichert ist.



Fig. 1. *Pachycarpus distinctus* (N. E. Br.)
BULLOCK.

Herbarmuster: No. 4882. FR N. On rocky outcrops near Nyakatsapa between Umtali and Suyanga. 19. 12. 55. Alt. 5000 ft. Legit. I. B. POLE EVANS. – Erhalten von Herrn Dr. POLE EVANS am 9. 3. 1956⁸⁾. Deponiert in den Royal Botanical Gardens, Kew. Photographiert in Kew⁸⁾.

Probe a): 1,05 kg in Scheiben geschnittene und getrocknete Wurzeln, gesammelt am 19. 12. 55 zwischen Umtali und Suyanga (Süd-Rhodesien) in 5000 Fuss Höhe. In Basel am 9. 3. 1956 eingetroffen.

Probe b): 2,5 kg gleiches Material, gesammelt Ende 1958, erhalten 4. 5. 1959.

Probe c): 1,13 kg getrocknete Blätter und Stengel, gesammelt wie Probe b), erhalten 4. 5. 1959.

Alle drei Proben erreichten uns in ausgezeichnetem Zustand.

Chemische Untersuchung. – Zur Untersuchung gelangten Probe a) sowie ein Teil der Probe b). Vorversuche zeigten, dass keine Alkaloide, wohl aber digitaloide Glykoside anwesend waren. Beide Proben wurden daher nach der früher⁹⁾ beschrie-

⁶⁾ Wir danken Herrn Dr. J. B. POLE EVANS, Umtali (Southern Rhodesia), bestens für die Beschaffung des Materials und seine zusätzlichen Angaben.

⁷⁾ Sir E. SALISBURY, dem früheren Direktor der Royal Botanical Gardens, und Herrn A. A. BULLOCK sei auch hier für ihre erneute Hilfe bestens gedankt (Brief 10. 7. 1956).

⁸⁾ Wir danken Herrn Dr. G. TAYLOR, Director der Royal Botanical Gardens, Kew, auch hier bestens für diese Photographie.

⁹⁾ P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 45 (1952); H. MUHR, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 403 (1954).

benen Methode extrahiert. Tab. 1 gibt die Ausbeuten an rohen Extrakten sowie die Resultate bei der Prüfung im Papierchromatogramm. Zum Nachweis der Flecke diente die KEDDE-Reaktion¹⁰⁾.

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus den Proben a) und b) sowie Resultate bei der Prüfung in Papierchromatogrammen¹¹⁾

Extrakt	Menge		Flecke im Pchr ¹²⁾ 13)
	in g	in %	
Aus 960 g Wurzeln der Probe a)			
Pe-Extr. A ¹⁴⁾	2,90	0,30	—
Ae-Extr. A ¹⁴⁾ , gereinigt . .	3,06	0,32	A, B, (C ₂), C ₁ , D, (E ₁), E ₂ , (E ₃)
Chf-Extr. A	3,40	0,35	(A), (B), (C ₂), (C ₁), D, E ₁ , E ₂ , E ₃ , (N), P
Chf-Alk-(2:1)-Extr. A . .	11,70	1,22	N, P, Q, (R), S, (T), (U)
Chf-Alk-(3:2)-Extr. A . .	0,69	0,07	S, (T), U, V
Aus 980 g Wurzeln der Probe b)			
Pe-Extr. B ¹⁴⁾	2,14	0,22	—
Ae-Extr. B ¹⁴⁾ gereinigt . .	3,47	0,35	A, (M), B, (C ₂), C ₁ , D, (E ₁), E ₂ , (E ₃)
Chf-Extr. B	4,59	0,47	(A), (B), (C ₂), (C ₁), D, (E ₁), E ₂ , E ₃ , (N), P
Chf-Alk-(2:1)-Extr. B . .	7,47	0,76	N, P, Q, (R), S
Chf-Alk-(3:2)-Extr. B . .	4,23	0,43	S, (T), U, V

Die *Pe-Extrakte* enthielten KEDDE-negatives, öliges Material und wurden nicht weiter untersucht.

In den *Ae- und Chf-Extrakten* aus beiden Proben (a) und b)) liessen sich in Papierchromatogrammen, teilweise erst nach präparativer Anreicherung, insgesamt 11 Stoffe nachweisen. Sie wurden in der Reihenfolge abnehmender Laufstrecken¹⁵⁾ mit den Buchstaben A, M, B, C₂, C₁, D, E₁, E₂, E₃, N und P bezeichnet. Dieselbe Bezeichnung erhielten die zugehörigen Flecke. Die Figuren 2–5 und 7 geben eine schematische aber massgetreue Übersicht über die Laufstrecken in den verwendeten Systemen. Zum Vergleich wurden in den Fig. 3–6 und 8–10 auch die Laufstrecken einiger Cardenolide eingesetzt, die mit den hier isolierten Stoffen verwandt sind, die aber in *Pachycarpus distinctus* nicht aufgefunden wurden.

Die *Chf-Alk-(2:1)-Extrakte* zeigten im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 7) 7 Flecke¹⁶⁾. Zwei davon (N und P) waren schon in den Chf-Extrakten enthalten.

¹⁰⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946; J. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952). Diese und ähnliche Reaktionen sind bei allen Cardenoliden positiv; sie erlauben den Nachweis von 0,005–0,01 mg.

¹¹⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung im Exper. Teil.

¹²⁾ In Klammern schwache Flecke.

¹³⁾ Teilweise erst nach präparativer Anreicherung sichtbar.

¹⁴⁾ Aus rohem Ae-Extr. durch Verteilung zwischen 80-proz. Methanol und Petroläther bereitet.

¹⁵⁾ Der Fleck E₁ lief im System von Fig. 4 schneller, im System von Fig. 3 jedoch langsamer als Fleck D.

¹⁶⁾ Für diese papierchromatographische Prüfung dienten nur die rohen, noch stark verunreinigten Extrakte, was die Streifen- und Schwanzbildung begünstigte. Es wurden nur die deutlich sichtbaren Flecke bezeichnet.

Die 5 weiteren erhielten die Buchstabenbezeichnung Q, R, S, T und U. Die *Chf-Alk*-(3:2)-Extrakte zeigten vier Flecke S, T, U und V (vgl. Fig. 7); der langsamste (V) war nur in diesen nachweisbar.

Bisher wurden nur die Äther- und Chloroform-Extrakte präparativ getrennt, obgleich sie mengenmässig nur einen kleinen Teil darstellten. Die *Chf-Alk*-(2:1)-

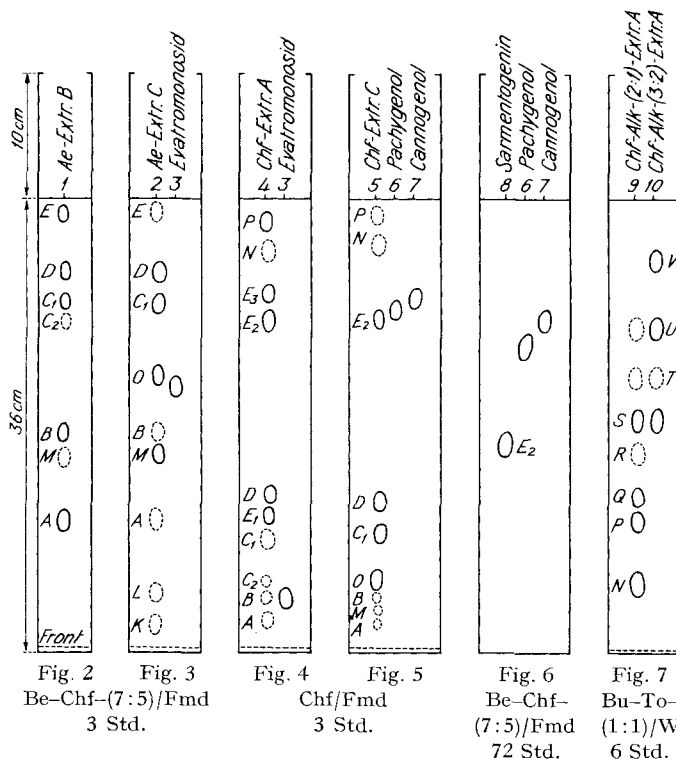


Fig. 2–10. Schematische Übersicht über die Laufstrecken in Papierchromatogrammen¹¹⁾. Front, soweit nicht abgetropft, gestrichelt eingezeichnet.

- Nr. 1 = ca. 0,2 mg Ae-Extr. B
 Nr. 2 = „ 0,2 „ „ „ C (Aus A nach milder saurer Hydrolyse)
 Nr. 3 = „ 0,03 „ „ „ Digitoxigenin- β -D-digitoxosid¹⁸⁾ (Ervatromonosid)
 Nr. 4 = „ 0,2 „ „ Chf-Extr. A
 Nr. 5 = „ 0,2 „ „ „ C (Aus A nach milder saurer Hydrolyse)
 Nr. 6 = „ 0,03 „ „ Pachygenol⁴⁾¹⁹⁾
 Nr. 7 = „ 0,03 „ „ Cannogenol²⁰⁾
 Nr. 8 = „ 0,03 „ „ Sarmetogenin
 Nr. 9 = „ 0,2 „ „ Chf-Alk-(2:1)-Extr. A
 Nr. 10 = „ 0,2 „ „ „ -(3:2)- „ „ A

¹⁸⁾ Diese Formel besitzt Evatromonosid von R. TSCHESCHE, SOPHIE WIRTZ & G. SNATZKE, Chem. Ber. 88, 1619 (1955). Wir danken Herrn Prof. Dr. R. TSCHESCHE, Hamburg, auch hier bestens für die Überlassung einer authentischen Probe. Es handelt sich um ein Präparat von Herrn Dr. E. HAACK (Liebigs Ann. Chem. 603, 75 (1957)).

¹⁹⁾ L. F. FIESER, T. GOLAB, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 102 (1960).

²⁰⁾ T. GOLAB, C. H. TRABERT, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 2418 (1959).

Extrakte wurden nur orientierend durch Spaltung mit Fermenten und teilweise anschliessender saurer Hydrolyse untersucht.

Ergebnis der präparativen Trennung der Ae- und Chf-Extrakte. – Durch die weiter unten kurz beschriebenen Trennungsoperationen liessen sich aus dem genannten Material von den 11 darin papierchromatographisch nachgewiesenen Cardenoliden die 8 in Tab. 2 genannten Vertreter (A, M, B, C₂, C₁, D, E₁ und E₂) in Kristallen isolieren²¹⁾. Sechs davon konnten mit bekannten Geninen identifiziert werden. Zwei

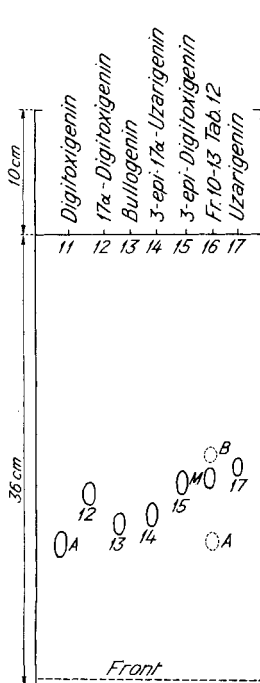


Fig. 8
Be-Chf-(7:5)/Fmd
3 Std.

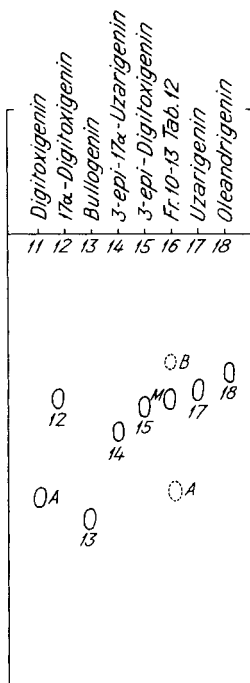


Fig. 9
Thf-Be-Cy-(1:3:6)/Fmd
24 Std.

