255. Die Glykoside von *Streblus asper* LOUR. 3. Mitteilung[1]) Untersuchung der stark wasserlöslichen Anteile

Glykoside und Aglykone, 260. Mitteilung [1][2])

von **A. R. Manzetti** und **T. Reichstein**

(15. X. 64)

A. *Einleitung.* – Die Wurzelrinde von *Streblus asper* LOUR. (einer asiatischen Moracee) ist reich an Cardenoliden. Sie wurde zuletzt von KHARE *et al.* [2] [3] untersucht. Das Gemisch der rohen Glykoside liess sich durch Verteilung zwischen Wasser und organischen Lösungsmitteln in ungefähr gleiche Mengen schwach und stark polare Anteile auftrennen. Bisher wurden nur die ersteren untersucht. Es konnten daraus 6 neue kristallisierte Cardenolide (α, A, B, C, D und F) isoliert werden; vier weitere (β, G, G′ und H) wurden in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form erhalten. Die Strukturen von α (Kamalosid), A (Asperosid) und B (Streblosid) wurden aufgeklärt [3], bei C (Indrosid), F, G, G′ und H gelang dies teilweise [3]. G′ (Peripallosid) wurde inzwischen auch in Kristallen isoliert [1] [4] [5]; relativ reichlich ist es in den Samen von *Antiaris toxicaria* [1] [4] [5] enthalten. – Hier beschreiben wir die Untersuchung der stark polaren (wasserlöslichen) Glykoside.

B. *Ausgangsmaterial und Vortrennung.* Zur Verfügung standen die 3 folgenden, früher beschriebenen Proben [2]:

Probe a) 23,2 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus 6,5 kg Wurzelrinde
Probe b) 37,0 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus 12,0 kg Wurzelrinde
Probe c) 54,0 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus 50,0 kg Wurzelrinde

Zur Untersuchung verwendeten wir 35 g Probe c (entspricht 32,4 kg Wurzelrinde)[3]). Durch Verteilung zwischen Wasser, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen wurde dieses Material nochmals in vier Teile aufgetrennt (Tab. 1).

In Papierchromatogrammen (am besten bewährten sich die in den Fig. 1–7 angegebenen Systeme) liessen sich in den Chloroform-Alkohol-Extrakten B (teilweise erst

Tabelle 1. *Vortrennung von 35 g rohem Chf-Alk-(2:1)-Extrakt*[4])

Art des Extraktes	Chf-Extr. B		Chf-Alk-(4:1)-Extr. B		Chf-Alk-(2:1)-Extrakt B I		Chf-Alk-(2:1)-Extrakt B II		Total	
	in g	in %	in g	in %	in g	in %	in g	in %	in g	in %
Menge	6,42	18,35	2,8	8,0	24,2	69,2	1,22	3,5	34,64	99
Flecke im Pchr	A, B		H, H′, J, J′, J″, K, K′		J, J′, J″, J‴, K, K′, L, M, a, b, c, f, g, N, O, P, Q		M, N, O, P, Q, f, g			

[1]) Auszug aus Diss. A. R. MANZETTI, Basel 1964.
[2]) Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2319.
[3]) Die andern Proben gaben in Papierchromatogrammen dieselben Flecke.
[4]) Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

nach weiterer präparativer Vortrennung) insgesamt 21 KEDDE-positive Stoffe[5]) nachweisen (Tab. 1), die mit den Buchstaben H, H', J, J', J'', J''', K, K', L, a, b, c, d, e, f, g, M, N, O, P, Q bezeichnet wurden[6]).

Schematische Darstellung der papierchromatographischen Prüfung der einzelnen Extrakte nach der Fermentierung

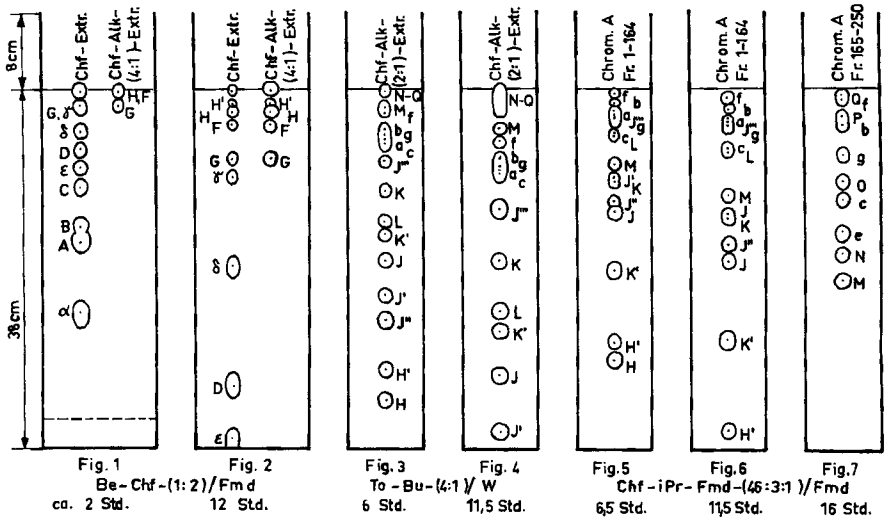

Fig. 1–7 sind *Beispiele von Papierchromatogrammen*, schematisiert, aber massgetreu[4]). Ausführung absteigend nach früheren Angaben [7] [8] [9], Entwicklung mit KEDDE-Reagens[5]), Beladung des Papiers mit 35% Wasser bzw. Formamid. Wo keine Front (gestrichelt) eingezeichnet ist, liess man das Lösungsmittel abtropfen. Das Fliessmittel bei Fig. 5–7 war an Formamid nicht ganz gesättigt.

