

2. Reihe

$w \cdot 10^3$	0	2,516	8,390	12,669	20,316	46,854	79,388	115,263
d_{12}	0,87912	0,87912	0,87914	0,87921	0,87938	0,87984	0,88065	0,88126
ϵ_{12}	2,2820	2,2885	2,3027	2,3125	2,3344	2,3944	2,4939	2,5988
	$b_s = 2,806$		$b_d = 0,0189$	$P_1 = 239,9$		$\mu = 2,71$	D	

Zusammenfassung.

Die Dipolmomente einer Reihe von aliphatischen Ketonen wurden gemessen. Es wird gezeigt, dass die beobachtbare Abhängigkeit der Dipolmomente von der Ringgrösse mit Hilfe einer einfachen elektrostatischen Influenztheorie nicht erklärt werden kann.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

7. Die Glykoside der Wurzeln von *Xysmalobium undulatum* R. Br.

Erste Mitteilung.

Glykoside und Aglykone, 69. Mitt.¹⁾²⁾

von H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser und T. Reichstein.

(29. XI. 50.)

Die folgende Arbeit ist mehrmals begonnen worden und musste aus äusseren Gründen öfters unterbrochen werden. Da es unsicher ist, wann sie wieder aufgenommen werden kann, geben wir die vorläufigen Resultate bekannt.

Xysmalobium undulatum R. Br. ist eine in Südafrika heimische Asclepiadacee, deren Wurzel dort als Arzneimittel verwendet wird. Sie wurde bereits von *Breyer-Brandwijk*³⁾ untersucht, die aus den Wurzeln unter anderem in 0,3% Ausbeute ein krist. Glykosid $C_{46}H_{70}O_{20}$, $5H_2O$, Nadeln oder Federbüschel vom Smp. 177—179° isolieren konnte, das sie Xysmalobin nannte. Dieses soll jedoch nicht der Hauptträger der Giftwirkung der Wurzel sein. Für die hauptsächlichste toxische Wirkung wird ein zweites, zerfliessliches Glykosid verantwortlich gemacht, das bei der Kristallisation des „Xysmalobins“ in den Mutterlaugen verbleibt⁴⁾. Ein drittes, aus der Wurzel erhaltenes krist. Glykosid soll dem Xysmalobin gleichen, mit ihm aber wahrscheinlich nicht identisch sein.

¹⁾ 68. Mitteilung *J. v. Euw, F. Reber & T. Reichstein*, Helv. **34** (1951) im Druck.

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

³⁾ *Maria G. Breyer-Brandwijk*, Trans. of the Roy. Soc. of South Africa **14**, 353 (1928); C. **1928**, II, 1578.

⁴⁾ Auch „Uzaron“ soll neben Uzarin ein leicht wasserlösliches Glykosid „Uzaren“ enthalten, das *Tschesche & Bohle*, B. **68**, 2252 (1935), nicht kristallisieren konnten.

Über Verwendung und Wirkung von Xysmalobium siehe besonders *Watt & Breyer-Brandwijk*¹⁾ sowie *Watt*²⁾. Danach wird die Droge besonders gegen Kolik, Diarrhöe, Dysenterie und als „uterines Sedativum“ verwendet, früher auch gegen Wassersucht. Xysmalobin zeigt nach *Watt*³⁾ typische digitalisartige Wirkung auf das Herz; die Toxizität ist aber relativ gering, im Vergleich zu anderen Glykosiden dieser Gruppe.

Xysmalobium und Uzara.

Nach Angaben von Pater *J. Gerstner* (†), der uns auch dieses Material besorgte und der sich besonders auf die Aussagen eines sehr alten Medizinmannes stützte, dienten die Wurzeln von Xysmalobium undulatum wenigstens früher zur Bereitung der „Uzara-Medizin“. Die sehr ähnlichen Indikationen sowie die sehr ähnlichen Angaben der Literatur über die pharmakologischen und chemischen Befunde sprechen dafür, dass diese Vermutung richtig sein könnte. Uzara-Extrakte sind etwa 1911 in Europa eingeführt worden⁴⁾, dienten aber in Südafrika schon lange als Volksheilmittel. Sie wurden empfohlen gegen Durchfälle, Dysenterie, Gebärmutterkrämpfe sowie als Herz- und Gefäßtonikum. Besonders bekannt war der unter dem Namen „Uzaron“⁵⁾ von der *Uzara-Gesellschaft m.b.H.*, Melsungen (Hessen, Bezirk Kassel) in den Handel gebrachte Extrakt. Die genaue Stammpflanze der „Uzara-Medizin“ und des „Uzarons“ ist nirgends angegeben. Nach *Gürber*⁶⁾ ist „Uzara“ der Eingeborenenname eines im afrikanischen Seengebiet heimischen, wahrscheinlich zur Familie der Asclepiadaceae gehörigen, sonst aber botanisch noch unbestimmten Halbstrauches. Nach *Wasicky*⁷⁾, *Kofler*⁸⁾ sowie *Windaus & Haack*⁹⁾ soll es sich um eine Gomphocarpus-Species handeln. Nach *Braun*¹⁰⁾ soll Uzara aus der Gegend des früheren Deutsch-Ostafrika von *Dicoma anomala Sond.* (Compositae) stammen, worüber *Greenish*¹¹⁾ weitere Angaben macht. *Holmes*¹²⁾ glaubt aber, dass es sich um *Schizoglossum shirensense N. E. Brown* handelt.

¹⁾ *J. M. Watt & Maria G. Breyer-Brandwijk*, The medical and poisonous plants of southern Africa, p. 147 (Edinburgh 1932); frühere Literatur daselbst.

²⁾ *J. M. Watt*, The uses and actions of Xysmalobium undulatum, S. Afr. J. Med. Sci. **1**, 4 (1935).

³⁾ *J. M. Watt*, J. Pharmacol. and Exp. Therap. **38**, 261 (1930).

⁴⁾ *A. Gürber*, Münch. med. Wochschr. **1911**, Nr. 40; Therap. Halbmonatsh. **34**, 465 (1920); C. **1920**, III 726. — Die Einführung in Europa beruht nach *Hennig*⁵⁾ auf den jahrelangen Bemühungen von *H. W. A. Hopf*; siehe den interessanten Originalbericht daselbst⁵⁾.

⁵⁾ *W. Hennig*, Arch. Pharm. **255**, 382 (1917).

⁶⁾ *A. Gürber*, Münch. med. Wochschr. **1911**, Nr. 40.

⁷⁾ *R. Wasicky*, Ber. dtsch. pharm. Ges. **26**, 266 (1916).

⁸⁾ *L. Kofler*, Arch. Pharm. **255**, 550 (1917).

⁹⁾ *A. Windaus & E. Haack*, B. **63**, 1377 (1930).

¹⁰⁾ *K. Braun*, Angew. Botanik **3**, 94 (1921); C. **1921**, IV, 549.

¹¹⁾ *H. G. Greenish*, Pharmac. J. **105**, 474 (1920); C. **1921**, II, 328.

¹²⁾ *E. M. Holmes*, Pharmac. J. **105**, 507 (1920); C. **1921**, II, 328.

Wenn man von der wenig wahrscheinlichen Vermutung von *Braun* absieht, wonach *Dicoma anomala* die Stammpflanze darstellen soll, so sprechen alle Angaben der Literatur für eine *Gomphocarpus*-art. Dies steht nicht unbedingt im Widerspruch zu *Pater Gerstner's* Angaben über *Xysmalobium undulatum*, denn die Gattungen *Gomphocarpus*, *Pachycarpus* und *Xysmalobium* sind äusserst nahe verwandt und die zwei erstgenannten werden teilweise sogar als Synonyma verwendet. Ausserdem besteht die Möglichkeit, dass die als Volksheilmittel verwendete „Uzara-Medizin“ an verschiedenen Orten von verschiedenen Pflanzen gewonnen wird¹⁾. Dasselbe könnte auch für „Uzaron“ gelten.

Als weitere Stütze für obige Vermutung kann folgender eigener Befund gelten: Eine Probe einer Handelslösung von „Uzaron“²⁾ gab nach analoger Behandlung, wie wir sie bei den Wurzeln anwendeten (siehe unten), ein Kristallisat, das von „Xysmalobin“ bis auf eine etwas abweichende spez. Drehung nicht zu unterscheiden war. Ein sicherer Beweis, dass dieses Uzaronpräparat aus *Xysmalobium undulatum* gewonnen worden war, ist dies nicht, besonders da „Xysmalobin“ kein einheitlicher Stoff, sondern ein schwer trennbares Gemisch ist³⁾. Wir berichten im folgenden über unsere vorläufigen Resultate.

Beschaffung des Pflanzenmaterials.

Die verwendeten Wurzeln wurden von Dr. *J. Gerstner* (†) im Januar bis März 1948 teilweise in der Native-Reserve nahe bei der Missionsfarm Edendale⁴⁾, etwa 50 (?) Meilen nordöstlich von Pretoria, hauptsächlich aber in den Springbokflats von Johannesburg aus gesammelt und als Nr. 6497 bezeichnet. Der Name *Xysmalobium undulatum* ist nach seiner Angabe nur für die getrocknete Pflanze charakteristisch, in frischem Zustand ist sie nicht gewellt (vgl. Abbildung bei *Watt & Breyer-Brandwijk*, loc. cit.). Sie wächst in Lehm oder lehmigem Moorboden den Flüssen entlang im frostfreien oder nahezu frostfreien Dornbusch. Die frischen Wurzeln sehen wie dicker Meerrettich aus, sind etwa 2 lbs schwer und schmecken nur mässig bitter. Die „Bergwurzel“, *Pachycarpus concolor*, ist dagegen äusserst bitter⁵⁾. Dr. *Gerstner* sandte Herbarexemplare zur Kontrolle an Miss *I. Verdoorn*, Division of Botany & Plant Pathology, Dep. of Agriculture, Pretoria, und erhielt folgende, vom 14. Januar 1948 datierte Antwort:

„Miss *Bruce* has examined your specimens Nr. 6497 and has confirmed the identification as *Xysmalobium undulatum* R. Br. sig.: *Verdoorn*.“

¹⁾ Nach *Gerstner* wächst von eigentlichen *Gomphocarpus*-Arten in Südafrika nur *Gomphocarpus fruticosus* in grösseren Mengen. Die Wurzel dieser Art kommt für die Gewinnung der Uzara nicht in Betracht, weil sie praktisch nicht bitter ist. Die Samen enthalten andere Glykoside als Uzaron.

²⁾ Wir danken Herrn Dr. *Teodor. Canbäck*, Apotekens kontrollaboratorium, Stockholm, bestens für die Überlassung dieser Probe.

³⁾ Nach Privatmitteilung von Herrn Prof. *R. Tschesche*, Hamburg, gilt dasselbe für die aus Uzaron erhaltenen Kristallisate und die üblichen Uzarin-Kristallisate. Er wird darüber später berichten.

⁴⁾ Es gibt mehrere Orte dieses Namens in Südafrika.

⁵⁾ Nach Dr. *J. Gerstner* nennen die Zulus diese beiden Arten „Kathimuthi“, während die anderen weniger bitteren *Pachycarpus*-arten als „i Shongwe“ bezeichnet werden.

