

Interfering iron can easily be removed by precipitation as ferric phosphate.

(2) The sharpness of the titration endpoint can be markedly improved by using a mixed indicator (eriochrome black T plus methyl yellow).

(3) The determination of calcium in the presence of magnesium by the direct titration method, using murexide as an indicator, gives erroneous results. Correct values are obtained by a back titration procedure.

(4) Fairly stable indicator solutions of murexide have been obtained with anhydrous ethylene glycol as a solvent.

(5) Reagent grade $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, kept in a desiccator over a mixture of 5 parts $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ and 1 part H_2O to insure correct hydration, has been found to be very suitable for the standardization of disodium diethyleneaminetetraacetate solutions.

Laboratoire de Chimie minérale et analytique
de l'Université, Lausanne.

97. Die Glykoside von *Strophanthus gracilis* K. Schum. et Pax. 2. Mitteilung¹⁾. Odorosid H und Gracilosid²⁾ ³⁾.

Glykoside und Aglykone, 109. Mitteilung⁴⁾

von J. P. Rosselet und T. Reichstein.

(30. III. 53.)

Aus dem Holz (Zweige, Stämmchen und Wurzeln) von *Strophanthus gracilis* K. Schum. et Pax. gelang es kürzlich, kleine Mengen kristallisierter Aglykone, Glykoside und Glykosidacetate zu isolieren¹⁾. Insgesamt wurden 9 Stoffe erhalten. Zwei davon waren Aglykone, die als Strophanthidin und Strophanthidol erkannt wurden. Fünf Glykoside und ein Glykosidacetat liessen sich nicht sicher identifizieren und wurden vorläufig als Substanzen AA 53, AA 55, AA 56, AA 57, AA 59 und Acetat AA 64 bezeichnet. Ein weiteres als Acetat isoliertes Glykosid war mit Emicymarin-diacetat identisch.

¹⁾ 1. Mitteilung, A. Aebi & T. Reichstein, Helv. **34**, 1277 (1951).

²⁾ Auszug aus der Diss. J. P. Rosselet, Basel 1952.

³⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

⁴⁾ 108. Mitteilung: W. Rittel & T. Reichstein, Helv. **36**, 554 (1953).

Für die Isolierung dieser Stoffe wurde der wässrig-alkoholische Extrakt des Pflanzenmaterials (3,805 kg Holz) nach Vorreinigung mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$ und Petroläther zunächst aus wässriger Lösung mit Äther, dann mit Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt, wobei 8 g Ätherextrakt A und 27,2 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt A resultierten. Letzterer wurde zur Spaltung der darin vermuteten Di- und Polyglykoside mit Strophanthobiase aus den Samen von *Strophanthus kombé* behandelt und anschliessend aus wässriger Lösung wieder fraktioniert mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt, wobei 1,6 g Ätherextrakt B, 4,0 g Chloroformextrakt B und 14,55 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt B resultierten.

Die oben genannten 9 Stoffe wurden aus Ätherextrakt B und aus Chloroformextrakt B isoliert. Hier wird die Untersuchung von Ätherextrakt A und Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt B beschrieben, aus denen etwas grössere Mengen der Substanzen AA 53 und AA 55 in reiner Form isoliert werden konnten. Dies erlaubte die Identifizierung von AA 53 mit Odorosid H (IX) sowie die weitgehende Konstitutionsaufklärung von AA 55, für die wir den Namen Gracilosid vorschlagen. Gracilosid (VI) ist in seinen Eigenschaften dem Odorobiosid G (I) äusserst ähnlich, so dass zunächst vermutet wurde, die zwei Substanzen könnten identisch sein. Aus den weiter unten mitgeteilten Gründen glauben wir aber, dass sie verschieden sind, und haben deswegen für AA 55 den neuen Namen Gracilosid gewählt.

Trennung des Ätherextrakts A.

Die 8 g roher Ätherextrakt A wurden zunächst durch Verteilung zwischen 70-proz. Methanol und Petroläther sowie Ausschütteln aus Wasser mit Chloroform gereinigt, wobei sich etwas petrolätherlösliches sowie wasserlösliches Material (*Raymond*-Reaktion: negativ) entfernen liess. Der so gereinigte Extrakt (6,21 g) lieferte nach Chromatographie 61 mg Substanz AA 53, die sich als identisch mit dem früher aus Ätherextrakt B isolierten Präparat erwies. Andere Kristalle liessen sich bisher nicht fassen. Daher wurden alle bei dieser Chromatographie erhaltenen amorphen Fraktionen, die positive *Raymond*-Reaktion zeigten, vereinigt (2,776 g) und kleine Proben davon auf Papier chromatographiert. Neben zwei nicht identifizierten Flecken (die zwei obersten in Fig. IV, Seite 795) wurden 5 Flecke (siehe Fig. II–IV) erhalten, deren Laufstrecken denjenigen von Cymarol (Nr. 8), AA 53 (= Odorosid H) (Nr. 5), Periplogenin (Nr. 6), Strophanthidin (Nr. 4) und Strophanthidol (Nr. 7) entsprechen. Von diesen Stoffen sind drei (AA 53, Strophanthidin und Strophanthidol), wie erwähnt, früher präparativ isoliert worden. Das Papierchromatogramm lässt vermuten, dass in diesem Extrakt ausserdem noch Cymarol und Periplogenin enthalten waren.

Identifizierung von Substanz AA 53 mit Odorosid H.

In der früheren Mitteilung wurde bereits die Vermutung ausgesprochen¹⁾, dass Substanz AA 53 mit Odorosid H (IX) identisch sein könnte²⁾. Die genaue Kontrolle hat die Identität bestätigt. Zur Charakterisierung wurde AA 53 noch ins Dibenzoat XI übergeführt, das sich mit Odorosid-H-dibenzoat (XI) als identisch erwies.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts B.

Wie früher erwähnt³⁾, zeigte Substanz AA 55 grosse Ähnlichkeit mit Odorobiosid G (I). Da dieser Stoff mit Strophanthobiase nur sehr langsam gespalten wird und sich aus Wasser mit Chloroform nur sehr unvollständig ausschütteln lässt, und da AA 55 früher aus dem Chloroformextrakt B isoliert wurde, vermuteten wir, dass etwas grössere Mengen davon im Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt B enthalten sein könnten. Ein Teil dieses Extrakts (5 g) wurde daher mit dem Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum* behandelt, welches Odorobiosid G (I) leicht in Odorosid H (IX) und D-Glucose (XII) spaltet. Nach dieser Behandlung liess sich tatsächlich eine merkliche Menge (208 mg) Odorosid H in Kristallen isolieren, das wieder als Dibenzoat XI charakterisiert wurde.