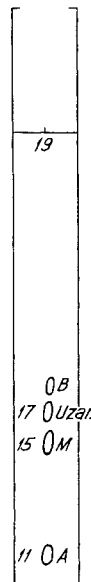


Fig. 10
Be/Fmd
15 Std.

- Nr. 11 = „ 0,03 „ Digitoxigenin
 Nr. 12 = „ 0,03 „ 17 α -Digitoxigenin
 Nr. 13 = „ 0,03 „ Bullogenin (= Genin aus Subst. C₂)
 Nr. 14 = „ 0,03 „ 3-epi-17- α -Uzargenin¹⁷⁾
 Nr. 15 = „ 0,03 „ 3-epi-Digitoxigenin
 Nr. 16 = „ 0,2 „ Fr. 10-13, Tab. 12 (enthält A, M und B)
 Nr. 17 = „ 0,03 „ Uzargenin
 Nr. 18 = „ 0,03 „ Oleandrigenin
 Nr. 19 = Gemisch von je 0,03 mg Digitoxigenin, 3-epi-Digitoxigenin, Uzargenin und Xysmalogin

¹⁷⁾ A. KURITZKES, J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1502 (1959).

²¹⁾ Subst. M (= 3-epi-Digitoxigenin) war nach Pchr in den ursprünglichen Ae- und Chf-Extrakten A nur in kleinen Mengen anwesend. Etwas mehr war in den Genin-Gemischen enthalten, die aus dem Chf-Extr. A nach milder saurer Hydrolyse resultierten, sowie in denjenigen die aus dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. A nach fermentativem Abbau und teilweise auch noch nach anschliessender saurer Hydrolyse erhalten wurden. Für die präparative Isolierung von M wurden alle vier Konzentrate vereinigt (siehe unten).

(C₂ und E₁) erwiesen sich als neue Glykoside: sie wurden als Bullosid und Cannodixosid bezeichnet. Ferner wurde noch ein neuntes krist. aber KEDDE-negatives Glykosid α isoliert.

Tabelle 2. *Eigenschaften und Identifizierung der 9 krist. aus den Wurzeln von Pachycarpus distinctus isolierten Stoffe¹¹⁾*

Stoff	Formel	Smp. [α] _D		Xanthhy- drolprobe ²²⁾	Weitere Identifizierung und event. Bemerkungen
		Hier gefunden	Nach Literatur		
A = Digitoxigenin . . .	I	240–250° [+ 18,4 Me]	250° [+ 19,1 Me]* ²³⁾	—	
O-Acetylderivat . . .	II	214–222° [nicht best.]	217° [+ 19,2 Chf] ²⁴⁾	—	
M = 3-epi-Digitoxigenin	V	272–282° [+ 25,3 Me]	274–282° ²⁵⁾ [+ 26,8 Me]	—	
O-Acetylderivat . . .	VI	205–210° [+ 42,9 Chf]	208–210° ²⁵⁾ [+ 42,5 Chf]	—	IR.-Spektrum
B = Xysmalogenin . . .	III	248–258° [– 1,1 Py] [+ 17,0 Chf]	230–248° ⁴⁾ ²⁶⁾ [+ 19 Alk] ²⁷⁾	—	Tetranitro- methanprobe,
O-Acetylderivat . . .	IV	242–255° [– 4,4 Chf]	250–255° ⁴⁾ ²⁶⁾ [– 5,9 Chf] ²⁷⁾	—	IR.-Spektrum
C ₂ = Bullosid	—	220–223° [– 10,7 Chf]	— —	+	Nicht ganz rein erhalten ²⁸⁾ , UV.-Spektrum, Hydrolyse
C ₁ = Cannogenin	VII	145/185/200–210° [– 13,5 Chf]	145/185/200–210° [– 15,0 Chf] ²⁰⁾ ²⁹⁾	—	
O-Acetylderivat . . .	VIII	200/215–225° [+ 1,1 Me]	200/215–225° [0,0 Me] ²⁰⁾ ²⁹⁾	—	IR.-Spektrum
D = Pachygenin	IX	216–226° [– 103 Chf] [– 107 Py]	120/216–221° [– 121,6 Chf] ⁴⁾ ¹⁹⁾	—	UV.- und IR.-Spektren
O-Acetylderivat . . .	X	272–282° [– 139 Chf]	278–286° [– 167,7 Chf] ⁴⁾ ¹⁹⁾	—	
E ₁ = Cannodixosid . . .	XIV	208–216° [– 7,1 Chf]	— —	+	UV.- und IR.-Spektren, Hydrolyse
E ₂ = Sarmentogenin . .	XI	258–266° [+ 20,0 Me]	265–270° [+ 21,5 Me] ³⁰⁾	—	
O-Benzoylderivat . .	XIII	271–276° [+ 24,2 An]	281° [+ 1,4 An] ³⁰⁾ [+ 24,2 An] ³¹⁾ ³²⁾		
α = Glykosid α	—	180–182° [+ 35,1 Me]	—	—	Nicht identifiziert KEDDE-neg., UV.- und IR.- Spektren, CH-Bestimmung

*) Anmerkungen siehe Seite 2041.

Die Identifizierung der bekannten Genine geschah nach Smp., Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen und Laufstrecke im Papierchromatogramm. In den angegebenen Fällen (Tab. 2) wurden auch die UV.- und IR.-Spektren verglichen. Ferner wurden die krist. O-Acetyl- bzw. O-Benzoyl-Derivate bereitet und in gleicher Weise identifiziert. Die Konstitution von E₁ konnte durch Hydrolyse ermittelt werden (siehe unten). Bullosid (C₂) enthielt als Zucker ebenfalls Digitoxose, aber vermutlich ein neues Genin (Bullogenin).

Die bei der Isolierung der krist. Stoffe anfallenden amorphen Anteile waren ebenfalls Gemische von Geninen mit Glykosiden. Zur Vereinfachung der Trennung wurde ein Teil dieser Gemische einer milden sauren Hydrolyse unterworfen. Bei den benützten Bedingungen²⁴⁾ werden im Wesentlichen nur die Glykoside mit 2-Desoxyzuckern hydrolysiert. Durch diese Behandlung verschwanden die Flecke C₂, E₁ und E₃ aus diesen Gemischen, dafür traten zwei deutliche Flecke M und O auf, sowie zwei schwache, K und L. Letztere könnten wegen der grossen Laufgeschwindigkeit im Papierchromatogramm Anhydrogeninen entsprechen³³⁾. Fleck O konnte bisher keinem bekannten Genin zugeordnet werden. Dieses Material wurde mit drei ähnlichen Gemischen vereinigt und diente zur Isolierung von M durch präparative Papierchromatographie.

Ausführung der präparativen Trennungen. – *Trennung des Äther-Extrakts A.* Von diesem Material (3,06 g) wurden 2,80 g in zwei Portionen an Al₂O₃ chromatographiert. Dabei liess sich bereits ein Teil der Substanzen B und D in reiner krist. Form abtrennen. Nochmalige Chromatographie der leicht eluierbaren KEDDE-positiven Anteile an Al₂O₃ führte auch zur Isolierung von krist. Subst. A. Da die wiederholte Chromatographie einzelner Fraktionsgruppen keine brauchbare Trennung mehr gab, wurden alle amorphen KEDDE-positiven Anteile zu drei Gruppen vereinigt (vgl. Tab. 11) und durch präparative Papierchromatographie³⁶⁾ zerlegt. In Tab. 3 ist das Ergebnis dieser Trennung zusammengefasst.

Wie daraus hervorgeht, gelang es, ausser der Subst. E₃, die im Ae-Extrakt A nur in sehr kleiner Menge anwesend war, alle im Papierchromatogramm nachgewiesenen

²²⁾ M. PESEZ, Ann. pharmac. franç. 10, 104 (1952). Diese Reaktion geben alle 2-Desoxyzucker und Glykoside, die einen 2-Desoxyzucker als Baustein enthalten.

²³⁾ A. WINDAUS & G. STEIN, Ber. deutsch. chem. Ges. 61, 2436 (1928).

²⁴⁾ S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. 32, 939 (1949).

²⁵⁾ H. P. SIGG, Ch. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 985 (1953).

²⁶⁾ R. TSCHESCHE & K. H. BRATHGE, Chem. Ber. 85, 1042 (1952).

²⁷⁾ A. KURITZKES, Diss. Basel 1959 und spätere Publikation; J. POLONIA, A. KURITZKES, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1437 (1959).

²⁸⁾ Unser Präparat Subst. C₂ enthielt als Verunreinigung noch einen KEDDE-negativen Begleitstoff, der sich durch Umkristallisieren nicht vollständig entfernen liess.

²⁹⁾ C. H. TRABERT, Arzneimittel-Forsch. 10, 197 (1960).

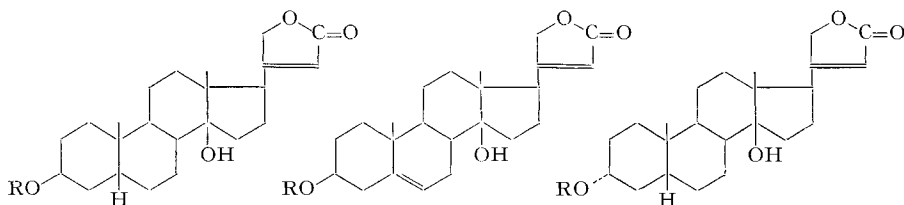
³⁰⁾ W. A. JACOBS & M. HEIDELBERGER, J. biol. Chemistry 87, 765 (1929).

³¹⁾ Vgl. exper. Teil dieser Arbeit.

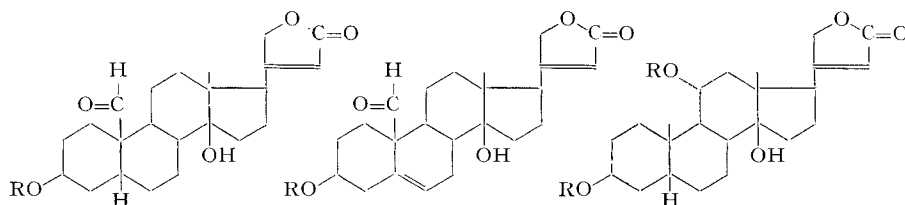
³²⁾ Da die von JACOBS *et al.*³⁰⁾ angegebene opt. Drehung von derjenigen unseres Präparates bedeutend abwich, bestimmten wir nochmals die spez. Drehung des von A. LARDON & T. REICHSTEIN (Pharmac. Acta Helv. 27, 289 (1952)) bereiteten Di-O-benzoyl-sarmentogenins und fanden in guter Übereinstimmung mit obigem Wert: $[\alpha]_D^{25} = +24,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,58$ in An).

³³⁾ Es ist bekannt, dass sich auch bei milder saurer Hydrolyse kleine Mengen von Anhydrogeninen bilden können.

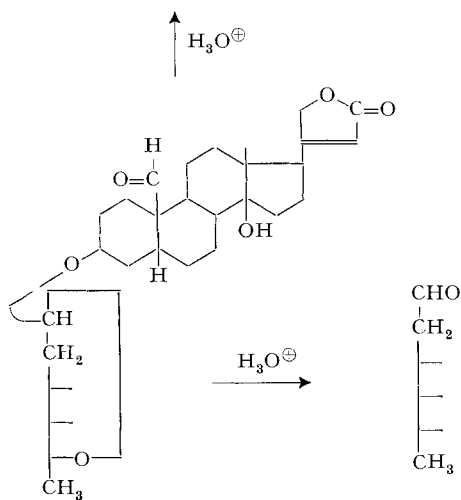
³⁶⁾ Vgl. Einleitung zum Exper. Teil.



