

- [6] C. A. GROB & H. R. KIEFER, *Helv.* **48**, 799 (1965).
- [7] C. A. GROB & H. J. WILKENS, *Helv.* **48**, 808 (1965).
- [8] C. A. GROB & S. W. TAM, *Helv.* **48**, 1317 (1965).
- [9] C. A. GROB, H. LINK & P. W. SCHIESS, *Helv.* **46**, 483 (1963).
- [10] F. E. KING, J. A. BARLTROP & R. J. WALLEY, *J. chem. Soc.* **1945**, 277.
- [11] H. B. HENBEST, G. D. MEAKINS & G. W. WOOD, *J. chem. Soc.* **1954**, 800.
- [12] R. D'ARCY, C. A. GROB, T. KAFFENBERGER & V. KRASNOBAJEV, *Helv.* **49**, 185 (1966).
- [13] P. BRENNEISEN, C. A. GROB, R. A. JACKSON & M. OHTA, *Helv.* **48**, 146 (1965).
- [14] E. E. VAN TAMELEN & J. E. BRENNER, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 3839 (1957); S. ARCHER, T. R. LEWIS & B. ZENITZ, *ibid.* **80**, 958 (1958); R. B. CLAYTON, H. B. HENBEST & M. SMITH, *J. chem. Soc.* **1957**, 1982.
- [15] A. T. BOTTINI & J. D. ROBERTS, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 5203 (1958); M. SAUNDERS & F. YAMADA, *ibid.* **85**, 1882 (1963); R. S. BERRY, *J. chem. Physics* **32**, 933 (1960).
- [16] J. LEVISALLE, *Bull. Soc. chim. France* **1960**, 551.
- [17] E. L. ELIEL, "Stereochemistry of Carbon Compounds", McGraw-Hill, New York 1962, S. 204 ff.
- [18] S. WINSTEIN & N. J. HOLNESS, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 5562 (1955).
- [19] J. MORITANI, S. NISHIDA & M. MURAKAMI, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 3420 (1959).
- [20] K. G. ARTZ, Dissertation, Basel 1963.
- [21] V. PRELOG & R. SEIWERTH, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **72**, 1639 (1939).
- [22] W. SIMON, *Chimia* **14**, 189 (1960).
- [23] C. A. GROB, H. P. FISCHER, H. LINK & E. RENK, *Helv.* **46**, 1190 (1963).
- [24] E. A. GUGGENHEIM, *Philosophical Magazine* **2**, 538 (1926).

51. Die Cardenolide der Samen von *Mansonia altissima* A. CHEV.¹⁾

Glykoside und Aglykone, 286. Mitt.²⁾

von H. Allgeier, Ek. Weiss und T. Reichstein

(11. I. 67)

1. Bisherige Untersuchungen. – *Mansonia altissima* A. CHEV. (*Sterculiaceae*) wächst als ansehnlicher Baum an der Elfenbeinküste, Goldküste und im südlichen Teil von Nigeria. Das Holz wird unter verschiedenen Namen (Bété, Pruno usw.) in der Möbelindustrie verwendet [2]; bei seiner Verarbeitung sind verschiedentlich Krankheitsfälle beobachtet worden [2]. Für die Elfenbeinküste ist die Verwendung der Rinde zur Bereitung von Pfeilgift bekannt [3].

PARIS *et al.* [4] haben in der Rinde Cardenolidglykoside nachgewiesen; sie isolierten ein amorphes Produkt, das sie Mansonin nannten [4c]. FRÈREJACQUE [5] isolierte erstmals ein krist. Cardenolidglykosid, das er ebenfalls Mansonin nannte und durch krist. Derivate (Acetylderivat, Oxim) charakterisierte. Kurz darauf berichtete UFFER [6] über die Isolierung von 6 krist. Cardenoliden (die Mansonine A, B, C, D, E und F), von denen keines mit dem Mansonin von FRÈREJACQUE identisch war³⁾ und von denen er mindestens eines als Artefakt ansah. SANDERMANN & DIETRICH [2] zeigten, dass im Holz ebenfalls Cardenolide vorkommen. Ausserdem konnten sie daraus drei krist.

¹⁾ Auszug aus Diss. H. ALLGEIER, Basel 1966.

²⁾ 285. Mitt. vgl. GEIGER *et al.* [1].

³⁾ Nach UFFER zeigten die Rinden verschiedener Provenienz teilweise stark verschiedene Eigenschaften. Der Baum scheint aber gelegentlich mit anderen Arten verwechselt zu werden.

Stoffe isolieren, nämlich Glykokollbetain, einen chinoiden Stoff, der das Allergen darstellt, und ein Kristallinat, für das sie eine Azulenstruktur vorschlugen. MARINI BETTÒLO *et al.* [7] haben kürzlich aus dem Holz 6 krist. Chinone isoliert, die sie als Mansonon A, B, C, D, E und F bezeichneten und für die sie Strukturformeln vorschlugen; Mansonon F soll vermutlich mit dem «Mansonia-Azulen» von SANDERMANN & DIETRICH [2] identisch sein. TANAKA *et al.* [8] haben inzwischen ebenfalls aus dem

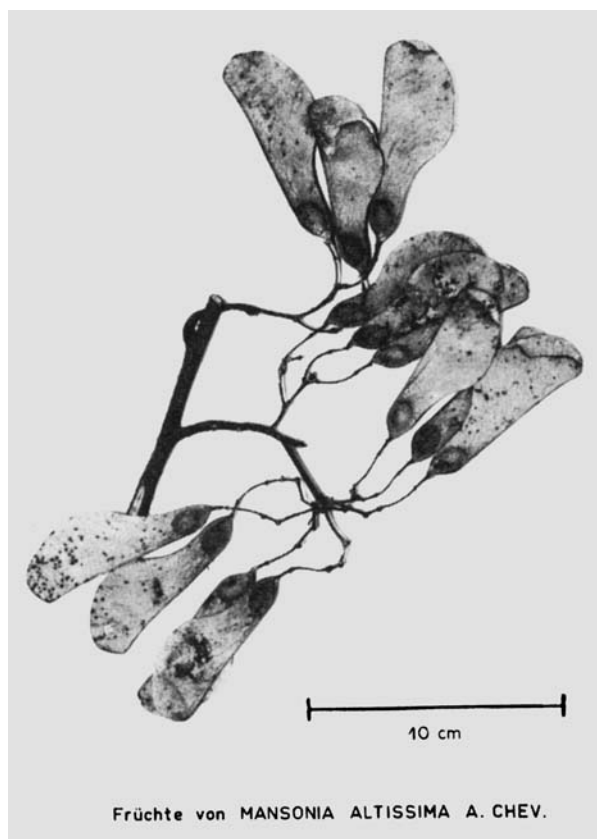


Fig. 1. *Mansonia altissima* A. CHEV., reife Früchte

Photo Dr. L. JENNY, Basel

Holz die Mansonone A, C, E und F isoliert und die früher vorgeschlagenen Formeln [7] zum Teil bestätigt, zum Teil abgeändert. Ausserdem isolierten sie 2 neue Chinone, die sie als Mansonon G und H bezeichneten und für die sie ebenfalls Formeln vorschlugen.

2. Ziel der vorliegenden Untersuchung. – Wir beschreiben hier die Analyse der Samen von *Mansonia altissima*. Es ist bekannt, dass bei cardenolidführenden Pflanzen die Samen oft andere Stoffe enthalten können als die vegetativen Teile; ausserdem sind sie oft reicher an Cardenoliden als diese (Lit. vgl. Fussnote 4 bei MÜHLRADT

et al. [9a]). Wir wollten feststellen, wie sich *Mansonia altissima* in dieser Beziehung verhält, und auch Material zur Konstitutionsermittlung gewinnen.

3. Beschaffung des Ausgangsmaterials. – Reife Früchte (vgl. Fig. 1) wurden unter persönlicher Aufsicht von Herrn Dr. PATEL⁴⁾ am 15. Febr. 1964 in dem «Akure Forest Reserve» in Westnigeria gesammelt, getrocknet (Trockengewicht 7,5 kg) und per Luftpost nach Basel spedit, wo sie uns am 27. Febr. 1964 in ausgezeichnetem

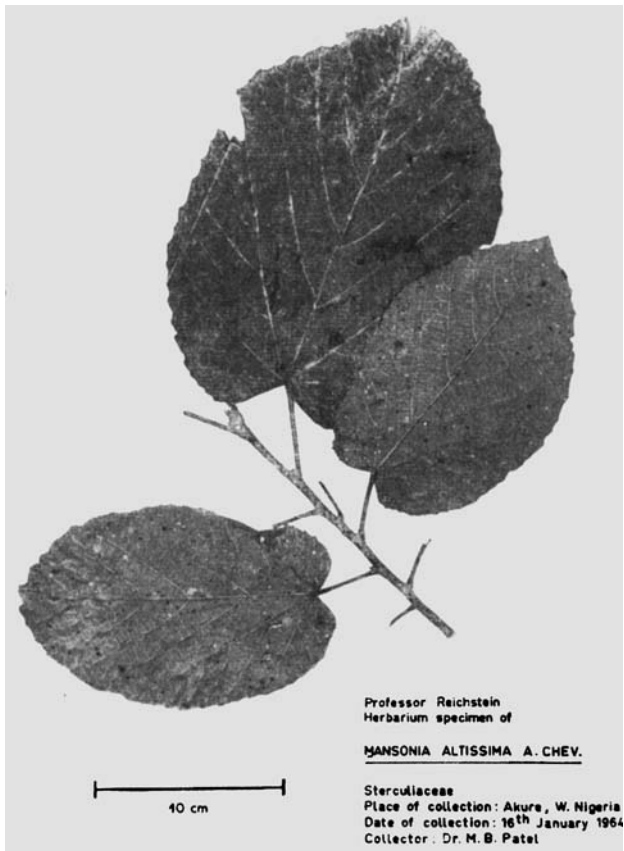


Fig. 2. *Mansonia altissima* A. CHEV., Herbariummuster mit Blättern

Photo Dr. L. JENNY, Basel

Zustand erreichten. Fig. 2 zeigt ein Herbariummuster, Fig. 3 ein Bild eines in unserem Institut aus den Samen gezüchteten Bäumchens.

4. Extraktion der Samen und Vortrennung der Extrakte⁵⁾. – 3150 g Früchte wurden von den Schalen nebst Flugapparat befreit⁶⁾ und lieferten 1550 g braune,

⁴⁾ Wir danken auch hier Herrn Dr. M. B. PATEL, damals Ibadan, Westnigeria, bestens für die Beschaffung der Früchte.

⁵⁾ Ausgeführt Ende März 1964, d. h. bereits 6 Wochen nach der Ernte.

⁶⁾ Wir danken allen freiwilligen Helfern, die uns bei dieser mühsamen Arbeit tatkräftig unterstützt haben.

stark bittere Samen. Die Fruchtschalen mit Flugapparat hatten keinen besonderen Geschmack und wurden verworfen.

4.1. *Vorproben*. 100 g Samen wurden gemahlen, mit Petroläther entfettet und in zwei gleiche Portionen geteilt. Um festzustellen, ob das Pulver Glykoside von Oligosacchariden enthält, die sich mit anwesenden Fermenten teilweise spalten lassen, wurde ein Teil (40 g) erst nach «Fermentierung» – ungefähr nach früherer Vorschrift [10] zwei Tage bei 35° in Wasser unter CO₂ geweicht – und der andere Teil (40 g)

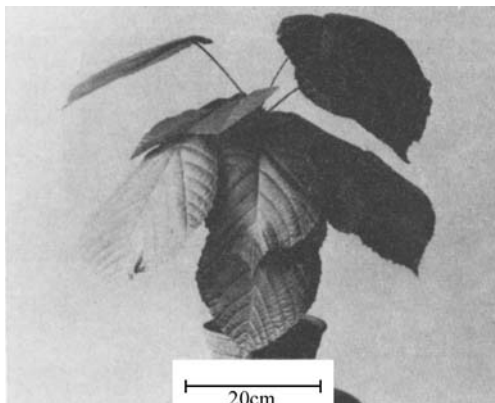


Fig. 3. *Mansonia altissima* A. CHEV., Topfkultur, ca. 18 Monate alt, gezüchtet von Herrn E. THOMMEN⁷⁾ in unserem Institut

Photo T. REICHSTEIN

direkt mit heissem Alkohol extrahiert. Die Ausbeuten bei der fraktionierten Ausschüttelung [10] waren innerhalb der Fehlergrenze gleich, und die Extrakte zeigten in Papierchromatogrammen (Pchr) gleiche Flecke. Es war somit kein fermentativer Abbau nachweisbar. Trotzdem wurde bei der Verarbeitung der Hauptmenge mit Wasser vorgeweicht, weil dies die Aufarbeitung etwas erleichterte.