C. *Untersuchung des Chloroform-Extraktes B.* Dieser enthielt weitgehend die schon früher gefundenen Substanzen Asperosid und Streblosid [2] [3]. Durch Chromatographie an Aluminiumoxid liessen sich diese beiden Glykoside auftrennen; Streblosid wurde in Kristallen und Asperosid in amorpher, papierchromatographisch reiner Form erhalten. Eine weitere Trennung erfolgte nicht.

D. *Untersuchung des Chf-Alk-(4:1)-Extraktes B.* Durch Chromatographie an Aluminiumoxid und an Kieselgel liess sich obiger Extrakt nicht wirksam auftrennen. Eine weitere Trennung wurde nicht mehr durchgeführt.

E. *Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extraktes B.* In diesem Material waren die hochpolaren Anteile angereichert. Um die Trennung zu erleichtern, wurde das Gemisch zunächst einem fermentativen Abbau mit Strophanthobiase[7]) unterworfen. Dieses Fermentgemisch [11] ist geeignet, um in vielen (aber nicht allen) Car-

[5]) KEDDE-Reagens [6] gibt mit allen Butenoliden eine violette Färbung, Empfindlichkeit im Papierchromatogramm ca. 0,01 mg.

[6]) H ist identisch mit KHARE's Subst. H. Die Differenzierung aller obgenannten Stoffe war mit einem einzigen System nicht möglich. So lassen sich a, b, c und g im System To-Bu-(4:1)/W[4]) nicht auftrennen, wohl aber mit Chf-iPr-Fmd-(46:3:1)/Fmd; dasselbe gilt für f, N, O, P, Q.

[7]) Bereitet aus Samen von *Strophanthus kombé* [10].

denolidglykosiden endständige D-Glucose abzuspalten[8]). Auch in unserem Falle trat weitgehende Spaltung ein. Die Bestimmung des Reduktionswertes [14] [15] zeigte, dass die Fermentierung nach etwa 5 Tagen beendet war. Die präparative Aufarbeitung

Tabelle 2. *Aus 25,2 g Chf-Alk-Extrakt B I und B II nach Fermentierung erhaltene C-Extrakte*[4])

Art des Extraktes	Chf-Extr. C		Chf-Alk-(4:1)-Extr. C		Chf-Alk-(2:1)-Extr. C		Total	
	in g	in %	in g	in %	in g	in %	in g	in %
Menge	6,37	25	1,65	6,5	12,95	51,0	20,97	82,5
Flecke im Pchr	(α), A, B, C, ε, (D), δ, γ, G, F		G, F, H, H', J, J''		H, H', J, J', J'', J''', K, K', L, a, b, c, d, e, f, g, M, N, O, P, Q			

Tabelle 3. *Verarbeitung der vier Gruppen wasserlöslicher Glykoside*

Gruppe Nr. total erhaltene Menge		Flecke in Pchr oder Dchr	Daraus in papierchromatogr. reiner Form isoliert	
			kristallin	amorph
I	413 mg	H, H', (J), J'', (J')		H, H', J''
II	979 mg	H', J, J', J'', (J''')	J	J', J'', J'''
III	757 mg	K, K', (L)	K, K'	
IV	1100 mg	a, b, c, d, e, f, g		a, b, (c), f, g

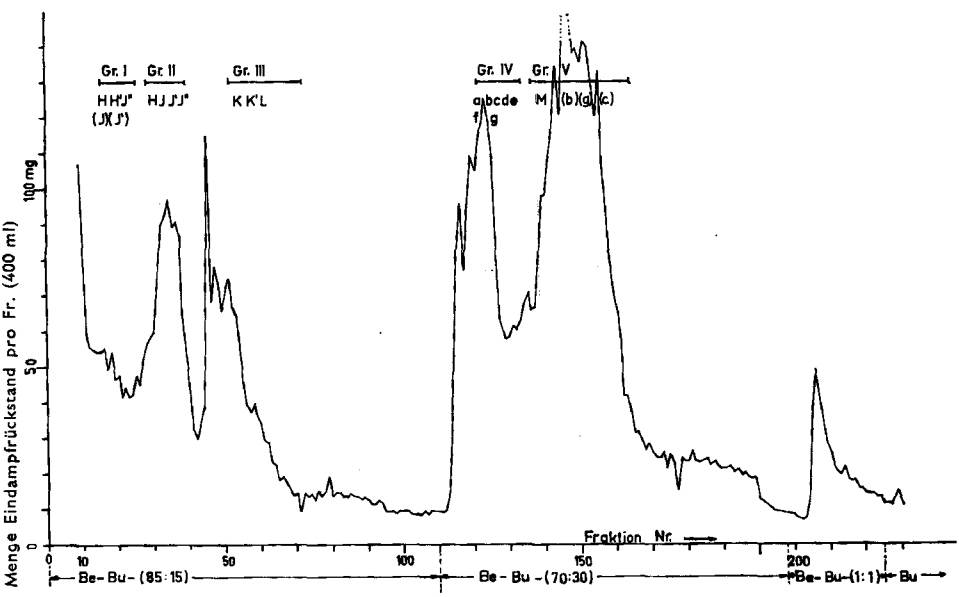

Fig. 8. *Verteilungschromatographie von 11,9 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt C* (entspricht 30 kg Wurzelrinde von *Streblus asper*) *an 3 kg Kieselgur-Wasser-(1:0,93)*