- I (R = H) Digitoxigenin F. 250° [+19,1 Me]²³⁾
 II (R = Ac) F. 217° [+19,2 Chf]^{23) 24)}
 III (R = H) Xysmalogenin²⁶⁾ F. 230–248° [+19 Alk]²⁷⁾
 IV (R = Ac) F. 250–255° [–5,9 Chf]²⁶⁾
 V (R = H) 3-epi-Digitoxigenin F. 274–282° [+26,8 Me]²⁵⁾
 VI (R = Ac) F. 208–210° [+42,5 Chf]²⁵⁾

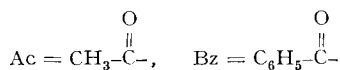


- VII (R = H) Cannogenin F. 145/185/200–210° [–15,0 Chf.]^{20) 29)}
 VIII (R = Ac) F. 200/215–225° [0,0 Me]^{20) 29)}
 IX (R = H) Pachygenin F. 120/216–221° [121,6 Chf]^{4) 19)}
 X (R = Ac) F. 278–286° [–167,7 Chf]⁴⁾
 XI (R = H) Sarmentogenin F. 265–270° [+21,5 Me]³⁰⁾
 XII (R = Ac) F. 120–160° [+9 Chf]³⁴⁾
 XIII (R = Bz) F. 281° [+14 An]³⁰⁾ [+24,2 An]^{31) 32)}



- XIV Cannodioxid F. 208–216° [–7,1 Chf]³¹⁾

- XV D-Digitoxose F. 108–110° [+50,2 W]³⁵⁾



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den angeführten Lösungsmitteln¹¹⁾ an.

³⁴⁾ A. KATZ, *Helv.* 37, 993 (1948).

³⁵⁾ H. R. BOLLIGER & P. ULRICH, *Helv.* 35, 93 (1952), und frühere Lit. daselbst.

Tabelle 3. Ausbeuten bei der Trennung der amorphen Anteile des Ae-Extr. A durch präparative Papierchromatographie³⁷⁾

Verwendete Gruppe (Menge in mg)	Erhaltene Menge an Einzelstoffen, roh bzw. in Kristallen						
		C ₂	C ₁	D	E ₁	E ₂	α ³⁸⁾
Gruppe 1 (360 mg)	Eluat roh daraus krist.	0	24 0 ⁴⁰⁾	45 15,3	0	20 4	30 4,2
Gruppe 2 (300 mg)	Eluat roh daraus krist.	38 11	0	19 10,2	24 5,5	20 0	—
Gruppe 3 (406 mg)	Eluat roh daraus krist.	0	0	—	25 0	10 0	0

Stoffe dieses Extraktes in Kristallen zu isolieren. Von Subst. C₁ kristallisierte allerdings nur das O-Acetylderivat.

Die relativ geringen Ausbeuten an KEDDE-positiven Substanzen liessen vermuten, dass der Ae-Extrakt A grössere Mengen von Begleitstoffen enthalten hat, die sich an Al₂O₃ von den Cardenoliden nicht trennten. Bei der präparativen Papierchromatographie gelang es auch, einen dieser Stoffe (Subst. α) in Kristallen zu isolieren (vgl. Tab. 3). Die Anwesenheit weiterer KEDDE-negativer Stoffe konnte auch bei Betrachtung der Papierchromatogramme im UV.-Licht festgestellt werden. Es wurde teilweise Fluoreszenz beobachtet und teilweise Absorption (dunkle Zonen bei Betrachtung im Fluoreszenzschirm bei durchfallendem UV.-Licht³⁹⁾), und zwar an Stellen, die mit KEDDE-Reagens keine Färbung gaben. Ob es sich um Esterglykoside gehandelt hat, wie sie in anderen Asclepiadaceen früher gefunden wurden⁴¹⁾, haben wir nicht untersucht.

Trennung des Äther-Extrakts B. Dieser Extrakt zeigte im Papierchromatogramm dieselben Flecke wie der Ae-Extr. A. Ausserdem war hier aber zwischen den Flecken A und B noch ein weiterer schwacher Fleck M sichtbar, mit gleicher Laufstrecke wie Uzarigenin oder 3-epi-Digitoxigenin (vgl. Fig. 8 und 9). Fast das gesamte Material (3,40 g) wurde an Al₂O₃ chromatographiert. Dabei liess sich wieder ein Teil der Substanzen B und D in reinen Kristallen abtrennen. Daneben gelang es hier erstmals geringe Mengen der Substanz C₁ zu kristallisieren. Ferner wurde ein rohes Kristallisat erhalten, das als Hauptkomponente E₂ enthielt, verunreinigt mit etwas C₁ und D. Ein Teil der Mutterlaugen und amorphen Gemische wurde wieder durch präparative Papierchromatographie zerlegt. Dabei liessen sich weitere Mengen von C₁, E₂ und C₂ in reiner krist. Form isolieren. Die Fraktionen der Al₂O₃-Chromatographie, die M

³⁷⁾ 0 bedeutet: Der Stoff war im Gemisch nicht enthalten; — bedeutet: Die entsprechende Zone wurde nicht eluiert.

³⁸⁾ Glykosid α gab mit KEDDE-Reagenz keine Färbung. Es liess sich nur in hoher Konzentration bei Betrachtung der Papierchromatogramme im UV.-Licht durch den Fluoreszenzschirm lokalisieren³¹⁾³⁹⁾.

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

⁴⁰⁾ Das O-Acetyl-Derivat kristallisierte.

⁴¹⁾ Vgl. J. W. CORNFORTH & J. C. EARL, *J. chem. Soc.* 1939, 737. Ferner Diss. J. M. DO NASCIMENTO, Basel 1959; EVA ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1014 (1959), und frühere Lit. daselbst.

enthielten, wurden mit ähnlichen Gemischen (aus Hydrolyse von Chf-Extr. und Chf-Alk-(2:1)-Extr.) (siehe unten) vereinigt und daraus durch präparative Papierchromatographie reines M in Kristallen isoliert.

Untersuchung des Chloroform-Extrakts A. Dieses Material enthielt nach Papierchromatogramm neben kleinen Mengen von A, B, C₁, C₂ und E₁ vor allem D, E₂, E₃, N und P. Ein Teil (3 g) wurde an Al₂O₃ chromatographiert, worauf sich Substanz D, mit wenig E₂ verunreinigt, in Kristallen abtrennen liess. Alle verbliebenen amorphen Anteile des Chromatogramms enthielten Gemische von 2–5 Stoffen und zeigten zudem positive Xanthydroly-Reaktion²²⁾. Sie wurden daher vereinigt und einer üblichen sauren Hydrolyse mit 0,05N H₂SO₄ in wässrigem Methanol unterworfen²⁴⁾ ^{41a)}. Nach Entfernung des Methanols wurde wie üblich fraktioniert, mit Äther, dann mit Chloroform ausgeschüttelt und die verbliebene wässrige Phase mit BaCO₃ neutralisiert und eingedampft. Dabei resultierten die in Tab. 4 genannten C-Extrakte.

Tabelle 4. *Ergebnis der milden sauren Hydrolyse von 2,0 g amorphen Anteilen aus Chf-Extr. A*¹¹⁾

	Menge in mg	KEDDE- Reaktion	Xanthydroly- Reaktion	Flecke im Pchr ¹²⁾ ⁴²⁾
Ae-Extr. C	430	++	—	(K), (L), (A), M, (B), O, C ₁ , D
Chf-Extr. C	1150	++	—	(A), (M), (B), O, C ₁ , D, E ₂ , N, P
W-Phase C = roher Zucker .	220	+	++	3–4 Flecke ⁴³⁾

Die Ae- und Chf-Extrakte C zeigten im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 3 und 5) insgesamt 11 Flecke. Hier fehlten aber die Flecke der Substanzen C₂, E₁ und E₃, die im ursprünglichen Chf-Extr. A nachweisbar waren. Wir vermuten daher, dass es sich bei C₂, E₁ und E₃ um Glykoside eines Desoxyzuckers (Digitoxose) gehandelt hat. Dafür waren bei der Hydrolyse vier neue Stoffe (K), (L), M und O entstanden. Die Identifizierung von M (= 3-epi-Digitoxigenin) ist bereits erwähnt. Wir vermuten, dass es sich bei O ebenfalls um ein Genin gehandelt hat, das vielleicht aus E₃ entstanden ist. Bei K und L könnte es sich (auf Grund der geringen Polarität) um Anhydroderivate gehandelt haben³³⁾. Der Ae-Extr. C und der Chf-Extr. C wurden an Al₂O₃ chromatographiert. Es gelang dabei aber nicht, Kristalle zu erhalten; alle Fraktionen waren Gemische. Die Anteile, die M enthielten, dienten zur Isolierung dieses Stoffes durch präp. Papierchromatographie.

Das Material der Wasser-Phase C (roher Zucker) enthielt noch KEDDE-positive Anteile. In den zwei von RENKONEN *et al.*⁴⁵⁾ angegebenen papierchromatographischen Systemen liess sich mit Anilinphtalat⁴⁴⁾ nur Digitoxose sicher nachweisen. Eine Isolierung in reiner Form gelang jedoch nicht.

Untersuchung des Chloroform-Extraktes B. Dieser Extrakt zeigte im Papierchromatogramm genau dieselben Flecke wie der Chf-Extr. A. Durch Chromato-

^{41a)} Unter diesen Bedingungen werden vorwiegend nur Glykoside von 2-Desoxyzuckern gespalten.

⁴²⁾ Entwickelt mit KEDDE-Reagens¹⁰⁾.

⁴³⁾ Diese 3–4 schwachen KEDDE-positiven Flecke zeigten alle eine kleinere Laufstrecke als P. Mit Anilinphtalat⁴⁴⁾ war nur der Fleck der Digitoxose deutlich.

⁴⁴⁾ S. M. PARTRIDGE, Nature [London] **164**, 443 (1949).

⁴⁵⁾ O. RENKONEN & O. SCHINDLER, Helv. **39**, 1490 (1956).

graphie an Al_2O_3 liessen sich weitere Mengen E_2 und D in fast reiner krist. Form isolieren. Eine weitere Trennung erfolgte nicht.

Orientierende Untersuchung der Chf-Alk-Extrakte. – Der *Chf-Alk-(2:1)-Extr.* A zeigte im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 7) 7 Flecke: (N), P, Q, (R), S, (T) und (U)¹²⁾¹⁶⁾. Ein Teil dieses Materials (10,5 g) wurde mit TAKA-Amylase⁴⁶⁾ in CO_2 -Atmosphäre fermentiert. Dabei trat teilweiser Abbau zu weniger polaren Stoffen ein, die sich bei anschliessender Verteilung zwischen Wasser und Chloroform mit letzterem ausschütteln liessen. Die in Wasser verbliebenen stark polaren Anteile (hauptsächlich unveränderte Glykoside) wurden anschliessend mit Chloroform-Alkohol-Gemisch ausgeschüttelt (D-Extrakte). Genau gleich wurden Proben (je 1 g) des *Chf-Alk-(2:1)-Extr.* B und des *Chf-Alk-(3:2)-Extr.* B fermentiert. Die daraus erhaltenen Produkte wurden als E-Extrakte und F-Extrakte bezeichnet. Über die erhaltenen Ausbeuten orientiert Tab. 5. Dort sind auch die Flecke angegeben, die das entsprechende Material in Papierchromatogrammen liefert.