4.2. *Hauptversuch*. 1440 g Samen wurden fein gemahlen, bei 25° mit Petroläther entfettet und das verbliebene Pulver (ca. 1,08 kg) wie oben in Wasser geweicht und anschliessend mit wässrigem Alkohol von steigendem Alkoholgehalt (50 bis 96%) erschöpfend extrahiert. Von einer Reinigung mit Pb(OH)₂ konnte abgesehen werden. Nach Entfernung des Alkohols im Vakuum wurde die wässrige Suspension fraktioniert ausgeschüttelt [10] und lieferte die in Tab. 1 genannten Ausbeuten an Rohextrakten. Beim Eindampfen des Ätherextraktes kristallisierte bereits ein Teil aus (0,56 g rohes Mansonin). Die rohen Extrakte zeigten mit KEDDE-Reagens [11]⁸⁾ sehr starke Färbung, mit Xanthydrolreagens [12] wurde keine Rotfärbung erhalten, so dass keine 2-Desoxyzucker darin vorhanden waren.

4.3. *Kontrolle durch Papierchromatographie (Pchr)*. Für die Kontrolle dieser Extrakte wurde fast ausschliesslich Pchr verwendet, die Dünnschichtchromatographie

⁷⁾ Herrn E. THOMMEN sei auch hier bestens für die Züchtung dieses Bäumchens gedankt.

⁸⁾ Dieses Reagens gibt mit allen Butenoliden violette Flecke; Empfindlichkeit bei direktem Tüpfeln auf Papier ca. 0,002 mg, im Pchr ca. 0,005 mg.

Tabelle 1. *Ausbeute an Rohextrakten aus 1440 g getrockneten Samen von *Mansonia altissima*.*

Art des Extraktes ⁹⁾	Menge		Flecke im Pchr ¹⁰⁾ bei Entwicklung mit KEDDE-Reagens [11] ⁸⁾
	in g	in %	
Pe	359,0	24,90	KEDDE-negativ
Ae krist.	0,56		(A), (B), E, (G), (H)
Ae amorph	2,01	0,18	(A), (B), (C), (D), E, (G), (H), (J)
Chf	9,25	0,64	E, (G), (H), (H'), (J), (J'), K, (L), (N)
Chf-Alk-(2:1)	6,50	0,45	(E), K, (L), N, O, (O'), P, (P'), Q, R, S, (S'), (S''), T
Chf-Alk-(3:2)	3,11	0,22	(N), (Q), R, (S), (S'), (S''), (T)

an SiO_2 gab keine brauchbaren Trennungen. Für die Pchr der *Mansonia*-Cardenolide waren die 6 in Fig. 4–9 genannten Systeme brauchbar; die vollständige Differenzierung gelang teilweise aber erst nach vorgängiger präparativer Anreicherung. Es konnten insgesamt 30 Cardenolide nachgewiesen werden, die (ungefähr nach steigender Polarität geordnet) mit den Buchstaben A, B, C, D, E, G, H, H', J, J', K, L, N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N', O, O', P, P', Q, R, S, S', S'' und T bezeichnet wurden. Viele davon waren nur in Spuren anwesend. Hauptbestandteile waren E, K, N (N1–N7, nicht getrennt), O, P, Q, R, S und T, die auch in den Extrakten ohne Vortrennung direkt nachweisbar waren. Von diesen sind die in Tab. 2 genannten Stoffe in reiner Form isoliert worden (siehe unten).

5. Präparative Trennungen. – 5.1. *Trennung des Äther-Extraktes.* Bereits beim Einengen der Ätherlösungen schieden sich 561 mg Kristalle ab, die zur Hauptsache aus E (Mansonin) bestanden, das sich daraus nach Chromatographie an Al_2O_3 rein erhalten liess. Aus den amorphen Anteilen konnte nach Chromatographie an Al_2O_3 noch etwas mehr reines E isoliert werden; andere reine Stoffe wurden hier nicht erhalten¹¹⁾.

5.2. *Trennung des Chf-Extraktes.* Dieser Extrakt enthielt E (Mansonin) und K (Strophothevosid) als Hauptcardenolide, die nach Chromatographie an Al_2O_3 in reinen Kristallen isoliert werden konnten. Auch dieses Material enthielt noch reichliche Mengen KEDDE-negativer Stoffe, aber nur Spuren anderer Cardenolide, auf deren Isolierung verzichtet wurde.

5.3. *Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes.* Dieser Extrakt enthielt zahlreiche hochpolare Cardenolide (vgl. Tab. 1), vor allem die Stoffe K, N, O, P, Q, R, S und T, deren Trennung recht schwierig ist. Dieses Material wurde zunächst durch Chromatographie an SiO_2 in Gruppen getrennt, die durch weitere Chromatographien an SiO_2 , Al_2O_3 oder durch Verteilungschromatographie weiter getrennt werden konnten. Es wurden hierauf noch K, O und S in Kristallen sowie P und Q amorph, aber papierchromatographisch rein erhalten. N lag als amorphes Gemisch der 7 Komponenten

⁹⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel etc. vgl. Einleitung zum exper. Teil.

¹⁰⁾ In Klammern schwache Flecke, teilweise erst nach präparativer Vortrennung sichtbar.

¹¹⁾ Das Material enthielt nur Spuren anderer KEDDE-positiver Stoffe (vgl. Tab. 1), hingegen reichliche Mengen KEDDE-negativer Substanzen. In Pchr wurde bei Entwicklung mit SbCl_3 [16] (unspezifisches Reagens) nur ein zusätzlicher Fleck gefunden, hingegen wurden in Dünnschichtchromatogrammen an SiO_2 bei Entwicklung durch Sprühen mit *p*-Toluolsulfosäure (20-proz. in Alk) und anschliessendes Erhitzen auf 120° zahlreiche Flecke (teilweise nur unter UV.-Licht) sichtbar. Das Material wurde nicht weiter untersucht.

N1–N7 vor. T wurde nur in angereicherter Form erhalten. Ausserdem wurde ein amorphes Gemisch gewonnen, das nur die Flecke Q und R zeigte, wobei aber sicher noch andere Substanzen in geringer Menge anwesend waren. Da es nicht gelang, dieses Gemisch zu trennen, haben wir es mit Schneckenferment [17]¹²⁾ behandelt, wobei der Q-Fleck erhalten blieb, während der R-Fleck verschwand. Dabei entstanden zwei Zucker (hauptsächlich 6-Desoxyglucose und wenig Glucose¹³⁾), die Glykoside E (Mansonin) und K (Strophothevosid) in geringer Menge sowie drei Genine, nämlich Nigrescigenin, wenig Strophanthidin und eine Spur N'; von diesen Substanzen konnten alle drei Genine sowie K auch präparativ in Kristallen isoliert werden. Es ist daher sehr

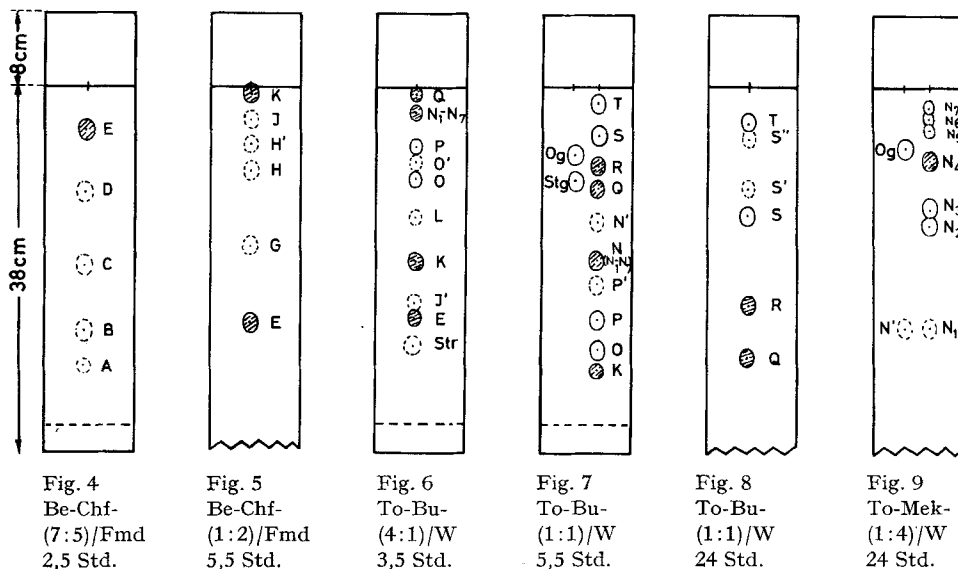


Fig. 4–9 sind Beispiele von Papierchromatogrammen, schematisiert, aber massgetreu. Ausführung absteigend nach früheren Angaben [13] [14] [15]. Beladung der Papiere mit ca. 50% Fmd bzw. 33% W [15]. Wo keine Front eingezeichnet ist, liess man das Fliessmittel abtropfen, der untere Rand wurde dann immer zickzackförmig geschnitten. Entwicklung mit KEDDE-Reagens [11]. Nig = Nigrescigenin (in Fig. 7, läuft genau wie P), Og = Ouabagenin, Stg = Strophanthidin- β -D-glucosid, Str = Strophanthidin.

wahrscheinlich, dass der R-Fleck zur Hauptsache aus Nigrescigenin-6-desoxy- β -D-glucosid bestand. Strophanthidin- β -D-glucosid [18] läuft im Pchr (vgl. Fig. 7) zwischen Q und R; es könnte daher durchaus im Gemisch vorhanden, jedoch wegen zu geringer Menge nicht feststellbar gewesen sein. Daneben dürften noch die Monoglucoside von E und K sowie ein Derivat von N' mit einem der beiden Zucker, am ehesten mit 6-Desoxyglucose, in geringer Menge in dem ursprünglichen Q, R-Gemisch, vorhanden gewesen sein.

5.4. *Untersuchung des Chf-Alk-(3:2)-Extraktes.* Dieses Material, das die stärksten polaren Stoffe enthielt, wurde präparativ nicht getrennt. In Papierchromatogram-

¹²⁾ Wir danken Herrn Dr. W. Stöcklin auch hier bestens für dieses Material.

¹³⁾ Nach Pchr, Dchr und Elektrophorese in Boratpuffer.

men liessen sich die in Tab. 1 genannten Cardenolide nachweisen; die Hauptmenge bestand aber offenbar aus KEDDE-negativen Stoffen.

6. Besprechung der isolierten Stoffe. – In Tab. 2 sind die wichtigsten physikalischen und analytischen Daten für die hier isolierten Glykoside und drei Genine zusammengestellt. Tab. 3 gibt ihre Farbreaktionen mit 84- und 96-proz. H_2SO_4 . Von den Glykosiden war E mit dem Mansonin von FRÈREJACQUE identisch¹⁴⁾ und O mit Strophallosid von MANZETTI *et al.* [19] sowie MÜHLRADT *et al.* [9]. K, P, Q, R (nicht rein isoliert), S und T (nicht ganz rein isoliert) sind neue Glykoside. Von diesen war K ein Hauptprodukt und wurde als Strophothevosid bezeichnet. Über die Struktur von E und K wird in der folgenden Mitteilung berichtet [20]. Die Struktur von O ist bekannt [9] [19], die Strukturen von P, Q, R, S und T sind nur teilweise aufgeklärt, worüber hier noch berichtet wird. Von den drei Geninen konnten zwei mit Strophanthidin bzw. Nigrescigenin [21] identifiziert werden; das dritte, nur in kleiner Menge erhaltene Genin N' ist vermutlich neu, seine Struktur ist bisher unbekannt. Im folgenden werden alle diese Stoffe kurz besprochen, ebenso die nicht in reiner Form isolierten Substanzen N1–N7.

