

259. Panstrosid (Substanz Nr. 762)¹⁾²⁾.Glykoside und Aglykone, 84. Mitteilung³⁾

von J. P. Rosselet, A. Hunger und T. Reichstein.

(24. VIII. 51.)

Mit dem vorläufigen Namen Substanz Nr. 762 wurde bisher ein herzwirksames Glykosid bezeichnet, das aus den Samen verschiedener Strophanthus-Arten isoliert werden konnte. Es wurde bis jetzt aus den Samen von *S. gerrardii* Stapf (ca. 0,2%)^{a)}, *S. courmontii* Sacf. (0,04%)^{b)}, *S. sarmentosus* A.P. DC. aus dem östlichen Teil der Elfenbeinküste, Togo, Goldküste und Süd-Nigeria (ca. 0,1—0,4%)^{c)} und *S. welwitschii* (Baill.) K. Schum. aus Angola⁴⁾ (ca. 0,05%) gewonnen. Besonders reich an diesem Stoff (ca. 0,9%) waren die Samen von *S. intermedius* Pax⁵⁾ und *S. amboensis* (Schinz) Engl. et Pax⁴⁾. Da es sich um ein neues Glykosid handelt, das in vielen verschiedenen Strophanthus-Arten vorkommt, soll es in Zukunft Panstrosid genannt werden.

Die früher^{a) b) c)} für Panstrosid gefundenen Analysenwerte sowie das Ultraviolettpektrum sprachen dafür, dass ein Monoglykosid $C_{30}H_{42-44}O_{11}$ mit einer Methoxylgruppe vorliegt. Immerhin konnte ein Diglykosid $C_{36}H_{54}O_{13}$ nicht ganz ausgeschlossen werden. Die Keller-Kiliani-Reaktion auf 2-Desoxyzucker war negativ. Da diese Reaktion bei Diglykosiden, die nur einen 2-Desoxyzucker enthalten, aber häufig versagt, wurde trotzdem zuerst eine milde Hydrolyse mit 0,05-proz. H_2SO_4 in 50-proz. Methanol versucht. Panstrosid blieb dabei unverändert, es enthält demnach keinen 2-Desoxyzucker. Daher wurde eine Spaltung mit HCl in Aceton nach der Methode von Mannich & Siewert⁶⁾ versucht. Sie verlief überraschend glatt und lieferte nach 12-tägigem Stehen in 85% Ausbeute ein krist. Aglykon und in 64% Ausbeute freien Zucker. Das Aglykon erwies sich in allen Eigenschaften als identisch mit Sarverogenin (II). Zur weiteren Sicherung der Identität wurde das Benzoat (III) bereitet. Nach Impfen mit D-Digitalose (IV) konnte auch der abgespaltene Zucker kristallisiert werden. Er war auch nach Smp. und Drehung mit D-Digitalose (IV) identisch. Zur weiteren Charakterisierung wurde er in das bekannte, gut kristallisierende Digitalonsäurelacton übergeführt.

¹⁾ Vgl. Diss. J. P. Rosselet, die demnächst erscheint.

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

³⁾ 83. Mitt. H. Hess, P. Speiser, O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 1854 (1951).

⁴⁾ Siehe spätere Mitteilungen.

⁵⁾ J. v. Euw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein, Helv. **34**, 1821 (1951).

⁶⁾ C. Mannich & G. Siewert, B. **75**, 37 (1942).

Panstrosid ist somit ein D-Digitalosid des Sarverogenins und besitzt die Formel $C_{30}H_{44}O_{11}$. Da es bei halbstündigem Kochen mit 0,05-n. H_2SO_4 in 50-proz. Methanol nicht hydrolysiert wird, muss es sich um ein Pyranosid handeln. Aus dem Vergleich der molaren Drehungen lässt sich nach *Klyne*¹⁾ die Bindungsart des Zuckers ermitteln.