Tabelle 5. *Ergebnis der Fermentierung von 3 Chloroform-Alkohol-Extrakten*
(enth. stark polare Glykoside)¹²⁾¹⁶⁾

Eingesetzt	Daraus erhalten		
Chf-Alk-(2:1)-Extr. A 10,5 g (N), P, Q, (R), S, (T), U	Chf-Extr. D 2,44 g (A), M, B, C ₁ , C ₂ , D, (E ₁), E ₂ , (E ₃), N, P	Chf-Alk-(2:1)-Extr. D 4,05 g (N), P, Q, (R), S, (T), U	—
Chf-Alk-(2:1)-Extr. B 1,0 g N, P, Q, (R), S	Chf-Extr. E 0,303 g (A), (M), (B), C ₂ , C ₁ , D, (E ₁), E ₂ , (E ₃)	Chf-Alk-(2:1)-Extr. E 0,490 g N, P, Q, (R), S	Chf-Alk-(3:2)-Extr. E 0,085 g (N), (P), (Q), R, S, (U), (V)
Chf-Alk-(3:2)-Extr. B 1,0 g S, (T), U, V	Chf-Extr. F 0,172 g (M), (B), (C ₂), (C ₁), D, (E ₁), E ₂ , E ₃ , N	Chf-Alk-(2:1)-Extr. F 0,271 g (N), (P), (Q), S, (T)	Chf-Alk-(3:2)-Extr. F 0,139 g S, (T), U, V

Wie ersichtlich, sind beim fermentativen Abbau alle Stoffe gebildet worden, die auch schon in den ursprünglichen Ae- und Chf-Extrakten A und B anwesend waren. Aus dem Chf-Extr. D wurden nach Chromatographie an SiO_2 die Genine B und D, sowie das KEDDE-negative Glykosid α , auch in Kristallen erhalten. Die Mischfraktionen, die M enthielten, wurden ebenfalls für die präparative Isolierung dieser Substanz benützt. Die amorphen Anteile zeigten wieder positive Xanthhydrol-Reaktion²³⁾ auf 2-Desoxyzucker. Ein Teil davon, der nur die Flecke (C₂), (C₁), D, E₁, E₂, E₃ und P zeigte, wurde wieder mild hydrolysiert. Auch hier verschwanden dabei die Flecke C₂, E₁ und E₃, und die Flecke (K), (M) und O traten neu auf, genau wie dies bei den analogen Hydrolysen mit Material aus dem Chf-Extr. A beobachtet worden war. Ausserdem wurden hier aber bei der Hydrolyse auch noch die Stoffe A und B gebildet. Somit dürften auch die Genine A und B teilweise an 2-Desoxyzucker gebunden vorliegen. Auch das bei dieser Hydrolyse erhaltene Material wurde

⁴⁶⁾ Ein Fermentpräparat aus *Aspergillus oryzae*, bezogen von der SCHWEIZ. FERMENT AG, Basel.

zur Isolierung von M verwendet. Als Zuckerkomponente war im wasserlöslichen Teil der Hydrolyse auch hier nur Digitoxose im Papierchromatogramm sicher nachweisbar.

In den Chf-Alkohol-Extrakten D, E und F waren im Papierchromatogramm jeweils dieselben Stoffe nachweisbar wie in dem Ausgangsmaterial, das zur Fermentierung verwendet worden war. Wir glauben daher, dass die Fermentierung nicht vollständig gewesen ist. Damit steht im Einklang, dass wiederholte Fermentierungen mit solchem Material stets zum Abbau eines weiteren Teils der Glykoside führten. Die Mehrzahl der 8 Flecke N, P, Q, R, S, T, U und V dürften demnach Derivaten der Stoffe A–E₃ entsprechen, die 1 oder 2 Mol D-Glucose glucosidisch gebunden enthalten. Es ist aber durchaus möglich, dass einzelne der 8 genannten Flecke noch nicht einheitlich waren, sondern zwei oder mehrere solche Stoffe enthalten. Tab. 6 gibt eine Übersicht über die Ausbeuten an isolierten Kristallen, sowie eine Schätzung der in den Wurzeln wirklich vorhandenen Mengen⁴⁷⁾.

Tabelle 6. Ausbeuten an krist. Stoffen sowie Schätzung der in den Wurzeln wirklich vorhandenen Mengen

Gef. in	Stoff	krist.	Identifizierung oder Name	Formel	In Krist. isoliert ⁴⁸⁾ Menge		Schätzung in 1,94 kg Wurzeln wirklich enth. Menge ⁴⁷⁾	
					in mg	in %	in mg	in %
Ae-Extr. ↑ Chf-Extr. ↓	α	+	Glykosid α	—	8	0,0004	?	? ⁴⁹⁾
	A	+	Digitoxigenin	I	16	0,001	80	0,004
	M	+	3-epi-Digitoxigenin	V	14	0,001	60	0,003
	B	+	Xysmalogenin	III	180	0,01	450	0,023
	C ₂	+	Bullosid	—	30	0,002	80	0,004
	C ₁	+	Cannogenin	VII	30	0,002	100	0,005
	D	+	Pachygenin	IX	500	0,026	1100	0,057
	E ₁	+	Cannodixosid	XIV	20	0,001	200	0,01
	E ₂	+	Sarmentogenin	XI	61	0,003	800	0,04
	E ₃	—	—	—	—	—	400	0,02
	N	—	—	—	—	—	300	0,015
	P	—	—	—	—	—	200	0,01

Besprechung der isolierten Stoffe. – Durch die erwähnten Identifizierungen ist der Bau der Stoffe A, M, B, C₁, D und E₂ aufgeklärt. Die übrigen werden hier kurz besprochen.

Bullosid (C₂). Von diesem Stoff stand nur wenig zur Verfügung, so dass auf eine Analyse verzichtet werden musste. Die Kristalle zeigten im Papierchromatogramm nur *einen* Fleck, waren aber vermutlich trotzdem nicht ganz einheitlich⁵⁰⁾. Das

⁴⁷⁾ Es sind hier nur die Stoffe aus den Ae- und Chf-Extrakten A und B berücksichtigt, also vorwiegend Genine und Monoglykoside. Grössere Mengen dieser Stoffe finden sich glucosidisch mit D-Glucose verknüpft in den stark polaren Chf-Alk-(2:1)- und -(3:2)-Extrakten. Berücksichtigt man diese Anteile, so ist der wirkliche Gehalt viel höher.

⁴⁸⁾ Dort, wo zur Isolierung nur ein Teil der vorhandenen Extrakte herangezogen wurde, haben wir die Ausbeute auf die ganzen 1,94 kg Wurzeln umgerechnet.

⁴⁹⁾ Glykosid α wurde nur zufällig isoliert. Eine Schätzung der wirklich vorhandenen Menge ist nicht möglich.

⁵⁰⁾ Sie enthielten etwas KEDDE-negatives Material, das im Papierchromatogramm nicht sichtbar gemacht wurde.

UV.-Spektrum (Kurve C₂ in Fig. 11) zeigte nur das Maximum des Butenolidringes deutlich. Wir vermuten, dass keine Aldehyd- oder Keto-Gruppe anwesend ist. Die schwache Schulter bei ca. 270–285 m μ (log ϵ = ca. 1,41) rührt vermutlich von einer kleinen Menge einer stark absorbierenden Verunreinigung her⁵¹). Entsprechend der positiven Xanthydrol-Reaktion²²) liess sich Bullosid bereits unter sehr milden Bedingungen²⁴) sauer hydrolysieren. Die im Mikromaßstab durchgeführte Reaktion gab einen Zucker, der nach Papierchromatogramm mit Digitoxose identisch war. Aus dem rohen Genin liess sich nur eine Spur einer KEDDE-negativen Verunreinigung kristallisieren. Das amorphe Genin zeigt im Papierchromatogramm (Nr. 13 in Fig. 8 und 9) eine ähnliche Laufstrecke wie Digitoxigenin, war aber mit keinem der in Fig. 8 und 9 zum Vergleich benützten Genine identisch. Wir vermuten, dass es ein noch unbekanntes Genin darstellt, das eine ähnliche Bruttoformel wie Digitoxigenin besitzt. Mit Trichloressigsäure-«Chloramin»-Reagens⁵²)⁵³) gab es gelbe Fluoreszenz wie normale (17 β -)Cardenolide⁵³) und mit SbCl₃ auf Papier (nach 10 Min. Erhitzen auf 70°) nur eine ganz leicht bräunliche Fluoreszenz, während 16-Hydroxy- (oder 16-Dehydro-)cardenolide eine intensiv blaue Fluoreszenz liefern⁵⁴). Bullosid (C₂) zeigte im Papierchromatogramm (Fig. 3 und 4) eine merklich kleinere Laufstrecke als Digitoxigenin- β -D-digitoxosid (= Evatromonosid)¹⁸).

Cannodixosid (E₁). Auch bei diesem Glykosid musste von einer Analyse abgesehen werden. Im UV. (Fig. 11, Kurve E₁) war in Alkohol nur das Maximum des Butenolidringes deutlich, zwischen 270 und 290 m μ war noch eine Schulter (log ϵ = ca. 1,50) sichtbar, die der Aldehydgruppe entsprechen dürfte, ohne ihre Anwesenheit zu beweisen⁵⁵). Das IR.-Spektrum in KBr (Fig. 12) zeigte jedoch neben den drei Hauptbanden des Butenolidrings (5,63; 5,75 und 6,18 μ) eine Carbonylfunktion (Schulter bei ca. 5,83 μ) und auch die CH-Streckschwingung einer Aldehydgruppe bei ca. 3,70 μ . Letztere liegt normalerweise⁵⁶) bei ca. 3,68 μ . Beim Cannogenin und seinen Derivaten wurde sie bisher immer bei ca. 3,72–3,78 gefunden²⁰). Milde saure Hydrolyse des Cannodixosids im Mikromaßstab lieferte einen Zucker, der papierchromatographisch mit Digitoxose (XV) identifiziert wurde. Das Genin war nach Papierchromatogramm mit Cannogenin (VII) identisch. Die molekulare Drehung des Cannodixosids (Tab. 7) steht mit Formel XIV in Einklang. Es wurde daher angenommen, dass es sich um D-Digitoxose handelt⁵⁷), und dass die Verknüpfung zwischen Zucker und Aglykon entsprechend der Regel von KLYNE⁵⁸) hier β -glykosidisch ist.

⁵¹) Weniger reine Präparate zeigten bei 276 m μ ein Maximum, das beim Umkristallisieren immer schwächer wurde.

⁵²) K. B. JENSEN, *Acta Pharmacol. Toxicol.* 9, 99 (1953); Verhältnis der Volumina nach F. KAISER, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).

⁵³) J. A. RUSSEL, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 167 (1960).

⁵⁴) H. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 977 (1959), und frühere Literatur daselbst.

⁵⁵) Bei Apocannosid und Cynocannosid²⁰)²⁰) erhielten wir im UV. auch relativ schwache Maxima für den Butenolidring (ca. 4,14 statt 4,22). Auch das Maximum der Absorption der Aldehydgruppe lag kurzwelliger als bei Strophanthidin- und Corotoxigenin-Derivaten.

⁵⁶) L. J. BELLAMY, *The Infrared Spectra of Complex Molecules*, London 1954, p. 136.

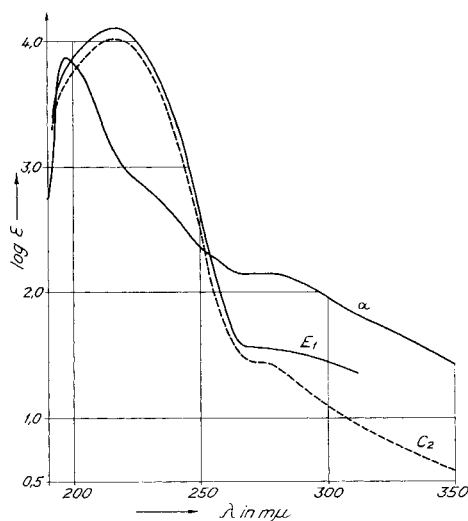
⁵⁷) L-Digitoxose ist bisher in der Natur noch nicht beobachtet worden.

⁵⁸) W. KLYNE, *Biochem. J.* 47, XLI (1950).

Tabelle 7. Berechnung der molekularen Drehung von Cannogenin- β -D-digitoxosid

Stoff	$M_o^{59)}$
Cannogenin	Gef. $-58^\circ \pm 8^\circ$ (Chf)
β -D-Digitoxosido-Rest	Ber. $-21^\circ \pm 18^\circ$ (Chf) ⁶⁰⁾
Cannogenin- β -D-digitoxosid (XIV) . . .	Ber. $-79^\circ \pm 26^\circ$ (Chf)
Cannodixosid	Gef. $-37^\circ \pm 21^\circ$ (Chf)

Glykosid α . Bei diesem Stoff handelt es sich nicht um ein Cardenolid. Die Analyse passte gut auf eine der Formeln $C_{27}H_{44}O_6$ oder $C_{36}H_{60}O_8$. Das UV.-Spektrum in Alkohol (vgl. Fig. 11) zeigte bei $197\text{ m}\mu$ das Maximum einer vermutlich trisubstituierten Doppelbindung mit $\log \varepsilon = 3,86$. Daneben enthält es noch ein weiteres Maximum bei $276\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 2,22$). Letzteres stammt vermutlich von einer unbekannten Verunreinigung. Das IR.-Spektrum in KBr ist im Carbonylbereich praktisch leer (vgl. Fig. 13). Die Substanz gab mit BARTON-Reagens⁶³⁾ keine Färbung

Fig. 11. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol⁶⁴⁾

C_2 = Bullosid, Smp. $220-223^\circ$, Maximum bei $216,5\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,02$, ber. auf $C_{29}H_{44}O_7$ entspr. $M = 504,6$), Schulter bei $270-285\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = \text{ca. } 1,41$).