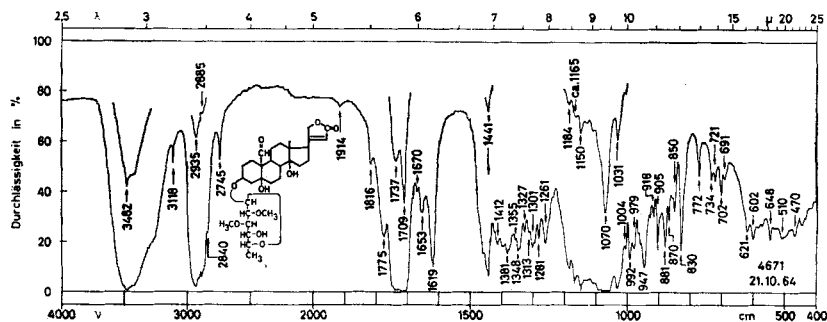


Fig. 10. IR-Absorptionsspektrum von Mansonin (= Substanz E)
0,5 bzw. 4,9 mg fest in je ca. 300 mg KBr¹⁵⁾

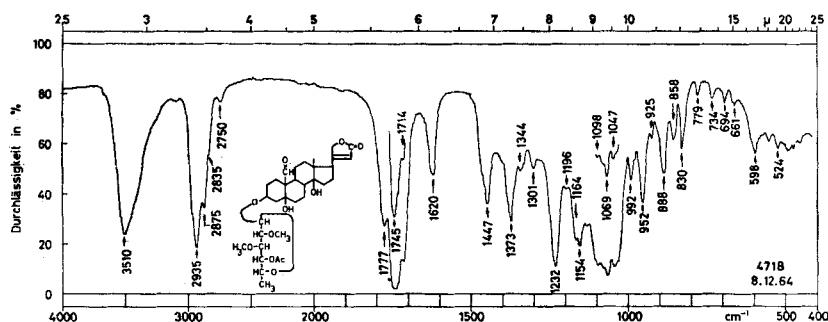


Fig. 11. IR-Absorptionsspektrum von Mono-O-acetylmansonin
0,35 bzw. 1,5 mg fest in je ca. 300 mg KBr¹⁵⁾

¹⁴⁾ Wir danken Herrn Prof. M. FRÈREJACQUE, Paris, auch hier bestens für Originalpräparate von Mansonin und O-Acetylmansonin, die wir für den direkten Vergleich verwenden konnten.

¹⁵⁾ Aufgenommen von den Herren K. AEGERTER und CH. SENN auf einem PERKIN-ELMER-Zweistrahlgitter-Spektrophotometer, Modell 125.

Tabelle 2. *Eigenschaften und Zusammensetzung der aus den Samen von Mansonia altissima isolierten Cardenolide*

Sub- stanz	Identifizierung bzw. Benennung	be- kannt	Smp. [α] _D in Me (hier gefundene Werte)	Bewiesene oder in Klammern vermutliche Bruttoformel	Bausteine ²³⁾	λ_{max} in nm (log ϵ) ¹⁶⁾ Butenolid- gebiet	Isolierte Menge ¹⁷⁾ in mg	in %	Schätzung der wirklich vorhandenen Menge in % ¹⁸⁾
E	Mansonin [5]	+	170–175° [+6,7° ± 2°]	C ₃₁ H ₄₈ O ₁₀ 578,71	Strophanthidin; 2,3-Di-O-methyl- 6-desoxy-D- glucose [20]	217 (4,18)	298 (1,67)	1950 0,135	0,25
E-Ac	Mono-O-acetyl- mansonin [5]	+	229–233° [+7,8° ± 2°]	C ₃₃ H ₄₈ O ₁₁ 620,74				—	—
K	Strophothevosid	neu	216–221° [+6,7° ± 2°]	C ₃₀ H ₄₄ O ₁₀ 564,68	Strophanthidin; D-Thevetose [20]	217 (4,24)	294 (1,66)	1590 0,11	0,21
K-Ac	Di-O-acetyl- strophothevosid	neu	216–219° [+11,2° ± 2°] (Chf)	C ₃₄ H ₄₈ O ₁₂ 648,75				—	—
N'	Genin ¹⁹⁾	neu ?	248–251° (Zers.) [+22,9° ± 3°]	(C ₂₃ H ₃₂ O ₈) 436,49	Struktur unbekannt	218 (4,22)	295 (1,42)	8,5 ¹⁹⁾ 0,0006	?
O	Strophallosid [9] [19]	+	178–181° [+4,3° ± 2°] ²⁰⁾	C ₃₀ H ₄₂ O ₁₀ 550,65	Strophanthidin; 6-Desoxy- D-allose	216 ²⁰⁾ (4,23)	ca. 280 ²⁰⁾ (2,52)	41 0,0028	0,014
P	Glykosid P	neu	amorph ²¹⁾	(C ₂₉ H ₄₂ O ₁₀ ?) (550,65)	(Strophan- thidin ?); (6-Desoxy- glucose)			82 0,0057	0,014

Sub- stanz	Identifizierung bzw. Benennung	be- kannt	Smp. [α] _D in Me (hier gefundene Werte)	Bewiesene oder in Klammern vermutliche Bruttoformel	Bausteine ²³⁾	λ_{max} in nm Butenolid- gebiet	(log ϵ) ¹⁹⁾ Carbonyl- gebiet	Isolierte Menge ¹⁷⁾ in mg	in %	Schätzung der wirklich vorhandenen Menge in % ¹⁸⁾
Q	Glykosid Q	neu	amorph	(C ₂₉ H ₄₃ O ₁₁ ?) (566,64)	(Nigrescigenin); (6-Desoxyallose + 6-Desoxy- glucose)	217 (4,21)	ca. 290 (1,50)	269	0,0187	0,09
R	nicht rein isoliert	neu		(C ₂₉ H ₄₃ O ₁₁) (566,64)	Nigrescigenin; (6-Desoxy- glucose)					0,13
S	Glykosid S	neu	264–268° (Zers.) [–17,9° ± 2°]	(C ₂₉ H ₄₃ O ₁₁ ?) (566,64)	? (6-Desoxyallose)	217 (4,20)	ca. 305 (1,44)	18	0,0012	0,02
Nig	Nigrescigenin ²²⁾ [21]	+	225–229° [+24,1° ± 2°]	C ₂₉ H ₄₃ O ₇ 420,49	–	217 (4,28)	307 (1,48)	173	0,012	
Str	Strophanthidin ²²⁾	+	132–137°	C ₂₃ H ₃₂ O ₆ 404,49	–			15	0,001	

¹⁶⁾ Berechnet auf das bei der Bruttoformel angegebene Molekulargewicht.

¹⁷⁾ Tatsächliche Ausbeute an Kristallen bzw. reiner, amorpher Substanz.

¹⁸⁾ Rohe Schätzung auf Grund der Ausbeuten und der Stärke der Flecke im Pchr, bezogen auf 1440 g Samen.

¹⁹⁾ Nach fermentativem Abbau mit Schneckenferment.

²⁰⁾ Noch mit amorphem Präparat bestimmt; es konnte erst später kristallisiert werden.

²¹⁾ Durch Autoxydation verlorengegangen.

²²⁾ Entstand erst nach Einwirkung von Schneckenferment. In den Samen in Form von Glykosiden.

²³⁾ In Klammern: nur im Pchr u./od. Dchr, bei Zuckern auch durch Elektrophorese identifiziert, vgl. exp. Teil.

Tabelle 3. Farbreaktionen mit 84- und 96-proz. $H_2SO_4^{24)}$ [23]

Substanz	H_2SO_4	5 Sek.	1 Min.	5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	3 Std.	24 Std.
Mansonin (E)	84%	gelb	gelb	gelb	gelb	gelbgrün	hellgrün	gelbgrün	blassgelb
	96%	rot	orange	orange	orange	orange	grün	grün	grünlichgrau
Strophothevosid (K)	84%	gelb	gelb	gelb	gelb	gelb	gelbgrün	gelbgrün	hellbraun
	96%	rot	orange	orange	orange	orange	orange	grün	hellbraun
Glykosid S	84%	farblos	hellbraun	blassorange	orange	orange	grau	grünlichgrau	blassbraun
	96%	rotbraun	rotbraun	rotbraun	rotbraun	braun	grau	grau	blassbraun
Glykosid Q	84%	farblos	hellbraun	braun	rötlichbraun	braun	grau	hellgrün	blassbraun
	96%	hellbraun	braun	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun	dunkelbraun	grünlichbraun

²⁴⁾ Ca. 0,5 mg auf weisser Porzellan-Tüpfelplatte mit 1 Tropfen Säure rasch verrieben und bedeckt stengelassen.

6.1. *Mansonin* (= *Substanz E*, *Präp. HAL 1*). Unser Präparat war nach Smp., Drehung, Dchr und Pchr wie erwähnt identisch mit dem Originalpräparat von FRÈRE-JACQUE [5]. In geringer Abweichung von seinen Befunden besitzt der Stoff aber die Formel $C_{31}H_{46}O_{10}$ und liefert bei der Acetylierung mit Ac_2O in Pyridin ein Mono-O-acetylderivat $C_{33}H_{48}O_{11}$. Freies Mansonin enthält keine Acetylgruppe (IR.- und NMR.-Spektrum [20]), und das O-Acetylderivat nur eine einzige. Auch das letztere

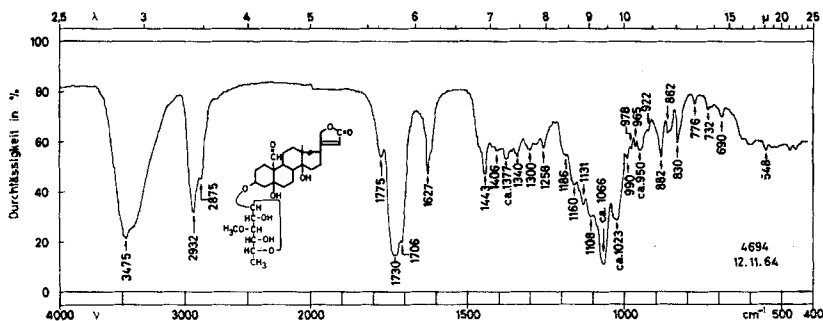


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum von *Strophothevosid* (= *Substanz K*)
1,55 mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁵)

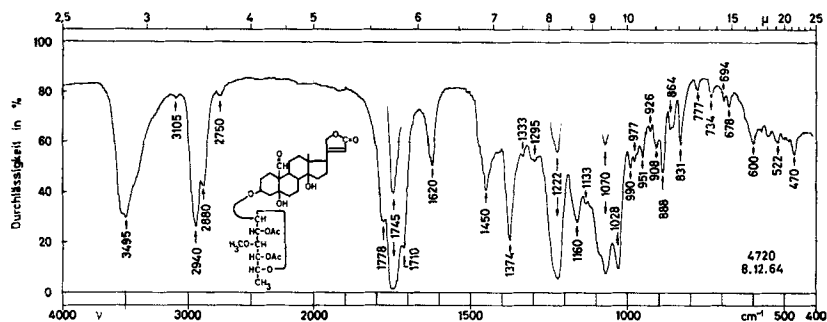


Fig. 13. IR.-Absorptionsspektrum von *Di-O-acetylstrophothevosid*
0,3 bzw. 1,4 mg fest in je ca. 300 mg KBr¹⁵)

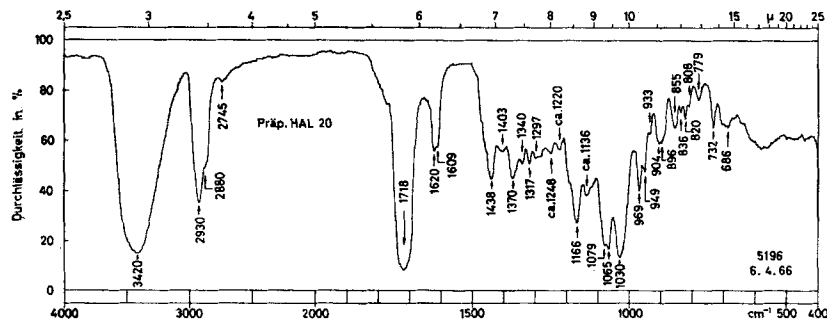


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum von *Glykosid S* aus *Mansonia altissima*
1,22 mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁵)