Die gegrabenen Wurzeln wurden in dünne Scheiben geschnitten und sofort an der Sonne vollständig getrocknet (Gewichtsverlust ca. 60%) und versandt. In diesem Zustand waren sie haltbar. Ungetrocknete Wurzeln beginnen sehr rasch an den verletzten Stellen schwarzen Schimmel anzusetzen.

Extraktion der Wurzeln.

Eine Probe der Wurzeln wurde fein gemahlen und mehrmals mit heissem Methanol extrahiert. Etwas bequemer war die folgende Methode, die zur Extraktion der Hauptmenge verwendet wurde. Das feingepulverte Material wurde zuerst mit Wasser geweicht, anschliessend mit 50-proz., dann mit 95-proz. Alkohol fertig extrahiert.

Die so erhaltenen Lösungen wurden entweder direkt oder nach starkem Einengen im Vakuum in wässrigem Methanol oder 50-proz. Alkohol zunächst mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ gereinigt. Nach Einstellung des Filtrates auf $\text{pH} = \text{ca. } 6$ und Entfernung des Methanols bzw. Äthanol wurde zunächst mehrmals mit Äther, dann mit Chloroform ausgeschüttelt. (Über die in diesen zwei Extrakten erhaltenen Stoffe siehe weiter unten.) In manchen Fällen schied sich bereits hier ein Teil des „Xysmalobins“ als schwer löslicher kristalliner Niederschlag aus, der abfiltriert wurde. Die Mutterlauge bzw. die ganze wässrige Phase wurde nun im Vakuum stark eingeengt und erschöpfend mit Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch¹⁾²⁾ ausgeschüttelt. Dieser Extrakt lieferte aus wenig Wasser beim Stehen das krist. „Xysmalobin“. Aus den Mutterlaugen konnte eine weitere kleinere Menge durch mehrtägiges Stehen mit KHCO_3 in wässrigem Methanol erhalten werden. Über die Ausbeuten aus 1 kg getrockneter Wurzeln orientiert folgende Tabelle.

Versuchsnummer	Äther-extrakt	Chloroform-extrakt	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt	Krist. „Xysmalobin“ aus letzterem
1. (W. Huber) Extr. mit Methanol	3,26 g	1,6 g	73 g	25,1 g
2. (F. Blindenbacher) Weichen mit Wasser, dann extr. mit Äthanol	2,17 g	1,66 g	59 g	25,8 g
3. (K. Mohr) Extr. wie 2.	1,49 g	0,52 g	97 g	22,3 g

Untersuchung der einzelnen Extrakte.

Der Ätherextrakt wurde orientierend an alkalifreiem Al_2O_3 ³⁾ chromatographiert und lieferte 3 Kristallisate, die als Substanzen A,

¹⁾ Verhältnis der Volumteile.

²⁾ Von A. Stoll, J. Renz & W. Kreis, Helv. **20**, 1484 (1937) zum Ausschütteln stark wasserlöslicher Glykoside empfohlen.

³⁾ Bereitet nach J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1292 (1944), Fussnote 2, aber reaktiviert bei ca. 185°.

B und C bezeichnet werden, deren Einheitlichkeit aber noch unsicher ist. Sie zeigten folgende Eigenschaften:

Subst. A: Smp. 122—148°. *Legal*-Reaktion negativ. Mit 84-proz. H₂SO₄ keine Färbung. Wurde nicht weiter untersucht.

Subst. B₁: Smp. 230—256°; $[\alpha]_D^{16} = +13,5^\circ \pm 4^\circ$ (Methanol). Wahrscheinlich identisch mit Subst. B₂ aus Chloroformextrakt. Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄: orange → blau.

Subst. C₁: Smp. 310—318° (Zers.); $[\alpha]_D^{16} = +27,6^\circ \pm 4^\circ$ (Pyridin-Methanol (1:1)). Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄: schwarz → schwarzblau. Analyse und Spektrum (siehe Fig. 1) würden ungefähr auf Formel C₂₃H₃₂₋₃₄O₅ passen.

Auch der Chloroform-Extrakt wurde orientierend chromatographiert und gab 5 Kristallisate, von denen zwei wahrscheinlich mit den Substanzen B und C identisch waren; die anderen wurden als Substanzen D, E und F bezeichnet, die Einheitlichkeit ist aber nicht gesichert. Die 5 Kristallisate zeigten folgende Eigenschaften:

Subst. D: Smp. 227—248°; $[\alpha]_D^{16} = +16,6^\circ \pm 3^\circ$ (Methanol). Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄: hellgelb → grau. Analyse und Spektrum (siehe Fig. 1) würden ungefähr auf die Formel C₂₃H₃₂O₄ passen.

Subst. E: Smp. 243—282°; $[\alpha]_D^{16} = +20,5^\circ \pm 3^\circ$ (Methanol). Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄: karmin → hellgelb.

Subst. B₂: Smp. 254—268; $[\alpha]_D^{16} = +11,6^\circ \pm 4^\circ$ (Methanol). Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄: orange → blau. Wahrscheinlich identisch mit Subst. B₁ aus Ätherextrakt. Analyse und Spektrum (siehe Fig. 1) passen ungefähr auf C₂₃H₃₂O₄. Ob das niedrige Maximum bei 295 mμ (log ε = 2,66) von der Substanz selbst oder von einer Verunreinigung stammt, ist nicht entschieden.

Subst. C₂: Smp. 274—300° (Zers.); nach Löslichkeit und Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄ wahrscheinlich identisch mit C₁ aus Ätherextrakt.

Subst. F: Smp. 257—263°. Nur in Spuren erhalten. Farb-reaktion mit 84-proz. H₂SO₄: gelb → graulila.

Diese sechs Stoffe wurden noch nicht weiter untersucht. Bei B—F scheint es sich um Aglykone zu handeln.

„Xysmalobin“.

Dieses, wie erwähnt, aus dem Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt erhaltene Hauptkristallisat (ca. 2,5% der trockenen Droge) soll in Übereinstimmung mit *Breyer-Brandwijk* (loc. cit.) als „Xysmalobin“ bezeichnet werden, obwohl es sich nicht um einen einheitlichen Stoff, sondern um ein schwer trennbares Gemisch handelt. Es kristallisierte aus Methanol in farblosen Körnern vom Smp. 186—188°. In manchen Fällen wurde beim weiteren Erhitzen wieder teilweises Erstarren und

definitives Schmelzen bei 250—270° (Zers.) beobachtet; $[\alpha]_D^{17} = -28,0^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,213$ in Pyridin). Das aus Methanol-Wasser erhaltene Präparat gab nach guter Trocknung Analysenwerte, die auf die Formel $C_{35}H_{54}O_{14}$ passten. Der Trockenverlust entsprach 3—4 Mol Kristallwasser. Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum (siehe Fig. 2) zeigte ein Maximum bei 215 $m\mu$ und $\log \epsilon = 4,26$ (auf Trihydrat berechnet).

Herr Dr. *Chen* hatte die Freundlichkeit, die biologische Wirksamkeit des Präparates an der Katze zu bestimmen¹). Er fand als geometrisches Mittel der letalen Dosis an 9 Tieren $3,492 \pm 0,6673$ mg/kg. Für Uzarin fand er früher²) $4,586 \pm 0,737$ mg/kg; der geringe Unterschied fällt noch in die Fehlergrenze, ist also nicht signifikant.

Durch wiederholtes Umkristallisieren des „Xysmalobins“ aus Methanol, Methanol-Äther, Äthanol-Aceton wurde der Schmelzpunkt nicht verändert. Hingegen gelang es aus Methanol-Wasser, Glycolmonomethyläther-Wasser und Pyridin-Wasser (vgl. *Windaus & Haack*) schliesslich eine kleine Spitzenfraktion abzutrennen, die bei 260—270° schmolz und die spez. Drehung $[\alpha]_D^{16} = -26,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (in Pyridin) zeigte. Erneutes Umkristallisieren hochschmelzender Kristallfraktionen aus Methanol-Äther gab aber wieder Kristalle vom Smp. ca. 186—188°. Wir vermuten, dass es sich bei den hochschmelzenden Kristallen weniger um einen reinen Stoff als um eine andere Kristallmodifikation gehandelt hat. Da die Trennung und Reinigung auf diesem Wege zumindest problematisch war, wurden Umsetzungen und Abbauprobe bisher mit dem nur aus Methanol kristallisierten Präparat durchgeführt.

Ganz ähnliche Eigenschaften besitzt Uzarin³). Nach *Windaus & Haack* (loc. cit.) zeigte rohes Uzarin aus wässrigem Alkohol einen unscharfen Schmelzpunkt bei ca. 180°; $[\alpha]_D = -26^{\circ}$ (in Pyridin). Reines Uzarin, aus Pyridin-Wasser, grosse Prismen, Smp. 268—270°. Nach Trocknung im Hochvakuum bei 95° passten die Analysen auf $C_{35}H_{56}O_{16}$, die nach *Tschesche & Bohle*⁴) in $C_{35}H_{54}O_{14}$ zu korrigieren ist. Wir haben, wie erwähnt, von Herrn Dr. *Canbäck* aus Schweden eine Probe (100 cm³) einer alkoholischen Handelslösung von „Uzarin“ erhalten, die 5% Trockensubstanz enthält. Dieses Präparat wurde durch Ausschütteln aus Wasser mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch genau wie der Xysmalobiumextrakt getrennt und gab:

125 mg (= 2,5%)	Ätherextrakt, der beim Stehen teilweise kristallisierte,
18 mg (= 0,36%)	Chloroformextrakt,
2,05 g (= 41%)	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

¹) Wir danken Herrn Dr. *K. K. Chen*, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung dieser Resultate.

²) *K. K. Chen, A. L. Chen & R. C. Anderson*, J. Am. Pharm. Assoc. **25**, 579 (1936); *K. K. Chen*, Ann. Rev. Physiol. **7**, 677 (1945).

³) Nach Privatmitteilung von Herrn Prof. *R. Tschesche* ist die Reinheit der bisherigen Uzarinpräparate fraglich. Er wird später darüber berichten.

⁴) *R. Tschesche & K. Bohle*, B. **68**, 2252 (1935).

Aus letzterem schieden sich beim Stehen mit wenig Wasser 200 mg entspr. 4%) feine, farblose Kristalle ab. Einmaliges Umkristallisieren aus Methanol gab Körner, Smp. 182—186°; $[\alpha]_D^{18} = -21,1^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,395$ in Pyridin). Dieses „Rohuzarin“ war vom „Xysmalobin“ sonst nicht zu unterscheiden. Herr Prof. *Tschesche* hatte die Freundlichkeit, uns etwas reines Uzarin für Vergleichszwecke zu überlassen. Wir geben nachstehend die Farbreaktionen aller 3 Präparate mit konz. H_2SO_4 :

	Uzarin (<i>Tschesche</i>) rein	„Rohuzarin“ aus „Uzaron“	„Xysmalobin“
Smp. ¹⁾	228—230°/240—260° ¹⁾	182—186°	186—188°/260—270°
Farbe nach 0 Minuten	orange	orange	orange
10 Minuten	gelborange	gelborange	gelborange
60 Minuten	orangeblau	bräunlich	gelbbrau
70 Minuten	grünblau	grünblau	blau
120 Minuten	blau	blau	blau

Diese Farbreaktionen waren somit praktisch gleich.