Für die präparative Isolierung des Diglykosids AA 55 wurde eine weitere Menge des Extrakts (9,55 g entspr. 2,5 kg Holz) nochmals durch Verteilung zwischen Wasser und verschiedenen Chloroform-Alkohol-Gemischen getrennt. Die Auszüge wurden durch Waschen mit Sodalösung gereinigt, worauf die folgenden drei Extrakte erhalten wurden:

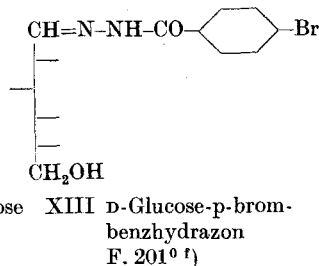
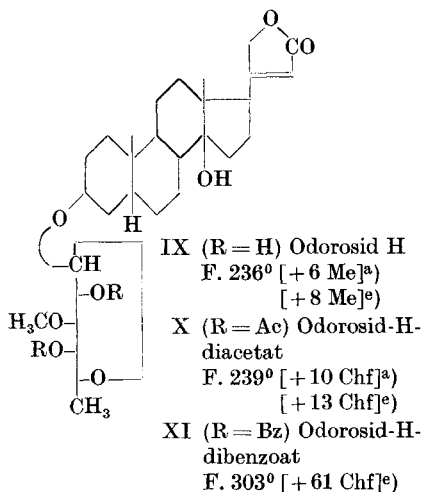
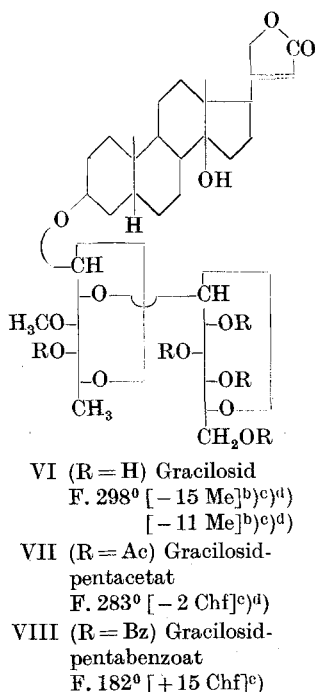
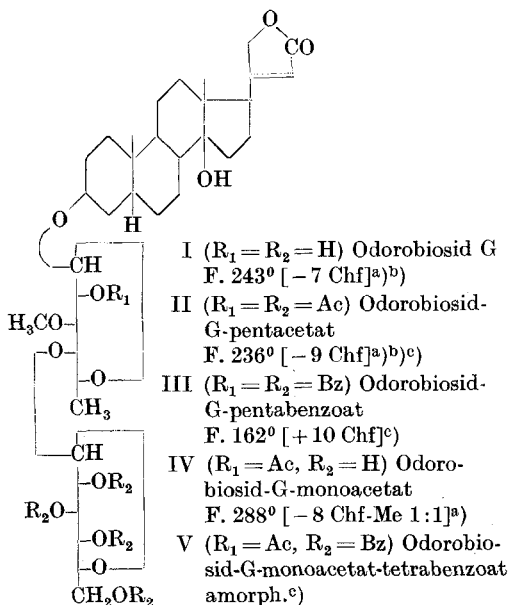
- 2,7 g Chloroform-Alkohol-(19:1)-Extrakt D,
- 0,8 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt D und
- 2,5 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt D.

Nur die zwei erstgenannten zeigten positive *Raymond*-Reaktion. Aus dem Chloroform-Alkohol-(19:1)-Extrakt D liessen sich nach Chromatographie an Al_2O_3 neben wenig (18 mg) Odorosid H (IX) 154 mg Substanz AA 55 gewinnen. Der Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt D wurde zusammen mit einem weiteren Versuch (E, mit 2,55 g Extrakt entspr. 0,665 kg Holz) verarbeitet (siehe Exp. Teil), aus dem noch 82 mg Substanz AA 55 erhalten wurden. Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt D wurde nicht weiter untersucht.

¹⁾ Vgl. 1. Mitt.^{d)}, Fussnote 5, Seite 1279.

²⁾ Herr Dr. A. *Rheiner* fand, dass die freien Glykoside und ihre Diacetate fast gleiche Eigenschaften zeigten und bei der Mischprobe keine Smp.-Erniedrigung gaben.

³⁾ Vgl. 1. Mitt.^{d)}, Fussnote 7, Seite 1279. Wir wurden von den Herren Dr. A. *Rheiner* & Dr. W. *Rittel* auf diese Tatsache aufmerksam gemacht.



Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$, Bz = $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}-$; die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Me = Methanol, Chf = Chloroform.

a) A. Rheiner, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **35**, 687 (1952).

b) Die Formeln I—VIII sind nicht sicher bewiesen, insbesondere ist die Zuordnung von Odorobiosid G und Gracilosid möglicherweise zu vertauschen.

c) Exp. Teil dieser Arbeit.

d) A. Aebi & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 1277 (1951).

e) W. Rittel, A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **36**, 434 (1953).

f) R. Kahl, *Z. Ver. Rübenzucker-Ind.* **1904**, 1091, zitiert nach C. **1904**, II, 1493.

Untersuchung von Substanz AA 55 = Gracilosid (VI).

Die Eigenschaften der neuen, aschefreien Probe stimmten gut mit denjenigen des früher^{d)} beschriebenen, noch etwas aschehaltigen Präparats überein, nur war der Smp. wenig höher. Der Stoff erwies sich als acetylfrei und die Analyse passte gut auf die Formel $C_{36}H_{56}O_{13}$, die durch den enzymatischen Abbau (siehe unten) bestätigt wird. Das Acetat VII wurde früher^{d)} in zwei Modifikationen erhalten mit Smp. 215–220° und Smp. 264–274°; $[\alpha]_D^{19} = -4,7^\circ \pm 3^\circ$ (in Chloroform). Wir erhielten jetzt nur noch die hochschmelzende Form, die nach weitgehender Reinigung bei 283–286° (Zers.) schmolz und $[\alpha]_D^{20} = -1,7^\circ \pm 2^\circ$ (in Chloroform) zeigte. Die Analyse passte gut auf die Formel eines Pentacetats $C_{46}H_{66}O_{18}$.