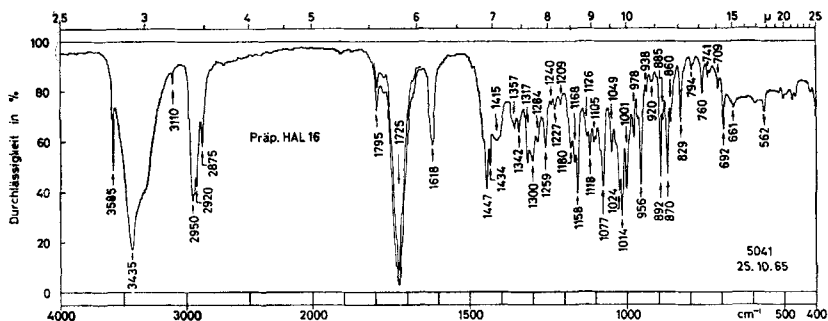


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum von Genin N' aus *Mansonia altissima* ca. 0,5 bzw. 0,78 mg fest in je ca. 300 mg KBr¹⁵⁾

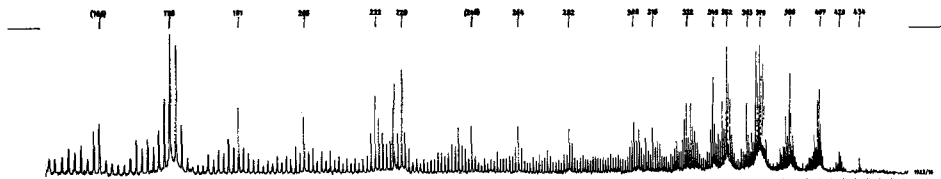


Fig. 16. Anionen-Massenspektrum nach ARDENNE [24] von Genin N' (= Präp. HAL 16) aus *Mansonia altissima*

$T_p = 200^\circ$; $t_E = 30$ s (1523/16)²⁵⁾. – Versuchswise Zuordnung: 434 = $M-2$; 407 = $M-28$ (CO)–1; 406 = $M-28-2$; 388 = 406–18; 370 = 388–18; 352 = 370–18; 334 = 352–18.

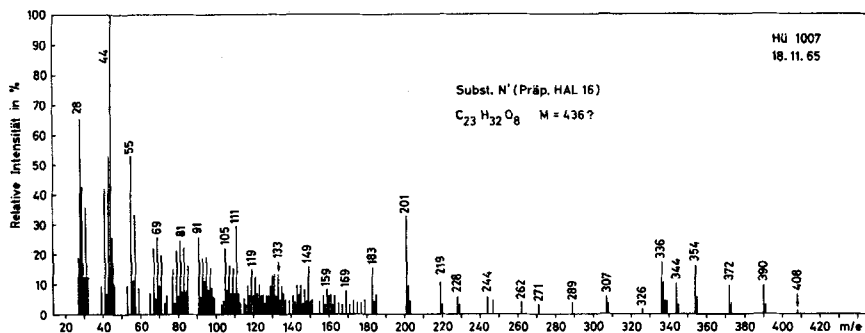


Fig. 17. Kationen-Massenspektrum von Genin N' (= Präp. HAL 16) aus *Mansonia altissima* Aufnahme bei 70 eV, 34 μ Amp., 3 KV Ionenbeschleunigung, Temp. der Ionenquelle 95°, des Einlassteils 40°, Tiegel-Temp. ca. 230°²⁶⁾. – Versuchswise Zuordnung: 408 = $M-28$ (?) = schwerstes nachweisbares Ion; 390 = 408– H_2O ; 372 = 408–2 H_2O ; 354 = 408–3 H_2O ; 344 = 372–28 (C_2H_4 , CO ?), 336 = 408–4 H_2O . Die Spitzen bei 408 und 390 sind nur kurze Zeit beständig, später erscheinen schwache Spitzen bei m/e 386 und 364, die eventuell von Zersetzungsprodukten herrühren.

²⁵⁾ Wir danken Herrn Prof. M. v. ARDENNE und Herrn Dr. R. TÜMLER auch hier bestens für die Ausführung dieses Spektrums.

²⁶⁾ Wir danken Herrn Dr. H. HÜRZELER, Physiklaboratorium der CIBA AKTIENGESellschaft, Basel, für die Aufnahme und Interpretation dieses Spektrums. Hierzu diente ein ATLAS-Massenspektrometer Modell CH 4 mit Ionenquelle TO 4 und direktem Einlaßsystem.

war mit dem Originalpräparat von FRÈREJACQUE identisch. Die Fig. 10–11 geben die IR.-Spektren. UV.-Spektren vgl. Tab. 2.

6.2. *Strophothevosid* (= Substanz K, Präp. HAL 2). Der Stoff besitzt die Bruttoformel $C_{30}H_{44}O_{10}$ und liefert bei der Acetylierung mit Ac_2O in Pyridin ein krist. Di-O-acetylderivat $C_{34}H_{48}O_{12}$. In den IR.-Spektren (Fig. 12–13) sind die Banden einer Aldehydgruppe besonders deutlich beim O-Acetylderivat sichtbar ($3,64 \mu$ und $5,85 \mu$). Eindeutig war auch das Signal im NMR.-Spektrum²⁷⁾ des Strophothevosids bei $\delta = 9,99$ ppm (s entspr. 1 H).

6.3. *Genin N'* (= Präp. HAL 16). Dieser Stoff ist nach Papierchromatogrammen in Spuren auch in freier Form im Chf-Alk-(2:1)-Extrakt enthalten gewesen. Die Hauptmenge (auch wenig) entstand nach fermentativem Abbau von Q, R-Gemisch mit Schneckenferment. Wegen Materialmangels wurde keine Verbrennungsanalyse ausgeführt.

Auf Grund des IR.-Spektrums (Fig. 15) ist kein Zucker anwesend. Die Absorption im UV.-Spektrum bei 295 nm ($\log \epsilon = 1,42$) liess zunächst das Vorliegen einer Aldehydgruppe vermuten. Dagegen sprach aber das Fehlen einer Aldehydbande im IR.-Spektrum (Fig. 15), auch wenn die Konzentration von N' in der KBr-Pille auf das Fünffache erhöht wurde. Gegen die Anwesenheit einer Aldehydgruppe spricht auch der Befund, dass der Stoff bei Behandlung mit $NaBH_4$ in 80-proz. Alkohol (1 Std. bei 20°) praktisch nicht verändert wurde. Anionen- und Kationen-Massenspektren (Fig. 16–17) gaben kein eindeutiges Ergebnis, lassen es aber als möglich erscheinen, dass der Stoff die Formel $C_{23}H_{32}O_8$ (436) besitzt, also ein Dehydro-ouabagenin oder ein Isomeres davon darstellt.

6.4. *Strophallosid* (= Substanz O, Präp. HAL 18). Das Präparat war nach Smp., Misch-Smp., Drehung, Pchr, Farbreaktionen mit 84- und 96-proz. H_2SO_4 , UV.- und IR.-Spektren identisch mit dem von MANZETTI *et al.* [19] sowie MÜHLRADT *et al.* [9] beschriebenen Strophallosid. Hydrolytische Spaltungen nach MANNICH & SIEWERT [25] sowie nach KILIANI [26] im Mikromaßstab lieferten dieselben Bruchstücke wie dieses; papierchromatographisch konnte Strophanthidin sehr deutlich nachgewiesen werden und durch Dchr, Pchr und Elektrophorese²⁸⁾ 6-Desoxyallose. Schliesslich trat bei der Einwirkung von $NaBH_4$ in 80-proz. Alkohol Reduktion der Aldehydgruppe ein, das resultierende Material zeigte im Pchr. (System von Fig. 6) dieselbe Laufstrecke wie Strophanollosid [19].

6.5. *Glykosid P* (= Präp. HAL 19). Dieses Glykosid ist nur amorph erhalten worden. Bei Kristallisationsversuchen ging leider die Hauptmenge durch Autoxydation verloren, so dass keine genaue Untersuchung mehr möglich war. Wir vermuten, dass es als Aglykon Strophanthidin enthält, auch die Laufstrecke im Pchr würde gut dazu passen. Im Pchr (Systeme von Fig. 6–7) läuft es praktisch gleich wie Nigrescigenin. Nach energischer saurer Hydrolyse [26] konnte der Zucker im Dchr, Pchr und Elektrophorogramm²⁸⁾ mit 6-Desoxyglucose identifiziert werden.

²⁷⁾ Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER, Spektrallabor unseres Instituts, mit einem VARIAN-Spektrograph, Modell 60 bei 60 MHz und 40°. Interne Bezugssubstanz: Tetramethylsilan, das zugleich Nullpunkt der ppm-Skala ist. Signale bei kleinerer Feldstärke werden positiv gezählt (s = Singlett).

²⁸⁾ Identifizierung des Zuckers nach KAUFMANN *et al.* [27].

6.6. *Glykosid Q* (= *Präp. HAL 17*). Dieses amorphe Präparat gab in allen verwendeten Systemen im Pchr nur einen einzigen, gut umgrenzten Fleck (System von Fig. 7 sowie in folgenden Systemen: Chf-iPr-(4:1)/W, 5,5 Std.; To-Bu-(4:1)/W und To-Mek-(1:1)/W jeweils vier Tage!). Auch im Elektropherogramm in Boratpuffer (Ausführung wie bei KAUFMANN *et al.* für Zuckeridentifizierungen beschrieben [27]) war nur ein Fleck sichtbar, der gegen die Anode lief. Von Schneckenferment wurde Q nicht angegriffen. Auf Grund der Resultate bei der hydrolytischen Spaltung dürfte trotzdem ein Gemisch von viel Nigrescigenin-6-desoxyallosid mit anderen Glykosiden vorgelegen haben, denn nach KILIANI-Hydrolyse [26] wurde neben 6-Desoxyallose auch noch etwas weniger 6-Desoxyglucose gefunden. Bei der Hydrolyse nach MAN-NICH & SIEWERT [25] liess sich jedoch nur Nigrescigenin (und Anhydroprodukte) eindeutig nachweisen. Auch die H_2SO_4 -Färbung des Glykosids Q (vgl. Tab. 3) passt gut auf Nigrescigenin als Aglykon. Dieses Resultat ist schwer erklärbar, da wir für den R-Fleck das Vorliegen von Nigrescigenin-6-desoxyglucosid annehmen müssen (siehe unten). Um ein Derivat eines Disaccharids kann es sich bei Q nicht handeln, weil die Extinktion im UV.-Spektrum für einen solchen Stoff zu hoch wäre. Ausserdem wurde bei der Acetylierung ein amorphes O-Acetyl-Q erhalten, das nach dünnschicht-chromatographischer Reinigung²⁹⁾ in NMR.-Spektrum²⁷⁾ (in $CDCl_3$) neben einem Signal des Aldehydprotons (s, 1H bei $\delta = 9,9$ ppm) 4 Signale von Acetylgruppen (4 s, je ca. 3H bei $\delta = 1,96$; 2,02; 2,04; 2,16 ppm) zeigte, was genau der erwarteten Zahl entspricht, wenn Q aus Nigrescigenin und 6-Desoxyallose besteht. Für ein Disaccharid wären 6 Acetylgruppen zu erwarten. Die 3 Protonen an C-18 erschienen als Singlett bei $\delta = 1,28$ ppm.