[8]) Es gibt eine Anzahl Cardenolidglykoside mit endständig gebundener D-Glucose, bei denen diese mit Strophanthobiase nicht abgespalten wird, z. B. Digitalinum verum [12], Cheirosid A [13].

Tabelle 4. *Ausbeuten an reinen Cardenolidglykosiden sowie Schätzungen*[9]) *der in der Wurzelrinde wirklich vorhandenen Menge*

Substanz	aus 30 kg Wurzelrinde in reiner Form isolierte Menge in mg	Schätzung der in der Wurzelrinde wirklich vorhandenen Menge[9])	Substanz	aus 30 kg Wurzelrinde in reiner Form isolierte Menge in mg	Schätzung der in der Wurzelrinde wirklich vorhandenen Menge[9])
H	15 (amorph)	0,0003%	K	43,0 (krist.)	0,001 %
H′	19,6 (amorph)	0,0005%	K′	19,5 (krist.)	0,0005%
J	36,0 (krist.)	0,001 %	a	110,0 (amorph)	0,001 %
J′	54,0 (amorph)	0,001 %	b	8,2 (amorph)	0,0002%
J″	40,0 (amorph)	0,0005%	f	11,2 (amorph)	0,0003%
J‴	13,4 (amorph)	0,0004%	g	16,0 (amorph)	0,0003%
			M	1470,0 (krist.)	0,01 %

Tabelle 5. *Eigenschaften der in papierchromatographisch*

Bezeichnung	Smp. $[\alpha]_D$ in Me	Xanthydrolprobe [18][10])	Fluoreszenz mit H_3PO_4 nach PESEZ [19][11])	Fluoreszenz mit Chloramin-T-Trichloressigsäure [20][12])	Benzidin-Perjodat-Test [21][13])
H′ = Cannodimethosid	amorph [−14,1 ± 3,5]	—	—	gelb	—
J = Strophallosid[14])	163–165° oder 183–186° [+5,0 ± 2,0]	—	—	gelb	+
J′ = 16-O-Acetyl-glucogitodimethosid	amorph [−19,4 ± 3]	—	blau	blauweiss	—
J″	amorph	—	—	gelb	—
J‴ = Glucogitodimethosid (= Gluco-F)	amorph	—	blau	blauweiss	—
K = Strophanollosid	172–173° [−6,9 ± 2]	—	—	gelb	+
K′ = Glucokamalosid	258–262° [−4,8 ± 2]	—	—	gelb	—
a = Sarmethosid	amorph [−7,6 ± 2]	—	—	gelb	—
b	amorph	—	schwach bläulich	gelb	
f	amorph	—	blau	blau	
g	amorph	—	—	gelb	
M = Glucostreblosid	244–248° oder 258–262° [+8,9 ± 2] in Me-W-(4:1)	—	—	gelb	—

[9]) Rohe Schätzung auf Grund der Ausbeuten und der Stärke der Flecke im Papierchromatogramm.
[10]) Nachweis für 2-Desoxyzucker.
[11]) Diese Reaktion ist positiv bei Gitoxigeninderivaten.
[12]) Gibt bei Cardenoliden, die eine 12β-ständige OH-Gruppe besitzen, eine bläuliche Fluoreszenz, bei Anwesenheit eines O-Substituenten oder einer Doppelbindung in 16-Stellung ist diese leuchtend blau.
[13]) Beurteilung sofort nach Besprühen mit Benzidin; Nachweis für freie vicinale OH-Gruppen.
[14]) Dieser Stoff wurde in grösserer Menge aus den Samen von *Antiaris toxicaria* isoliert [4] [5].

durch fraktioniertes Ausschütteln gab die in Tabelle 2 genannten Ausbeuten an C-Extrakten.

Das erneute Auftreten der Stoffe A–G zeigt, dass sehr wahrscheinlich ursprünglich Derivate derselben mit endständig gebundener D-Glucose in der Pflanze enthalten waren, die durch das Ferment gespalten worden sind.