Eine Probe des reinen Diglykosids wurde mit dem Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum* behandelt, worauf in guter Ausbeute Odorosid H (IX) und D-Glucose (XII) erhalten wurden; letztere wurde als krist. p-Brom-benzhydrazon XIII^{f)} charakterisiert. Gracilosid (= Substanz AA 55) ist demnach ein Diglykosid bestehend aus Odorosid H (IX) und D-Glucose. Aus der spez. Drehung folgt, dass letztere β -glykosidisch gebunden sein muss. Da die Struktur von Odorosid H sichergestellt ist und die D-Glucose höchst wahrscheinlich pyranoid verknüpft ist, muss Gracilosid entweder die Formel I oder VI besitzen. Dieselben zwei Formelmöglichkeiten wurden kürzlich für Odorobiosid G abgeleitet^{a)}. Da zwischen diesen vorläufig keine Entscheidung getroffen werden konnte, wurde dem Odorobiosid G willkürlich Formel I zuerteilt. Wie aus den Angaben bei den Formeln ersichtlich, zeigen Odorobiosid G und Gracilosid sehr ähnliche Drehungen, dasselbe gilt auch für die entsprechenden Pentacetate. Die geringen Unterschiede dürften zwar ausserhalb der Fehlergrenze liegen, doch ist zu berücksichtigen, dass beide Glykoside schwer zu reinigen sind. Auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren äusserst ähnlich. Merklich verschieden waren die Smp. sowohl bei den freien Glykosiden wie bei den Pentacetaten. Da es sich aber hier um Zersetzungspunkte handelt, die sehr stark von der Kristallgrösse, Erhitzungsart und von event. Spuren beigemengter Verunreinigungen abhängig sind, sprach dies nicht eindeutig gegen eine Identität. Insbesondere zeigte die Mischprobe zwischen Gracilosid-pentacetat und Odorobiosid-G-pentacetat keine Smp.-Erniedrigung. Zur Kontrolle, ob Gracilosid und Odorobiosid G identisch oder verschieden sind, wurde Odorobiosid-G-monoacetat (IV)^{a)} nochmals sorgfältig an Al_2O_3 chromatographisch gereinigt und aus Methanol-Äther umkristallisiert. Smp. und Drehung waren innerhalb der Fehlergrenze gleich, wie beim früher beschriebenen Präparat. Acetylierung gab Odorobiosid-G-pentacetat, das nach Chromatographie und mehrmaligem Umkristallisieren den Smp. 238–241° und $[\alpha]_D^{19} =$

$-9,6^0 \pm 2^0$ (in Chloroform) zeigte. Das sind praktisch dieselben Werte wie früher gefunden; insbesondere gelang es auch nach Impfen mit Gracilosid-pentacetat nicht, höherschmelzende Kristalle zu erhalten. Von einer Probe des so gereinigten Odorosid-G-pentacetats und einer genau gleich aus Aceton-Äther umkristallisierten Probe von Gracilosid-pentacetat wurden die IR.-Absorptionsspektren in Nujol (= Paraffin)-Suspension bestimmt (vgl. Fig. I, Kurve A und B)¹⁾. Diese Spektren erwiesen sich als äusserst ähnlich und zeigten nur sehr geringe Abweichungen voneinander, wie sie durch Kristallisomerie oder durch kleine Verunreinigungen hervorgerufen sein können. Dies Resultat sprach somit stark zugunsten der Identität beider Stoffe.

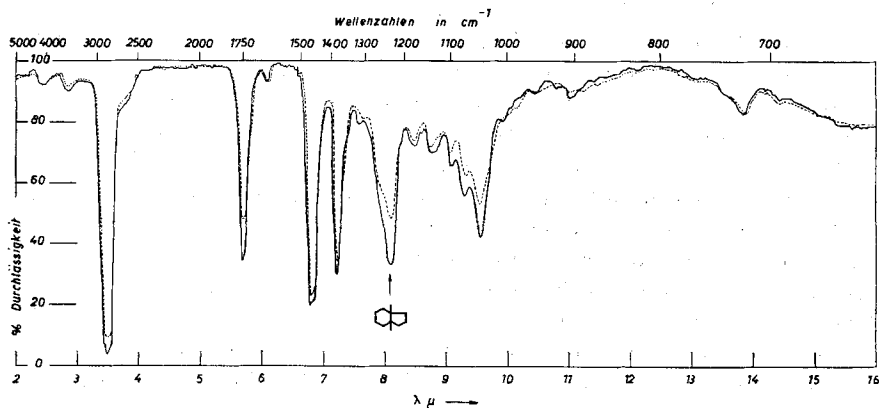


Fig. I.

Infrarot-Absorptionsspektren.

Aufgenommen mit einem Baird-Double-Beam-IR.-Spectrophotometer mit NaCl-Prisma. Es wurden Proben von je 4 mg Substanz in einer 50-proz. Suspension in „Nujol“, in 0,005 mm Schichtdicke mit einmal kompensierter Zelle aufgenommen.

Kurve A (ausgezogen): Odorobiosid-G-pentacetat $C_{46}H_{66}O_{18}$.

Kurve B (gestrichelt): Gracilosid-pentacetat $C_{46}H_{66}O_{18}$.

Hierauf wurde eine Probe (575 mg) rohes Odorobiosid-G-monoacetat^{a)} nochmals mit Schnekenenzym behandelt^{b)} und gab nach sorgfältiger Chromatographie an Al_2O_3 55 mg reines Odorosid H und 325 mg Odorobiosid G. Letzteres zeigte Smp. $243-245^0$ und $[\alpha]_D^{20} = -8,2^0 \pm 2^0$ (in Methanol), wieder in guter Übereinstimmung mit den früher gefundenen Werten. Nun wurde eine Probe des so gereinigten Odorobiosids G mit Pyridin und Benzoylchlorid benzyliert und eine Probe Gracilosid genau gleich behandelt. In beiden Fällen konnten krist. Benzoate erhalten werden, deren Analysen auf Pentabenzoate passten. Odorosid-G-pentabenzoat (III) schmolz aber etwa 20^0 tiefer

¹⁾ Wir danken Herrn Prof. Dr. H. H. Günthard, ETH, Zürich, auch hier bestens für die Aufnahme und Interpretation dieser Spektren.

als Gracilosid-pentabenzoat (VIII), hingegen gab die Mischprobe nur eine geringe, daher nicht sicher reelle Depression. Dagegen liess sich III durch Impfen mit VIII nicht zur Kristallisation anregen. Dieses Resultat spricht unseres Erachtens sehr stark dafür, dass die zwei Stoffe verschieden sind¹⁾2). Obgleich es im Gegensatz zum Ergebnis der IR.-Spektren bei den Acetaten steht, glauben wir die Stoffe als verschieden betrachten und daher verschieden bezeichnen zu müssen. Worin der Unterschied zwischen beiden besteht, kann vorläufig nicht genau angegeben werden. Am naheliegendsten ist die in den Formeln I und VI zum Ausdruck gebrachte Isomerie. Die Zuordnung der zwei Stoffe zu diesen zwei Formeln ist aber völlig willkürlich.

Es muss hier schliesslich auf einen Umstand hingewiesen werden, auf den bereits kürzlich aufmerksam gemacht wurde^{e)}. Vor einiger Zeit wurde gezeigt, dass Odorosid F mit Gracilosid identisch ist. Dieser Befund war auffallend. Odorosid F (Gracilosid) ist in kleiner Menge aus der Rinde von *Nerium odorum* isoliert worden³⁾. In demselben Material kommt Odorotriosid G in reichlicher Menge vor und ist daraus als Octacetat isoliert worden³⁾a). Sowohl Gracilosid wie Odorobiosid G liefern beim enzymatischen Abbau Odorosid H und 1 Mol D-Glucose, während Odorotriosid G aus Odorosid H und 2 Mol D-Glucose besteht. Da aus der Rinde direkt nur Odorotriosid-G-octacetat und Gracilosid, aber kein Odorobiosid G isoliert wurde, liegt es nahe zu vermuten, dass Odorotriosid G und Gracilosid analog gebaut sind. Dem letzteren käme dann Formel I zu, wenn Odorotriosid G die früher^{a)} angegebene Formel besitzt. Man müsste dann annehmen, dass während des Abbaus von Odorotriosid-G-octacetat zu Odorobiosid G durch partielle Verseifung mit KHCO_3 , Einwirkung von Strophanthobiase und Einwirkung von Schneckenferment eine Isomerisierung des zu erwartenden Gracilosids zu Odorobiosid G eingetreten ist. Eine solche Reaktion ist durchaus möglich.