6.7. *Glykosid R*. Dieser Stoff wurde nur in Gemischen mit Q erhalten. Da eine Trennung nicht gelang, wurde wie erwähnt das Gemisch mit Schneckenferment behandelt; Q wird dabei nicht angegriffen, während der R-Fleck verschwindet. Bei der präparativen Trennung der Reaktionsprodukte wurden Zucker und Cardenolide erhalten. Im rohen Zucker liess sich viel 6-Desoxyglucose und wenig Glucose nachweisen. Das Cardenolidgemisch zeigte neben unverändertem Q hauptsächlich Nigrescigenin sowie wenig E (Mansonin), K (Strophothevosid), Strophanthidin und N'. Durch Chromatographie liessen sich alle 6 Komponenten in reiner Form, die drei letztgenannten und Nigrescigenin in Kristallen abtrennen. Da Nigrescigenin und 6-Desoxyglucose die Hauptprodukte der Fermentierung waren, sollte der R-Fleck zur Hauptsache aus Nigrescigenin-6-desoxyglucosid bestehen. Die anderen Fermentierungsprodukte, die nur in kleiner Menge entstanden, könnten ebenfalls z. T. aus dem R-Fleck entstanden sein, jedoch lässt sich nachträglich nichts Genaues darüber aussagen (vgl. auch Abschnitt 5.3.). Strophanthidin dürfte aus Strophanthidin- β -D-glucosid stammen, das im Pchr (vgl. Fig. 7) zwischen Q und R läuft und im Q, R-Gemisch wegen der geringen Menge nicht festgestellt wurde.

6.8. *Glykosid S* (= *Präp. HAL 20*). Bruttoformel wahrscheinlich $C_{29}H_{42}O_{11}$. Das UV.-Spektrum (Tab. 2) würde zu dieser Formel passen. Im IR.-Spektrum (Fig. 14) ist die Bande der Aldehydgruppe bei $3,64 \mu$ sichtbar. Das gleiche Spektrum wurde

²⁹⁾ Nigrescigenin liefert bei der Acetylierung neben dem normalen Di-O-acetylderivat auch kleine Mengen des Cyclohalbacetalacetats. Gleich dürfte sich Q verhalten.

auch noch mit dreifacher Konzentration an Glykosid S in der KBr-Pille aufgenommen, worauf die Aldehydbande sehr deutlich auftrat. Der nach energischer saurer Hydrolyse [26] abgespaltene Zucker liess sich im Elektropherogramm als 6-Desoxyallose identifizieren. Unsicher ist das Genin. Die Spaltung nach MANNICH & SIEWERT [25] gab ein Gemisch, von dem im Pchr ein Fleck ähnlich wie Nigrescigenin lief. Die Farbreaktionen mit H_2SO_4 (vgl. Tab. 3) stimmen mit den Färbungen von Nigrescigenin und seinen Glykosiden (z. B. Q) nicht ganz überein, sind aber nicht stark verschieden.

6.9. *Glykosidgemisch N1–N7 (= N)*. Das in relativ grosser Menge (1,7 g) gewonnene Präparat zeigte im Pchr im System von Fig. 7 nur einen Fleck, im System von Fig. 9 waren jedoch 7 Flecke sichtbar, von denen einer (N4) erheblich stärker war als alle anderen. Auf eine Trennung musste verzichtet werden. Die folgenden Reaktionen erlauben eine versuchsweise Deutung der Struktur der Hauptsatzsubstanz N4. Eine kleine Probe wurde mit $NaBH_4$ in 80-proz. Alkohol behandelt, wobei der N-Fleck völlig verschwand; im System von Fig. 7 waren hierauf 5 neue Stoffe sichtbar, die alle ausser einem stärker polar waren. Nach MANNICH-Hydrolyse [25] von Präparat N war im Pchr ein relativ starker Nigrescigenin-Fleck sichtbar, Strophanthidin war nicht feststellbar. Nach KILIANI-Hydrolyse [26] liess sich im Dchr, Pchr und Elektropherogramm²⁸⁾ Thevetose als einziger Zucker nachweisen. Bei der Acetylierung von Präparat N entstand ein amorphes Gemisch, das im Pchr fünf Flecke zeigte. – Beim Hauptprodukt (N4) dürfte es sich somit wahrscheinlich um Nigrescigenin-thevetosid handeln.

6.10. *Glykosidgemisch T*. Dieses hochpolare Gemisch zeigte im Pchr einen starken, gut umrissenen Fleck, enthielt aber noch ca. 15% Begleiter, die im Pchr 5 weitere, meist etwas langsamer laufende Flecke lieferten. Über die Geninkomponente kann nichts ausgesagt werden. Das Material gab nach KILIANI-Hydrolyse [26] ein Zuckergemisch, in dem sich im Dchr, Pchr und Elektropherogramm²⁸⁾ vor allem Glucose und weniger 6-Desoxyglucose nachweisen liessen. Weitere Versuche mit diesem Cardenolidgemisch wurden nicht unternommen.

7. Schlussfolgerungen. – Die Samen von *Mansonia altissima* sind relativ reich an Cardenolidglykosiden. Die zwei Hauptvertreter sind Mansonin (E) und Strophothevosid (K), die sich beide von Strophanthidin ableiten [20]. Auch Strophallosid (O) enthält dasselbe Genin. Obgleich von den zahlreichen weiteren Glykosiden nur einige Vertreter rein isoliert werden konnten, sprechen die orientierenden Prüfungen dafür, dass sie sich vor allem von Strophanthidin und Nigrescigenin ableiten. Diese Genine sind mit folgenden Zuckern verknüpft: Glucose, 6-Desoxyglucose, D-Thevetose [20] (= 3-O-Methyl-6-desoxy-D-glucose), 2,3-Di-O-methyl-6-desoxy-D-glucose [20] und 6-Desoxy-D-allose. Auf Grund der Bildung von Mansonin und Strophothevosid bei der Fermentierung des rohen Q, R-Gemisches ist anzunehmen, dass darin auch noch Glucomansonin und Glucostrophothevosid enthalten waren.

Der eine von uns (H. A.) dankt der STIFTUNG VOLKSWAGENWERK auch an dieser Stelle bestens für ein Stipendium. Für die Beschaffung des Pflanzenmaterials standen uns Mittel aus den EIDG. ARBEITSBESCHAFFUNGSKREDITEN ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG (BIGA, Bern) zur Verfügung. Einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit leistete der SCHWEIZERISCHE NATIONALFONDS. Wir möchten auch hier für diese Hilfe bestens danken.

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Angaben

Die Smp. (KOFLER-Block) sind korrigiert; Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Bestimmung der Drehung und zur Aufnahme der Spektren wurden 1 Std. bei 60°/0,01 Torr getrocknet. Zur Adsorptions-Chromatographie wurde Al_2O_3 «WOELM» neutral (jeweils auf Aktivität II eingestellt, d.h. $\text{Al}_2\text{O}_3 + 3\%$ Wasser) bzw. Kieselgel «MERCK», Korngrösse 0,05–0,2 mm, zur Dünnschichtchromatographie Kieselgel G «MERCK» verwendet. Verteilungs-Chromatographien wurden an Cellulose ausgeführt, die mit 35% Wasser imprägniert war, analog HEGEDÜS *et al.* [13b]. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in Ae-Chf-(3:1), waschen mit 2N HCl, 10-proz. KHCO_3 -Lösung und W, trocknen über Na_2SO_4 und eindampfen. Die Pchr wurden auf WHATMAN-Papier Nr. 1 absteigend ausgeführt [13]–[15]. Zum Imprägnieren wurde das Papier durch ein Gemisch von An-W-(2:1) bzw. An-Fmd-(3:1) gezogen. Beim Tränken mit W wurde das Papier anschliessend stets nur so lange trocknen gelassen, bis seine Gewichtszunahme 33% betrug. Die Rf-Werte sind dann recht gut reproduzierbar. Pchr von Cardenoliden wurden mit KEDDE-Reagens [11], solche von Zuckern mit PARTRIDGE-Reagens [28] oder *p*-Aminohippursäure [29] entwickelt. In allen drei Fällen wurden die Papiere durch die entsprechenden Lösungen gezogen.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig, Ac_2O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Dchr = Dünnschichtchromatographie und Dünnschichtchromatogramm, Eg = Essigester, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, ML = eingedampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramm(e) und Papierchromatographie, Pe = Petroläther, iPr = Isopropanol, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

Hydrolyse nach KILIANI [26] im Mikromaßstab. 2–3 mg Glykosid wurden mit 0,2–0,3 ml KILIANI-Mischung (= AcOH-konz. HCl-W-(3,5:1:5,5)) im Reagensglas versetzt und bedeckt 1 Std. auf 100° erhitzt. Nun wurde bei 30° zur Trockne eingedampft, mit 0,5 ml W versetzt und 3mal mit je 1 ml Chf extrahiert. Die Chf-Extrakte wurden jeweils mit einer Kapillarpipette abgetrennt, vereinigt und mit 0,5 ml W gewaschen. Die wässrigen Phasen engte man zusammen zur Trockne ein. Für die Dchr, Pchr und Elektropherogramme löste man den Rückstand in Me. Unter der Annahme 100-proz. Ausbeute wurden für Dchr und Pchr stets 0,1 mg, bei Elektropherogrammen bis 0,2 mg aufgetragen.

Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [25] im Mikromaßstab. 2 mg Glykosid wurden in 0,2 ml eines Gemisches von 99 ml An und 1 ml konz. HCl gelöst und bei 20° unter CO_2 verschlossen im Dunkeln stengelassen. Zur Kontrolle des Reaktionsablaufs wurden Proben von 0,01 ml direkt auf das präparierte Papier getropft und in einem für die Genine günstigen System chromatographiert.

NaBH_4 -Reduktion im Mikromaßstab. 0,5–5 mg Substanz wurden zusammen mit 0,5–5 mg NaBH_4 in 0,05–0,5 ml 80-proz. wässrigem Alk gelöst und bei 20° stengelassen. Zur Kontrolle des Reaktionsverlaufes wurde jeweils 0,01 ml der Lösung direkt auf das imprägnierte Papier getropft und chromatographiert. Eine Aldehydgruppe ist unter diesen Bedingungen nach 1 Std. quantitativ reduziert. Das Auftreten störender Borkomplexe wurde nicht beobachtet. Bei präparativen NaBH_4 -Reduktionen zeigte nämlich eine dem Reaktionsgemisch entnommene Probe ohne Aufarbeitung dieselbe Laufstrecke im Pchr wie das Reaktionsprodukt nach Aufarbeitung.

2. Extraktion der Samen

3150 g Früchte gaben 1550 g bitter schmeckende Samen, die fein gemahlen wurden. Die Fruchtschalen mit dem Flugapparat schmeckten nicht bitter und wurden verworfen.

2.1. *Vorproben.* 100 g Samenpulver wurden bei 30–35° mit Pe entfettet. Die eine Hälfte der entfetteten Probe wurde direkt mit Alk-W-Gemischen von steigender Alk-Konzentration (50 bis 96%) heiss extrahiert. Die andere wurde vor dieser Extraktion mit 200 ml dest. W und 5 ml To vermischt und 2 Tage unter CO_2 bei 35° stengelassen. Beide Teile wurden anschliessend wie beim Hauptversuch (2.2.) weiter behandelt. Die Ausbeuten waren innerhalb der Fehlergrenzen bei beiden Versuchen gleich, die Extrakte zeigten auch im Pchr jeweils die gleichen Flecke.

2.2. *Hauptversuch.* 1440 g Samenpulver wurden 12 mal mit je ca. 1 l Pe bei 30° vollständig entfettet (gab 359 g ockerfarbiges Öl). Das entfettete, getrocknete Pulver wurde mit 2,5 l W und

50 ml To gründlich vermischt und zwei Tage unter gelegentlichem Schütteln unter CO_2 verschlossen bei 35° stehengelassen. Anschliessend wurde mit 2,5 l 96-proz. Alk versetzt und durch eine Schicht gewaschenem Kieselgur (Celite 535) genutscht. Der verbliebene Samenbrei wurde noch je einmal mit je 1,5 l 60-, 70-, 80-, 90- und 4 mal mit je 1,5 l 96-proz. Alk bei ca. 60° je ca. 0,5 Std. extrahiert. Das Pulver war dann nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die vereinigten Alk-W-Lösungen wurden im Umlaufverdampfer auf ca. 900 ml eingengt und mit 2 l 96-proz. Alk versetzt, wobei eine klebrige dunkle Masse ausfiel. Diese wurde in 400 ml W gelöst und erneut mit 800 ml Alk ausgefällt. Die vereinigten, durch wenig Kieselgur filtrierten alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum auf 500 ml eingengt. Dieses wässrige Konzentrat wurde der Reihe nach 5 mal mit je 1 l Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden im Gegenstrom mit je 100 ml W, 2N Na_2CO_3 -Lösung (auf $5-10^\circ$ gekühlt) und 2mal mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum bei 50° eingedampft. Ausbeuten s. Tab. 1. Beim Einengen des Ae-Extraktes schieden sich Kristalle ab, die mit Ae gewaschen wurden und 561 mg wogen, Smp. $169-173^\circ$ (hauptsächlich E neben wenig A, B, G und H).