Im weitern wurden nun die auch nach dem fermentativen Abbau stark polar gebliebenen Anteile, also der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt C, untersucht. Zur Trennung wurden sie zunächst einer Verteilungschromatographie [16] an Kieselgur-Wasser unterworfen (vgl. Fig. 8). Dabei liess sich ein Teil von M in Kristallen isolieren. Der Rest wurde in vier Gruppen zusammengefasst (vgl. Tab. 3). Durch weitere Verteilungschromatographie, wiederholte Adsorptionschromatographie an viel feinem SiO_2 nach DUNCAN [17] sowie teilweise nach präparativer Papierchromatographie gelang es, neben weitern Mengen von M noch 12 der anwesenden Stoffe (H, H', J, J', J'', J''', K,

einheitlicher Form erhaltenen neuen Stoffe

Bewiesene oder vermutete Bruttoformel	Methoxyl-gehalt[15])	Maxima im UV. (in Alk) in mμ (log ε)[16])	Präparativ gesicherter (oder (in Klammern) papierchromatographischer) Nachweis der Spaltstücke[17])	Weitere Bestimmungen
$C_{31}H_{48}O_{10}$ (580,69)			(Cannogenol) (2,3-Di-O-methyl-glucose)	
$C_{29}H_{42}O_{10} + 3H_2O$ (604,67)		216 (4,22) 298 (1,75)	(Strophanthidin) (6-Desoxyallose)	IR.-Spektrum in KBr Reduktion zu K
$C_{39}H_{60}O_{16}$ (784,87)			(Oleandrigenin) (2,3-Di-O-methyl-glucose) (Glucose) (3-O-Methylglucose)	
$C_{37}H_{58}O_{15}$ (742,83)			(Gitoxigenin) (2,3-Di-O-methyl-glucose) (Glucose)	
$C_{29}H_{44}O_{10} + 4H_2O$ (624,70)		217 (4,22)	(Strophanthidol) (6-Desoxyallose)	IR.-Spektrum in KBr
$C_{37}H_{58}O_{14}$ (726,83)		217 (4,21) 276 (1,76) *S*	(Periplogenin) (2,3-Di-O-methyl-fucose) (Glucose)	
$C_{30}H_{46}O_{10}$ (566,76)		217 (4,12)	Sarmentogenin 3-O-Methyl-D-glucose (3-O-Methylglucose) (Glucose) (3-O-Methylglucose) (Glucose) (Glucose)	
$C_{37}H_{56}O_{15}$ (740,82)	2	217 (4,23) 276 (1,83) *S* ca. 300 (2,0) *S*	Strophanthidin 2,3-Di-O-methyl-D-fucose (Glucose)	IR.-Spektrum in KBr

[15]) ZEISEL-Bestimmung, berechnet auf angegebene Formel.

[16]) Berechnet auf angegebene Formel. *S* = Schulter (bei K' und M vermutlich von Verunreinigungen).

[17]) Nachweis: a) durch Identifizierung mit bekanntem Stoff;
b) Genine nach Spaltung mit HCl in Aceton [22] und Zucker nach energischer saurer Hydrolyse [23].

K', a, b, f und g) in papierchromatographisch reiner Form zu isolieren; von diesen erhielten wir K, K' und J in Kristallen, die andern nur in amorpher Form. In Tabelle 4 sind die in reiner Form erhaltenen Stoffe angegeben, ebenso eine rohe Schätzung[9]) der in der Wurzelrinde ungefähr enthaltenen Mengen. In Tabelle 5 sind die wichtigsten

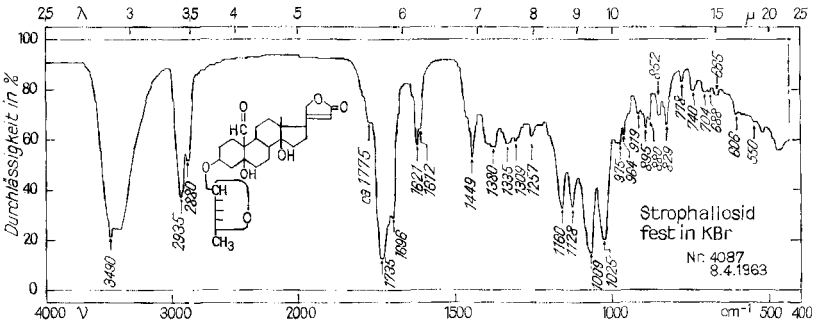

Fig. 9. *IR.-Absorptionsspektrum von Strophallosid (J)*, 1,3 mg fest in 660 mg KBr [18])

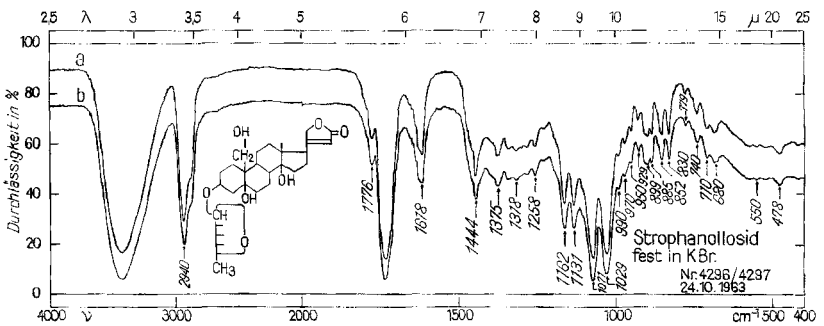

Fig. 10. *IR.-Absorptionsspektrum von Strophanollosid (K)*

a) obere Kurve: Präp. AM5, isoliert aus *Streblus asper*, 1,3 mg fest in 540 mg KBr.
b) untere Kurve: Präp. AM9, aus J durch Reduktion mit $NaBH_4$ bereitet, 1,4 mg fest in 660 mg KBr [18]).