E_1 = Cannodixosid, Smp. $208-216^\circ$, Maximum bei $216\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,10$, ber. auf $C_{29}H_{42}O_8$ entspr. $M = 518,6$), Schulter bei $270-290\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = \text{ca. } 1,50$).

α = KEDDE-negatives Glykosid α , Smp. $180-182^\circ$, Maxima bei $197\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,86$) und $276\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 2,22$, ber. auf $C_{27}H_{44}O_6$ entspr. $M = 464,6$).

⁵⁹⁾ $[M]_D = 0,01 \cdot M \cdot [\alpha]_D$; M = Mol.-Gewicht.

⁶⁰⁾ Berechnet aus Differenz von $[M]_D$ in Chf für Helveticosid = $+139^\circ \pm 11^\circ$ ⁶¹⁾ und Strophanthidin = $+160^\circ \pm 7^\circ$ ⁶²⁾.

⁶¹⁾ W. NAGATA, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 41 (1957).

⁶²⁾ H. LICHTI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 39, 1914 (1956).

⁶³⁾ G. M. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARNIER, *Nature* [London] 170, 249 (1952).

⁶⁴⁾ Aufgenommen von den Herren A. SIEBER und P. BÜHRER unter der Leitung von Herrn K. STICH; die UV.-Spektren mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Mod. DK 2, in N_2 -Atmosphäre, die IR.-Spektren mit einem PERKIN-ELMER-Double-beam IR.-Spektrophotometer, Mod. 21.

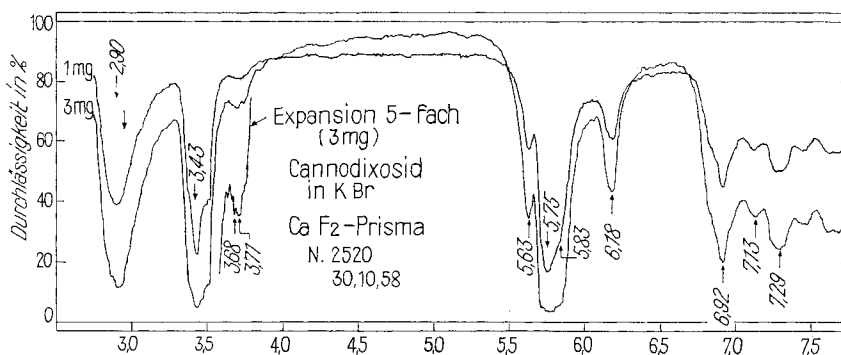


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum von Cannodixosid (Subst. E₁=XIV), fest in KBr mit CaF₂-Prisma⁶⁴)

Kurve 1 = ca. 1 mg pro Pastille

Kurve 2 = ca. 3 mg pro Pastille, das 3,7-μ-Gebiet auch mit 5facher Expansion

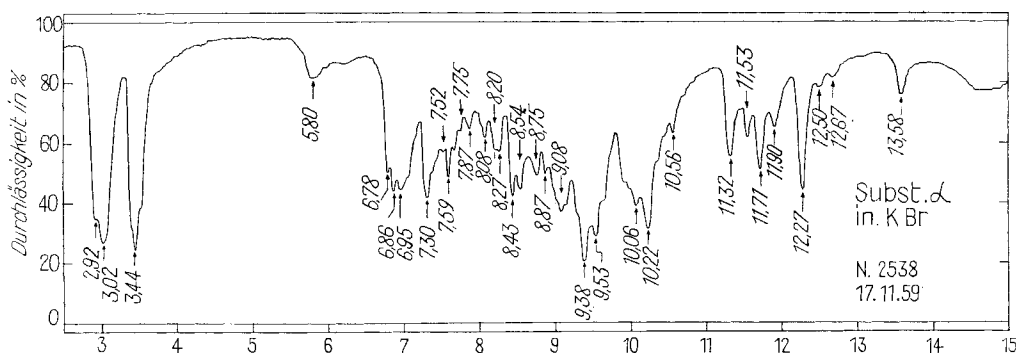


Fig. 13. IR.-Absorptionsspektrum von Substanz α, fest in KBr mit NaCl-Prisma⁶⁴) (1,41 mg pro Pastille)

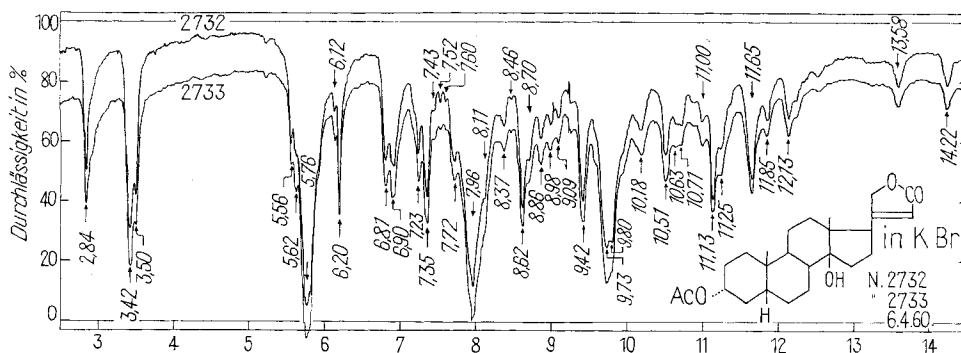


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum von 3-O-Acetyl-3-epi-digitoxigenin (VI), fest in KBr mit NaCl-Prisma⁶⁴)

Kurve 2732 = Präparat aus *Pachycarpus distinctus* (1,20 mg pro Pastille). Kurve 2733 = teil-synthetisches Präparat, um 10% nach unten versetzt

und sublimierte bei 0,01 Torr und 180–182° nur sehr langsam. Die Xanthhydrol-Probe²²⁾ war negativ. Nach energischer saurer Hydrolyse war im Papierchromatogramm nur Glucose nachweisbar. – In der Pflanze dürfte Glykosid α nicht nur als solches, sondern auch mit noch mehr gebundener Glucose vorgelegen haben, da es auch nach Fermentierung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts isoliert werden konnte.

Von den übrigen drei Stoffen, E₃, N und P, die in den Ae- und Chf-Extrakten papierchromatographisch nachgewiesen waren, dürfte E₃ ein Glykosid eines 2-Desoxyzuckers (evtl. Digitoxose) darstellen. Die polaren Stoffe N und P konnten bisher mit keiner bekannten Substanz in Beziehung gebracht werden. Dasselbe gilt für die noch stärker polaren Stoffe Q, R, S, T, U und V der Chf- und Chf-Alk-Extrakte. Nach den Resultaten der Fermentierungsversuche dürften sie jedoch Glucoside darstellen, die D-Glucose gebunden enthalten.

Diskussion der Ergebnisse. – Die bisherigen Resultate zeigen, dass die Wurzeln von *Pachycarpus distinctus* relativ reich an Cardenoliden sind. Ein Teil davon liegt in Form freier Genine und schwach polarer Monoglykoside vor, von denen zwei nur Digitoxose als Zucker enthalten. Die Hauptmenge besteht aus stark wasserlöslichen Glykosiden, die vermutlich Derivate der oben genannten Stoffe mit 1–2 Mol glykosidisch gebundener D-Glucose darstellen. Tab. 8 zeigt einen Vergleich mit dem verwandten *Pachycarpus schinzianus*⁴⁾. Daraus ist ersichtlich, dass einige Stoffe

Tabelle 8. Vergleich der Genine und Monoglykoside mit 2-Desoxyzucker aus zwei *Pachycarpus*-Arten

Stoff	<i>Pachycarpus distinctus</i>	<i>Pachycarpus schinzianus</i>
Cymarín	–	+
Digitoxigenin	+	+
3-epi-Digitoxigenin . . .	+	+
Uzaringenin	–	±
Xysmalogenin	+	+
Bullosid	+	–
Cannogenin	+	–
Carpogenin	–	+
Pachygenin	+	+
Pachygenol	–	+
Cannodixosid	+	–
Sarmentogenin	+	–

in beiden Arten vorkommen, so Digitoxigenin, 3-epi-Digitoxigenin, Xysmalogenin und Pachygenin; andere konnten bisher nur in einer der beiden Arten aufgefunden werden. Dies könnte teilweise daran liegen, dass die Trennung dieser Stoffe recht schwierig ist⁶⁵⁾. Cannogenin und Carpogenin oxydieren sich ausserdem besonders rasch an der Luft. In *Pachycarpus distinctus* haben wir jedoch speziell noch den Flecken des Cymarins, Pachygenols und Carpogenins gesucht und bei den entsprechenden Chromatogrammen die reinen Stoffe zum Vergleich mitlaufen gelassen, ohne

⁶⁵⁾ Uzaringenin und 3-epi-Digitoxigenin zeigen im Papierchromatogramm sehr ähnliche Laufstrecken, lassen sich aber im System Be/Fmd (Fig. 10) eindeutig differenzieren. Uzaringenin war in *P. distinctus* bisher nicht nachweisbar.

sie entdecken zu können. Wir glauben daher, dass sie abwesend waren. Beim Canno-genin besteht die Möglichkeit, dass es in *P. schinzianus* anwesend war, aber nicht entdeckt wurde, weil dieser Stoff zur Zeit der Untersuchung der Pflanze noch nicht bekannt war. Die zwei *Pachycarpus*-Arten unterscheiden sich demnach in der Zusammensetzung der Genine der von ihnen produzierten Cardenolide deutlich. Auch im Zuckeranteil sind Unterschiede merklich. Bei *P. distinctus* überwiegt als Desoxy-zucker die Digitoxose und bei *P. schinzianus* die Cymarose. In einer dritten *Pachy-carpus*-Art⁶⁶⁾ sind früher überhaupt keine Cardenolide, sondern viel Esterglykoside vom Sarcostin-Typ gefunden worden.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit, sowie Herrn Dr. EKKEHARD WEISS für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

Experimenteller Teil

Allgemeines. – Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Bestimmung der opt. Drehung und zur Aufnahme der UV.- und IR.-Spektren wurden 45 Min. bei 60–70° und 0,02 Torr getrocknet. Die Adsorptionschromatographie wurde nach dem Durchlaufverfahren⁶⁷⁾ an Al_2O_3 (WOELM, neutral⁶⁸⁾, wenn nichts anderes angegeben) durchgeführt. Ausführung der Papierchromatogramme von Cardenoliden⁶⁹⁾ und Desoxyzuckern⁴⁵⁾ der Xanthydrol-Reaktion²²⁾, der Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 ⁷⁰⁾ und der KEDDE-Reaktion¹⁰⁾ nach früheren Angaben.

Für Lösungsmittel wurden folgende Abkürzungen verwendet: $(\text{Ac})_2\text{O}$ = Acetanhydrid, AcOH = Eisessig, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, Fmd = Formamid, «Gemisch» = Chf-Me-Äthylacetat-(1:1:1), Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, Pe = Petroläther, Pgl = Propylen-glykol, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser. Ferner bedeuten ML = eingedampfte Mutterlauge und Pchr = Papierchromatographie oder Papierchromato-gramm(e). Die Verhältniszahlen beziehen sich stets auf Volumteile.