1) Auch folgende Beobachtung spricht dafür, dass die zwei Benzoate verschieden sind: Odorobiosid-G-benzoat kristallisierte gut aus Methanol-Äther-Petroläther, liess sich aber aus Chloroform-Äther, auch nach Impfen, nicht kristallisieren. Gracilosid-benzoat verhielt sich gerade umgekehrt, es kristallisierte gut aus Chloroform-Äther, jedoch nicht aus Methanol-Äther-Petroläther.

2) Es war ursprünglich noch mit folgender Möglichkeit zu rechnen. Das als Odorobiosid G beschriebene Präparat hätte in Wirklichkeit unverändertes Odorobiosid-G-acetat sein können, denn Acetylbestimmungen sind nie ganz zuverlässig. In diesem Falle wäre die Identität der zwei Pentacetate und die Verschiedenheit der Benzoate verständlich. Das hier als Odorosid-G-pentabenzoat beschriebene Präparat wäre dann in Wirklichkeit ein Mono-acetat-tetrabenzoat. Inzwischen ist aber durch Benzoylierung von authentischem Odorobiosid-G-monoacetat (IV) das Odorobiosid-G-monoacetat-tetrabenzoat (V) hergestellt worden (siehe Exp. Teil). Der Stoff war amorph und kristallisierte auch nicht nach Impfen mit III und VIII, womit die genannte Möglichkeit ausgeschlossen wird.

3) S. Rangaswami & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. 24, 159 (1949).

Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in der benützten Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,02 Torr und 80° getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes angegeben ist, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform (oder anderen Lösungsmitteln, wenn erwähnt), Waschen mit verd. HCl, Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. Zur Chromatographie wurde Al_2O_3 verwendet, das ohne Anwendung von Säure nach *Helv.* **27**, S. 1292 Fussnote 2 (1944) von Alkali befreit, aber nur bei 180° reaktiviert wurde. Ausführung der *Raymond*-Reaktion durch Tüpfeln auf Papier analog *Helv.* **34**, 108 (1951).

Untersuchung des Ätherextrakts A.

Vorreinigung. 6 g Extrakt (aus 3,805 kg Holz)^{d)} wurden in 350 cm³ Methanol gelöst, mit 150 cm³ Wasser vermischt und dreimal mit je 500 cm³ Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherauszüge wurden der Reihe nach fünfmal mit je 200 cm³ 70-proz. Methanol ausgeschüttelt, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Rückstand (0,572 g) verworfen. Die wässrig-methanolischen Auszüge wurden im Vakuum bei 40° auf 450 cm³ eingengt und fünfmal mit je 300 cm³ Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 6,21 g gereinigten Ätherextrakt A als gelbbraunen Schaum, der deutlich bitter schmeckte.

Trennung des gereinigten Ätherextrakts A. Die 6,21 g gereinigter Ätherextrakt A wurden an 180 g Al_2O_3 chromatographiert. Für jede Fraktion dienten 620 cm³ Lösungsmittel.

Die Fraktionen Nr. 1—8 (eluiert mit Benzol-Chloroformgemischen von 10—40% Chloroformgehalt) gaben insgesamt 442 mg braunes, ätherlösliches Öl. *Legal*-Reaktion und *Raymond*-Reaktion: negativ; verworfen.

Die Fraktionen Nr. 9—13 (eluiert mit Benzol-Chloroform-(2:3) und reinem Chloroform) gaben insgesamt 287 mg braunes amorphes Material, das bisher nicht kristallisierte, *Raymond*-Reaktion: positiv (blau).

Fraktion Nr. 14 (441 mg, eluiert mit reinem Chloroform) gab aus Methanol-Äther 61 mg rohes Odorosid H (Subst. AA 53), Smp. 216—226°.

Die Fraktionen Nr. 15—25 (eluiert mit Chloroform-Methanolgemischen und reinem Methanol) gaben insgesamt 2,109 g amorphes Material, *Raymond*-Reaktion: positiv.

Die Fraktionen Nr. 26—36 (eluiert mit reinem Methanol) gaben noch 2,783 g amorphes Material, *Raymond*-Reaktion: negativ.

Die Fraktionen Nr. 9—13, die Mutterlauge von Fraktion Nr. 14 und die Fraktionen Nr. 15—25 wurden vereinigt (2,776 g). Eine Probe dieses Materials diente zur Chromatographie an Filterpapier, die Hauptmenge wurde noch nicht weiter untersucht.

Identifizierung von Subst. AA 53^{d)} mit Odorosid H (IX).

Die 61 mg Rohprodukt gaben aus Aceton-Äther 53 mg farblose, zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. 236—238°; $[\alpha]_D^{20} = +9,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,994$ in Methanol)¹⁾.

9,96 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,098^\circ \pm 0,02^\circ$

Authentisches Odorosid H^{e)} sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich. Das alte Präparat AA 53 schmolz nur wenig tiefer, die Mischprobe gab keine Smp.-Erniedrigung.

Dibenzoat XI. 30 mg Substanz AA 53 (Odorosid H) vom Smp. 236—238° aus *S. gracilis* wurden wie kürzlich beschrieben^{e)} benzoyleiert. Das Rohprodukt (41 mg) gab

¹⁾ In der 1. Mitteilung^{d)} ist auf Seite 1290 ein Fehler unterlaufen. Bei Substanz Nr. AA 53 soll es heissen $\alpha_D^{20} = +0,186^\circ \pm 0,02^\circ$ an Stelle von $\alpha_D^{20} = +0,11^\circ \pm 0,02^\circ$.

aus Aceton-Äther 32 mg farblose Körner, Smp. 308–310° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = +60,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,961$ in Chloroform).