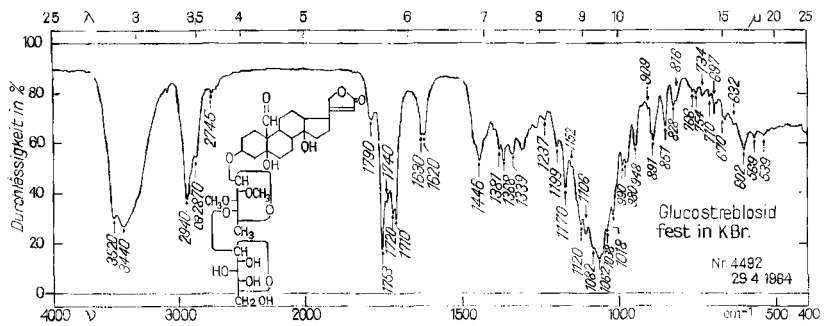

Fig. 11. *IR.-Absorptionsspektrum von Glucostreblosid (M)*, 1 mg fest in 390 mg KBr [18])

[18]) Aufgenommen von Herrn CH. SENN auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

Tabelle 6a. *Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4* [25]

Zeit	H′	J	J′	J″	J‴	K
0	blass-orangegelb	rot	orangegelb	rotorange	goldgelb	orangeoliv
1′	blassorange	gelboliv	orangegelb	rotorange	goldgelb	braunrot
5–10′	blassorange	gelboliv	gelborange	rotorange, blauer Rand	orangegelb	braunrot
15′	blassorange	gelboliv	orange	rotorange, blauer Rand	orangegelb	braunrot
30′	blassorange	gelboliv	orange	rotorange, blauer Rand	gelborange	braunrot
1 Std.	blassorange	gelboliv	braunorange	blassblau	orange	weinrot
2 Std.	blassrosa	gelboliv	braun	blassgrün	braunorange	weinrot
5 Std.	farblos	blassgrün	blassbraun	farblos	blassbraun	blassbraun
18 Std.	farblos	blassgrau		blass-braungelb		blassbeige

Zeit	K′	a	b	f	g	M
0	rotorange	farblos	blassorange	gelb	rotorange	orangegelb
1′	rotorange	blassgelb	blassorange	braungelb	rotorange	orangegelb
5–10′	rotorange	zitronengelb	blassrosa	braunorange	braun (viol. Rand)	orangegelb
15′	rotorange	zitronengelb, Rand grün	blassrosa	orange	rot, viol. Rand	orangegelb
30′	rotorange	grün	blassrosa	orange	violettblau	orangegelb
1 Std.	orange, Rand violett	blaugrün	blassblau	olivbraun	blau	grünlichgelb
2 Std.	violettblau	grünblau	farblos	blassoliv	blassgrün	gelbgrün
5 Std.	marineblau	grün	farblos	blassbraun	braun	grünlichbeige
18 Std.	schwarzviolett		farblos	blassbraun	blassbraun	

Eigenschaften zusammengestellt sowie die bei saurer Hydrolyse (vgl. folgende Mitteilung) nachweisbaren Spaltstücke. Tabelle 6 zeigt die Färbungen mit H_2SO_4.

F. *Diskussion der Resultate.* Die stark polaren Glykoside von *Streblus asper* verdanken ihre hohe Wasserlöslichkeit teilweise der Anwesenheit von endständig gebundener D-Glucose, die von Strophanthobiase nicht in allen Fällen (oder nicht immer vollständig) abgespalten wird. Teilweise handelt es sich aber um Monoglykoside mit zahlreichen freien OH-Gruppen, wie a, J und K. Die zwei letzteren enthalten 6-Desoxy-D-allose als Zucker. Bei a wurde 3-O-Methyl-D-glucose gefunden, die in Cardenolidglykosiden bisher noch nie beobachtet wurde. KHARE *et al.* [2] fanden sie jedoch in einem KEDDE-negativen, ebenfalls aus *Streblus asper* isolierten Glykosid (Subst. U = Präp MKh6). Wegen Substanzmangel konnte von den isolierten Stoffen bisher nur Glucostreblosid (M) biologisch geprüft werden[19]; die Herren Prof. CHEN & Dr. HENDERSON waren so freundlich, dies auszuführen[20]. Als geometrisches Mittel der

[19]) Auch Strophallosid (J) und Peripallosid (G′) sind inzwischen biologisch geprüft worden [1] [4] [5].

[20]) Wir danken den Herren Prof. K. K. CHEN & Dr. F. G. HENDERSON, Indianapolis, Ind., USA, auch hier bestens für die Ausführung dieser Prüfung.