Ausführung der Acetylierungen. a mg Substanz wurden mit 10a mg Py und 8a mg $(\text{Ac})_2\text{O}$ 48 Std. bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Dann wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Ae-Chf-(4:1) aufgenommen und nacheinander mit 2N HCl (2mal), W, 2N Na_2CO_3 und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft.

Ausführung der milden sauren Hydrolyse²⁴⁾. 3 mg Glykosid wurden in 1 ml Me gelöst, mit 1 ml 0,1N H_2SO_4 versetzt und 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 1,5 ml W ver-dünnt und das Me im Vakuum abdestilliert. Die verbleibende wässrige Lösung wurde 30 Min. auf 65° erwärmt, abgekühlt und viermal mit Chf oder Chf-Ae-(1:4) ausgeschüttelt. Die organi-schen Auszüge wurden mit W, 10-proz. KHCO_3 -Lösung und W gewaschen, über Na_2SO_4 ge-trocknet und im Vakuum eingedampft (Geninteil). Die wässrige Lösung sowie das erste Wasch-wasser wurden vereinigt, im Vakuum von Chf-Resten befreit und mit frisch bereitetem, neutral gewaschenem BaCO_3 neutralisiert. Die neutrale, klar zentrifugierte Lösung wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (Zuckerteil) diente für die papierchromatographische Unter-suchung⁴⁵⁾.

Ausführung der präparativen Papierchromatographie. Diese wurde auf WHATMAN-Nr. 1-Papier (19×46 cm) nach früher beschriebener Methode³⁹⁾ ausgeführt. Auf den fertig entwickelten, getrockneten Papieren liessen sich die Substanzzonen meistens schon durch Betrachten im UV.-

⁶⁶⁾ *Pachycarpus lineolatus* (DECNE) BULLOCK, vgl. EVA ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1014 (1959).

⁶⁷⁾ T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Discuss. Farad. Soc. 1949, 305.

⁶⁸⁾ M. WOELM, Eschwege (Deutschland).

⁶⁹⁾ H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953); E. SCHENKER, A. HUN-GER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954); O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951).

⁷⁰⁾ Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).

Licht am Fluoreszenzschirm lokalisieren^{39) 54)}. Zur Kontrolle wurden von den Rändern noch schmale Streifen abgeschnitten und mit KEDDE-Reagens besprüht. Das Eluieren mit wässrigem Me und die Reinigung der Extrakte durch Ausschütteln geschah wie früher⁷¹⁾ beschrieben. Die so erhaltenen Rohextrakte wurden in den meisten Fällen noch grob an SiO_2 ⁷²⁾ chromatographiert.

Extraktion der Wurzeln. – *Probe a).* 960 g trockene Wurzelscheiben wurden pulverisiert, mit 3 Litern W und wenig To vermischt und 2 Tage bei 30° stehengelassen. Dann wurde wie üblich⁹⁾ mit wässrigem Alk steigender Konzentration (50–95%, achtmal) erschöpfend extrahiert, konzentriert und mit frisch bereitetem $\text{Pb}(\text{OH})_2$ gereinigt. Das Filtrat wurde bei pH = 6 im

Tabelle 9. *Chromatographie von 1,00 g Ae-Extr. A (1. Portion) an 30 g Al_2O_3*

Frak- tions- Nr.	Lösungsmittel (je 100 ml pro Fr.)	Eindampfrückstand					
		roh		Krist. aus Me-Ae			Weitere Verarbei- tung ⁷⁴⁾
		Menge in mg	KEDDE-R., bzw. Flecke im Pchr ¹²⁾	Menge in mg	Smp. °C	Flecke ¹²⁾ im Pchr	
1–4	Be bis Be-Chf-(95:5)	5	negativ	—	—	—	verworfen
5 6	„ „ -(90:10) „ „ -(75:25)	32	A	—	—	—	Al_2O_3
7–8	„ „ -(50:50)						
9 10	„ „ -(50:50) Chf	128	B, C_1 , D	33	225–235	(B), D	(Gr. 1)
11–12	Chf						
13–16	Chf-Me-(99:1) bis -(95:5)	159	C_2 , D, (E_1), E_2 , E_3	—	—	—	Gr. 2
17–20	„ „ -(90:10)	55	(D), E_1 , E_2 , E_3	—	—	—	Gr. 3
21–26	«Gemisch» mit 1–4% AcOH	330	(E_2), (E_3)	—	—	—	verworfen

Vakuum vom Alk befreit und wie früher beschrieben mit Ae, Chf, Chf-Alk-(2:1) und -(3:2) fraktioniert ausgeschüttelt. Tab. 1 gibt eine Übersicht über die hierbei erhaltenen Rohextrakte (Extrakte A), sowie ihre Untersuchung durch Pchr. Der rohe Ae-Extrakt A wurde noch durch Verteilung zwischen 80-proz. Me und Pe entfettet («gereinigter Ae-Extrakt A» und Pe-Extrakt A).

Probe b). 980 g trockene Wurzelscheiben wurden nach der oben beschriebenen Methode extrahiert⁷³⁾. Beim Abdestillieren des Alk fielen 56,6 g gelbliches Material in Flocken aus. Es war KEDDE-negativ, leicht löslich in Pe und wurde nicht weiter untersucht. Die trübe, wässrig-alkoholische Lösung wurde wie bei Probe a) weiterbearbeitet und lieferte die in Tab. 1 genannten Extrakte (Extrakte B).

Untersuchung des Äther-Extraktes A. 2,80 g des gereinigten Ae-Extr. A (entspr. 880 g Wurzeln; nach Pchr die Stoffe A, B, (C_2), C_1 , D, (E_1), E_2 und (E_3)¹²⁾ enthaltend) wurden in zwei Portionen an Al_2O_3 chromatographiert (vgl. Tab. 9 und 10).

Total resultierten 76 mg reines B und 135 mg reines D sowie 33 mg Mischkristalle (B+D). Die Verarbeitung der amorphen Anteile und ML geschah wie folgt:

Die Fr. 5–6 (Tab. 9) und 10–11 (Tab. 10) wurden zusammen mit der ML von Fr. 12 (Tab. 10) an 1,0 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf-(75:25) bis Chf eluierten Anteile (24 mg) gaben aus Me-Ae 15,2 mg reine Subst. A, nach Umkristallisieren farblose Prismen, Smp. 240–250°.

⁷¹⁾ Vgl. z. B. W. SCHMID u. Mitarb.⁴⁾, bes. S. 108–109.

⁷²⁾ Korngrösse 0,15–0,3 mm.

⁷³⁾ Ausgeführt von Herrn R. GÖSCHKE. Vor der Extraktion mit wässrigem Alk wurde nur 3 Std. ohne To-Zusatz bei 20° in W weichen gelassen.

Tabelle 10. *Chromatographie von 1,80 g Ae-Extr. A (2. Portion) an 60 g Al₂O₃*

Fraktions Nr.	Lösungsmittel (je 200 ml pro Fr.)	Eindampfrückstand					
		roh		Kristalle aus Me-Ac			Weitere Verarbeitung ⁷⁴⁾
		Menge in mg	KEDDE-R. bzw. Flecke im Pchr 12)	Menge in mg	Smp. °C	Flecke im Pchr ¹²⁾	
1–9	Be bis Be-Chf-(95:5)	10	negativ	—	—	—	verworfen
10–11	Be-Chf-(90:10)	49	A	—	—	—	Al ₂ O ₃
12–13	„ „ -(90:10)	82	A, B, (C ₁)	16	248–260	B	(Al ₂ O ₃ u. Gr. 1)
14–16	„ „ -(90:10)	88	B, C ₁	20	248–260	B	(Gr. 1)
17–19	„ „ -(90:10)	51	B, C ₁ , D, (E ₂)	—	—	—	Gr. 1
20–23	„ „ -(75:25)	82	B, C ₁ , D, (E ₂)	—	—	—	Gr. 1
24	„ „ -(50:50)	62	B, C ₁ , D, (E ₂)	12	245–255	B	(Gr. 1)
25–28	„ „ -(50:50)	211	B, C ₁ , D, E ₂	40	220–230	D	(Gr. 1)
29–36	„ „ -(50:50) bis Chf	295	D, E ₁ , E ₂ , E ₃	80	220–230	D	(Gr. 3)
37–43	Chf-Me-(99:1) bis -(95:5)	250	C ₂ , E ₁ , E ₂ , E ₃	—	—	—	Gr. 2
44–47	Chf-Me-(90:10) bis -(75:25)	112	E ₁ , E ₂ , E ₃	—	—	—	Gr. 3
48–56	«Gemisch» + 1–4% AcOH	ca. 500	(E ₂), (E ₃)	—	—	—	verworfen

Versuche aus weiteren Fraktionsgruppen von Tab. 9 und 10 durch wiederholte Chromatographie an Al₂O₃ noch krist. Stoffe zu isolieren, führten lediglich zur Gewinnung von 5 mg reinem B, Smp. 248–258°, und zur Abtrennung von 165 mg KEDDE-negativem Material. Daher wurden alle amorphen KEDDE-positiven Anteile und ML, welche die Stoffe B, C₁, C₂, D, E₁, E₂ und E₃ enthielten, wie in Tab. 11 angegeben in drei Gruppen vereinigt und durch präp. Pchr³⁶⁾³⁹⁾ getrennt.

Die ausgeschnittenen Zonen wurden wie früher³⁹⁾ extrahiert und die Extrakte von Fmd befreit. Die Ausbeuten an solchen rohen Eluaten sind aus Tab. 3 (Theoret. Teil) ersichtlich,

Tabelle 11. *Zusammenfassung der amorphen Anteile des Ae-Extr. A in drei Gruppen zur Trennung durch präp. Pchr*

Verwendetes Material			Präparative Papierchromatographie			
Gr. Nr.	Menge in mg	Flecke im Pchr	Zahl der Papiere	System	Laufzeit in Std.	Bemerkungen
1	360	B, C ₁ , D, (E ₂)	60	Be-Chf-(7:5)/Fmd	10–11	B abgetropft
2	300	C ₂ , (D), (E ₁), E ₂ , (E ₃)	40	„ „	10–11	—
3	490	(D), (E ₁), E ₂ , E ₃	80	Chf/Fmd	6	enthält viel KEDDE-negatives Material

⁷⁴⁾ Für amorphe Fraktionen sowie (in Klammern) ML von Kristallen. Die Kristalle stellen Endprodukte dar. Zusammenfassung in Gruppen vgl. Tab. 11.

ebenso die Ausbeuten an Kristallen nach Reinigung an SiO_2 . Im folgenden werden noch einige Erklärungen gegeben.

Gruppe 1. Dies Material zeigte im Pchr bei Entwicklung mit KEDDE-Reagenz die erwähnten vier Flecke B, C_1 , D und (E_2). Bei Betrachtung des noch nicht besprühten Pchr im UV.-Licht³⁹⁾ ⁵⁴⁾ war ausserdem zwischen D und E_2 noch eine schwach absorbierende Bande (Zone α) sichtbar. Zur präparativen Trennung auf Papier wurde Subst. B abtropfen gelassen, um eine möglichst gute Trennung der langsamer wandernden Stoffe zu erreichen. Auch die α -Zone wurde eluiert. Die C_1 -Zone gab 24 mg braungelben Schaum, der auch nach Chromatographie an SiO_2 keine Kristalle lieferte. Er wurde wie üblich³⁶⁾ acetyliert. Das Rohprodukt (25 mg) gab nach Reinigung an SiO_2 (17,8 mg) aus An-Ae 10,0 mg reines O-Acetyl- C_1 in farblosen kleinen Prismen, Smp. 203–208°. Die weiteren Resultate sind aus Tab. 3 ersichtlich.