Die verbliebene wässrige Phase wurde im Vakuum auf 250 ml eingengt, mit 250 ml gesättigter wässriger Na_2SO_4 -Lösung versetzt und 6mal mit je 1 l Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Es wurde mit wenig halbgesättigter Na_2SO_4 -Lösung sowie halb mit Na_2SO_4 gesättigter 2N Na_2CO_3 -Lösung und noch halbgesättigter Na_2SO_4 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Die nunmehr verbliebene wässrige Phase war frei von Cardenoliden und wurde verworfen.

3. Präparative Trennungen

3.1. *Trennung des Äther-Extraktes. – Amorpher Anteil.* Das Material (1,877 g) wurde in 2 Portionen an Al_2O_3 chromatographiert. Trennung der Hauptmenge (1,609 g) s. Tab. 4.

Kristallisierter Anteil. Ein Versuch zur Trennung an SiO_2 gab kein brauchbares Resultat. Das wieder vereinigte Material wurde wie oben an 6 g Al_2O_3 getrennt, wobei noch 129 mg (aus 196 mg Rohkristallen) reines Mansonin (E) vom Smp. $168-170^\circ$ erhalten wurden. Die kleinen Mengen an A, B, G und H wurden nicht isoliert.

Tabelle 4. *Chromatographie von 1,609 g Ae-Extrakt an 50 g Al_2O_3*

Fr.- Nr.	Eluiermittel 150 ml/Fr.	Eindampfdruckstand			
		Menge in mg	KEDDE- Reaktion	Flecke im Pchr	Kristalle Menge (Smp.)
1	Be-Chf-(70:30)	513	—		—
2	Be-Chf-(60:40)	25	—		—
3	Be-Chf-(50:50)	13	—		—
4	Be-Chf-(50:50)	12	++	A, B, (C)	—
5	Be-Chf-(20:80)	21	++	B, C, D	—
6	Be-Chf-(10:90)	64	+++	E	} 45 mg ($171-172^\circ$)
7	Chf	68	+++	E	
8-9	Chf	11	++	E, J	
10	Chf-Me-(99:1)	} 7	++	E, G, H, J	—
11	Chf-Me-(98:2)				
12	Chf-Me-(96:4)	12	+	(H), (J)	—
13	Chf-Me-(90:10)	} 20	(+)	(J)	—
14	Chf-Me-(80:20)				
15	Chf-Me-(50:50)	8	—		—
16-19	Chf-Me-AcOH-(50:50:2,5)	614 ³⁰⁾	—		—
Total eluiert		1388			

³⁰⁾ Dieses Material war zunächst durch Al-Salze verunreinigt. Es wurde in Chf aufgenommen, mit 2N H_2SO_4 und halbgesättigter Na_2SO_4 -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft.

3.2. *Trennung des Chloroform-Extraktes.* Auch dieses Material wurde in 2 Portionen an Al_2O_3 chromatographisch getrennt. Trennung der Hauptmenge (8,331 g) s. Tab. 5.

Tabelle 5. *Trennung von 8,331 g Chf-Extrakt an 270 g Al_2O_3*

Fr.- Nr.	Eluiermittel 800 ml/Fr.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr	Kristalle Menge (Smp.)
1	Be-Chf-(45:55)	126	(E)	—
2	Be-Chf-(45:55)	188	E	1776 mg (169–173°)
3–4	Be-Chf-(40:60)	469	E	
5	Be-Chf-(30:70)	245	E	
6	Be-Chf-(20:80)	349	E	
7	Be-Chf-(10:90)	573	E	
8	Be-Chf-(5:95)	497	E	
9	Be-Chf-(5:95)	246	E, (K), (H')	—
10	Chf	154	E, (K), (H)	—
11	Chf-Me-(99:1)	200	E, (G), (H), (H'), (J), K	—
12–13	Chf-Me-(97,5:2,5)	1865	(E), K	1377 mg (211–215°)
14–15	Chf-Me-(97,5:2,5)	144	(E), K, (L)	—
16	Chf-Me-(97,5:2,5)	24	(J'), K, (L)	—
17–18	Chf-Me-(95:5)	83	(J'), K, (L), (N), (O)	—
19	Chf-Me-(90:10)	35	(J'), K, (L), (N)	—
20	Chf-Me-(80:20)	269	(K)	—
21	Chf-Me-(50:50)	234	(K)	—
22–24	Chf-Me-AcOH-(50:50:5)	1156 ³⁰⁾	—	—
Total eluiert		6857		

Fr. 1 gab im Pchr nach Entwicklung mit SbCl_3 [16] einen schwachen Fleck, während die Fr. 22–24 keine Reaktion zeigten. (E und K gaben mit SbCl_3 unter den benützten Bedingungen keine Flecke.)

3.3. *Trennung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extraktes.* – *Vortrennung in Gruppen.* 5 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurden zunächst an 500 g SiO_2 chromatographiert (s. Tab. 6).

Tabelle 6. *Trennung von 5 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt an 500 g SiO_2*

Fr.- Nr.	Eluiermittel 500 ml/Fr.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung
1–3	Chf-Me-(90:10)	28	—	—
4–5	Chf-Me-(90:10)	125	(E)	—
6–7	Chf-Me-(90:10)	375	K, ((L))	Chrom. an Al_2O_3
8	Chf-Me-(90:10)	82	K, (N), P	—
9–12	Chf-Me-(90:10)	1699	N	—
13–14	Chf-Me-(85:15)	383	N, (N'), O, P, (Q)	Vert. Tab. 10
15	Chf-Me-(85:15)	394	(O), (P), Q, (R)	SiO_2 , Tab. 9
16–19	Chf-Me-(85:15)	1062	Q, R	Fermentierung
20–21	Chf-Me-(80:20)	140	Q, R, S	Vert. Tab. 11
22–23	Chf-Me-(75:25)	188	Q, R, S, T	
24–28	Chf-Me-(60:40)	357	(Q), (R), S, T	
29–30	Me	170	(Q), (R), (S), (T) + Stat. ³¹⁾	
Total eluiert		5003		

³¹⁾ Stat. = stationärer Fleck im Pchr, möglicherweise Autoxydationsprodukte.

Von den Fr. 6–7 wurden 312 mg an 12 g Al_2O_3 chromatographiert und lieferten noch 205 mg reines Strophothevosid (K) in Kristallen vom Smp. 216–223°.

Fermentierung der Fr. 16–19 von Tab. 6 (Gemisch von Q und R). 1015 mg Q, R-Gemisch wurden in 20 ml 0,01 M Acetatpuffer (pH = 5) gelöst, mit 700 mg Schneckenferment-Trockenpräparat [17] (entspricht ca. 7 ausgewachsenen Schnecken) und 0,2 ml To vermischt und unter CO_2 40 Std. bei 35° stehengelassen. Eine Kontrolle im Pchr (System von Fig. 7) zeigte, dass die Fermentierung bereits nach 17 Std. beendet war (Verschwinden von Fleck R und Auftreten neuer Flecke, von denen der Hauptfleck wie P lief). Es wurde mit 100 ml abs. Alk versetzt, wobei das Ferment ausflockte, und durch wenig gewaschenes Kieselgur (Celite 535) abgenutscht. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 50° eingedampft, der Rückstand in 15 ml W aufgenommen und 4mal mit je 50 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit 10 ml W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 746 mg gelblichen Schaum, der zur Trennung an SiO_2 chromatographiert wurde (vgl. Tab. 7). Wässrige Phase und Waschwasser wurden vereinigt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (230 mg Schaum) wurde im Dchr (System Eg-iPr-Me-(70:15:15)), Pchr (System Bu/W, 24 Std.) sowie im Elektropherogramm (Boratpuffer, 1500 Volt, 45–50 mA, 4,25 Std.) [27] geprüft; es liess sich 6-Desoxyglucose und wesentlich weniger Glucose nachweisen.

Tabelle 7. Trennung der 746 mg Cardenolidgemisch, die bei der Fermentierung erhalten worden waren, an 120 g SiO_2

Fr.- Nr.	Eluiermittel 80 ml/Fr.	Eindampfrückstand				
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Kristalle Menge in mg	Smp.	Weitere Verarbeitung
1–3	Chf-Me-(92:8)	9	E	—	—	—
4	Chf-Me-(92:8)	16	Str	8,5	132–137°	Endprodukt
5–6	Chf-Me-(92:8)	17	(K), Str	6,5	130–137°	Endprodukt
7–8	Chf-Me-(92:8)	30	K, (Nig)	9	212–215°	Endprodukt
9	Chf-Me-(92:8)	105	(K), Nig	77	226–229°	SiO_2 Chr.
10	Chf-Me-(92:8)	75	(K), Nig	51	225–229°	Endprodukt
11	Chf-Me-(92:8)	47	(K), Nig	34	223–225°	SiO_2 Chr.
12–16	Chf-Me-(92:8)	157	Nig, (N') + Stat. ³¹⁾	—	—	SiO_2 Chr.
17–24	Chf-Me-(92:8)	13	Nig, O, (N), (N'), (Q)	—	—	—
25–28	Chf-Me-(92:8)	306	Nig, (O), Q + Stat. ³¹⁾	—	—	SiO_2 Chr. s. Tab. 8
29–38	Chf-Me-(85:15)					
39–42	Chf-Me-(75:25)					
43–47	Chf-Me-(50:50)					
Total eluiert		775				

Die Fr. 4–6 gaben zusammen 15 mg reines Strophanthidin. Aus Fr. 7–8 wurden 9 mg Strophothevosid (K) erhalten.

Die Fr. 9 und 11 (Kristalle und ML), die ML von Fr. 10 sowie die Fr. 12–16 wurden vereinigt (333 mg) und an 30 g SiO_2 chromatographiert. Es wurde mit Chf-Me-(92:8) eluiert. Die dabei erhaltenen Fr. 8–11 (total 154 mg) zeigten nur den Nig-Fleck und lieferten 102 mg krist. Nigrescigenin, Smp. 217–219°. Die Fr. 12–15 (17 mg) zeigten die Flecke Nig, N' und (Q) und gaben keine Kristalle. Die Fr. 16–18 (13 mg) wiesen die Flecke N' und (Nig) auf und gaben aus Me 8,5 mg Kristalle vom Smp. 248–251° (Zers.), die nach Pchr hauptsächlich N' enthielten, das noch mit 5–10% Nigrescigenin verunreinigt war. Die weiteren Fr. 19–22 (6 mg) zeigten im Pchr den N'- und den R-Fleck.

Von den Fr. 25–47 von Tab. 7 (total 306 mg) wurden 277 mg an 30 g SiO_2 chromatographiert (s. Tab. 8).