Tabelle 6b. *Farbreaktionen mit konz.* H_2SO_4 [25]

Zeit	H′	J	J′	J″	J‴	K
0	blassorange-gelb	rot	goldgelb	orange	goldgelb	gelboliv
1′	blassorange-gelb	orange	goldgelb	orangegelb	goldgelb	braunrot
5–10′	blassorange	gelboliv	gelborange	rotorange, blauer Rand	orangegelb	braun
15′	blassorange	orangeoliv	gelborange	orange, blauer Rand	gelborange	braun
30′	blassorange	orangegelb	braunorange	gelb, blauer Rand	gelborange	braun
1 Std.	blassbraun	orangegelb	rotorange	dunkelblau	gelborange	braunrot
2 Std.	blassbraun	orangegelb	braun	blaugrün	orange	bräunlich-weinrot
5 Std.	blassrosa	grün	blassbraun	blassgrün	ocker	blassbraun
18 Std.		blassgrün		blass-braungelb	blassoliv	blassbeige

Zeit	K′	a	b	f	g	M
0	rotorange	zitronengelb	blassgelb	rotgelb	orange	orangegelb
1′	orange	zitronengelb	blassorange	braunrot	orangegelb	gelb
5–10′	braunorange	gelb	blassorange	braunrot	orange, blauer Rand	gelb
15′	braunorange	zitronengelb	blassrosa	braunrot	orange, blauer Rand	gelb
30′	orange	grünlich	rosa	braun	blau	gelb
1 Std.	braun, Rand blau	blaugrün	blassbeige	dunkelbraun	dunkelblau	grünlichgelb
2 Std.	königsblau	grünblau	farblos	oliv	dunkelgrün	gelbgrün
5 Std.	königsblau	grün	farblos	blassbraun	graubraun	grünbeige
18 Std.	schwarzblau		farblos	blassbraun	blassbraun	blassbeige

letalen Dosis bei intravenöser Infusion an 10 Katzen fanden sie 0,2082 ± 0,0147 mg/kg. Es handelt sich somit um ein ziemlich stark wirksames Glykosid.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benutzter Ausführungsform bis 200° ca. ± 2°, darüber ± 3°. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Wasser, Ausschütteln mit Chf und Chf-Alk-(2:1), Waschen der Auszüge mit W, 2N-Sodalösung und W, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Substanzproben zur Analyse, Drehung und für die UV.-Spektren wurden bis zur Gewichtskonstanz bei 20° über $CaCl_2$ getrocknet. Zur Analyse wurde hierauf bei 0,01 Torr und 100° 5 Std. über P_2O_5 getrocknet und der Gewichtsverlust als Kristallwasser angenommen und bei den ε-Werten der UV.-Spektren berücksichtigt.

Ausführung der Papierchromatographie nach früheren Angaben [7] [8] [9]. Entwicklung der Cardenolide mit KEDDE-Reagens [6], der Zucker mit Aniliniumhydrogenphtalat [26]. Ausführung der Dünnschichtchromatographie nach STAHL [27] mit Kieselgel G der Firma MERCK AG., Darmstadt. Nachweis der Flecke durch Besprühen der trockenen Platte mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk und Erhitzen während 5 Min. auf 100°. Es wurde auch die Verteilungschroma-

tographie auf die Dünnschichtchromatographie übertragen. Dazu wurden die aktivierten, mit Kieselgel G beschichteten Platten mit Wasser imprägniert[21]), die zu trennenden Substanzen aufgetragen und mit den Systemen: Mek mit W gesättigt und Mek-Be-(9:1) mit W gesättigt entwickelt.

Zur Adsorptionschromatographie wurde entweder Kieselgel von BENDER-HOBEIN, Korngrösse 0,15–0,30 mm, oder nach DUNCAN [17] viel feines Kieselgel MERCK, Korngrösse 0,05–0,20 mm, verwendet. Für präparative Dünnschichtchromatographie [29] diente Kieselgel H_{254} von MERCK AG., Darmstadt. Dieses enthält eine im UV.-Licht fluoreszierende Substanz. Die Substanzen können dabei im UV.-Licht als dunkle Zonen erkannt werden.

Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: Ac = Acetyl, Ac_2O = Acetanhydrid, AcOH = Eisessig, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Chr = Chromatographie, Dchr = Dünnschichtchromatographie, Dünnschichtchromatogramm, Est = Äthylacetat, Fmd = Formamid, Fr = Fraktion, Me = Methanol, Mek = Butanon, ML = eingedampfte Mutterlauge, iPr = Isopropanol, Pchr = Papierchromatographie, Papierchromatogramm, Py = Pyridin, Smp. = Schmelzpunkt, To = Toluol, W = Wasser, n. w. u. = nicht weiter untersucht; Verhältniszahlen beziehen sich auf Volumina.

Vortrennung des rohen Chf-Alk-(2:1)-Extraktes. 35 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (Probe c von KHARE *et al.* [2]), entsprechend 32,4 kg Wurzelrinde, wurden in 210 ml W gelöst und unter CO_2 der Reihe nach 5mal mit je 175 ml Chf, Chf-Alk-(4:1) und 8mal mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom 3mal mit je 90 ml W gewaschen. Trocknen und Eindampfen gab die in Tab. 1 genannten Mengen an B-Extrakten.