Die Acetylierung von „Xysmalobin“ gab ein amorphes Acetat, aus dem sich auch nach Chromatographie keine Kristalle isolieren liessen. Benzoylierung gab ein amorphes Derivat, aus dem sich aber durch Chromatographie ein geringer Teil in Kristallen gewinnen liess; sie wurden noch nicht untersucht.

Energische saure Hydrolyse des „Xysmalobins“ lieferte ein Gemisch von Anhydro-aglykonen sowie einen Zuckersirup, der sich durch Hefe vollständig vergären liess und aus dem nach Kochen mit methanolischer HCl α -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ isoliert werden konnte. Es scheint somit ausser D-Glucose kein anderer Zucker anwesend zu sein. Aus dem Gemisch der Anhydro-aglykone liess sich als Spitzenfraktion ein „Anhydro-xysmalobigenin“ $C_{23}H_{32}O_3$ vom Smp. 254—258°; $[\alpha]_D^{17} = -69,3^{\circ}$ (in Chloroform) isolieren. Dieses Produkt war weder mit α - noch mit β -Anhydro-uzarigenin²⁾³⁾ identisch (vgl. Tabelle), obwohl es bei der Mischprobe mit α -Anhydro-uzarigenin keine Schmelzpunktserniedrigung gab. Bei der Mikrohydrierung verbrauchte es 2 Mol H_2 . Nach Acetylierung wurde als Spitzenfraktion ein Acetat $C_{25}H_{34}O_4$ vom Smp. 178—180° (starkes Sintern von 172° an);

¹⁾ Schmelzpunkt auf dem *Kofler*-Block bestimmt.

²⁾ *R. Tschesche*, Z. physiol. Ch. **222**, 50 (1933); vgl. *R. Tschesche & K. Bohle*, B. **68**, 2252 (1935).

³⁾ *N. M. Shah, K. Meyer & T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **24**, 113 (1949).

$[\alpha]_D^{18} = -82,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (in Chloroform) erhalten. In folgender Tabelle sind Schmelzpunkt, Drehung und Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 zusammengestellt.

	„Anhydro-xysmalobigenin“	α -Anhydro-uzarigenin	β -Anhydro-uzarigenin
Smp.	254—258 ^o	264—268 ^o	236—237 ^{o 1)}
Mischprobe	255—260 ^o		
$[\alpha]_D$	$-69,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (Chf)	$-29,5$ (Chf) ¹⁾	$+5,0^{\circ}$ (Chf) ¹⁾
Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 nach			
0 Minuten	blassorange	farblos	farblos
15 Minuten	orange	gelb	gelb
30 Minuten	schmutzig gelb	schmutzig gelb	schmutzig gelb
90 Minuten	blau	blau	blau

	„Anhydro-xysmalobigenin-acetat“	α -Anhydro-uzarigenin-acetat	β -Anhydro-uzarigenin-acetat
Smp.	179—181 ^o (sintert ab 172 ^o)	175 ^{o 1) 2)}	156—158 ^{o 3)}
Mischprobe	172—178 ^o		
$[\alpha]_D$	$-82,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (Chf)	$-35,9^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (Chf) ³⁾	$-2,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (Chf) ³⁾
Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 nach			
0 Minuten	orangerot	gelb	blass gelb
15 Minuten	orangerot	gelb	gelb
30 Minuten	schmutzig braun	gelb	gelb
90 Minuten	blau	blau	blau

Trotzdem muss „Xysmalobin“ eine reichliche Menge Uzarigenin-diglycosid enthalten, wie durch enzymatische Spaltung gezeigt werden konnte. Strophanthobiase⁴⁾ bewirkte zwar keine Spaltung; dagegen konnte mit dem Enzym aus dem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*⁵⁾) eine recht glatte Spaltung be-

¹⁾ *R. Tschesche*, Z. physiol. Ch. **222**, 50 (1933); vgl. *R. Tschesche & K. Bohle*, B. **68**, 2252 (1935). ²⁾ Korrigierter Schmelzpunkt auf *Kofler*-Block war 178—180^{o 3)}.

³⁾ *N. M. Shah, K. Meyer & T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **24**, 113 (1949).

⁴⁾ Aus den Samen von *Strophanthus kombé* bereitet, vgl. *J. Schmutz & T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **22**, 359 (1947); weitere Literatur daselbst.

⁵⁾ Schneckenferment scheint zur Spaltung gewisser Glucoside zuerst von *Giaja* (Thèse Faculté des Sciences, Paris 1909, zitiert nach *Tanret*) verwendet worden zu sein, später von *M. Bridel & R. Lavieille* (C. r. **193**, 72 (1931)), *M. G. Tanret* (Bl. Soc. Chim. Biol. **14**, 708 (1932)) sowie *M. Frèrejacque* (C. r. **225**, 695 (1947)). Genaue Beschreibung der Enzymgewinnung siehe exp. Teil dieser Arbeit. Vgl. dazu besonders *P. Karrer, B. Joos & M. Staub*, Helv. **6**, 800 (1923); *P. Karrer, M. Staub, A. Weinhagen & B. Joos*, Helv. **7**, 144 (1924).

wirkt werden¹⁾. Es entstand ein mit Chloroform ausschüttelbares Geningemisch und D-Glucose, die die richtige spez. Drehung zeigte, von Hefe vollständig vergoren wurde und mit methylalkoholischer HCl reines α -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ lieferte.

Das Gemisch der Aglykone konnte durch Chromatographie in drei Kristallisate aufgetrennt werden, die sich hauptsächlich durch die Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 voneinander unterschieden, während die Schmelzpunkte nicht sehr charakteristisch waren. Sie wurden als Aglykone a, b und c bezeichnet; ihre Einheitlichkeit ist aber zumindest noch unsicher. Sie zeigten folgende Eigenschaften:

Aglykon a: Smp. 225—240°; $[\alpha]_D^{16} = +3,8^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol). Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : gelb - grün - hellblau. Die Analyse passte auf die Formel $C_{23}H_{34}O_4$. Die Ausbeute betrug ca. 8% des rohen Aglykongemisches.

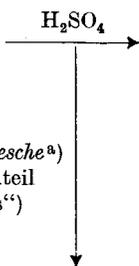
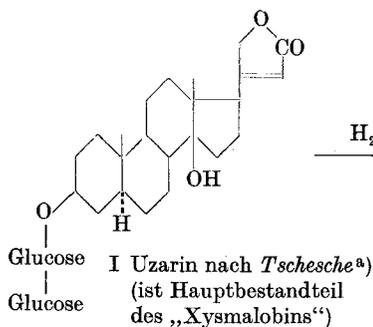
Aglykon b („Xysmalobigenin“): Smp. 235—260°; $[\alpha]_D^{15} = +11,1^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol). Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : orange - blau - hellblau. Die Analyse passte ebenfalls auf die Formel $C_{23}H_{34}O_4$. Die Ausbeute betrug 79% des rohen Aglykongemisches. Wir nennen dieses Kristallinat daher „Xysmalobigenin“, obwohl es sicher noch nicht ganz einheitlich war.

Aglykon c: Smp. 270—290°, Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 : orangerot - rot - hellrot - rotbraun - schmutzigbraun. Dieses Produkt wurde nur in Spuren erhalten.

Genauer untersucht wurde bisher nur Aglykon b („Xysmalobigenin“). Es gab mit Odorigenin B (V) (Uzarigenin) bei der Mischprobe keine Depression, hingegen war die Drehung etwas verschieden, ebenso die Farbreaktion mit konz. H_2SO_4 . Wie sich aus folgenden Versuchen ergibt, dürfte auch dieses Kristallinat noch ein Gemisch gewesen sein, aber zur Hauptsache doch Odorigenin B (V) enthalten haben.

Dehydrierung von Aglykon b („Xysmalobigenin“) mit CrO_3 lieferte neben wenig sauren Anteilen ein neutrales, unscharf schmelzendes Gemisch, aus dem sich nach Chromatographie an Al_2O_3 neben kleinen Mengen von zwei anderen Stoffen ein Keton $C_{23}H_{32}O_4$ isolieren liess, das den Smp. 265—274° und $[\alpha]_D^{19} = +37,3^\circ \pm 3^\circ$ (Chloro-

¹⁾ Bei digitaloiden Glykosiden werden die direkt am Genin haftenden Zucker von den meisten Enzymen nicht abgespalten. Kürzlich fanden *A. Stoll, A. Pereira & J. Renz*, *Helv.* **32**, 293 (1949), dass die Samen von *Coronilla glauca* und anderen *Coronilla*-Arten sowie Luzernesamen (*A. Stoll & J. Renz*, *Helv.* **33**, 286 (1950)) Fermente enthalten, die die Glykoside der Coronillasamen sowie Scillirosid in die freien Aglykone und D-Glucose zu spalten vermögen. Schneckenferment ist somit ein weiteres Beispiel eines Enzyms ähnlicher Wirksamkeit. Bisher beschränkt sich aber diese enzymatische Spaltbarkeit auf solche digitaloide Glykoside, die als Zuckerkomponente ausschliesslich D-Glucose enthalten. In gewissen Fällen konnten wir allerdings beobachten, dass ganz frische Strophanthussamen Enzyme enthalten, die bei Glykosiden von 2-Desoxyzuckern auch den letzten Zucker abzuspalten vermögen.

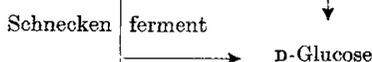


II $C_{23}H_{32}O_3$ (?) Smp. 254° [– 69 Chf]^{d)}

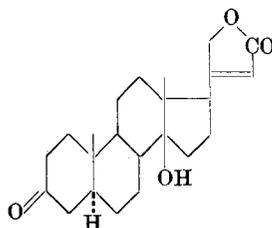
„Anhydro-xysmalobigenin“ (unbekannter Konstitution), dürfte einem Begleitglykosid des Uzarins im „Xysmalobin“ entstammen.

III $C_{25}H_{34}O_4$ (?) Smp. 179° [– 82 Chf]^{d)}

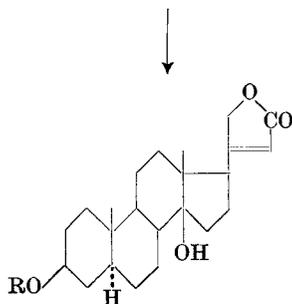
„Anhydro-xysmalobigenin-acetat“



Aglykongemisch a + b + c
Hauptbestandteil ist Aglykon b
(= „Xysmalobigenin“), nicht ganz reines Odorigenin B (= Uzarigenin)

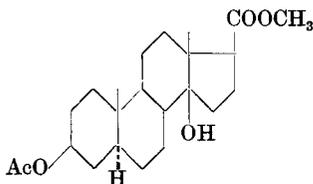


IV Odorigenin B (= Uzarigenon)
Smp. 270° [+ 33 Chf]^{b)}



V (R = H) Odorigenin B
(= Uzarigenin)
Smp. 230° [+ 14 A]^{b)}

VI (R = Ac) Odorigenin-B-acetat
Smp. 267—268° [+ 8 Chf]^{b)}
Smp. 268—270° [+ 5 Chf]^{d)}



VII 3β-Acetoxy-14-oxy-14-iso-ätiolallocholonsäure-methylester
Smp. 205° [+ 18 Chf]^{c)}
Smp. 204° [+ 23 Chf]^{b)}

Ac = CH_3CO- . Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung in folgenden Lösungsmitteln an: A = Alkohol, Chf = Chloroform.

a) *R. Tschesche & K. Böhle*, B. **68**, 2252 (1935).

b) *S. Rangaswami & T. Reichstein*, Helv. **32**, 939 (1949).

c) *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser, J. Pataki & Kd. Meier*, Helv. **29**, 942 (1946).

d) Exp. Teil dieser Arbeit.

form) zeigte. Odorigenon B (IV)^b) zeigt Smp. 270—274^o und $[\alpha]_D^{13} = +33,4^o \pm 3^o$ (Chloroform). Die Mischprobe gab keine Depression, auch die Farbreaktion mit konz. H₂SO₄ war gleich. Das Ultravioletts-Absorptionsspektrum in Alkohol siehe Kurve (Fig. 2 c).