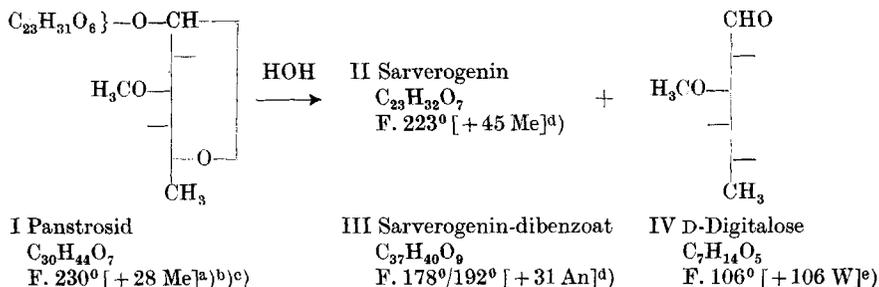
	$[M]_D^{2)}$
Panstrosid	$+184^\circ \pm 12^\circ$ (Methanol)
Sarverogenin	$+189^\circ \pm 13^\circ$ (Methanol)
Differenz = Drehungsbeitrag des Zuckerrestes	$-5^\circ \pm 25^\circ$

Unreines α -Methyl-D-digitalosid³⁾ zeigte $[M]_D = +243^\circ \pm 6^\circ$ (Aceton).

Unreines β -Methyl-D-digitalosid⁴⁾ zeigte $[M]_D = -5^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol).

Panstrosid ist somit ein β -D-Digitalosid in Übereinstimmung mit der von *Klyne*¹⁾ aufgefundenen Regel, dass die natürlichen digitaloiden Glykoside von D-Zuckern β -glykosidische Bindung aufweisen.

Die Struktur des Sarverogenins (II) ist noch unbekannt, daher kann für Panstrosid vorläufig nur die Teilformel I angegeben werden:



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: W = Wasser, Me = Methanol, An = Aceton.

a) *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 522 (1950). b) *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 1006 (1950). c) *J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 2153 (1950). d) *A. Buzas, J. v. Euw & T. Reichstein*, Helv. **33**, 465 (1950). e) *J. D. Lamb & S. Smith*, Soc. **1936**, 442.

Neben Sarverosid^{d)} und Intermediosid^{b)} ist Panstrosid bereits das dritte Strophanthus-Glykosid, das als Aglykon Sarverogenin enthält. Es unterscheidet sich von Intermediosid lediglich durch eine zusätzliche HO-Gruppe am C-2 des Zuckers, von Sarverosid ausserdem noch durch andere Konfiguration am C-3 des Zuckerrestes.

¹⁾ *W. Klyne*, Proc. Biochem. Soc. 288th Meet., Biochem. J. **47**, xli (1950).

²⁾ $[M]_D = [\alpha]_D \cdot M/100$ (M = Mol-Gewicht).

³⁾ *Ch. Tamm*, Helv. **32**, 163 (1949).

⁴⁾ *F. Reber & T. Reichstein*, Helv. **29**, 343 (1946).

⁵⁾ *J. P. Rosselet & A. Hunger*, Helv. **34**, 1036 (1951).

Die von *Chen* gefundenen Werte der letalen Dosis von Sarverogenin-glykosiden an der Katze wurden schon früher mitgeteilt. Sie seien hier nochmals tabellarisch zusammengestellt.

Glykosid	Zucker	Anzahl Tiere	geom. Mittel der letalen Dosis mg/kg
Sarverosid (C ₃₀ H ₄₄ O ₁₀)	Sarmentose	10	0,40 ± 0,03 d)
Intermediosid (C ₃₀ H ₄₄ O ₁₀)	Diginose	7	1,84 ± 0,15 a)
Panstrosid (C ₃₀ H ₄₄ O ₁₁)	Digitalose	7	1,00 ± 0,16 a)

Auffallend ist die starke Abhängigkeit der biologischen Aktivität von der Zuckerkomponente.