Tabelle 12. *Chromatographie von 3,40 g Ae-Extr. B an 120 g Al_2O_3*

Frak- tions- Nr.	Lösungsmittel (je 350 ml pro Fraktion)	Eindampfrückstand					
		roh		Kristalle aus Me-Ae			Weitere Verarbei- tung ⁷⁴⁾
		M. in mg	KEDDE-R. bzw. Flecke im Pchr ¹²⁾	Menge in mg	Smp. °C	Flecke in Pchr ¹²⁾	
1–9	Be-Chf-(90:10) bis -(80:20)	337	negativ	—	—	—	verworfen
10–11	„ „ -(60:40)	136	A, B	14	250–258	B	(Präp. Pchr für M)
12–13	„ „ -(60:40)	116	A, M, B				
14–16	„ „ -(40:60)	284	B, C_1 , (E_2)	84	250–256	B, (C_1), (E_2)	(Präp. Pchr zur Isolierung von C_1 und E_2)
17	„ „ -(40:60)	40	B, C_1 , E_2	4	195–205	C_1	
18–19	„ „ -(20:80)	98	B, C_1 , D, E_2	9,5	240–250	E_2 , (C_1), (D)	
20–21	„ „ -(20:80)	140	(B), (C_1), D, E_2	20	236–256	E_2 , (C_1), (D)	ML nicht getrennt
22–27	„ „ -(20:80)	356	D, E_2	90	216–236	D	
28–30	Chf	97	D, E_2	25	225–237	D	
31–34	Chf-Me-(99:1)	272	C_2 , D, (E_1), E_2 , (E_3)	—	—	—	Präp. Pchr für C_2
35–41	„ „ -(98:2) bis -(85:15)	260	D, E_1 , E_2 , E_3	—	—	—	nicht getrennt
42–45	«Gemisch» + 1–4% AcOH	963	schwach positiv	—	—	—	verworfen

Gruppe 2. Die Zonen von E_2 und E_3 waren wegen ihrer kurzen Laufstrecken nur unvollständig getrennt. Das Eluat der E_2 -Zone enthielt noch E_3 ; es blieb auch nach Reinigung an SiO_2 (13,4 mg) amorph.

Gruppe 3. Die kaum nachweisbaren Zonen von D und E_3 wurden hier nicht extrahiert. Die Zonen von E_1 und E_2 lieferten nur wenig KEDDE-positives Material, das nicht kristallisierte.

Untersuchung des Äther-Extraktes B. — 3,40 g (entspr. 962 g Wurzeln) wurden an 120 g Al_2O_3 chromatographiert (vgl. Tab. 12).

Die ML der Fr. 12–13 von Tab. 12 (164 mg) diente mit 3 anderen Konzentraten zusammen zur Isolierung von M (siehe unten).

Präp. Pchr der ML der Fr. 14–19 von Tab. 12. Dieses Material (ca. 300 mg) wurde auf 40 Papierblättern im System Chf/Fmd ($2\frac{1}{2}$ Std.) präp. getrennt. Nur die C_1 - und E_2 -Zonen wurden eluiert und die Eluate von Fmd befreit⁷⁴⁾. Die C_1 -Zone (75 mg roh) gab nach Reinigung an 2 g

Al_2O_3 (BROCKMANN) 40 mg farblosen Schaum. Aus Me-Ae 15,2 mg farblose Blättchen, Smp. 145/185/195–205°.

Die E_2 -Zone (11,1 mg roh) gab aus Me-Ae 3,3 mg farblose Prismen, Smp. 245/255–262°.

Präp. Pchr der Fr. 31–34 von Tab. 12. Dieses Material (272 mg) wurde auf 34 Papierblättern im System Be-Chf-(7:5)/Fmd ($5\frac{1}{2}$ Std.) getrennt. Nur die C_2 - und E_1 -Zonen wurden eluiert.

Die C_2 -Zone gab 40 mg Rohprodukt; dieses lieferte nach Chromatographie an 1,5 g Al_2O_3 24 mg farblosen Schaum. Aus Me-Ae 18,0 mg farblose kleine Prismen, Smp. 219–222°.

Die E_1 -Zone lieferte 21 mg Rohprodukt, gab aber auch nach Reinigung an SiO_2 keine Kristalle.

Untersuchung des Chloroform-Extraktes A. – 3,0 g Chf-Extr. A (entspr. 847 g Wurzeln, enth. die Stoffe (A), (B), (C_2), (C_1), D, (E_1), E_2 , E_3 , (N) und (P)) wurden an 90 g Al_2O_3 chromatographiert (vgl. Tab. 13).

Tabelle 13. Chromatographie von 3,0 g Chf-Extr. A an 90 g Al_2O_3

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel (je 300 ml pro Fraktion)	Eindampfdruckstand					Weitere Verarbeitung ⁷⁴⁾
		roh		Krist. aus Me-Ae			
		Menge in mg	Flecke im Pchr ¹²⁾	Menge in mg	Smp. °C	Flecke im Pchr ¹²⁾	
1-2	Be-Chf-(90:10)	23	(A), (B)	—	—	—	nicht getrennt
3	„ „ -(75:25)	28	A, B, (C ₁), (C ₂), (E ₂)	—	—	—	Hydrolyse
4	„ „ -(50:50)	102	(B), D, (E ₂)	65	225-235	D, (E ₂)	(Hydrolyse)
5-8	„ „ -(50:50)	134	D, (E ₂)	72	225-235	D, (E ₂)	(Hydrolyse)
9-10	Chf	45	(D), E ₂ , E ₃ , (N)	—	—	—	Hydrolyse
11-12	Chf-Me-(98:2)	190	(D), (E ₁), E ₂ , E ₃ , (N)	—	—	—	
13-21	„ „ -(98:2) bis -(90:10)	449	(D), E ₁ , E ₂ , E ₃ , N	—	—	—	
22-23	„ „ -(75:25)	75	(E ₁), E ₂ , E ₃ , N, P	—	—	—	
24-31	«Gemisch» mit 0,5-5% AcOH	1378	(E ₁), E ₂ , E ₃ , N, P	—	—	—	

Milde saure Hydrolyse. Die ML der Fr. 4–8 sowie die amorphen Fr. 3 und 9–31 gaben positive Xanthhydrol-Reaktion. Dieses Material wurde vereinigt (ca. 2,2 g), in 70 ml Me gelöst, mit 70 ml 0,1 N H_2SO_4 versetzt und 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 70 ml W versetzt, das Me im Vakuum bei 40° abdestilliert und die saure wässrige Lösung noch 60 Min. auf 65° erwärmt. Nach Abkühlen wurde mit Ae, dann mit Chf ausgeschüttelt (lieferte «C»-Extrakte). Die saure wässrige Phase und das erste Waschwasser der C-Extrakte wurden vereinigt, mit frisch vorbereitetem BaCO_3 neutralisiert, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in An aufgenommen, filtriert und die klare Lösung eingedampft (= roher Zucker). Die Ausbeuten und die Zusammensetzungen sind aus Tab. 4 ersichtlich. – Der Ae-Extr. C zeigte im Pchr (Fig. 3) 8–9 Flecke. Der starke Fleck O wurde hier erstmals beobachtet. Das Material wurde an 15 g Al_2O_3 chromatographiert. Dabei gelang es nicht, reine Kristalle zu erhalten, alle Fr. waren Gemische von 2–5 Stoffen. Die Fr. 6–12 (64 mg, eluiert mit Be-Chf-(9:1) bis -(1:1)) enthielten (K), (L), A, M, B, C_1 und C_2 ; sie dienten zur Isolierung von M (siehe unten). – Der Chf-Extr. C enthielt ebenfalls Subst. O; auch hier gelang es nicht, durch Chromatographie an Al_2O_3 Kristalle zu isolieren. – Die Wasserphase C (= roher Zucker) enthielt noch hoch polares KEDDE-positives Material, das sich auch durch Chromatographie an Kohle-Kieselgur-(1:1)⁷⁵⁾ nicht völlig abtrennen liess. Im Pchr war bei Entwicklung mit Anilinium-hydrogen-phthalat⁴⁴⁾ in den Systemen To-Bu-(4:1)/W und To-Mek-(1:1)/W⁴⁵⁾ nur Digitoxose sicher nachweisbar.

⁷⁵⁾ W. J. WHELAN, J. M. BAILEY & P. I. P. ROBERTS, J. chem. Soc. 1953, 1293.

Untersuchung des Chloroform-Extraktes B. – 4,0 g Chf-Extr. B (entspr. 855 g Wurzeln) wurden wie oben an 120 g Al_2O_3 chromatographiert. Es wurden 24 mg krist. E_2 und 24 mg krist. D, das noch eine Spur E_2 enthielt, erhalten. Eine Trennung der verbleibenden Gemische erfolgte nicht.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extraktes A. – 10,5 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. A (entspr. 862 g Wurzeln) wurden in 100 ml W gelöst, mit 20 g TAKA-Amylase⁴⁶), 1 ml To und 3 Tropfen AcOH 8 Tage bei 37° unter CO_2 stehengelassen (gelegentlich durchgeschüttelt). Dann wurde mit 500 ml abs. Alk versetzt, kurz aufgekocht und die flockige Fällung durch Kieselgur (Celite) abgenutscht und mit Alk gewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum auf 25 ml eingengt und je 4mal mit 25 ml Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt («D-Extrakte»). Übliches Waschen usw. gab die in Tab. 5 genannten Ausbeuten. – Der Chf-Extr. D (2,44 g, zeigte 11 Flecke (A), M, B, C_1 , C_2 , D, (E_1), E_2 , (E_3), N und P) wurde an 124 g SiO_2 chromatographiert. Dabei liessen sich 89 mg B vom Smp. 244–258° und 61 mg D vom Smp. 216–225° in papierchromatographisch reiner Form abtrennen. Die mit Chf-Me-(98:2) eluierten Anteile lieferten ferner 28 mg krist. Substanz α , Smp. 180–200°. Die Fr. 11–12 (147 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2)), bestehend aus A, M, B, (C_1), (C_2) und D, dienten zur Isolierung von M (siehe unten). Das mit Chf-Me-(95:5) eluierte Material (1,0 g, enthaltend die Stoffe (C_2), (C_1), D, E_1 , E_2 , E_3 und N) gab positive Xanthhydrol-Reaktion. Es wurde wie oben mit 0,05N H_2SO_4 in 50-proz. Me²⁴) hydrolysiert und gab 830 mg Chf-lösliche Anteile und ca. 160 mg W-lösliche Anteile (roher Zucker). Erstere zeigten im Pchr die Flecke (K), A, M, B, C_1 , O, D, E_2 und N. Chromatographie an Al_2O_3 lieferte keine Kristalle; die dabei erhaltene Fr. 8 (25 mg, eluiert mit Chf-Me-(98:2), enthaltend A, M und B) diente zur Isolierung von M (siehe unten). Der W-lösliche Teil der Hydrolyse war noch KEDDE-positiv und zeigte im Pchr in den Systemen To-Bu-(4:1)/W und To-Mek-(1:1)/W beim Entwickeln mit Anilinium-hydrogen-phthalat einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie Digitoxose.

Isolierung von M. Die vier genannten Konzentrate, die nach Pchr M enthielten (total 400 mg), wurden auf 40 Papierblättern im System Be/Fmd (8 Std.) präparativ getrennt³⁸). Die M-Zonen lieferten 34 mg rohes Eluat (vom Fmd befreit). Aus Me-Ae 14 mg farblose Prismen, Smp. 272–282°.

Orientierende Untersuchung der Chloroform-Alkohol-Extrakte B. – Je 1 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. B und Chf-Alk-(3:2)-Extr. B wurden in je 50 ml W und 1,5 g TAKA-Amylase⁴⁶) wie oben fermentiert. Über das Resultat orientiert Tab. 5. Eine weitere Trennung des fermentierten Materials erfolgte nicht.