Tabelle 8. *Trennung von 277 mg Gemisch der Fr. 25–47 von Tab. 7 an 30 g SiO₂*

Fr.- Nr.	Eluiermittel 27 ml/Fr.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung
1– 9	Chf-Me-(87:13)	20	Nig	—
10–14	Chf-Me-(87:13)	49	(O), (N), Q	Chrom. Tab. 9
15–40	Chf-Me-(87:13)	136	Q, ((S))	—
41–56	Chf-Me-(87:13)	12	Q, S	} Vert. Tab. 11
57–61	Chf-Me-(87:13)	5	Q, S, (T)	
62–65	Chf-Me-(50:50)	9	(Q)	—
66–85	Chf-Me-(50:50)	35	(Q) + Stat. ³¹⁾	—
Total eluiert		266		

Tabelle 9. *Trennung von 365 mg der Fr. 15 von Tab. 6 und von 49 mg der Fr. 10–14 von Tab. 8 (zus. 414 mg N, O, P, Q, R-Gemisch)*

Fr.- Nr.	Eluiermittel 35 ml/Fr.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung
1-23	Chf-Me-(88:12)	9	nicht untersucht	—
24-36	Chf-Me-(82:18)	} 49	O, P, P', (Q)	{ Vert. Tab. 10
37-41	Chf-Me-(70:30)			
42-47	Chf-Me-(70:30)	152	O, P, (P'), (N), (N'), Q, (R), (S)	{ Vert. Tab. 11
48-58	Chf-Me-(70:30)	176	Q, R, (S)	
59-61	Chf-Me-(70:30)	} 40	Q	
62-70	Chf-Me-(50:50)			
Total eluiert		426		

Tabelle 10. *Verteilungschromatographie von 584 mg N, N', O, P, P', Q, R, S-Gemisch*

Fr.- Nr.	Fließmittel 50 ml/Fr./3 ¹ / ₄ Std.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Weitere Verarbeitung
1– 12	Be-Bu-(88:12)	39	nicht untersucht	—
13– 28	Be-Bu-(88:12)	91	O, (L), (O')	Chrom. an SiO ₂
29– 36	Be-Bu-(84:16)	9	O, O', P	—
37– 46	Be-Bu-(78:22)	109	P + Stat. ³¹⁾	SiO ₂ -Filtration
47– 50	Be-Bu-(78:22)	9	P, P'	—
51– 52	Be-Bu-(78:22)	} 15	P' + Stat. ³¹⁾	—
53– 56	Be-Bu-(70:30)			
57– 59	Be-Bu-(70:30)	} 57	N	—
60– 64	Be-Bu-(60:40)			
65– 67	Be-Bu-(60:40)	12	N'	—
68– 80	Be-Bu-(60:40)	11	(N), (N'), (Q)	—
81– 86	Bu	—		
87–102	Me	264	(N), (N'), (O), (P), Q, (S)	Vert. s. Tab. 11
Total eluiert		616		

365 mg der Fr. 15 von Tab. 6 wurden zusammen mit den 49 mg der Fr. 10–14 von Tab. 8 an 250 g SiO_2 chromatographiert (s. Tab. 9).

Erste Verteilungschromatographie der stark polaren Anteile. Die 383 mg der Fr. 13–14 von Tab. 6 wurden mit den 201 mg der Fr. 24–47 von Tab. 9 (zusammen 584 mg) an 300 g gereinigter, mit 35% W imprägnierter Cellulose einer Verteilungschromatographie unterworfen (s. Tab. 10).

Die Fr. 13–28 von Tab. 10, an 10 g SiO_2 chromatographiert, lieferten 41 mg gereinigtes Glykosid O (Strophallosid), die nur den O-Fleck zeigten. 27 mg hiervon wurden aus Me-W kristallisiert und ergaben 9 mg Kristalle vom Smp. 178–182°. Die folgenden Fr. (total 27 mg) waren Gemische von (L), (N), O, (O') und (P'), die nicht getrennt wurden.

Zweite Verteilungschromatographie der weiteren stark polaren Anteile. Hierzu dienten 685 mg der Fr. 20–28 von Tab. 6, 17 mg der Fr. 41–61 von Tab. 8, 216 mg der Fr. 48–70 von Tab. 9 und 264 mg der Fr. 87–102 von Tab. 10 (total 1182 mg). Von diesen wurden 1049 mg an einer Säule aus 500 g gereinigter, mit 35% W imprägnierter Cellulose durch Verteilungschromatographie getrennt (s. Tab. 11).

Tabelle 11. *Verteilungschromatographie von 1049 mg N, N', O, P, Q, R, S, T-Gemisch*

Fr.- Nr.	Fließmittel 100 ml/Fr./ca. 4 Std.	Eindampfdruckstand			
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Kristalle	Weitere Verarbeitung
1– 8	Chf-iPr-(7:1)	190	(N), (O), (P)	—	—
9– 16	Chf-iPr-(7:1)	65	(N'), Q, N	—	—
17– 25	Chf-iPr-(7:1)	243	Q, ((N')), ((R))	—	Reinigung an SiO_2
26– 33	Chf-iPr-(7:1)	25	Q, R	—	—
34– 42	Chf-iPr-(7:1)	37	(Q), R	—	—
43– 49	Chf-iPr-(6:1)				
50– 76	Chf-iPr-(6:1)				
77–109	Chf-iPr-(4:1)	79	(P')	—	—
110–114	Chf-iPr-(3:1)				
115–138	Chf-iPr-(2:1)				
139–156	Chf-iPr-(2:1)	15	(Q)	—	—
157–177	Chf-iPr-(2:1)	27	Q, R	—	—
178–198	Chf-iPr-(1:1)				
199–212	Chf-iPr-(1:1)				
213–239	Chf-iPr-(1:1)	80	(Q), (R), S, (T)	18 mg	Endprodukt
240–274	Chf-iPr-(75:25)				
275–278	Chf-iPr-(75:25)				
279–285	iPr	220	(Q), (R), S, S', T	—	—
286–295	Me				
296–306	Me				
307–310	Me	4	(Q), R, S, T	—	Reinigung an SiO_2
Total eluiert		1195			

Die Fr. 17–25 von Tab. 11 wurden auf wenig SiO_2 aufgezogen und an 10 g SiO_2 (mit 15% W desaktiviert) mit Chf-Me-(90:10), das zu 80% mit W gesättigt war, chromatographiert (10 ml/Fr./15 Min.). Die Fr. 1–8 (3 mg) enthielten nur wenig KEDDE-positives Material und wurden verworfen. Fr. 9–13 ergaben 194 mg praktisch reines Glykosid Q als farblosen Schaum.

Die Fr. 213–274 von Tab. 11 (80 mg) gaben nach Kristallisation und Umkristallisation aus Me 18 mg Glykosid S als farblose feine Nadeln vom Smp. 264–268° (Zers.).

Die Fr. 296–306 (190 mg) von Tab. 11 wurden an 10 g SiO_2 (mit 20% W desaktiviert) mit Chf-Me-(80:20), das zu 80% mit W gesättigt war, chromatographiert (ca. 10 ml/Fr./15 Min.). Neben viel KEDDE-negativem Material und Gemischen von S, S', S'' und T wurden 46 mg rohes

T als bräunlicher Schaum erhalten. Im Pchr (System Chf-iPr-(4:1), 5,5 Std.) zeigte diese Substanz zu ca. 85% den T-Fleck, daneben noch 5 andere schwächere Flecke. Das Gemisch wurde nicht weiter getrennt und direkt nach KILIANI [26] hydrolysiert.

4. Beschreibung der isolierten Stoffe

Farbreaktionen mit H_2SO_4 vgl. Tab. 3, UV.-Spektren vgl. Tab. 2, Vorschriften für Mikrospaltungen nach MANNICH & SIEWERT [25] bzw. nach KILIANI [26] siehe Abschnitt 1. des exper. Teils.

4.1. *Mansonin* (= Substanz E, Präp. HAL 1). Aus Me-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 170–175°, $[\alpha]_D^{25} = +6,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 10. Diskussion sowie NMR.-Daten vgl. folgende Mitteilung [20]. Nach Dchr, Pchr, Drehung und Smp. identisch mit dem Originalpräparat von FRÈREJACQUE [5]. Glykolteste mit $\text{Na}_2\text{J}_2\text{O}_8$ -Benzidin [30] und $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ [31] auf SiO_2 waren negativ. Trocknung zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 .

$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_{10}$, H_2O	Ber. C 62,40	H 8,11	$\text{CH}_3\text{O}-$ 10,40%
(596,71)	Gef. „ 62,38	„ 8,17	„ 10,46%

O-Acetyl-mansonin (Präp. HAL 3). 42 mg Mansonin vom Smp. 170–175° wurden in 0,8 ml abs. Py und 0,6 ml Ac_2O 2 Tage unter CO_2 bei 21° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab nach Kristallisation aus Me-Ae 33 mg farblose Nadeln, Smp. 229–233°, $[\alpha]_D^{24} = +7,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 11. Das Produkt war nach Pchr identisch mit dem Originalpräparat von FRÈREJACQUE [5], für das dieser den Smp. 215–221° und $[\alpha]_D^{20} = +13^\circ$ (in Me) fand. Trocknung zur Analyse wie oben.

$\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{O}_{11}$ (620,74)	Ber. C 63,85	H 7,79%	Gef. C 64,03	H 7,99%
--	--------------	---------	--------------	---------

4.2. *Strophothevosid* (= Substanz K, Präp. HAL 2). Aus Me-Ae farblose Kristalldrusen, Smp. 216–221°, $[\alpha]_D^{23} = +6,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 12. Diskussion sowie NMR.-Daten vgl. folgende Mitteilung [20]. Glykolteste mit $\text{Na}_2\text{J}_2\text{O}_8$ -Benzidin [30] und $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ [31] auf SiO_2 waren negativ. Trocknung zur Analyse wie oben.

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_{10}$	Ber. C 63,81	H 7,85	$\text{CH}_3\text{O}-$ 5,50%
(564,68)	Gef. „ 63,76	„ 8,07	„ 5,23%

Di-O-acetyl-strophothevosid (Präp. HAL 4). 48 mg Strophothevosid vom Smp. 216–221° wurden in 0,8 ml abs. Py und 0,6 ml Ac_2O 2 Tage unter CO_2 bei 21° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab nach Kristallisation aus Me 32 mg lange, farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 216–219°, $[\alpha]_D^{24} = +11,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf). IR.-Spektrum vgl. Fig. 13. Trocknung zur Analyse³²⁾ 5 Std. bei 80°/0,01 Torr über P_2O_5 .

$\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_{12}$ (648,75)	Ber. C 62,95	H 7,46%	Gef. C 62,80	H 7,48%
--	--------------	---------	--------------	---------

4.3. *Genin N'* (= Präp. HAL 16). Aus Me farblose, feine, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 248–251° (Zers.), $[\alpha]_D^{23} = +22,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7$ in Me). Das Präparat war noch mit ca. 5% Nigrescigenin verunreinigt. Wegen Materialmangels musste auf völlige Reinigung sowie auf eine Analyse verzichtet werden. IR.-Spektrum vgl. Fig. 15, Anionen- und Kationen-Massenspektren siehe Fig. 16 und 17. Relative $\text{R}_{\text{Ouabagenin}}$ -Werte vgl. Fig. 7 und Fig. 9. In Pchr konnte gezeigt werden, dass Genin N' verschieden ist von Sarmentologenin, Antiarigenin, al-Dihydro-antiarigenin, Gratogenin³³⁾ sowie Strogogenin (aus *Strophantus gratus*) [32].

Reduktionsprobe. 0,5 mg Genin N' vom Smp. 248–251° wurden nach Vorschrift reduziert. Nach 1,5 Std. Reaktionszeit war im Pchr praktisch nur unverändertes Ausgangsmaterial sichtbar.

4.4. *Strophallosid* (= Substanz O, Präp. HAL 18). Aus W farblose Nadeln, Smp. 178–181°, $[\alpha]_D^{25} = +4,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me)²⁰⁾. Nach Pchr., Misch-Smp., IR.- und UV.-Spektrum identisch mit authentischem Material.

Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [25]. 3 mg amorphes Strophallosid wurden nach Vorschrift hydrolysiert und Proben direkt im Pchr untersucht. Nach 20 Std. war der Fleck von Strophanthidin gut sichtbar, nach 3 Tagen war dessen Intensität recht stark.

³²⁾ Wir danken Herrn Dr. W. PADOWETZ, Mikroanalytisches Labor der CIBA AKTIENGESellschaft, Basel, auch hier bestens für die Ausführung dieser Analyse.

³³⁾ Wir danken Frau Dr. E. ABISCH, SANDOZ AG, Basel, auch hier bestens für die Überlassung einer Probe des Originalpräparats.

Hydrolyse nach KILIANI [26]. 3 mg amorphes Strophallosid wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Der rohe Zucker zeigte im Pchr, Dchr und Elektropherogramm dieselbe Laufstrecke wie 6-Desoxyallose.