9,68 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,58^\circ \pm 0,02^\circ$

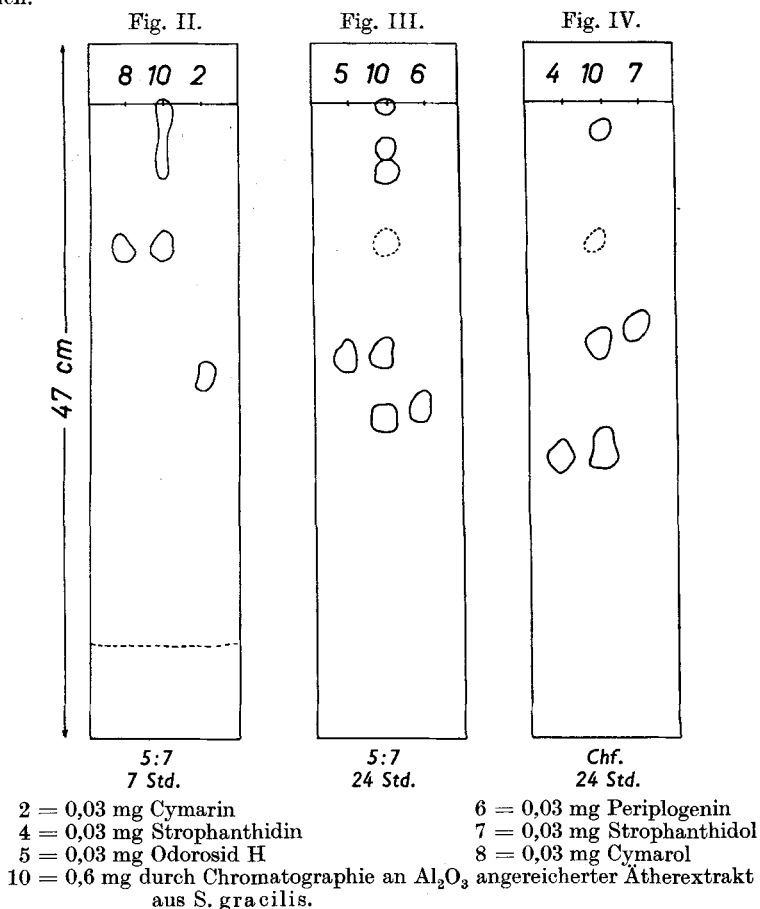
5,159 mg Subst. gaben 13,420 mg CO₂ und 3,287 mg H₂O (A. P.)

C₄₄H₅₄O₁₀ (742,23) Ber. C 71,13 H 7,33% Gef. C 70,98 H 7,13%

Authentisches Odorosid-H-dibenzoat^e) sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren gleich.

Untersuchung der amorphen Anteile des Ätherextrakts A im Papierchromatogramm.

Das Filterpapier (Whatman Nr. 1) wurde durch eine 25-proz. Lösung von entsäuertem Formamid¹⁾ in Aceton gezogen und 10 Min. an der Luft hingengelassen²⁾). Dann wurden Proben von je 0,6 mg Glykosidgemisch und daneben je 0,03 mg der reinen Vergleichsglykoside aufgetragen. Nach weiteren 10 Min. wurde in den Trog eingehängt und wie früher beschrieben chromatographiert⁴⁾. Das Ergebnis ist aus den Fig. II–IV ersichtlich.



¹⁾ O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951).

²⁾ P. B. Baker, F. Dobson & S. W. Stroud, Nature **168**, 114 (1951).

³⁾ R. Neher & A. Wettstein, Helv. **34**, 2278 (1951).

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts B, Abbau mit dem Enzym aus *Adenium multiflorum*.

5 g Extrakt (entspr. 1,36 kg Holz) wurden in wenig Methanol gelöst, mit 750 cm³ Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum vollständig entfernt. Die trübe Lösung wurde mit der Aufschwemmung von 6 g Enzympräparat¹⁾ in 250 cm³ Wasser und 5 cm³ Toluol versetzt und unter öfterem Umschwenken 3 Tage bei 37° stehengelassen. Dann wurde bei -10° mit 3 Litern gekühltem Alkohol versetzt, das gefällte Enzym abgenutscht und mit wenig kaltem Alkohol gewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 45° Badtemperatur auf 250 cm³ eingeeengt, mit 100 cm³ Wasser versetzt und nochmals auf 250 cm³ eingeeengt. Die Suspension wurde je 4mal mit je 500 cm³ Chloroform, Chloroform-Alkohol-(9:1) und Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit 40 cm³ Wasser, 15 cm³ 2-n. Soda-lösung und 15 cm³ Wasser gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterlassen beim Eindampfen:

1,92 g Chloroformextrakt, Geschmack: bitter. *Raymond*-Reaktion: positiv.

1,26 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt. Geschmack: nicht bitter. *Raymond*-Reaktion: negativ.

1,4 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt. Geschmack: nicht bitter. *Raymond*-Reaktion: negativ.

Die zwei letztgenannten Extrakte wurden nicht untersucht. Die 1,92 g Chloroformextrakt wurden an 60 g Al₂O₃ chromatographiert.

Die Fraktionen Nr. 13—16 (524 mg, eluiert mit reinem Chloroform, sowie mit Chloroform mit 1% Methanolzusatz) gaben aus Methanol-Äther 208 mg rohes Odorosid H (IX) vom Smp. 228—236°.

Aus den anderen Fraktionen konnten keine Kristalle erhalten werden.

Identifizierung von Odorosid H (IX) aus obiger Enzymspaltung.

Aus Aceton-Äther zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. 236—238°; $[\alpha]_D^{19} = +10,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,99$ in Methanol).

9,91 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,10^\circ \pm 0,02^\circ$

Authentisches Odorosid H (IX) und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren gleich.

Dibenzoat (XI). 30 mg Odorosid H aus obiger Enzymspaltung wurden wie früher^{e)} benzooyliert. 51 mg Rohprodukt gaben aus Aceton-Äther 34 mg farblose Körner, Smp. 308—312° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = +61,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,01$ in Chloroform).

10,18 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,62^\circ \pm 0,02^\circ$

Authentisches Odorosid-H-dibenzoat (XI) sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren gleich.

Vortrennung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts B.

7 g roher Extrakt (entspr. 2,4 kg Holz) wurden in wenig Methanol gelöst, mit 300 cm³ Wasser versetzt und das Methanol im Vakuum bei 40° vollständig entfernt. Die trübe wässrige Lösung wurde sechsmal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol-(19:1), viermal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol-(9:1) und viermal mit je 300 cm³ Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach noch drei Scheidetrichter mit 20 cm³ Wasser, 10 cm³ 2-n. Sodalösung und 10 cm³ Wasser, in denen sie nochmals geschüttelt wurden. Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen gab:

2,7 g Chloroform-Alkohol-(19:1)-Extrakt D. Geschmack: bitter, *Raymond*-Reaktion: positiv (blau).

0,8 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt D. Geschmack: leicht bitter, *Raymond*-Reaktion: positiv (blau).

2,5 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt D. Geschmack: nicht bitter, *Raymond*-Reaktion: negativ (farblos).

¹⁾ A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **33**, 1993 (1950).

Die verbleibende wässrige Phase und das erste Waschwasser gaben nach Eindampfen 0,7 g amorphes Material. Geschmack: nicht bitter, *Raymond*-Reaktion: negativ (verworfen).

Isolierung von Gracilosid.

Die 2,7 g Chloroform-Alkohol-(19:1)-Extrakt D wurden an 75 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fraktionen Nr. 1–6 (eluiert mit Benzol-Chloroformgemischen von 20–80% Chloroformgehalt) gaben insgesamt 187 mg gelbes Öl, *Raymond*-Reaktion: negativ (verworfen).