Für die vorliegende Arbeit standen uns Mittel aus den *Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes* zur Verfügung, wofür auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze bis 200° etwa ± 2°, darüber etwa ± 3°.

Verseifungsversuch mit 0,05-n. H₂SO₄. 100 mg Panstrosid vom Smp. 232—235° wurden in 5 cm³ Methanol gelöst, mit 5 cm³ 0,1-n. H₂SO₄ versetzt und 25 Minuten unter Rückfluss erhitzt. Darauf wurde das Methanol im Vakuum bei ca. 40° Badtemperatur zunächst weitgehend und nach beginnender Kristallisation bei 20° vollständig entfernt. Dann wurde die Kristallisation durch 2½ständiges Stehen bei 20° möglichst vervollständigt. Abgenutscht, mit wenig Wasser gewaschen und im Exsikkator getrocknet, resultierten 65 mg glänzende Körnchen, Smp. 232—235°; die Mischprobe mit Ausgangsmaterial schmolz gleich. Die Mutterlaugen wurden 5mal mit 15 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen noch 35 mg Rückstand, der sich nach Kristallisation aus Methanol-Äther ebenfalls als Ausgangsmaterial erwies.

Spaltung von Panstrosid mit HCl in Aceton. 1 g Panstrosid vom Smp. 232 bis 235° wurde in Methanol gelöst, die Lösung im Vakuum bei 40° Badtemperatur zum Schaum eingedampft und 40 Min. getrocknet. Der Rückstand wurde in 40 cm³ Aceton gelöst, mit 0,4 cm³ konz. (37-proz.) HCl versetzt und 12 Tage bei 20° stehengelassen. Nach 2 Tagen begann sich ein farbloses Pulver aus der Mischung abzuscheiden. Nach Zugabe von 20 cm³ Aceton und 0,2 cm³ konz. HCl erfolgte vollständige Lösung. Nach weiteren 3 Tagen erneut allmähliche Abscheidung eines farblosen Pulvers. Nach Ablauf der 12 Tage wurde abgenutscht und mit wenig Aceton gewaschen, getrocknet und aus Methanol-Äther umkristallisiert. Es resultierten 495 mg farblose Nadeln, Smp. 223—225°. Die klaren, hellgelben Mutterlaugen wurden mit 60 cm³ Wasser versetzt, das Aceton im Vakuum bei 20° entfernt, der verbleibenden Suspension die 495 mg kristallisierte Substanz zugegeben und mit 60 cm³ Methanol versetzt. Die klare Lösung wurde 25 Min. auf dem Wasserbad am Rückfluss erhitzt. Hierauf wurde das Methanol im Vakuum bei ca. 25° abdestilliert und die wässrige Suspension 5mal mit 100 cm³ Chloroform und 3mal mit 40 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt (Isolierung des Zuckers aus der wässrigen Phase siehe unten). Die der Reihe nach mit 10 cm³ Wasser, 4 cm³ 2-n. Sodalösung und mit 4 cm³ Wasser gewaschenen Auszüge hinterliessen nach Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen 775 mg Rückstand aus den Chloroformauszügen und 15 mg aus den Chloroform-Alkohol-(2:1)-Auszügen. Vereinigt liessen sich aus Methanol-Äther 520 mg rohes Sarverogenin vom Smp. 222—225°, aus der Mutterlauge weitere 80 mg Sarverogenin vom Smp. 220 bis 222° isolieren. Chromatographie der verbleibenden Mutterlauge lieferte nochmals 112 mg

Sarverogenin vom Smp. 222—225°, totale Ausbeute 712 mg (85,4% der Theorie). Ein analoger Versuch mit 500 mg Panstrosid gab 337 mg Sarverogenin (82,6% der Theorie).

Sarverogenin aus Panstrosid. Aus Methanol-Äther farblose Nadeln. Smp. 223 bis 225°; $[\alpha]_D^{20} = +42,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,081$ in Methanol).