Ferner wurde Aglykon b („Xysmalobigenin“) acetyliert und lieferte als Hauptprodukt ein krist. Acetat C₂₅H₃₆O₅ vom Smp. 268—271^o; $[\alpha]_D^{17} = -4,8^o \pm 2^o$ (Chloroform). Odorigenin-B-acetat (Uzarigenin-acetat) (VI)^b) zeigte bei genau gleichzeitiger Bestimmung Smp. 268—270^o und $[\alpha]_D^{20} = +5,0^o \pm 2^o$ (Chloroform). Früher^b) wurde $+8,2^o \pm 3^o$ gefunden.) Die Mischprobe gab keine Depression. Dass dieses „Xysmalobigenin-acetat“ trotz der merklich verschiedenen Drehung zur Hauptsache aus Odorigenin-B-acetat (VI) bestand, folgt aus dem oxydativen Abbau, der in etwa 51% Ausbeute den bekannten 3β-Acetoxy-14-oxy-14-iso-ätioallocholansäure-methylester (VII)^c)^b) lieferte.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Ausser kleinen Mengen von fünf verschiedenen Kristallisaten, die wahrscheinlich digitaloide Aglykone darstellen und als Substanz B, C, D, E und F bezeichnet wurden, und einem weiteren kristallinen Nebenprodukt A konnte aus den getrockneten Wurzeln in etwa 2,5% Ausbeute ein schwer trennbares Glykosidgemisch erhalten werden, das dem „Xysmalobin“ von *Breyer-Brandwijk* entsprechen dürfte und weiter so benannt wird. Dieses Gemisch enthält als Hauptbestandteil ein Diglykosid der Formel I, das dem bekannten Uzarin entsprechen dürfte. Durch enzymatische Hydrolyse mit Schneckenferment liess es sich in 2 Mol D-Glucose und ein Aglykongemisch spalten, das als Hauptbestandteil Odorigenin B (Uzarigenin) enthielt. Energische saure Hydrolyse lieferte neben D-Glucose ein Gemisch von Anhydro-aglykonen, aus denen sich als Spitzenfraktion eine kleine Menge eines „Anhydro-xysmalobigenins“ isolieren liess, das weder mit α- noch mit β-Anhydro-uzarigenin identisch war und daher einem Glykosid entstammen dürfte, das im rohen „Xysmalobin“ enthalten war und nicht mit Uzarin (I) identisch ist.

Wir danken Herrn Dr. A. Hunger bestens für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts und Herrn P.-D. Dr. K. Meyer für die Hilfe bei der Korrektur.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert, Fehlergrenze bis 200^o etwa $\pm 2^o$, darüber etwa $\pm 3^o$. Substanzproben zur Drehung wurden eine Stunde im HV. bei 70^o getrocknet. „Übliche Aufarbeitung“ bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Zusatz von Wasser, Ausschütteln mit Chloroform-Äther (1:4) oder Chloroform, Waschen mit Wasser, verdünnter HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen.

Extraktion der Samen und Isolierung des „Xysmalobins“.

Versuch 1 (Extraktion mit Methanol). 1 kg der in Scheiben geschnittenen und getrockneten Wurzeln wurden in der Schlagmühle fein gemahlen und das Pulver ½ Stunde

mit 2 Litern Methanol ausgekocht. Dann wurde durch ein mit Kieselgur gedichtetes Filter abgenutscht und der Rückstand noch 4mal mit je 1 Liter Methanol analog ausgekocht, worauf er nicht mehr bitter war und verworfen wurde. Die vereinigten, orangebräunlichen, leicht sauer reagierenden Lösungen wurden im Vakuum bei 45° auf 1 Liter eingengt. Dann wurden 50 cm³ Wasser sowie das frisch aus 1 kg Blei-diacetat-trihydrat mit 2,5 Litern 2-n. NaOH kalt gefällte und gründlich mit destilliertem Wasser gewaschene, feuchte Pb(OH)₂ zugegeben und 20 Minuten energisch geschüttelt, etwas Kieselgur (Hyflo-Super-Cel)¹⁾ eingerührt, durch ein mit Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) gedichtetes Filter genutscht und mit Methanol nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate, die mit basischem Bleiacetat keine Fällung mehr gaben, wurden mit HCl bis zur eben sauren Reaktion auf Lackmus versetzt, im Vakuum auf etwa 800 cm³ eingengt und nach Zusatz von 200 cm³ Wasser erneut auf 800 cm³ eingengt, worauf das Methanol völlig entfernt war. Dann wurde 3mal mit je 400 cm³ Äther ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit 30 cm³ Wasser, 30 cm³ 2-n. Sodalösung und 30 cm³ Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Erhalten: 3,26 g Ätherextrakt als gelblicher Sirup, der beim Stehen kristallisierte.

Die wässrige Phase wurde hierauf 6mal mit je 250 cm³ Chloroform ausgeschüttelt und die Auszüge mit obigen Waschlösungen gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Erhalten: 1,6 g Chloroformextrakt.

Die verbliebene wässrige Phase wurde im Vakuum auf 400 cm³ eingengt und 16 Stunden stehengelassen, worauf sich 13 g rohes Xysmalobin ausschieden. Sie wurden abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Smp. 182–190°.

Das Filtrat (500 cm³) wurde 14mal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1)²⁾ ausgeschüttelt und die Auszüge wie oben gewaschen und getrocknet. Eindampfen gab 60 g restlichen Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt. Dieser gab beim Stehen mit 200 cm³ Wasser noch 5 g kristallisiertes „Xysmalobin“. Die Mutterlauge (enthaltend 55 g Trockenrückstand) wurde mit der Lösung von 40 g KHCO₃ in 800 cm³ Wasser sowie mit 1 Liter Methanol versetzt und 8 Tage bei 18° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 30° auf ca. 800 cm³ eingengt. Beim Stehen schieden sich wieder 4 g kristallisiertes „Xysmalobin“ ab, die abgenutscht und mit etwas Wasser gewaschen wurden. Die Mutterlauge wurden mit Na₂SO₄ gesättigt und erschöpfend mit Chloroform-Alkohol ausgeschüttelt. Der Eindampfrückstand gab aus wenig Wasser beim Stehen nochmals 3,1 g kristallisiertes „Xysmalobin“. Ausbeute total 25,1 g.

Versuch 2 (Extraktion mit wässrigem Alkohol). 1,2 kg Wurzelpulver wurden mit 2,5 Liter Wasser angeteigt und 16 Stunden bei 0° stehengelassen. Dann wurde scharf abgenutscht und mit 50-proz. Alkohol nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum zum dünnen Sirup eingengt, dieser mit 500 cm³ Alkohol vermischt und zur Entfernung der Fällung durch ein mit Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) gedichtetes Filter genutscht und mit 80-proz. Alkohol nachgewaschen. Die Fällung wurde verworfen. Das Filtrat mit den folgenden Extrakten (siehe unten) vereinigt.

Das feuchte Wurzelpulver wurde ½ Stunde mit 1,4 Litern 50-proz. Alkohol extrahiert und anschliessend noch 2mal je ½ Stunde heiss mit 95-proz. Alkohol, worauf es nicht mehr bitter war und verworfen wurde.

Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum auf 3,5 Liter eingengt und wie oben mit Pb(OH)₂ aus 1,2 kg Bleiacetat-trihydrat geschüttelt. Das orangebraune Filtrat, das mit basischem Bleiacetat keine Fällung mehr gab, wurde mit HCl auf pH = 6 gebracht und im Vakuum auf 500 cm³ eingengt. Dreimaliges Ausschütteln mit je 500 cm³ Äther, Waschen wie bei Versuch 1, gab 2,6 g Ätherextrakt.

Wässrige Phase 6mal mit je 250 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Auszüge wie oben gewaschen gaben 2 g Chloroformextrakt.

1) Produkt der *Johns-Manville International Corporation*, New York, bezogen bei *Schneider & Co.*, Winterthur.

2) Verhältnis der Volumteile.

Die wässrige Phase wurde im Vakuum auf 300 cm³ eingengt und 6mal mit je 350 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 42 g stark bitteren Extrakt. Aus wenig Wasser 11 g kristallisiertes Xysmalobin.

Die wässrige Phase wurde im Vakuum noch etwas eingengt und nochmals 6mal wie oben ausgeschüttelt. Es wurden so noch 29 g Extrakt erhalten und aus wenig Wasser noch 20 g Kristalle. Totalausbeute 31 g rohes „Xysmalobin“.

Versuch 3 (Extraktion mit wässrigem Alkohol). 1,1 kg Wurzelpulver wurden mit 3,3 Liter Wasser aufgeschlemmt, mit 10 cm³ Toluol vermischt und 16 Stunden bei 0° stehengelassen. Dann wurde abgenutscht und noch 3mal mit je 2 Liter 80-proz. Alkohol je ½ Stunde ausgekocht.

Vereinigte Lösungen (8 Liter) wurden direkt mit Pb(OH)₂ aus 1,1 kg Bleiacetat-trihydrat geschüttelt, filtriert und mit 80-proz. Alkohol nachgewaschen. Filtrate mit HCl auf pH = 6 gebracht, im Vakuum bei 45° auf 800 cm³ eingengt (pH dabei ständig kontrolliert und durch gelegentliches Zutropfen von Soda auf ca. 6 gehalten), dann mit 1,5 Liter Äther und nochmals mit 0,8 Liter Äther ausgeschüttelt. Wie oben gewaschen, erhalten 1,64 g Ätherextrakt.

Wässrige Phase 2mal mit Chloroform (1 Liter und 0,8 Liter) ausgeschüttelt. Wie oben gewaschen usw., gab 0,570 g Chloroformextrakt.

Darauf wurde 8mal mit je 1 Liter Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Auszüge wie oben einzeln gewaschen und getrocknet, vereinigt, auf 200 cm³ eingengt, mit Äther nicht ganz bis zur Trübung versetzt. Gab beim Stehen 24,53 g rohes „Xysmalobin“. Mutterlauge wog 83 g.

Trennung des Ätherextraktes.