Die Fraktionen Nr. 7–9 (81 mg, eluiert mit reinem Chloroform sowie Chloroform mit 1% Methanolzusatz) zeigten positive *Raymond*-Reaktion, kristallisierten aber bisher nicht.

Die Fraktion Nr. 10 (85 mg, eluiert mit 1% Methanol in Chloroform) gab aus Methanol-Äther 18 mg Odoroid H, Prismen, Smp. 234–238° (Mischprobe).

Die Fraktionen Nr. 11–19 (560 mg, eluiert mit Chloroform-Methanolgemischen von 1–20% Methanolgehalt), gaben positive *Raymond*-Reaktion, kristallisierten aber nicht.

Die Fraktionen Nr. 20–25 (547 mg, eluiert mit Chloroform-Methanolgemischen von 20–50% Methanolgehalt) gaben aus Methanol-Chloroform-(1:1)-Äther total 154 mg rohes Gracilosid, als feine, farblose Körner, Smp. 298–305° (Zers.).

Die weiteren, mit reinem Methanol, sowie Methanol mit 2–5% Eisessig erhaltenen Fraktionen gaben noch 1,2 g amorphes Material, das nicht untersucht wurde.

Weitere 2,55 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt B wurden nur in einen Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt E (1,42 g) und in einen Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt E (0,87 g) getrennt. Die 0,8 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt D und die 1,42 g Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt E wurden vereinigt und an 66 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fraktionen Nr. 11–17 (296 mg, eluiert mit Chloroform-Methanolgemischen von 20–50% Methanolgehalt) gaben aus Methanol-Äther weitere 82 mg rohes Gracilosid.

Schliesslich wurden die Mutterlaugen der Fraktionen 20–25 des Chloroform-Alkohol-(19:1)-Extrakts C (382 mg) und die Mutterlaugen der Fraktionen Nr. 11–17 der beiden Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakte D + E (204 mg) vereinigt und nochmals an 16 g Al_2O_3 chromatographiert, worauf sich noch 60 mg rohes Gracilosid vom Smp. 295–302° isolieren liessen. Totalausbeute 286 mg (entspr. 3,15 kg Holz).

Gracilosid (VI).

Die vereinigten Rohkristalle (286 mg) wurden nochmals chromatographisch gereinigt. Aus Chloroform-Methanol-Äther 274 mg farblose Körner, Smp. 298–302° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = -15,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,850$ in Methanol), $[\alpha]_D^{23} = -11,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,17$ in Methanol-Chloroform-(1:1)).

8,52 mg Subst. zu $1,0002 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{25} = -0,130^\circ \pm 0,02^\circ$

11,77 mg Subst. zu $1,0002 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{23} = -0,14^\circ \pm 0,02^\circ$

4,735 mg Subst. gaben 10,750 mg CO_2 und 3,385 mg H_2O (A.P.)

9,888 mg Subst. verbr. $0,081 \text{ cm}^3$ 0,01-n. NaOH (Acetylbest.)¹⁾ (A.P.)

$\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$ (696,81) Ber. C 62,05 H 8,10 $\text{CH}_3\text{CO}-$ 0%

Gef. „ 61,96 „ 8,00 „ 0,46%

Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 : gelb (1'), zitronengelb (5'), braunrot (20'), braunviolett (30'), violett (90'), grauviolett (verblassend) (2 Std.).

Das alte Präparat von AA 55 zeigte, genau gleich erhitzt, jetzt Smp. 288–290°, Mischprobe: 286–291°. Umkristallisieren von Odorobiosid G aus Methanol-Chloroform-Äther gab auch nach Impfen mit Gracilosid Kristalle vom Smp. 245–248°; $[\alpha]_D^{19} = -6,9^\circ \pm 2^\circ$ (in Methanol). Die Mischprobe mit Gracilosid schmolz bei 242–245°. Die

¹⁾ Bestimmt nach R. Kuhn & H. Roth, B. 66, 1274 (1933); zur Verseifung wurde 3 Std. mit 1-n. NaOH in Methanol gekocht.

gleichzeitig durchgeführte Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 zeigte bei Odorobiosid G: gelb (1'), orangegelb (5'), hellgelbbraun (20'), rosa (90'), verblassend (2 Std.).

Gracilosid-Pentacetat (VII). 50 mg Gracilosid vom Smp. 298—302° wurden mit 1,1 cm³ Acetanhydrid und 1,52 cm³ abs. Pyridin 2 Tage bei 18° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 74 mg Rohprodukt, das an 2,2 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Die mit Benzol-Chloroform-(1:1), -(1:4) und die erste der mit reinem Chloroform eluierten Fraktionen gaben aus Aceton-Äther 47 mg farblose, wollige Nadeln, Smp. 283—286° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = -1,71^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,11$ in Chloroform).

11,17 mg Subst. zu 1,0002 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = -0,019^\circ \pm 0,02^\circ$

4,403 mg Subst. gaben 9,810 mg CO_2 und 2,872 mg H_2O (A. P.)

$\text{C}_{46}\text{H}_{86}\text{O}_{18}$ (906,99) Ber. C 60,91 H 7,34% Gef. C 60,80 H 7,30%

Raymond-Reaktion: positiv (blau); Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : hellgelb (1'), gelbbrosa (50'), grauviolett (90'), beige grau verblassend (2 Std.). Das Acetat des alten Präparats AA 55 zeigte jetzt Smp. 218—225° $\rightarrow$ 267°, die Mischprobe schmolz bei 224—238°.

Odorobiosid-G-pentacetat (II). Zum Vergleich wurden 500 mg Odorobiosid G-monoacetat^{a)} an 50-facher Menge alkalifreiem Al_2O_3 sorgfältig chromatographiert (42 Fraktionen) und 375 mg der reinsten umkristallisierten Kristalle (Smp. und Drehung gleich wie früher^{a)}) wie üblich acetyliert. Nach Chromatographie an 50-facher Menge Al_2O_3 gaben die mit Benzol-Chloroformgemischen von 40—80% Chloroformgehalt eluierten Anteile (312 mg) aus Aceton-Äther 276 mg farblose wollige Nadelchen vom Smp. 238—241°; $[\alpha]_D^{19} = -9,6^\circ \pm 2^\circ$ (in Chloroform). Auch nach Impfen mit Gracilosid-pentacetat liess sich kein höherer Smp. erhalten. Die Mischprobe mit Gracilosid-pentacetat schmolz z. T. bei 240—242°, Rest bei 268°. Die Farbreaktionen von Gracilosid-pentacetat und Odorobiosid G-pentacetat waren auch bei gleichzeitiger Durchführung fast gleich. Vergleich der IR.-Spektren siehe theoret. Teil.