10,81 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,46^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. über P₂O₅ im H.V. bei 120° getrocknet, im Schweinchen eingewogen. Gewichtsverlust: 2,83%.

3,852 mg Subst. gaben 9,289 mg CO₂ und 2,515 mg H₂O (A. P.)

C₂₃H₃₂O₇ (420,49) Ber. C 65,69 H 7,67% Gef. C 65,81 H 7,31%

Die Mischprobe mit authentischem Material gab keine Depression. Die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren genau gleich.

Sarverogeninbenzoat. 50 mg Sarverogenin vom Smp. 222—225° aus Panstrosid wurden wie früher beschrieben¹⁾ benzooyliert. Erhalten wurden 67 mg rohes Benzoat. Diese gaben nach chromatographischer Reinigung und Kristallisation aus Aceton-Äther und Aceton-Methanol 48 mg farblose Prismen vom Doppelsmp. 176—184° → 192°; $[\alpha]_D^{20} = +30,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,940$ in Aceton).

9,40 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,28^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Std. über P₂O₅ im H.V. bei 100° getrocknet, Einwaage im Schweinchen, Gewichtsverlust: 4,51%.

4,790 mg Subst. gaben 12,380 mg CO₂ und 2,765 mg H₂O (A. P.)

C₃₇H₄₀O₉ (628,69) Ber. C 70,68 H 6,41% Gef. C 70,53 H 6,46%

Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ identisch mit jener von authentischem Material. Mischsmp.: keine Depression.

Isolierung des Zuckers. Die saure wässrige Lösung der *Mannich*-Spaltung (aus 1 g Panstrosid) wurde im Vakuum bei 20° auf ca. 20 cm³ eingengt, mit frisch gefälltem Ag₂CO₃ neutralisiert und durch ein mit wenig Ag₂CO₃ gedichtetes Filter abgenutscht. Das Filtrat wurde bei 0° kurz mit H₂S behandelt, mit ca. 10 mg gewaschener Kohle versetzt und durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare, farblose Filtrat gab nach Eindampfen im Vakuum bei ca. 30° Badtemperatur (Schliffapparat) 215 mg farblosen Sirup. Dieser wurde in 1,5 cm³ abs. Alkohol aufgenommen, mit 4 cm³ Aceton versetzt, von Flocken abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Der resultierende Sirup wurde in 1 cm³ Methanol aufgenommen, mit 7 cm³ Aceton versetzt, von Flocken abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 196 mg (64%) farbloser Sirup, der 16 Std. bei 12 Torr über P₂O₅ getrocknet wurde. Aus Aceton-Pentan (1:1) (Impfen mit krist. Digitalose) resultierten 75 mg feine Nadeln; Smp. 104—106°; $[\alpha]_D^{20} = +102,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,548$ in H₂O; Endwert nach 48 Std.).

5,52 mg Subst. zu 1,0062 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,56^\circ \pm 0,02^\circ$

Mischsmp. mit authentischer D-Digitalose¹⁾ zeigte keine Depression.

D-Digitalonsäure-lacton aus Digitalose von Panstrosid. 80 mg Zuckersirup aus einem Vorversuch wurden in 2 cm³ Wasser gelöst, mit 150 mg Brom 1 Std. geschüttelt und anschliessend 20 Std. bei 18° im Dunkeln stengelassen. Übliche Aufarbeitung²⁾ gab 68 mg rohes Lacton, welches im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 120—150° Badtemperatur destilliert wurde. Das Destillat (56 mg) gab aus Methanol-Äther 40 mg feine Nadeln, Smp. 136—138°; $[\alpha]_D^{18} = -81,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,96$ in Wasser).

9,63 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,78^\circ \pm 0,02^\circ$

¹⁾ J. D. Lamb & S. Smith^{e)} fanden für krist. Digitalose aus Emicymarin F. 106—119°; $[\alpha]_D^{20} = +106^\circ$ (Endwert in Wasser nach 17 Std.; $c = 1,7$). Denselben Wert fanden O. Th. Schmidt, W. Mayer & A. Distelmaier, A. 555, 26 (1943). F. Reber & T. Reichstein, Helv. 29, 343 (1946), fanden $[\alpha]_D^{18} = +110^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 3,28$ in H₂O).