4.5. *Glykosid P*. Die Hauptmenge dieses Stoffes ist leider bei einem Kristallisationsversuch durch Autoxydation verlorengegangen. Es konnte nur der Zucker eindeutig nachgewiesen werden. Hydrolyse nach KILIANI [26] (Ausführung nach Vorschrift) gab nur *einen* Zucker, der im Dchr, Pchr und Elektropherogramm mit 6-Desoxyglucose identisch war. Als Genin kommt sehr wahrscheinlich Strophanthidin in Frage; die Laufstrecke im Pchr würde dann gut passen. Nach Einwirkung von Schneckenferment [17] auf ein Gemisch von O, P und N verschwand der P-Fleck, und es entstand ein Fleck mit der Laufstrecke von Strophanthidin.

4.6. *Glykosid Q* (= *Präp. HAL 17*) wurde als farbloses Glas erhalten, das im Pchr (in 4 Systemen: Chf-iPr-(4:1)/W, 5,5 Std.; To-Bu-(1:1)/W, 5,5 Std.; To-Bu-(4:1)/W und To-Mek-(1:1)/W jeweils 4 Tage!) einen gut umgrenzten Fleck gab, ebenso im Elektropherogramm, wo es im Boratsystem [27] zur Anode lief.

Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [25]. 2 mg amorphes Q wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Nach 42 Std. war im Pchr der Fleck von Nigrescigenin gut sichtbar (neben Anhydroprodukten), der Fleck von Strophanthidin trat nicht auf.

Hydrolyse nach KILIANI [26]. 3 mg amorphes Q wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Der rohe Zucker gab im Pchr³⁴), Dchr und Elektropherogramm jeweils zwei Flecke, die gleiche Laufstrecken zeigten wie 6-Desoxyallose und 6-Desoxyglucose; Verhältnis der Intensitäten wie ca. 7:3.

Reduktion mit NaBH₄. 1 mg Glykosid Q wurde nach Vorschrift 1 Std. reduziert. Das erhaltene Produkt zeigte im Pchr nur einen Fleck, der deutlich langsamer lief als Q.

O-Acetyl-Q. 32 mg amorphes Q wurden in 0,8 ml abs. Py und 0,6 ml Ac₂O 24 Std. unter CO₂ bei 35° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 43 mg gelblichen Schaum, der im Dchr (System Chf-Me-(95:5)) einen Hauptfleck und zwei schwächere Flecke zeigte³⁵). Präparative Dchr mit Hilfe von 3,5-Dihydroxypyren-8,10-disulfonsaurem Natrium als Fluoreszenzindikator [33] (obiges System, Laufzeit 2mal Front) lieferte 20 mg blassgelben Schaum, der nicht kristallisierte (NMR.-Daten siehe theoret. Teil).

4.7. *Glykosid R* konnte nicht isoliert werden. Aus dem Resultat des fermentativen Abbaues (vgl. 3.3.), wobei der R-Fleck verschwand und (E), (K), (N'), Nig, (Str), 6-Desoxyglucose und wenig Glucose neu auftraten, lässt sich vermuten, dass R vorwiegend aus Nigrescigenin-6-desoxyglucosid bestand.

4.8. *Glykosid S* (= *Präp. HAL 20*). Aus Me farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 264–268° (Zers.), $[\alpha]_D^{24} = -17,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 14. Wegen der geringen zur Verfügung stehenden Menge wurde auf eine Analyse verzichtet.

Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [25]. 2 mg Glykosid S vom Smp. 264–268° (Zers.) wurden nach Vorschrift hydrolysiert, wobei die Substanz nur teilweise in Lösung ging. Nach 24 Std. trat ein Fleck mit der Laufstrecke von Nigrescigenin auf.

Hydrolyse nach KILIANI [26]. 2 mg Glykosid S wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Der rohe Zucker zeigte im Elektropherogramm nur den Fleck der 6-Desoxyallose.

4.9. *Glykosid T*. Dieses hochpolare Glykosid konnte nicht völlig rein erhalten werden. Es wurde nur eine Hydrolyse nach KILIANI [26] ausgeführt, wobei ein Zuckergemisch entstand, das ca. 70% Glucose und 30% 6-Desoxyglucose enthielt.

4.10. *Nigrescigenin* (= *Präp. HAL 15*). Nigrescigenin wurde aus der fermentativen Spaltung von Q, R-Gemisch (aus Chf-Alk-(2:1)-Extrakt) erhalten. Aus Me-Ae farblose Drusen vom Smp. 225–229°, $[\alpha]_D^{23} = +24,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Me), Methoxyl- und Zuckerbestimmungen waren nega-

³⁴) In dem normalerweise verwendeten System To-Bu-(1:2)/W trennt sich ein Gemisch von 6-Desoxyallose und 6-Desoxyglucose erst nach 3 Tagen völlig, wobei 6-Desoxyallose ca. 1,2-mal rascher läuft als 6-Desoxyglucose.

³⁵) Nigrescigenin liefert bei der Acetylierung neben dem Hauptprodukt auch eine kleine Menge eines Cyclohalbacetal-Derivats.

tiv. Trocknung zur Analyse 12 Std. bei 0,01 Torr und 100° (kein Gewichtsverlust, Schweinchen). Nach Misch-Smp., Pchr, IR.- und UV.-Spektren identisch mit authentischem Material.

$C_{23}H_{32}O_7$ (420,49) Ber. C 65,69 H 7,67% Gef. C 65,50 H 7,60%

4.11. *Strophanthidin*. Aus An-Ae farblose Kristalle, Smp. 132–137°; nach Misch-Smp., Pchr und IR.-Spektrum identisch mit authentischem Material.

4.12. *Untersuchung von N-Gemisch (N1–N7)*. Das Gemisch zeigte im System von Fig. 7 nur einen einzigen Fleck. Eine Auftrennung in 7 Flecke wurde im System von Fig. 9 erreicht, wobei der N4-Fleck weitaus am stärksten war.

Hydrolyse nach MANNICH & SIEWERT [25]. 2 mg Glykosidgemisch N wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Nach 17 Std. war der Nig-Fleck sehr deutlich; es trat kein Strophanthidin-Fleck auf.

Hydrolyse nach KILIANI [26]. 2 mg Glykosidgemisch N wurden nach Vorschrift hydrolysiert. Im Dchr, Pchr und Elektropherogramm liess sich nur Thevetose nachweisen.

Reduktion mit NaBH₄. 5 mg Glykosidgemisch N wurden mit 5 mg NaBH₄ nach Vorschrift reduziert. Im System von Fig. 7 waren hierauf 5 Flecke sichtbar, die alle ausser einem langsamer liefen als N.

Acetylierung von Gemisch N. 100 mg Glykosidgemisch N wurden in 1,8 ml abs. Py und 1,2 ml Ac₂O 24 Std. unter CO₂ bei 35° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 119 mg gelben Schaum. Im Pchr (System von Fig. 4) waren 1 Hauptfleck und 3 schneller laufende schwächere Flecke sichtbar. Versuche, das Gemisch durch Chromatographie an SiO₂ zu trennen, schlugen fehl.

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

SUMMARY

The seeds of *Mansonia altissima* A. CHEV. were found to contain ca. 1% cardiac glycosides. A total of 30 substances has been traced by paper chromatography, of which only 8 (E, K, O, P, Q, R, S, and T) were present in amounts large enough to be traced without prior enrichment of the extracts. These substances could be isolated either in pure form or as enriched mixtures. Substances E, K, O, and S were obtained in crystalline form. Apart from these substances a large amount of a mixture (N) was obtained comprising 7 components. The substances E (mansonin) and O (strophallosid) could be identified with known cardenolides. The structure of O was known; the structures of E and K (strophothevosid) are reported in the following publication. The structures of the other isolated and enriched substances (P, Q, R, S, and T) were only partially elucidated.

The investigations to date show that all these glycosides are derived from 3 genines: strophanthidin, nigrescigenin, and a probably new genine N' whose empirical formula is still unknown. These genines are each bound to one of the following sugars: 6-desoxy-D-allose, 6-desoxyglucose, 3-O-methyl-6-desoxy-D-glucose (=D-thevetose), 2,3-di-O-methyl-6-desoxy-D-glucose, and glucose. Apart from these monoglycosides a small amount of their gluco derivatives are also present.

Institut für Organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] U. P. GEIGER, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 194 (1967).
- [2] W. SANDERMANN & H. H. DIETRICH, *Holz als Roh- und Werkstoff* 17, 88 (1959).
- [3] R. PORTÈRES, *Bull. Etudes hist. scient. de l'A.O.F.* 18, 133 (1935); J. KERHARO & A. BOUQUET, *Acta tropica* 6, 193 (1949); «Plantes Médicinales et Toxiques de la Côte-d'Ivoire-Haute-Volta», Vigot Frères, Paris 1950.

- [4] a) M. MASCRÉ & R. PARIS, C. r. Soc. biol. 128, 1004 (1938); b) A. CLERC & R. PARIS, *ibid.* 1106; c) M. MASCRÉ & R. PARIS, Bull. Sci. pharmacol. 46, 145 (1939).
- [5] M. FRÈREJACQUE, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci., 233, 1220 (1951).
- [6] A. UFFER, Helv. 35, 528 (1952).
- [7] G. B. MARINI BETTÒLO, C. G. CASINOVÌ & C. GALEFFI, Tetrahedron Letters 1965, Nr. 52, 4857.
- [8] N. TANAKA, M. YASUE, T. TAKAHASHI, H. IMAMURA & O. HONDA, Ann. Rep. Government Forest exp. Station 1964, 138; N. TANAKA, M. YASUE & H. IMAMURA, Tetrahedron Letters 1966, Nr. 24, 2767.
- [9] a) P. MÜHLRADT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 47, 2164 (1964); b) P. MÜHLRADT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Liebigs Ann. Chem. 685, 253 (1965).
- [10] J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1821 (1951).
- [11] a) D. L. KEDDE, Pharmac. Weekbl. 82, 741 (1947); b) J. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952); M. L. LEWBART, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, Helv. 46, 505 (1963).
- [12] P. BELLET, Ann. pharmaceut. franç. 8, 471 (1950).
- [13] a) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951); b) H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953).
- [14] E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954); F. KAISER, Chem. Ber. 88, 556 (1955).
- [15] B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 1570 (1960).
- [16] R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. 34, 2278 (1951); D. LAWDAY, Nature 170, 415 (1952).
- [17] H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 46 (1951), bes. p. 68.
- [18] F. C. UHLE & R. C. ELDERFIELD, J. org. Chemistry, 8, 162 (1943); R. MÄULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 284 (1957).
- [19] A. R. MANZETTI & T. REICHSTEIN, Helv. 47, 2303, 2320 (1964).
- [20] H. ALLGEIER, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 50, 456 (1967).
- [21] R. BRANDT, H. KAUFMANN & T. REICHSTEIN, Helv. 49, 1844 (1966); frühere Lit. daselbst.
- [22] L. F. FIESER & M. FIESER, «Steroide», übersetzt von H. GRÜNEWALD, Verlag Chemie, Weinheim 1961, S. 811.
- [23] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).
- [24] M. v. ARDENNE, «Tabellen zur Angew. Physik», Bd. 1, S. 606, 611, 725, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1962; M. v. ARDENNE, K. STEINFELDER, R. TÜMMLER & K. SCHREIBER, Experientia 19, 178 (1963) und weitere Lit. daselbst.
- [25] C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges., 75, 737 (1942).
- [26] H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges., 63, 2866 (1930); P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).
- [27] H. KAUFMANN, P. MÜHLRADT & T. REICHSTEIN, Helv. (in Vorbereitung).
- [28] S. M. PARTRIDGE, Nature, 164, 443 (1949).
- [29] F. SCHEFFER & R. KICKUTH, Z. analyt. Chem. 191, 116 (1962).
- [30] D. F. MOWERY, Analyt. Chemistry, 29, 1560 (1957).
- [31] J. G. BUCHANAN, C. A. DEKKER & A. G. LONG, J. chem. Soc. 1950, 3162.
- [32] U. P. GEIGER, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 50, 174 (1967).
- [33] R. TSCHESCHE, G. BIERNOTH & G. WULFF, J. Chromatogr. 12, 342 (1963).
-