Eine weitere Probe (575 g) rohes Odorobiosid-G-monoacetat wurde in 1,5 Litern Wasser gelöst, mit 300 mg Schneckenferment-Trockenpräparat¹⁾ und 5 cm³ Toluol versetzt und nach gutem Durchmischen 4 Tage bei 32° stehengelassen. Im Vakuum auf 50 cm³ eingedampft, Proteine mit 200 cm³ Alkohol gefällt und abgenutscht. Das Filtrat wurde im Vakuum auf ca. 30 cm³ eingeeengt und viermal mit je 100 cm³ Chloroform-Alkohol-(9:1) ausgeschüttelt. Wie üblich gewaschen, getrocknet und eingedampft, resultierten 580 mg roher Extrakt, der an 20 g Al_2O_3 chromatographiert wurde.

Die Fraktionen Nr. 4—7 (eluiert mit reinem Chloroform und Chloroform mit 1% Methanolzusatz) gaben aus Methanol-Äther 35 mg Odorobiosid H vom Smp. 236—239° in farblosen Prismen.

Die Fraktionen Nr. 12—21 (eluiert mit Chloroform-Methanolgemischen von 20—50% Methanolgehalt) gaben aus Methanol-Chloroform-Äther 325 mg Odorobiosid G (I), in zunächst gallertartigen Drusen, nach zweimaligem Umkristallisieren aus gleichem Gemisch in zu Drusen vereinigten groben Nadeln (264 mg) vom Smp. 243—245°; $[\alpha]_D^{20} = -8,2^\circ \pm 2^\circ$ (in Methanol).

Acetylierung von 50 mg reinem Odorobiosid G gab nach üblicher Aufarbeitung und Chromatographie Odorobiosid G-pentacetat vom Smp. 237—241°; $[\alpha]_D^{18} = -8,7^\circ \pm 2^\circ$ (in Chloroform), übereinstimmend mit den früheren Angaben^{a)}.

Odorobiosid-G-pentabenzoat (III). 50 mg reinstes Odorobiosid G wurden in 2 cm³ abs. Pyridin gelöst, bei 0° mit 0,7 cm³ reinstem Benzoylchlorid versetzt und 15 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss bei 18° stehengelassen. Dann wurden 0,5 cm³ Methanol zugegeben und nochmals 2 Std. bei 18° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurde der Rückstand zur Entfernung von Benzoesäure-methylester 1½ Std.

¹⁾ H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr, P. Speiser & T. Reichstein, Helv. **34**, 46 (1951).

im Hochvakuum auf 50° erwärmt; er wog dann 87 mg und wurde an 2,5 g Al_2O_3 chromatographiert. Mit Benzol und Benzol-Chloroform-(4:1) wurden 11 mg Benzoessäure-methylester eluiert. Die mit Benzol-Chloroform-(1:1) sowie mit reinem Chloroform eluierten Anteile gaben aus Methanol-Äther-Petroläther 64 mg farblose, dünne Nadeln vom Smp. 161–162°; $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +9,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,987$ in Chloroform).

9,87 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{19} = +0,094^\circ \pm 0,02^\circ$

3,881 mg Subst. gaben 9,957 mg CO_2 und 2,200 mg H_2O (A. P.)

$\text{C}_{71}\text{H}_{76}\text{O}_{15}$ (1217,30) Ber. C 70,05 H 6,29% Gef. C 70,01 H 6,36%

Odorobiosid-G-monoacetat-tetrabenzoat (V)¹⁾. 24 mg Odorobiosid-G-monoacetat (IV) vom Smp. 285–295° wurden zuerst 1 Std. bei 80° und 0,01 Torr getrocknet und dann, genau wie bei III beschrieben, benzozyliert und aufgearbeitet. Das Rohprodukt (39 mg) (farbloses Glas) wurde an 1,20 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen der einzelnen Fraktionen dienten je 4,0 cm^3 Lösungsmittel. Mit reinem Benzol liessen sich noch 3 mg Benzoessäuremethylester eluieren. Die mit Benzol-Chloroform-(4:1)- und (3:2)-Gemischen eluierten Fraktionen (total 37 mg) blieben auch nach Animpfen mit Gracilosid-pentabenzoat (VIII) sowie Odorobiosid-G-pentabenzoat (III) bis jetzt amorph.

Gracilosid-pentabenzoat. 50 mg reinstes, umkristallisiertes Gracilosid vom Smp. 298–302° wurden genau wie bei Odorobiosid-G-pentabenzoat benzozyliert und aufgearbeitet. Das Rohprodukt (94 mg) wurde an 3 g Al_2O_3 chromatographiert. Mit Benzol und Benzol-Chloroform-(4:1) liessen sich noch 14 mg Benzoessäuremethylester eluieren. Die mit Benzol-Chloroform-(2:3) sowie mit reinem Chloroform eluierten Fraktionen gaben aus Chloroform-Äther 68 mg farblose, dicke, gerade abgeschnittene Prismen vom Smp. 182–184°; $[\alpha]_{\text{D}}^{19} = +14,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,016$ in Chloroform).

10,18 mg Subst. zu 1,0015 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_{\text{D}}^{19} = +0,147^\circ \pm 0,02^\circ$

4,496 mg Subst. gaben 11,450 mg CO_2 und 2,531 mg H_2O (A. P.)

$\text{C}_{71}\text{H}_{76}\text{O}_{18}$ (1217,30) Ber. C 70,05 H 6,29% Gef. C 69,98 H 6,44%

Der Stoff ist gut löslich in Chloroform, Aceton und Methanol, etwas weniger in Benzol, schwer löslich in Äther und Wasser. *Legal*-Reaktion: positiv (rot). Die Mischprobe mit Odorobiosid-G-pentabenzoat schmolz bei 156–163° (Sintern ab 153°). Die beiden Stoffe liessen sich gegenseitig durch Impfen nicht zur Kristallisation anregen.

Odorobiosid-G-benzoat kristallisierte gut aus Methanol-Äther-Petroläther, liess sich aber auch nach Animpfen aus Chloroform-Äther nicht kristallin erhalten. Gracilosid-benzoat kristallisierte dagegen auch nach Animpfen nicht aus Methanol-Äther-Petroläther.

Enzymatische Spaltung von reinem Gracilosid.

50 mg Gracilosid vom Smp. 298–302° wurden in wenig Methanol gelöst, mit 200 cm^3 Wasser versetzt und vom Methanol im Vakuum vollständig befreit. Dann wurden 80 mg rohes Enzym²⁾ aus den Samen von *Adenium multiflorum* in 100 cm^3 Wasser und 2 cm^3 Toluol zugegeben und 3 Tage bei 35° stehengelassen. Nach Zugabe von 1 l Alkohol wurde durch eine Schicht gewaschenem Kieselgur (Celite Nr. 535) abgenutscht und mit Alkohol gewaschen. Das Filtrat wurde hierauf im Vakuum auf 150 cm^3 eingengt, fünfmal mit je 250 cm^3 Chloroform und viermal mit je 250 cm^3 Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. (Isolierung der Glucose aus wässriger Phase siehe unten.) Die Auszüge wurden der Reihe nach mit 10 cm^3 Wasser, 5 cm^3 Sodalösung und 5 cm^3 Wasser gewaschen. Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen gab 46 mg Chloroform-Extrakt als farblosen Schaum von bitterem Geschmack. Die Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakte lieferten nur 8 mg Rückstand, nicht bitter, *Raymond*-Reaktion: negativ, verworfen.