²⁾ Vgl. C. W. Shoppée & T. Reichstein, Helv. 23, 975 (1940).

Zur Analyse wurde 2 Tage bei 26° über P₂O₅ ohne Vakuum getrocknet.

3,780 mg Subst. gaben 6,660 mg CO₂ und 2,464 mg H₂O (OAB)

C₇H₁₂O₅ (176,17) Ber. C 47,72 H 6,87% Gef. C 48,08 H 7,29%

Mischsm. mit authentischem Material¹⁾ aus Emicymarin: keine Depression.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB) und im Mikroanalytischen Laboratorium Brugg bei Herrn *Aug. Peisker-Ritter* (A. P.) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Das früher als Substanz Nr. 762 bezeichnete Glykosid wird Panstrosid genannt. Durch Spaltung mit HCl in Aceton liess es sich in Sarverogenin und Digitalose spalten. Aus Drehungswerten folgt, dass Zucker und Aglykon β -glykosidisch verknüpft sind.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

260. Über herzkaktive Krötengifte (Bufogenine).

6. Mitteilung²⁾.

Telocinobufagin aus *Bufo marinus* (L.) *Schneid.* (= *Bufo agua Seba*) und einige Bemerkungen zur Konstitution des Marinobufagins

von **Kuno Meyer.**

(28. VIII. 51.)

Das erste reine und kristallisierte herzkaktive Krötengift haben *Abel & Macht*³⁾ im Jahre 1911 aus der südamerikanischen Kröte *Bufo marinus* (L.) *Schneid.* isoliert und gaben ihm den Namen Bufagin, der später in Marinobufagin umgeändert wurde⁴⁾. Derselbe Stoff wurde von *Deulofeu & Mendive*⁵⁾ sowohl aus *Bufo marinus* aus Brasilien wie auch aus der nordargentinischen Kröte *Bufo paracnemis*⁶⁾ er-

¹⁾ *F. Reber & T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 343 (1946), fanden $F. 136-137^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -75,3^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (in An); *J. D. Lamb & S. Smith*⁶⁾ fanden $F. 137-138^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -83^{\circ}$ (in H₂O).

²⁾ 5. Mitt., *K. Meyer*, *Helv.* **32**, 1993 (1949).

³⁾ *J. J. Abel & D. I. Macht*, *J. Pharmacol. and Exp. Therap.* **3**, 319 (1911–1912).

⁴⁾ *H. Jensen & K. K. Chen*, *J. Biol. Chem.* **100**, Proceedings pag. LVII (1933); *K. K. Chen & A. L. Chen*, *J. Pharmacol. and Exp. Therap.* **49**, 514 (1933).

⁵⁾ *V. Deulofeu & J. R. Mendive*, *A.* **534**, 288 (1938).

⁶⁾ *Bufo paracnemis* ist zum erstenmal von *Lutz*⁷⁾ in Nordargentinien beobachtet worden und ist möglicherweise nur eine geographische Varietät von *Bufo marinus*. *Deulofeu & Mendive*⁵⁾ haben bei gleichzeitiger Aufarbeitung der Giftsekrete von authentischen *B. marinus* und von *B. paracnemis* auch aus beiden dieselbe Krötenbase (Bufotenin) isolieren können. Diese chemischen Befunde, die keinerlei Unterschiede zwischen *B. marinus* und *B. paracnemis* erkennen lassen, dürften bis zu einem gewissen Grade diese Vermutung bestätigen, da die chemische Untersuchung der verschiedenen Krötengifte bis jetzt gezeigt hat, dass jede Krötenart ihr spezifisches Giftgemisch produziert.

⁷⁾ *A. Lutz*, *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **28**, 111 (1934).