5,06 g Ätherextrakt aus insgesamt 2,8 kg Wurzeln wurden an 150 g alkalifreiem Al₂O₃¹⁾ chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 500 cm³ der in der folgenden Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktions- Nummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Smp.	Färbung mit 84-proz. H ₂ SO ₄
1—5	Benzol bis Benzol-Chloroform (1:1) . .	amorph	
6—7	Benzol-Chloroform (1:1)	F. 122—148°	farblos
8—10	Chloroform	F. 230—256°	orange → blau
11—12	Chloroform	amorph	
13—15	Chloroform bis Chloroform- Methanol (19:1)	F. 290—320°	schwarz → schwarzblau
16—22	Chloroform-Methanol (19:1) bis Gemisch + 1% Eisessig ²⁾	amorph	

Die Fraktionen 6—7 gaben aus Methanol 36 mg farblose Kristalle, Smp. 122—148°. *Legal*-Reaktion negativ. Mit 84-proz. H₂SO₄ keine Färbung; als Subst. A bezeichnet, nicht weiter untersucht.

Die Fraktionen 8—10 gaben aus Benzol-Äther ca. 800 mg farblose Nadeln Subst. B₁, Smp. 230—256°; $[\alpha]_D^{16} = +13,5 \pm 4^{\circ}$ ($c = 0,593$ in Methanol). *Legal*-Reaktion positiv

¹⁾ Bereitet nach J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, *Helv.* **27**, 1292 (1944), aber reaktiviert bei ca. 185°.

²⁾ Gemisch gleicher Teile Chloroform, Methanol und Essigester.

(rot); Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 : orange \rightarrow blau (nach 30 Min.). Wahrscheinlich identisch mit Subst. B_2 aus Chloroformextrakt.

Die Fraktionen 13–15 gaben aus Methanol ca. 80 mg Subst. C_1 als farbloses feines Kristallpulver, Smp. 290–320° (Zers.). Wahrscheinlich identisch mit Subst. C_2 aus Chloroformextrakt.

Trennung des Chloroformextraktes.

1,78 g Chloroformextrakt (aus insgesamt 2,7 kg Pflanzenmaterial) wurden an 50 g alkalifreiem Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 200 cm^3 der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktions- Nummer	Lösungsmittel Gemisch	Eindampfdruckstand	
		Smp.	Färbung mit 84-proz. H_2SO_4
1	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	amorph	
2	Chloroform	228–246° und 238–280°	hellgelb \rightarrow grau karmin \rightarrow hellgelb
3–6	Chloroform	254–268°	orange \rightarrow blaugrün
7	Chloroform	Gemisch	orange \rightarrow oliv
8	Chloroform-Methanol (19:1) . .	274–300°	schwarz \rightarrow schwarzblau
9–10	Chloroform-Methanol (19:1) . .	amorph	
11–12	Chloroform-Methanol (17:3) . .	225–265°	braun-gelbockerbraun
13	Chloroform-Methanol (1:1) . .	amorph	
14	Chloroform-Methanol-Essigester (1:1:1)	amorph	

Fraktion 2 gab aus Aceton zunächst ca. 40 mg Substanz D in farblosen Nadeln vom Smp. 228–246°. Aus der Mutterlauge von Substanz D konnten aus Aceton-Äther ca. 15 mg einer davon verschiedenen Substanz E in farblosen Nadeln vom Smp. 238 bis 280° isoliert werden.

Die Fraktionen 3–6 gaben aus Aceton ca. 40 mg Subst. B_2 , farblose Nadeln vom Smp. 254–268°.

Fraktion 8 gab aus Aceton-Äther 440 mg Subst. C_2 vom Smp. 274–300° (Zers.). Fast unlöslich in Aceton. Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 : schwarz \rightarrow schwarzblau (nach 20 Min.). Wahrscheinlich identisch mit Subst. C_1 aus Ätherextrakt.

Die Fraktionen 11–12 gaben aus Methanol-Wasser, dann aus Aceton-Wasser wenig Subst. F in feinen, farblosen Nadeln. Smp. 225–265°, Färbung mit 84-proz. H_2SO_4 : gelb \rightarrow graulila (nach 40 Min.). Dieser Stoff wurde nicht weiter untersucht.

Substanz B_2 .

Aus Aceton farblose Nadeln, Smp. 254–268° (Zers.), $[\alpha]_D^{16} = +11,6^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5151$ in Methanol).

5,166 mg Subst. zu 1,00293 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,06^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Stunden im Hochvakuum über P_2O_5 bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,226 mg Subst. gaben 8,78 mg CO_2 und 2,49 mg H_2O (S. W.)

$C_{23}H_{32}O_4$ (372,49) Ber. C 74,16 H 8,67% Gef. C 74,32 H 8,64%

Legal-Reaktion positiv (rot), Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : orange \rightarrow blau (nach 30 Min.). Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol (siehe Fig. 1) zeigt zwei Maxima bei $295 m\mu$ ($\log \epsilon = 2,66$) und bei $216 m\mu$ ($\log \epsilon = 4,28$) ber. auf Mol.-Gew. = 372,5.

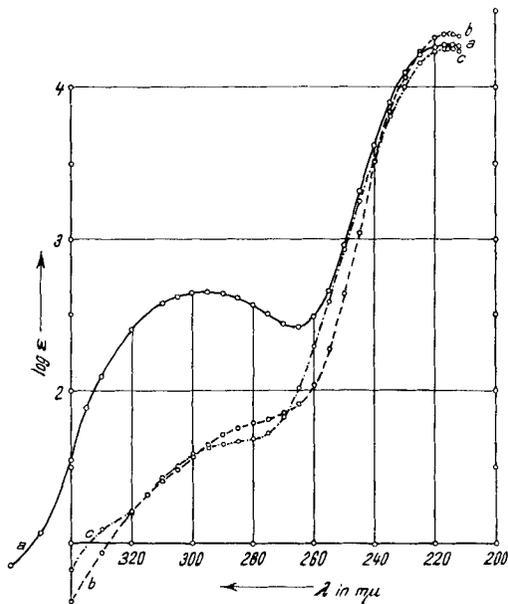


Fig. 1.

Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol.

- a) ———— Substanz B_2 berechnet auf Mol.-Gew. = 372,5
 b) - - - - - Substanz C_1 berechnet auf Mol.-Gew. = 388,5
 c) - · - · - · Substanz D berechnet auf Mol.-Gew. = 372,5

Substanz C_1 .

Aus Methanol farbloses mikrokristallines Pulver, Smp. $310-318^\circ$ (Zers.), $[\alpha]_D^{16} = +27,6^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,5987$ in Pyridin-Methanol (1:1)).

6,043 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{16} = +0,165^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Stunden im Hochvakuum über P_2O_5 bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,247 mg Subst. gaben 6,63 mg CO_2 und 2,55 mg H_2O (*S. W.*)

$C_{23}H_{34}O_5$ (390,50) Ber. C 70,76 H 8,78%

$C_{23}H_{32}O_5$ (388,50) Ber. ,, 71,10 ,, 8,31% Gef. C 71,43 H 8,65%

Legal-Reaktion positiv (rot), Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : schwarz \rightarrow schwarzblau (nach 15 Min.). Das UV.-Absorptionsspektrum (siehe Fig. 1) zeigte ein Maximum bei $217 m\mu$ ($\log \epsilon = 4,34$) ber. auf Mol.-Gew. = 388,5. Dieser Stoff ist fast unlöslich in Aceton und schwer löslich in kaltem Methanol.

Substanz D.

Aus Aceton farblose Nadeln, Smp. $227-248^\circ$ (Zers.), $[\alpha]_D^{16} = +16,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,694$ in Methanol).

7,005 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{16} = +0,115^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,282 mg Subst. gaben 8,93 mg CO₂ und 2,53 mg H₂O (*S. W.*)

C₂₃H₃₂O₄ (372,49) C 74,16 H 8,67% Gef. C 74,25 H 8,63%

Legal-Reaktion: positiv (orangerot), Färbung mit 84-proz. H₂SO₄: hellgelb → grau nach 30 Min.). Das UV.-Absorptionsspektrum (siehe Fig. 1) zeigte ein Maximum bei 217 mμ (log ε = 4,25) ber. auf Mol.-Gew. 372,5.

Substanz E.

Aus Aceton-Äther farblose Nadeln, Smp. 243—282° (Zers.), [α]_D¹⁶ = +20,5° ± 3° (c = 0,6815 in Methanol).

6,879 mg Subst. zu 1,0094 cm³; *l* = 1 dm; [α]_D¹⁶ = +0,14° ± 0,02°

Legal-Reaktion: positiv (rot), Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: karmin → hellgelb (nach 30 Min.), mässig löslich in Aceton und Methanol, schwer in Äther.

Substanz F.

Aus Aceton-Wasser feine, farblose Nadelchen, Smp. 257—263° (Zers.). Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: gelb → graulila (nach 40 Min.).

„Xysmalobin“.

Aus Methanol oder Methanol-Äther farblose Körner, Smp. 186—188°, manchmal nach weiterem Erhitzen wieder erstarrend, um definitiv bei 250—270° (Zers.) zu schmelzen; [α]_D¹⁷ = -28,0° ± 2° (c = 1,213 in Pyridin).

12,197 mg Subst. zu 1,00293 cm³; *l* = 1 dm; [α]_D¹⁷ = -0,34° ± 0,02°

Zur Analyse wurde das aus Glykolmonomethyläther-Wasser, dann aus Methanol-Äther umkristallisierte Präparat 2mal aus Methanol-Wasser umkristallisiert und an der Luft getrocknet, Prismen vom Smp. 205—218°, Drehung unverändert. Es wurde 12 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen. Gewichtsverlust 9,75 und 9,26%. C₃₅H₅₄O₁₄, 4 H₂O (770,84) Ber. 9,36%.

3,312 mg Subst. gaben 7,34 mg CO₂ und 2,21 mg H₂O (*S. W.*)

3,607 mg Subst. gaben 8,02 mg CO₂ und 2,45 mg H₂O (*S. W.*)

C₃₅H₅₄O₁₄ (698,78) Ber. C 60,15 H 7,78% Gef. C 60,48; 60,68 H 7,47; 7,60%

Ein weiteres Präparat zeigte nach analoger Trocknung 7,51 und 7,39% Gewichtsverlust. C₃₅H₅₄O₁₄, 3 H₂O (752,83) Ber. 7,18%.

3,028 mg Subst. gaben 6,70 mg CO₂ und 2,10 mg H₂O (*S. W.*)

3,473 mg Subst. gaben 7,536 mg CO₂ und 2,324 mg H₂O (ETH)

Gef. C 60,38; 59,22 H 7,76; 7,49%

Das Präparat war methoxylfrei (OAB). *Legal*-Reaktion: positiv (rot), *Keller-Kiliani*-Reaktion negativ. Färbung mit 84-proz. H₂SO₄: blassorange (0 Min.), orangerot (15 Min.), blass graubraun (45 Min.), blau (90 Min.). Das UV.-Absorptionsspektrum (siehe Fig. 2) zeigte ein Maximum bei 215 mμ und log ε = 4,27 (ber. auf Trihydrat, Mol.-Gew. 752,82). Biologische Wirksamkeit siehe Theoretischer Teil.