¹⁾ Dieser Versuch wurde von Herrn Dr. W. Rittel ausgeführt.

²⁾ A. Hunger & T. Reichstein, *Helv.* **33**, 1993 (1950).

Isolierung von Odorosid H (IX) aus obiger Enzymspaltung.

Die 46 mg Chloroformextrakt wurden an 1,2 g Al_2O_3 chromatographiert. Die Fraktionen 1—4 (eluiert mit Benzol-Chloroform und reinem Chloroform) gaben nur Spuren amorphes Material. Die Fraktionen 5—9 (38 mg, eluiert mit reinem Chloroform sowie Chloroform mit 1% Methanolzusatz) gaben aus Aceton-Äther 29 mg reines Odorosid H, als feine, zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. 234—238°; $[\alpha]_D^{20} = +9,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,940$ in Methanol).

9,41 mg Subst. zu 1,0002 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{20} = +0,08^\circ \pm 0,02^\circ$

Authentisches Odorosid H sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Dibenzoat (XI). 20 mg Odorosid H aus obiger Enzymspaltung wurden wie früher^e) benzozyliert. 29 mg Rohprodukt gaben aus Aceton-Äther 19 mg farblose Körner Smp. 306—310° (Zers.). Authentisches Vergleichsmaterial sowie die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren gleich.

Nachweis der D-Glucose (XII) aus obiger Enzymspaltung.

Die mit Chloroform und Chloroform-Alkohol(2:1) ausgeschüttelte wässrige Lösung wurde im Vakuum bei 35° vollständig eingedampft. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen. Die filtrierte Lösung lieferte beim Eindampfen im Vakuum 18 mg rohe D-Glucose. Der getrocknete Sirup wurde in 2 cm^3 abs. Methanol gelöst und mit der Lösung von 17 mg (1 Mol.) p-Brombenzhydrazid in 5 cm^3 abs. Alkohol versetzt und $\frac{1}{2}$ Std. unter Rückfluss gekocht. Nach 10 Minuten setzte Kristallisation ein, die durch Einengen möglichst vervollständigt wurde. Abnutschen gab 8 mg Rohprodukt, Smp. 198—200° (Zers.). Umkristallisieren aus abs. Alkohol lieferte 4 mg Nadeln, Smp. 200—204° (Zers.). Authentisches Vergleichsmaterial (XIII) sowie die Mischprobe schmolzen gleich.

Die Mikroanalysen wurden bei Herrn A. Peisker, Brugg (A.P.) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Aus dem Holz von *Strophanthus gracilis* sind früher 9 krist. Stoffe isoliert worden. Die Isolierung von 2 derselben wurde wiederholt, wobei noch vorhandene, frühere Extrakte benützt wurden.

Substanz AA 53. Dieser Stoff konnte eindeutig mit Odorosid H identifiziert werden, dessen Konstitution bereits früher bewiesen wurde.

Substanz AA 55. Dieser Stoff zeigte äusserst ähnliche Eigenschaften und dieselbe Summenformel $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{13}$ wie Odorobiosid G und gab bei der enzymatischen Spaltung mit dem Enzym aus den Samen von *Adenium multiflorum* dieselben Spaltstücke wie dieses, nämlich Odorosid H und D-Glucose. Aus den Drehungen folgt, dass letztere β -glykosidisch verknüpft ist. Dasselbe gilt für Odorobiosid G. Trotzdem zeigte Substanz AA 55 etwas andere Eigenschaften wie Odorobiosid G. Auch die krist. Acetate waren ganz wenig verschieden, zeigten aber fast identische IR.-Absorptionsspektren. Es wurde zunächst vermutet, dass die bisherigen Präparate von Odorobiosid G und seinem Pentacetat vielleicht nicht ganz rein gewesen seien. Die Isolierung und Reinigung wurden daher wiederholt. Die Eigenschaften der neuen Präparate waren aber praktisch denjenigen der alten Präparate gleich. Schliesslich gelang es, bei den

Benzoaten etwas deutlichere Unterschiede festzustellen. Odorobiosid-G-benzoat schmolz ca. 20° tiefer als das Benzoat der Substanz AA 55. Es dürfte sich somit um Isomere handeln, bei denen möglicherweise die Glucose an verschiedenen HO-Gruppen des Digitalose-Anteils eingreift. Substanz AA 55 wird Gracilosid genannt. Für Gracilosid und Odorobiosid kommen in erster Linie die Formeln I und VI in Betracht. Von diesen wurde dem Odorobiosid G bereits früher willkürlich Formel I zugeteilt. Sollte sich diese als richtig erweisen, so käme für Gracilosid vor allem Formel VI in Frage.

Pharmazeutische Anstalt und
Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

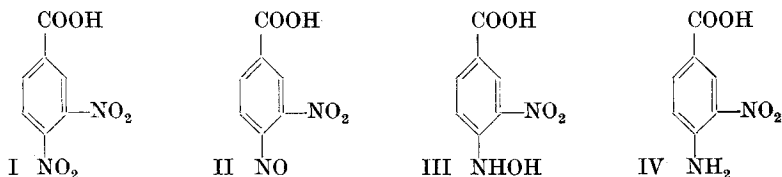
98. Quantitative Zuckerbestimmung mit 3,4-Dinitrobenzoesäure¹⁾

von E. Borel und H. Deuel.

(13. IV. 53.)

Verschiedene aromatische Nitroverbindungen eignen sich als Reagenzien für kolorimetrische Zuckerbestimmungen. Quantitative Zuckerbestimmungen mit 3,5-Dinitrosalicylsäure sind von uns kürzlich beschrieben worden²⁾. In der vorliegenden Arbeit wird die Verwendbarkeit von 3,4-Dinitrobenzoesäure studiert.

3,4-Dinitrobenzoesäure (I) wurde nach einer modifizierten Vorschrift von *Weygand & Hofmann*³⁾ hergestellt. Sie wird von Zuckern in der Hitze oder von Ascorbinsäure in der Kälte zu einem violetten Farbstoff reduziert. Für die Konstitutionsermittlung dieses Farbstoffes wurden die hypothetischen Reduktionsprodukte 3-Nitro-4-nitroso- (II), 3-Nitro-4-hydroxylamino- (III) und 3-Nitro-4-amino-benzoesäure (IV) synthetisiert. Die Absorptionsspektren dieser Verbindungen sind in Fig. 1 dargestellt.



Die Absorptionsmaxima liegen für I unter 3400 Å, für II bei 3400 Å, für III unter 3400 Å und bei 5600 Å und für IV bei 4100 Å.

¹⁾ Vgl. Diss. E. Borel, ETH, 1953.

²⁾ F. Hostettler, E. Borel & H. Deuel, *Helv.* **34**, 2132 (1951); E. Borel, F. Hostettler & H. Deuel, *Helv.* **35**, 115 (1952).

³⁾ F. Weygand & H. Hofmann, *B.* **83**, 405 (1950).