Beschreibung der isolierten Stoffe. – Substanz A = Digitoxigenin. Aus Me-Ae farblose, gut ausgebildete Prismen, Smp. 240–250°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +18,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,79$ in Me). Mischprobe mit authentischem Digitoxigenin ohne Depression; auch die Laufstrecken im Pchr (System von Fig. 2) und die Farbfolgen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Mono-O-acetyldigitoxigenin. 8,0 mg Subst. A wurden wie üblich³⁶) acetyliert. Aus Pe-Ae 5,2 mg farblose kl. Prismen, Smp. 214–222°. Mischprobe mit authentischem Mono-O-acetyldigitoxigenin ohne Depression. Die Laufstrecken im Pchr (System Be-Cy-(1:1)/Fmd) und die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Substanz M = 3-epi-Digitoxigenin. Aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 272–282°, $[\alpha]_{\text{D}}^{27} = +25,3^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,49$ in Me). Mischprobe mit authentischem 3-epi-Digitoxigenin ohne Depression; auch die Laufstrecken im Pchr (System Be/Fmd) und die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Mono-O-acetyl-3-epi-digitoxigenin. 18 mg Subst. M (Kristalle + ML) wurden wie üblich acetyliert. Aus Ae-Pe 13,7 mg farblose Prismen, Smp. 205–210°, $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +42,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,43$ in Chf). Mischprobe mit authentischem Material ohne Depression. Die Laufstrecken im Pchr (System Be/Fmd und Be-Cy (1:1)/Fmd) und die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich, ebenso die IR.-Absorptionsspektren in KBr (Fig. 14).

Substanz B = Xysmalogenin. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 248–258°, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Py), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +17,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,73$ in Chf). Mischprobe mit authentischem Xysmalogenin aus *Pachycarpus schinzianus*⁴⁾ ohne Depression. Tetranitromethanprobe⁷⁶) positiv (gelb). Laufstrecken im Pchr (System von Fig. 2) und Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 bei beiden Präparaten gleich; ebenso die IR.-Spektren in Nujol (Nr. 2056).

⁷⁶) K. REYLE & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 98 (1952); H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *ibid.* 38, 1721 (1955).

Mono-O-acetylxylobalogenin. 15,3 mg Subst. B wurden wie üblich³⁶⁾ acetyliert. Aus An-Pe ca. 10 mg farblose Nadeln, Smp. 242–255°, $[\alpha]_D^{25} = -4,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,9$ in Chf). Mischprobe mit authentischem Mono-O-acetylxylobalogenin⁴⁾ ohne Depression. Die Laufstrecken im Pchr (System Be-Cy-(1:1)/Fmd), die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ sowie die IR.-Spektren in CH₂Cl₂ (Nr. 2069) stimmten genau überein.

Subst. C₁ = Cannogenin. Aus Me-Ae farblose Blättchen, Smp. 145/185/200–210°, $[\alpha]_D^{23} = -13,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,62$ in Chf). Mischprobe mit authentischem Cannogenin aus *Apocynum cannabinum*²⁰⁾ ohne Depression; auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ und die Laufstrecken im Pchr (Systeme von Fig. 2 und 4) waren genau gleich.

Mono-O-acetylcannogenin. 14,0 mg Subst. C₁ wurden wie üblich acetyliert. Aus Me-Ae 8,5 mg farblose kleine Prismen, Smp. 200/215–225°, $[\alpha]_D^{24} = +1,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,52$ in Me). Mischprobe mit authentischem Mono-O-acetylcannogenin²⁰⁾ (Smp. 195/216–226°) ohne Depression. Die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ und die Laufstrecken im Pchr (System Be/Fmd und Be-Cy-(1:1)/Fmd) waren gleich; auch die IR.-Spektren in KBr (Nr. 2208 und 2392) stimmten überein.

Substanz C₂ = Bullosid (nicht ganz rein erhalten). Nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose unregelmäßige Körner, Smp. 220–223°, $[\alpha]_D^{24} = -10,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,68$ in Chf). Xanthidrol-Reaktion positiv (rot). Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄: braunorange (0'), dunkelbraun (5'), graubraun (20'), grau (60'). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alk (vgl. Fig. 11) zeigt ein Max. bei 216,5 mμ (log ε = 4,02) und eine Schulter zwischen 270 und 285 mμ (log ε ca. 1,49). Letztere rührt vermutlich von einer Verunreinigung her, da ein nicht umkristallisiertes Präparat bei 276 mμ ein Max. zeigte (log ε = 2,40) (Spektrum Nr. 3017). – *Mikrohydrolyse*. 4,0 mg Subst. C₂, Smp. 210–220°, wurden wie üblich²⁴⁾ mit 0,05N H₂SO₄ hydrolysiert. Der Geninteil (ca. 3 mg) gab nach Reinigung an Al₂O₃ Spuren von Kristallen, die jedoch KEDDE-negativ waren. Die ML zeigte im Pchr mit KEDDE-Reagens einen Fleck (*Bullogenin*), dessen Laufstrecke von derjenigen aller verglichenen Genine verschieden war (vgl. Fig. 8 und 9). Bei Entwicklung mit SbCl₃ in Chf und kurzem Erwärmen (10 Min., 70°) fluoreszierte er schwach braun (wie Digitoxigenin), während Oleandrogenin intensiv⁵⁴⁾ blaue Fluoreszenz gab. Ein Nebenfleck lief mit der Front (Anhydroprodukt). Der Zuckeranteil gab bei Prüfung im Pchr (System To-Bu-(4:1)/W und To-Mek-(1:1)/W)⁴⁵⁾ einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie D-Digitoxose (entwickelt mit Anilinium-hydrogenphthalat). Der relative Rf-Wert des C₂-Glykosides, bezogen auf Digitoxigenin-β-D-digitoxosid¹⁸⁾, betrug im System Be-Chf-(7:5)/Fmd (3¹/₂ Std.) 0,56 (vgl. Fig. 2 und 3).

Substanz D = Pachygenin. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 216–226°, $[\alpha]_D^{21} = -103,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,61$ in Chf), $[\alpha]_D^{25} = -107,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Py). Mischprobe mit authentischem Pachygenin aus *Pachycarpus schinzianus*⁴⁾ ohne Depression. Die Laufstrecken im Pchr (Systeme von Fig. 2 und 4), die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ sowie die IR.-Spektren in KBr (Nr. 2065 und 2066) und die UV.-Spektren in Alk (Nr. 2755) waren gleich.

Mono-O-acetylpachygenin. 42 mg Subst. D wurden wie üblich³⁶⁾ acetyliert. Aus Me-Ae 27 mg farblose Nadeln, Smp. 272–282°, $[\alpha]_D^{27} = -139,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,97$ in Chf). Mischprobe mit authentischem Mono-O-acetylpachygenin⁴⁾ (Smp. 278–286°) ohne Depression. Auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ und die Laufstrecken im Pchr (Systeme Be/Fmd sowie Be-Cy-(1:1)/Fmd) waren gleich.

Subst. E₁ = Cannodixosid. Aus Me-Ae farblose kleine Prismen, Smp. 208–216°, $[\alpha]_D^{27} = -7,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,42$ in Chf). Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄: 0' gelbgrün, 10' bräunlich-violett, 30' rötlich-violett, 2 Std. braun. Xanthidrol-Reaktion positiv (rot). UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 11 und 12. E₁ läuft im papierchromatographischen System von Fig. 2–3 langsamer, im System von Fig. 4 jedoch schneller als D. – *Mikrohydrolyse*. Die ML der Subst. E₁ (20 mg) wurde wie üblich mit 0,05N H₂SO₄ hydrolysiert. Der Geninteil (14 mg) gab auch nach Reinigung an Al₂O₃ keine Kristalle. Im Pchr (Systeme von Fig. 2 und 4) zeigte er einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie Cannogenin (Subst. C₁). Der Zuckerteil (ca. 4 mg roh) gab im Pchr in den Systemen To-Bu-(4:1)/W und To-Mek-(1:2)/W⁴⁵⁾ einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie D-Digitoxose (entwickelt mit PARTIDGE-Reagens⁴⁴⁾).

Subst. E₂ = Sarmantogenin. Aus Me-Ae farblose Blättchen, Smp. 258–266°, $[\alpha]_D^{22} = +20,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,56$ in Me). Mischprobe mit authentischem Sarmantogenin ohne Depression. Auch die Laufstrecken im Pchr (System Chf/Fmd) und die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren genau gleich.

Di-O-benzoyl-sarmentogenin. 37 mg Subst. E_2 wurden in 1 ml Py gelöst, auf 0° abgekühlt, mit 0,3 ml Benzoylchlorid versetzt und 2 Std. bei 0°, dann noch 24 Std. bei 22° stehengelassen. Dann wurden 0,5 ml Me zugefügt und nach weiteren 2 Std. zur Trockne eingedampft. Dann wurde in Chf aufgenommen, mit 2N HCl (2 ×), 2N Na_2CO_3 und W (2 ×) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Reinigung an Al_2O_3 gab 20 mg gelblichen Schaum. Aus Chf-Ae 7,1 mg farblose Blättchen, Smp. 271–276°, $[\alpha]_D^{22} = +24,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,54$ in An)³²). Mischprobe mit authentischem Di-O-benzoyl-sarmentogenin (Smp. 274–278° [$+24,3$ An])³²) ohne Depression. Beide Präparate zeigten negative KEDDE-Reaktion und gaben mit 84-proz. H_2SO_4 genau die selben Farbfolgen.

Glykosid α. Aus An-Ae farblose, lange Nadeln, Smp. 180–182°, $[\alpha]_D^{27} = +35,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,5$ in Me). Zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 95° über P_2O_5 getrocknet (21% Gewichtsverlust)⁷⁷).

$C_{36}H_{60}O_8$ (620,84)	Ber. C 69,64	H 9,74%	
$C_{27}H_{44}O_6$ (464,62)	Ber. „ 69,79	„ 9,55%	Gef. C 69,82 H 9,61%

KEDDE-Reaktion negativ. Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 auf Tüpfelplatte: gelborange (0'), braun (2'), orangebraun (10'), braunorange (1 Std.), blass-braunorange (12 Std.). UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 11 und 13. Die Prüfung auf Phenole nach BARTON *et al.*⁶³) war negativ. Die Substanz beginnt erst kurz unterhalb des Smp. bei 0,02 Torr langsam zu sublimieren. Die Zuckerprüfung⁷⁸) war positiv. Zur Identifizierung des Zuckers wurden 2 mg Glykosid wie bei der Zuckerprüfung mit «KILIANI-Mischung»⁷⁹) hydrolysiert und aufgearbeitet. Die saure wässrige Phase zeigte im Pchr (Bu/W; 30 Std.) nur einen Fleck mit einer Laufstrecke wie Glucose.

ZUSAMMENFASSUNG

In den Wurzeln von *Pachycarpus distinctus* (N. E. BR.) BULLOCK wurden papierchromatographisch insgesamt 17 KEDDE-positive Stoffe nachgewiesen. 7 davon (A, M, B, C_1 , D, E_1 und E_2) wurden in reiner krist. Form, eine weitere, Subst. C_2 , als krist. Konzentrat isoliert und untersucht. Sechs der isolierten Substanzen waren mit bekannten digitaloiden Geninen identisch, nämlich mit Digitoxigenin (A), 3-epi-Digitoxigenin (M), Xysmalogenin (B), Cannogenin (C_1), Pachygenin (D) und Sarmentogenin (E_2). Die Subst. E_1 (Cannodixosid) war ein neues Glykosid, dem vermutlich die Struktur eines β -D-Digitoxosids des Cannogenins (Formel XIV) zukommt. Die in nicht ganz reiner, aber krist. Form isolierte Subst. C_2 (Bullosid) war ebenfalls ein vermutlich neues Glykosid der Digitoxose. Es enthält ein Genin (Bullogenin), das mit keiner bekannten Substanz identifiziert werden konnte. Bei den übrigen nur papierchromatographisch nachgewiesenen Cardenoliden dürfte es sich grösstenteils um glucosereichere Derivate der isolierten Genine und Glykoside handeln.

Ausserdem wurde noch ein KEDDE-negatives Glykosid der ungefähren Formel $C_{27}H_{44}O_6$ oder $C_{36}H_{60}O_8$ in krist. Form isoliert und charakterisiert.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

⁷⁷) Ausgeführt im Mikroanalytischen Laboratorium (Leitung Herr E. THOMMEN) unseres Institutes.

⁷⁸) P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).

⁷⁹) Mischung von 10 ml konz. HCl, 55 ml H_2O und 35 ml AcOH; vgl. H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 2866 (1930).