Wiederholtes Umkristallisieren aus Methanol, Methanol-Äther, Äthanol oder Äthanol-Aceton änderte den Schmelzpunkt nicht. Aus Methanol-Wasser, Glykolmonomethyläther-Wasser und Pyridin-Wasser resultierten Kristalle, die bei ca. 190—204° schmolzen. Wiederholtes Umkristallisieren dieses Materials aus Pyridin-Wasser gab schliesslich eine kleine Spitzenfraktion vom Smp. 260—270° (Zers.), [α]_D¹⁶ = -26,3° ± 2° (c = 0,949 in Pyridin).

9,507 mg Subst. zu 1,0015 cm³; *l* = 1 dm; [α]_D¹⁶ = -0,25° ± 0,02°

Wurden die letzten Mutterlagen der hochschmelzenden Spitzenfraktion wieder aus Methanol-Äther umkristallisiert, so sank der Schmelzpunkt wieder auf 186—188°.

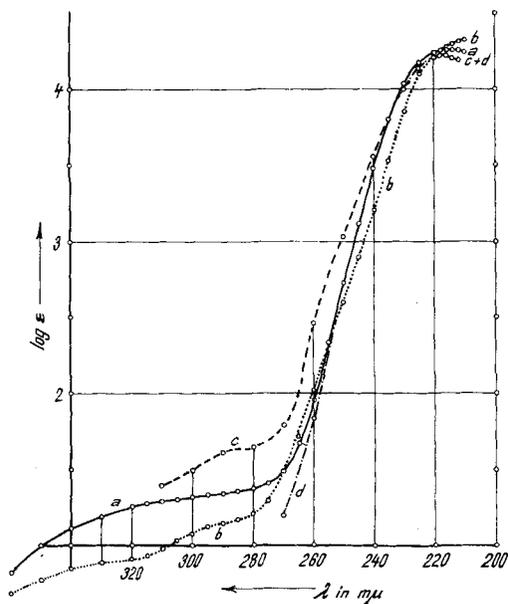


Fig. 2

Ultraviolett-Absorptionsspektren in Alkohol.

- a) ————— „Xysmalobin“ berechnet auf $C_{35}H_{54}O_{14}$, 3 H_2O
 b) „Anhydro-xysmalobigenin-acetat“ berechnet auf $C_{25}H_{34}O_4$
 c) - - - - - Odorigenon B (IV) aus „Xysmalobin“
 d) - · - · - „Xysmalobigenin-acetat“ vom Smp. 268—271°
 a) und d) fallen im Bereich von 235—255 $m\mu$ zusammen;
 c) und d) fallen im Bereich von 212—220 $m\mu$ fast zusammen.

„Xysmalobin-acetat.“

300 mg „Xysmalobin“ vom Smp. 186—188° wurden in 6,5 cm^3 absolutem Pyridin und 5 cm^3 Acetanhydrid 4 Tage bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung (mit Chloroform-Äther) gab 400 mg neutrales Reaktionsprodukt als farbloses Glas. Es gab auch nach sorgfältiger Chromatographie keine Kristalle.

Verseifung: 64 mg obigen Acetats wurden in 2 cm^3 Methanol gelöst, mit der Lösung von 20 mg $KHCO_3$ in 1 cm^3 Wasser vermischt und 10 Tage bei 20° stehengelassen. Nach Einengen im Vakuum schieden sich 22 mg krist. „Xysmalobin“ ab. Smp. 186—188°. Mischprobe ebenso.

„Xysmalobin-benzoat.“

100 mg „Xysmalobin“ vom Smp. 186—188° wurden in 2 cm^3 absolutem Pyridin gelöst, bei 0° mit 0,25 cm^3 reinstem Benzoylchlorid versetzt und 16 Stunden unter H_2O -Ausschluss bei 18° stehengelassen. Dann wurde mit 0,4 cm^3 Methanol versetzt und 2 Stunden stehengelassen. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther und gutes Trocknen im Hochvakuum bei 60° gab 200 mg amorphes Rohprodukt. Bei der Chromatographie an alkalifreiem Al_2O_3 wurde die Hauptmenge mit Chloroform eluiert. Die ersten Fraktionen davon gaben beim Stehen mit wenig Methanol etwas Kristalle. Über diese soll später berichtet werden.

Hydrolyse des „Xysmalobins“ mit alkoholischer H_2SO_4 ¹⁾.

1,45 g „Xysmalobin“ vom Smp. 186–188° wurden mit der Mischung von 1 cm³ Wasser, 1 cm³ konz. H_2SO_4 und 18 cm³ Äthanol 7 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen der gelben Lösung auf 0° schieden sich beim Stehen 420 mg rohe Kristalle ab, Smp. 200–230°, nach Waschen mit Wasser und Trocknen im Vakuum.

Die Mutterlauge wurde mit 20 cm³ Wasser versetzt, im Vakuum vom Alkohol befreit und 4mal mit je 40 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 340 mg Anhydrogenin-Reste.

Die verbliebene wässrige Phase wurde noch 2mal mit je 30 cm³ Chloroform-Alkohol (2:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge gaben aber nach Waschen und Trocknen nur 4 mg Eindampfrückstand.

Die verbliebene saure, wässrige Phase wurde im Vakuum von Alkohol- und Chloroformresten befreit und zur Hydrolyse der Äthyl-glucoside und der Äthylschwefelsäure 3 Stunden auf 100° erhitzt. Das Volumen betrug 25 cm³ entsprechend 4 Vol% H_2SO_4 . Dann wurde mit BaCO_3 heiss neutralisiert, durch ein mit BaCO_3 gedichtetes Filter genutscht. Das gelbliche Filtrat wurde mit etwas gewaschener Kohle entfärbt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in heissem Methanol aufgenommen, mit absolutem Äthanol verdünnt und die entstandene pulverige Fällung durch Filtration entfernt. Das klare Filtrat gab beim Eindampfen 940 mg rohen farblosen Zuckersirup, der *Fehling*'sche Lösung stark reduzierte.

Erhalten total 760 mg rohes Anhydrogenin und 940 mg Zucker. Theoretisch wären aus 1,45 g wasserfreiem „Xysmalobin“ 738 mg Anhydrogenin und 746 mg reine D-Glucose zu erwarten.

Untersuchung des Anhydrogenins.

Die 420 mg Rohkristalle gaben nach 3maligem Umkristallisieren aus Pyridin farblose Prismen, Smp. 254–258°. Sie wurden im Molekular Kolben bei 0,01 mm und 220° Badtemperatur sublimiert und aus Chloroform-Äthanol umkristallisiert. Schmelzpunkt unverändert. $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = -69,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,068$ in Chloroform).

10,785 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{17} = -0,74^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 5 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknet.

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_3$ (356,49) Ber. C 77,49 H 9,05% Gef. C 77,55 H 8,68%²⁾

Gef. Doppelbindungszahl 2,03 (Mikrohydrierung) (ETH)

Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : blassorange (0 Min.), orange (15 Min.), schmutzig gelb (30 Min.), blau (90 Min.). α -Anhydro-uzarigenin³⁾ schmolz unter denselben Bedingungen bei 264–268°, die Mischprobe bei 254–266°.

Die 340 mg mit Chloroform ausgeschüttelten Aglykonreste wurden an 11 g alkali-freiem Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (4:1) und (1:1) eluierbaren Anteile gaben neben viel amorphem Material noch 30 mg Kristalle, die nach Umkristallisieren aus Methanol und Äthanol bei 240–250° schmolzen; $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = -71,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,933$ in Chloroform).

9,412 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{17} = -0,67^\circ \pm 0,02^\circ$

Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 sehr ähnlich wie obiges Hauptprodukt, offenbar im wesentlichen damit identisch.

¹⁾ Ausführung analog der Spaltung von Uzarin nach *R. Tschesche*, *Z. physiol. Ch.* **222**, 50 (1933).

²⁾ Mittel von 2 Verbrennungen.

³⁾ *R. Tschesche*, *Z. physiol. Ch.* **222**, 50 (1933).

Acetat. 160 mg „Anhydro-xysmalobigenin“ vom Smp. 240—255° wurden mit 2 cm³ absolutem Pyridin und 1 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther gab 170 mg Rohprodukt, das aus Aceton-Äther 30 mg derbe Spiesse vom Smp. 169—172° lieferte. Sie wurden im Molekularkolben bei 0,01 mm und 200° Badtemperatur destilliert und nochmals aus Aceton-Äther umkristallisiert. Smp. 179—181°, starkes Sintern von 172° an; $[\alpha]_D^{18} = -82,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,828$ in Chloroform).

8,352 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,68^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrocknet.

4,163 mg Subst. gaben 11,480 mg CO₂ und 3,120 mg H₂O (OAB)

3,720 mg Subst. gaben 10,275 mg CO₂ und 2,842 mg H₂O (ETH)

C₂₅H₃₄O₄ (398,53) Ber. C 75,34 H 8,62% Gef. C 75,25; 75,30 H 8,36; 8,55%

Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄: orangerot (0 Min.), schmutzig braun (30 Min.), blau (90 Min.). Das UV.-Absorptionsspektrum (siehe Fig. 2) zeigte kein eigentliches Maximum, was auf eine Verunreinigung mit starker, kurzweiliger Absorption hinweist.

Die Mutterlaugen obiger Kristalle (140 mg) schmolzen von 165°, sie wurden an 4 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Benzol sowie Benzol-Chloroform (1:1) eluierbaren Anteile gaben aus Aceton-Äther Kristalle, die unscharf bei 160—175° schmolzen, Farbreaktion mit H₂SO₄ gleich wie obiges Analysenpräparat.

Nachweis der D-Glucose.

400 mg Zuckersirup aus hydrolytischer Spaltung wurden mit Hefe vergoren (genau wie bei D-Glucose aus enzymatischer Spaltung beschrieben, siehe unten). Die erhaltene Lösung reduzierte *Fehling's* Reagens nicht mehr.

Versuch zur enzymatischen Spaltung mit Strophanthobiase.

200 mg „Xysmalobin“ vom Smp. 186—188° wurden in 40 cm³ heissem Methanol gelöst, mit 250 cm³ Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum völlig entfernt. Zur wässrigen Lösung wurden 300 mg Strophanthobiase-Präparat¹⁾ sowie 0,5 cm³ Toluol zugefügt und nach gutem Durchmischen 4 Tage bei 32° unter gelegentlichem Umschwenken stehengelassen. Dann wurde das Enzym durch Zusatz von 1 Liter Äthanol gefällt, durch Kieselgur filtriert und das Filtrat im Vakuum auf 30 cm³ eingengt. Nun wurde mehrmals mit Chloroform, Chloroform-Alkohol-(9:1) und Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die zwei erstgenannten Lösungsmittel gaben je 10 mg amorphen Rückstand. Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt wog 180 mg und gab aus Methanol kristallisiertes „Xysmalobin“ vom Smp. 186—188°.

Enzymatische Spaltung des „Xysmalobins“ mit Schneckenferment.

2 g „Xysmalobin“ vom Smp. 186—188° wurden in 1,5 Litern destilliertem Wasser heiss gelöst. Nach Erkalten wurde durch Zusatz von 6 Tropfen Eisessig auf pH = ca. 5 gebracht, mit 5 cm³ Toluol und 4 cm³ frischem Hepatopankreassaft der Weinbergschnecke²⁾ vermischt und 4 Tage bei 32° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei 40° unter Zutropfen von wenig Octylalkohol soweit wie möglich eingengt (Lösung schäumt stark) und die ausgeschiedenen rohen Kristalle abfiltriert und mit wenig Wasser gewaschen. (Reinigung siehe unten.)