Tabelle 7. *Verteilungschromatographie A von 11,9 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. C*

Fr	Nr.	Fliessmittel ca. 400 ml/Fr	Eindampfrückstand: Menge in mg	Eindampfrückstand: KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
A	1–4	Be-Bu-(85:15)	258	–	n. w. u.
	5–14	Be-Bu-(85:15)	743	H + raschere	n. w. u.
	15–25	Be-Bu-(85:15)	379	H, H′, (J), (J′), J″	Gruppe I, Chr B
	26–27	Be-Bu-(85:15)	96	H′, J, J′, J″	für Vorversuche
	28–39	Be-Bu-(85:15)	900	H′, J, J′, J″, J‴	Gruppe II, Chr G & H
	40–50	Be-Bu-(85:15)	650	J, K, K′	n. w. u.
	51–72	Be-Bu-(85:15)	695	K, K′, L	Gruppe III, Chr N
	73–87	Be-Bu-(85:15)	200	K, K″, L, a + langsamere	n. w. u.
	88–110	Be-Bu-(85:15)	860	a, b, c, J‴, (K″)	Trennungsversuche abgebrochen
	111–120	Be-Bu-(70:30)			
	121–133	Be-Bu-(70:30)	1010	a, b, c, d, e, f, g	Gruppe IV, Chr R
	134–164	Be-Bu-(70:30)	3100	M, (b), (g), (c)	1500 mg Krist. M, ML n. w. u.
	165–208	Be-Bu-(70:30)		M, N, O, P, Q	
	209–233	Be-Bu-(50:50)	1470	c, e, f, g	n. w. u.
	234–250	Bu			
Total			10311		

[21]) Die Imprägnierung mit W erfolgte entweder durch Aufsprühen von W mit einer Sprühflasche oder Behandlung der Platte mit dem Fliessmittel An-W-(7:3) und Abdunstenlassen des Acetons, analog wie KORTE & SIEPER [28] ihre Platten mit N,N-Dimethylformamid imprägniert haben. Die zweite Ausführungsform führte zu reproduzierbaren Chromatogrammen, die erstere dagegen nicht.

Fermentierung. 14,7 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt B wurden in 200 ml 0,1N Citratpuffer[22]) gelöst, mit 5,5 g Strophanthobiase[7]) in 80 ml Citratpuffer und 6 ml To versetzt und unter CO_2 18 Tage bei 35° gut verschlossen stehengelassen[23]). Dann wurde mit 1,5 l Alk versetzt, das ausgefällte Ferment durch eine dünne Schicht von gewaschenem Kieselgur abfiltriert und die Lösung im Vakuum bei 45° auf 150 ml eingeengt. Fraktioniertes Ausschütteln gab: 3,7 g Chf-Extrakt C, 0,96 g Chf-Alk-(4:1)-Extr. C und 7,5 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt C.

Die weiteren 10,5 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. B wurden ebenso fermentiert; total wurden die in Tab. 2 genannten Mengen an C-Extrakten erhalten.

Verteilungschromatographie A. 1,5 kg gereinigtes Kieselgur [16] wurden mit 1,4 kg W gründlich gemischt, gesiebt und mit Be-Bu-(85:15) in eine Säule Nr. 4 [16] gestopft. 11,9 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt C (entspricht 30 kg Wurzelrinde) wurden in 35 ml W gelöst, mit 35 g gereinigtem Kieselgur gut vermischt und auf die Säule gebracht. Es wurden pro Tag 5–6 Fraktionen von je ca. 400 ml entnommen, vgl. Tab. 7. Das Fliessmittel wurde jeweils zu 70% mit W gesättigt.

Trennung von Gruppe I: Die Fr 15–25 wurden mit analogem Material (siehe unten) H 35–41 (154 mg) und H 53–108 (48,7 mg nach Entfernung des J') vereinigt und das Ganze (581,7 mg) an Kieselgel MERCK nach DUNCAN [17] chromatographiert, vgl. Tab. 8. Laufgeschwindigkeit: ca. 30 ml/h.

Tabelle 8. *Chromatographie B von 581,7 mg Gemisch Gruppe I an 300 g SiO_2*

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel 14–17 ml/Fr	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
B	1–20	Be-iPr-(2:1)	40	–	n. w. u.
	21–50	Be-iPr-(2:1)	58	H, H', (J'')	Chr C
	51–115	Be-iPr-(2:1)	73	H, H', J''	Chr D
	116–200	Be-iPr-(2:1)	173	J, J', J''	Chr J
	201–261	Be-iPr-(2:1)	32	J, J'	Chr L
	262–300	Be-iPr-(2:1)			
	301–360	Be-iPr-(1:1)	74	J, J' und langsamere	n. w. u.
	361–400	Be-iPr-(1:1) +10% Me			
Total			450		

Auf der Säule blieb eine nicht eluierbare Zone zurück.

Tabelle 9. *Chromatographie C von 50 mg Fr B 21–50 an 25 g Kieselgel* MERCK, *Laufgeschwindigkeit 15 ml/25 Min.*

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel 15 ml/Fr	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
C	1–2	Mek mit W ges.	3,0	–	n. w. u.
	3	Mek mit W ges.	6,5	H	Endprod.
	4	Mek mit W ges.	25,0	H, (H')	Chr D
	5–12	Mek mit W ges.	14,0	(H), H'	Chr E
Total			48,5		

[22]) 7,002 g Zitronensäure in 900 ml W gelöst, mit 1N NaOH-Lösung auf pH 5,15 gestellt (Potentiometer der Firma METROHM, Modell E 187) und mit W auf 1 l aufgefüllt.

[23]) Die Titration des Zuckers in kleinen Proben zeigte, dass nach 6 Tagen keine merkliche Zunahme der Glucose mehr eintrat.