Das Filtrat wurde mit der 5fachen Menge absolutem Äthanol versetzt und das ausgefallene amorphe Enzym durch ein mit Kieselgur gedichtetes Filter abgenutscht. Das klare Filtrat wurde im Vakuum völlig vom Alkohol befreit. Die wässrige Lösung wurde mit

1) Gewonnen aus *Strophanthus kombé*, vgl. *J. Schmutz & T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **22**, 359 (1947).

2) Bereitung siehe Anhang.

obigen Rohkristallen vereinigt und die Suspension 6mal mit je 90 cm³ Chloroform ausgeschüttelt, wobei fast alle Kristalle gelöst wurden. Die mit wenig Wasser und etwas gesättigter KHCO₃-Lösung gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 840 mg kristallisiertes Material. Die verbliebene wässrige Suspension wurde nun 7mal mit je 90 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 100 mg amorphen Rückstand.

Die verbliebene wässrige Phase wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand (1,1 g) in Methanol aufgenommen, wobei ein geringer pulveriger Niederschlag ausfiel. Er wurde durch Filtration entfernt. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung mit wenig gewaschener Kohle geschüttelt und durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter genutscht. Eindampfen im Vakuum gab 1,03 g farblosen Sirup, $[\alpha]_D^{16} = +48,0^\circ \pm 0,6^\circ$ ($c = 3,894$ in Wasser, nach 2 Stunden konstant) entsprechend einem Gehalt von ca. 90% D-Glucose.

97,76 mg Subst. zu 2,5112 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +1,87^\circ \pm 0,02^\circ$

Theoretisch wären aus 2 g „Xysmalobin“-tetrahydrat 0,97 g Aglykon und 0,935 g D-Glucose zu erwarten.

Ein weiterer Ansatz mit 4 g „Xysmalobin“ und 1,7 g Enzym-Trockenpulver gab 2,0 g chloroformlösliches Material (rohes „Xysmalobigenin“):

Nachweis der D-Glucose.

450 mg Zuckersirup aus enzymatischer Spaltung wurden mit 10 cm³ 1-proz. methanolischer HCl 40 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit PbCO₃ neutralisiert, durch wenig Kohle filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab aus Methanol-Aceton nach Impfen und kurzem Stehen 180 mg Kristalle, Smp. 156–164°. Nochmals aus Methanol-Aceton kristallisiert, im Molekularkolben bei 0,01 mm und 180° Badtemperatur destilliert und aus Methanol kristallisiert. Smp. 165–167°; $[\alpha]_D^{16} = +155,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,253$ in Wasser).

12,650 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +1,95^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 2 Tage im Hochvakuum bei 22° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

4,076 mg Subst. gaben 6,500 mg CO₂ und 2,717 mg H₂O (OAB)

C₇H₁₄O₆ (194,18) Ber. C 43,29 H 7,22% Gef. C 43,52 H 7,22%

Authentisches α -Methyl-D-glucosid-(1,5) sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich.

Vergärung. 650 mg Zuckersirup wurden in 10 cm³ Leitungswasser gelöst, mit 10 cm³ 10-proz. Hefebouillon versetzt, mit frischer Hefe geimpft und 24 Stunden bei 30° belassen, worauf die CO₂-Entwicklung beendet war. Es wurde mit etwas Tierkohle aufgekocht und filtriert. Das klare Filtrat hinterliess beim Eindampfen 120 mg Rückstand, der *Fehling'sche* Lösung nicht reduzierte.

Untersuchung des Aglykongemisches.

1,41 g chloroformlösliches Material aus 2 Spaltungen von total 3,35 g „Xysmalobin“ wurden aus Methanol-Äther umkristallisiert und gaben 1,06 g rohes „Xysmalobigenin“ (Aglykon b). Die Mutterlauge wurde an 11 g alkalifreiem Al₂O₃ chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 30 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen wurden hauptsächlich nach der Färbung mit konz. H₂SO₄ klassiert da die Schmelzpunkte durchwegs unscharf waren.

Die Fraktionen 2–6 gaben zusammen aus Aceton-Äther 110 mg Aglykon a vom Smp. 225–240°, $[\alpha]_D^{16} = +3,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,284$ in Methanol).

12,956 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,05^\circ \pm 0,02^\circ$

Fraktions- Nummer	Lösungsmittel	Eindampfdruckstand	
		Smp.	Färbung mit konz. H ₂ SO ₄
1	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	ölig	} gelb (0'), grün (60'), hellblau (2 Std.), orange (0'), blau (45'), hellblau (150'), orangerot (0'), rot (3-10'), hell- rot (25'), rotbraun (70'), schmutzig braun (2 Std.).
2	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	224—240°	
3	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	220—235°	
4	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	216—244°	
5	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	225—242°	
6	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	225—250°	
7	Benzol-Chloroform (4:1) . . .	238—260°	
8	Chloroform	230—260°	
9	Chloroform	235—260°	
10	Chloroform	235—258°	
11	Chloroform-Methanol (98:2) . .	270—290°	}
12	Chloroform-Methanol (98:2) . .	270—290°	

Zur Analyse wurde 6 Stunden im Hochvakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

4,034 mg Subst. gaben 10,787 mg CO₂ und 3,379 mg H₂O (OAB)

C₂₃H₃₄O₄ (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 72,97 H 9,37%

Die Fraktionen 7—10 gaben aus Methanol, dann aus absolutem Äthanol 70 mg „Xysmalobigenin“ (Aglykon b) vom Smp. 235—260°; $[\alpha]_D^{15} = +11,1^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,989 in Methanol).

9,984 mg Subst. zu 1,0094 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{15} = +0,11^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 6 Stunden im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

3,988 mg Subst. gaben 10,688 mg CO₂ und 3,086 mg H₂O (OAB)

C₂₃H₃₄O₄ (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,13 H 8,66%

Die Fraktionen 11—12 gaben aus Äthanol 2 mg Aglykon c vom Smp. 270—290°.

Die 1,06 g rohe „Xysmalobigenin“-Kristalle wurden ebenfalls an 30 g Al₂O₃ chromatographiert. Fast das gesamte Material wurde mit Chloroform eluiert und gab aus Methanol 1,03 g „Xysmalobigenin“ (Aglykon b) vom Smp. 236—260°. Die mit Chloroform-Methanol (98:2) eluierten Anteile gaben noch eine Spur Aglykon c vom Smp. 280—290°.

Die Mischprobe von „Xysmalobigenin“ (Genin b) mit Odorigenin B (V) (vom Smp. 230—250°) schmolz bei 230—260°. Die Farbreaktionen mit konz. H₂SO₄ waren aber etwas verschieden. „Xysmalobigenin“: orange (0 Min.), orange-blau (20 Min.), blau (60 Min.). Odorigenin B: farblos (0 Min.), gelb (2 Min.), bräunlich (60 Min.), grün-bräunlich (80 Min.), grau (100 Min.) und bräunlich (4 Stunden).

„Xysmalobigenin-acetat.“

350 mg „Xysmalobigenin“ (Aglykon b) vom Smp. 230—250° wurden in 35 cm³ absolutem Pyridin und 2 cm³ Acetanhydrid 16 Stunden bei 35° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 375 mg kristallisiertes Neutralprodukt. Chromatographische Vorreinigung gab 355 mg rohe Kristalle. Zweimaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther

und Äthanol-Äther lieferte farblose Nadeln, Smp. 268—271°; $[\alpha]_D^{23} = -4,8^0 \pm 2^0$ ($c = 0,938$ in Chloroform).

9,450 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{23} = -0,045^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum über P₂O₅ bei 100° getrocknet.

4,072 mg Subst. gaben 10,780 mg CO₂ und 3,088 mg H₂O (OAB)

C₂₅H₃₆O₅ (416,54) Ber. C 72,08 H 8,71% Gef. C 72,29 H 8,49%

Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol (siehe Fig. 2) zeigte ein Maximum bei 217 mμ und log ε = 4,21. Odorigenin-B-acetat (VI)^b schmolz bei 268—270°, eine Wiederholung der Drehungsbestimmung ergab $[\alpha]_D^{20} = +5,0^0 \pm 2^0$ ($c = 1,004$ in Chloroform).

10,110 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,05^0 \pm 0,02^0$

Die Mischprobe schmolz bei 268—270°.

Odorigenon B (IV) aus „Xysmalobigenin“.

100 mg „Xysmalobigenin“ vom Smp. 235—260° wurden in 10 cm³ reinstem Eisessig gelöst und mit 0,6 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (= 12 mg CrO₃) versetzt. Nach 15 Minuten, 3 Stunden und 5 Stunden wurden noch 0,7, 0,5 und 0,5 cm³ derselben Lösung (zusammen noch 34 mg CrO₃) zugefügt. Nach 2 Stunden war noch CrO₃ nachweisbar. Es wurden 5 Tropfen Methanol zugegeben und 16 Stunden bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform-Äther gab 17 mg saure und 82 mg neutrale Anteile. Letztere gaben aus Methanol-Äther farblose Kristalle, die aber unscharf bei 225—250° schmolzen. Daher wurde an 3 g Al₂O₃ chromatographiert.

Frak-tions-Nummer	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Smp.	Färbung mit konz. H ₂ SO ₄
1	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	277—280°	} hellgelb (0'), farblos (80')
2	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	266—276°	
3	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	268—278°	
4	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	266—276°	
5	Benzol-Chloroform (1:1) . . .	266—274°	
6	Chloroform	225—260°	} orange (0'), grünblau (30'), grün (80')
7	Chloroform	243—273°	
8	Chloroform-Methanol (98:2) . .	238—254°	} rot (0'), rot orange (60'), orange gelb (80'), gelb (100')
9	Chloroform-Methanol (98:2) . .	245—260°	
10	Chloroform-Methanol (95:5) . .	240—256°	
11	Chloroform-Methanol (9:1) . .	240—252°	
12	Chloroform-Methanol (1:1) . .	amorph	

Die Fraktionen 1—5 (zusammen 18 mg) gaben aus Aceton 8 mg Odorigenon B vom Smp. 265—274°; $[\alpha]_D^{19} = +37,3^0 \pm 3^0$ ($c = 0,751$ in Chloroform).

7,535 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,28^0 \pm 0,02^0$

Das von der Drehung regenerierte Material wurde zur Analyse 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° über P₂O₅ getrocknet.

3,109 mg Subst. gaben 8,50 mg CO₂ und 2,44 mg H₂O (S. W.)

C₂₃H₃₂O₄ (372,49) Ber. C 74,16 H 8,67% Gef. C 74,60 H 8,78%

Das UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol zeigte ein Maximum bei 217 $m\mu$ und $\log \epsilon = 4,19$ sowie eine Inflexion zwischen 280 und 290 $m\mu$ und $\log \epsilon = 1,63$ (von der CO-Gruppe, vgl. Fig. 2).

Authentisches Odorigenon B (IV) zeigte Smp. 270—274° und $[\alpha]_D = +33,4^0 \pm 3^0$ (in Chloroform), die Mischprobe gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

Die Fraktionen 6—7 gaben aus Aceton 3 mg kleine Würfel vom Smp. 240—265°.

Die Fraktionen 8—12 gaben aus Aceton 9 mg gelbe Kristalle vom Smp. 240—252°.

3 β -Acetoxy-14-oxy-14-iso-ätioallocholansäure-methylester (VII)
aus „Xysmalobigenin-acetat“.

300 mg „Xysmalobigenin-acetat“ vom Smp. 265—269° wurden in 34 cm^3 reinstem Essigester wie früher beschrieben^{b)} ozonisiert und gaben 309 mg rohen Glyoxylsäureester und daraus 268 mg rohes Ketol, das nicht kristallisierte. Oxydation mit 440 mg HJO_4 in 5 cm^3 Dioxan + 1,6 cm^3 Wasser gab 21 mg Neutralprodukt, das langsam kristallisierte (nicht untersucht) und 223 mg amorphe Säure. Methylierung der letzteren mit Diazomethan gab 235 mg rohen Methylester, der nur spurenweise kristallisierte. Er wurde daher mit 2 cm^3 absolutem Pyridin und 1 cm^3 Acetanhydrid nachacetyliert und das erhaltene Rohprodukt (245 mg) an 8 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Petroläther-Benzol (2:1) und (1:1) eluierten Anteile (180 mg) gaben aus Äther 145 mg (= 51% der Theorie) farblose Nadeln, Smp. 204—206°; $[\alpha]_D^{22} = +22,7^0 \pm 2^0$ ($c = 1,321$ in Chloroform).

13,333 mg Subst. zu 1,0094 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0,30^0 \pm 0,02^0$

3,136 mg Subst. gaben 8,090 mg CO_2 und 2,608 mg H_2O (OAB)

$C_{23}H_{36}O_5$ (392,52) Ber. C 70,49 H 9,20% Gef. C 70,40 H 9,31%

Authentisches Material aus Odorosid B^{b)} zeigte Smp. 205—206°; $[\alpha]_D^{15} = +23,2^0 \pm 2^0$ (in Chloroform). Die Mischprobe gab keine Depression.

„Rohuzarin“ aus „Uzaron“.

100 cm^3 5-proz. alkoholische „Uzaron“-Lösung wurden mit 50 cm^3 Wasser versetzt und der Alkohol im Vakuum bei 45° abgedampft. Da eine Probe dieser Lösung mit Bleiessig keine Fällung gab, konnte auf eine Reinigung mit $Pb(OH)_2$ verzichtet werden. Die trübe, braune Lösung (50 cm^3) wurde 3mal mit je 100 cm^3 Äther, 4mal mit je 100 cm^3 Chloroform und 10mal mit je 90 cm^3 Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden wie die entsprechenden Xysmalobium-Extrakte gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden: 125 mg Ätherextrakt, der langsam kristallisierte, 18 mg Chloroformextrakt und 2,05 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt. Letzterer gab aus wenig Wasser nach 2 Tagen 200 mg „Rohuzarin“ als feines Kristallpulver. Aus Methanol feine Körner, Smp. 182—186°; $[\alpha]_D^{18} = -21,1^0 \pm 2^0$ ($c = 1,395$ in Pyridin).

13,865 mg Subst. zu 0,9935 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,294^0 \pm 0,02^0$

Die Mischprobe mit „Xysmalobin“ zeigte keine Depression. Die mit konz. H_2SO_4 erhaltenen Färbungen sind bereits im theoretischen Teil angegeben. Wie dort gezeigt, sind sie fast gleich wie die mit „Xysmalobin“ sowie mit reinem Uzarin (*Tschesche*) erhaltenen Farben.

Anhang: Bereitung von Schneckenferment¹⁾²⁾.

Vorbereitung der Tiere: Weinbergschnecken (*Helix pomatia*) sind am besten im Mai/Juni nach feuchtem Wetter zu finden³⁾. Werden ca. 2 Tage mit Salat, Kohl oder anderen frischen Blättern und feuchtem Filtrierpapier gefüttert und feucht gehalten. In späterer Jahreszeit geben sie ein viel schlechter wirkendes Ferment.

¹⁾ Vgl. *P. Karrer, B. Joos & M. Staub, Helv. 6, 800 (1923).*

²⁾ Wir danken Herrn P.-D. Dr. *H. Misliv* für seine Anleitung zum Sezieren der Tiere.

³⁾ Wir bezogen auch solche zu dieser Zeit von Herrn *F. Walker*, Conserves Alimentaires, Areuse (Neuchâtel).

Töten der Tiere: In grosses Glasgefäss legen, mit 0,8-proz. wässriger Äthylurethanlösung bis zum Rand füllen, mit Glasscheibe bedecken und 4 Stunden belassen.

Sezieren: Schneckenhaus vorsichtig mit Hammer zertrümmern. Nackte Schnecke in natürlicher Stellung auf Korkplatte legen. Schwanzende mit zwei Stecknadeln fixieren. Äusserstes Kopfende mit zwei Stecknadeln durchstechen, Tier etwas strecken und vorderes Ende ebenfalls auf Korkplatte fixieren. Der Kopf der Schnecke soll gegen den Laboranten gerichtet sein, die Leber (der ursprünglich vom engen Gewinde umgebene Teil) ist dann links¹⁾ (Fig. 3).

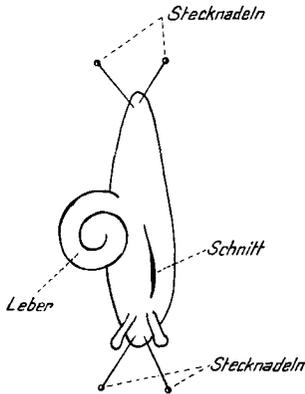


Fig. 3.

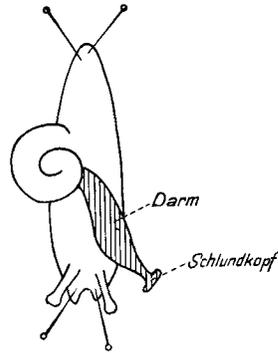


Fig. 4.

Mit einer Sezierschere wird nun dorsal rechts unmittelbar hinter dem „Horn“ beginnend die Muskulatur vorsichtig, nicht zu tief eingeschnitten, wobei der prall gefüllte rotbraune Darm herausquillt. Die Muskulatur wird nun leberwärts weiter aufgeschnitten. Darauf wird der Schlundkopf des Darmes am Kopfende mit der Schere herausgeschnitten, mit einer Pincette vorsichtig gefasst, der Darm möglichst von Bändern befreit (Fig. 4) und so weit leberwärts wie möglich mit einer Pincette fest abgeklammert, leberwärts abgeschnitten und dann in ein Glasgefäss entleert. Ausbeute etwa 1 cm³ pro Tier. Aufbewahrung: bei 0° oder –10° mit etwas Toluol einige Wochen haltbar.

Trockenpräparat: Der Saft wird klar zentrifugiert, der Niederschlag mit wenig Wasser aufgeschlemmt und nochmals zentrifugiert. Vereinigte klare Lösungen in 5fache Menge Alkohol bei –80° einrühren. Kalt zentrifugieren, kalt mit Alkohol und Äther waschen, sofort im Exsikkator über CaCl₂ im Vakuum trocknen. 100 cm³ Saft geben ungefähr 17,6 g graues Pulver. Im Exsikkator über CaCl₂ bei 0° viele Monate ohne Aktivitätsverlust haltbar.

Die Mikroanalysen wurden in folgenden Laboratorien ausgeführt: Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel (Leitung *E. Thommen*) (OAB), Eidg. Techn. Hochschule Zürich (Leitung *W. Manser*) (ETH), bei Frau Dr. *M. Sobotka* und Herrn Dr. *E. Wiesenberger*, Graz (*S. W.*). Die UV.-Absorptionsspektren wurden von Herrn *P. Zoller*, Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel, in einem *Beckman*-Quarz-Spektrophotometer, Modell DU, aufgenommen.

Zusammenfassung.

Die Beschaffung und Untersuchung der Wurzeln von *Xysmalobium undulatum* *R. Br.* wird beschrieben und Gründe angegeben, die dafür sprechen, dass es sich bei dieser *Asclepiadacee* um die (oder eine) Stammpflanze der bekannten „Uzara-Medizin“ handelt.

¹⁾ Links und rechts hier immer vom Laboranten aus gemeint.

Ausser kleinen Mengen von fünf verschiedenen Kristallisaten, die wahrscheinlich digitaloide Aglykone darstellen und die als Substanzen B, C, D, E und F bezeichnet wurden, und einem weiteren krist. Nebenprodukt, konnte aus den getrockneten Wurzeln als Hauptprodukt in etwa 2,5% Ausbeute ein gut kristallisiertes, aber schwer trennbares Glykosidgemisch erhalten werden, das dem „Xysmalobin“ von *Breyer-Brandwijk* entspricht. Eine wirksame Trennung in reine Stoffe gelang bisher nicht. Analyse und Abbauresultate sprechen dafür, dass ein Gemisch von Diglucosiden der ungefähren Formel $C_{35}H_{54}O_{14}$ mit 3—4 Molen Kristallwasser vorliegt.

Durch enzymatische Hydrolyse mit Schneckenferment wird „Xysmalobin“ in 2 Mol D-Glucose und ein Aglykongemisch gespalten. Auch dieses Aglykongemisch wurde bisher nicht vollständig getrennt; durch Abbau liess sich aber zeigen, dass es als Hauptprodukt das bekannte Odirigenin B (= Uzarigenin) enthält. „Xysmalobin“ dürfte als Hauptbestandteil somit einen Stoff enthalten, der aus 1 Mol Odirigenin B und 2 Mol D-Glucose besteht, der daher mit dem bekannten Uzarin ($C_{35}H_{54}O_{14}$) entweder identisch oder mit ihm isomer ist.

Energische saure Hydrolyse des „Xysmalobins“ lieferte neben D-Glucose ein Gemisch von Anhydrogeninen, aus dem sich als Spitzenfraktion eine kleine Menge „Anhydro-xysmalobigenin“ ($C_{23}H_{32}O_3$?) abtrennen liess, das weder mit α - noch mit β -Anhydrouzarigenin identisch war. Dieser Stoff dürfte daher einem Glykosid entstammen, das im „Xysmalobin“ enthalten war und das ein Aglykon enthält, das mit Odirigenin B nicht identisch ist.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

8. Monoketone der Pregnan- und Allopregnan-Reihe¹⁾²⁾.

Steroide, 6. Mitteilung³⁾

von **A. Ruff** und **T. Reichstein**.

(30. XI. 50.)

Diese Arbeit wurde in Vereinbarung mit Herrn Dr. *Dobriner* vom Memorial Hospital, New York, unternommen, wo zur Aufnahme von Infrarot-Absorptionsspektren eine Anzahl Monoketone der Pregnan- und Allopregnan-Reihe benötigt wurden, die sich durch die Stellung der Ketogruppe voneinander unterscheiden. Es wurden die folgenden

¹⁾ Auszug aus der Dissertation *A. Ruff*, Basel 1949.

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

³⁾ 5. Mitt. *R. Casanova & T. Reichstein*, Helv. **33**, 417 (1950).