Zur weiteren Trennung von H, H′ und J wurden Fr B 51–115 (73 mg) mit Fr C 4 (25 mg) vereinigt und das Ganze (98 mg) an 50 g Kieselgel MERCK, mit 10 ml W desaktiviert, chromatographiert. Laufgeschwindigkeit 20 ml/Std., vgl. Tab. 10.

Tabelle 10. *Chromatographie D von 98 mg Gemisch von H, H′, J″ an 50 g SiO_2*

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel 5 ml/Fr	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
D	1–9	Mek-W-(98:2)	9,0	–	n. w. u.
	10–11	Mek-W-(98:2)	4,0	H + Spuren raschere	n. w. u.
	12–14	Mek-W-(98:2)	15,0	H + Spuren langsamere	n. w. u.
	15–25	Mek-W-(98:2)	46,5	(H), H′, J″	Chr E
	26–29	Mek-W-(98:2)	7,0	J″	Endprod.
	30–50	Mek-W-(98:2)	5,3	J″	Chr E
Total			86,8		

Die Fr D 16–25 und D 30–50 (zusammen 52 mg) wurden mit C 5–12 (14 mg) vereinigt und das Ganze (66 mg) nochmals an 50 g Kieselgel MERCK, mit 15 ml W desaktiviert, chromatographiert (Tab. 11).

Tabelle 11. *Chromatographie E von 66 mg H, H′, J″-Gemisch an 50 g SiO_2, Laufgeschwindigkeit 10 ml/Std.*

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel zu 70% mit W gesättigt, 10 ml/Fr	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
E	1–8	Mek-Be-(85:15)	6,5	–	n. w. u.
	9–16	Mek-Be-(85:15)	19,5	H, H′	n. w. u.
	17	Mek-Be-(85:15)	5,3	(H), H′	Chr F
	18–20	Mek-Be-(85:15)	14,0	H′	Endprod.
	21–32	Mek-Be-(85:15)	26,0	H′, J″	Chr F
	33–60	Mek-Be-(85:15)	4,0	–	n. w. u.
Total			75,3		

Für die nächste Chr F wurde dieselbe Säule E verwendet. Getrennt wurden Fr. E 17 (5,3 mg) und Fr E 21–32 (26 mg). Es wurde noch etwas langsamer laufen gelassen: 10 ml/Fr/100 Min., vgl. Tab. 12.

Tabelle 12. *Chromatographie F von 31,3 mg H, H′ und J″-Gemisch*

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel zu 70% mit W gesättigt	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
F	1–10	Mek-Be-(85:15)	6,7	–	n. w. u.
	11–17	Mek-Be-(85:15)	2,7	(H)	n. w. u.
	18–22	Mek-Be-(85:15)	8,0	H′	Endprod.
	23–28	Mek-Be-(85:15)	5,9	H′, J″	n. w. u.
	29–38	Mek-Be-(85:15)	8,5	J″	Endprod.
	39–48	Mek-Be-(85:15)	4,6	–	
Total			36,4		

Die Fr E 18–20 und F 18–22 wurden vereinigt (19,8 mg) und stellten das reinste Präp. von H′ dar. Ebenso wurden die Fr D 26–29 und F 29–38 vereinigt (15,5 mg); sie stellten das reinste Präp. J″ dar.

Trennung von Gruppe II. Diese erfolgte zunächst in 2 Portionen. 500 mg der Fr A 28–39 wurden an 300 g Kieselgel MERCK, desaktiviert mit 30 ml W, chromatographiert. 20 ml/Fr/30 Min., vgl. Tab. 13.

Tabelle 13. *Chromatographie G von 500 mg Gruppe II an 300 g SiO_2*

Fr	Nr.	Fliessmittel	Eindampfrückstand: Menge in mg	Eindampfrückstand: KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
G	1–90	Mek	~10	–	n. w. u.
	91–93	Mek	3,2	±	n. w. u.
	94–105	Mek	30,6	H′ + raschere	Chr B
	106–111	Mek	11,4	H′, J	n. w. u.
	112–128	Mek	229,0	J, (J″)	Reinigung mit H 42–52 Chr L
	129–152	Mek	49	J, (J′)	n. w. u.
	153–175	Mek			
	176–276	Mek-W-(99:1)	148	J′	Reinigung an SiO_2
	277–316	Mek-W gesättigt			
	317–463	Mek-W gesättigt	78	J′ + langsamere	n. w. u.
Total			559,2		

Der Rest von Gruppe II wurde an 300 g Kieselgel MERCK getrennt mit 15–17 ml/Fr und Laufgeschwindigkeit von 10 ml/30 Min., vgl. Tab. 14.

Tabelle 14. *Chromatographie H, Trennung von 390 mg Gruppe II an 300 g SiO_2*

Fr	Nr.	Fliessmittel mit W gesättigt	Eindampfrückstand: Menge in mg	Eindampfrückstand: KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
H	1–30	Mek/W	12,5	–	n. w. u.
	31–34	Mek/W	10,0	H′ + raschere	n. w. u.
	35–41	Mek/W	154,0	H′, J	Chr B
	42–52	Mek/W	83,3	J	Reinigung an SiO_2 (Chr L)
	53–60	Mek/W	32,5	(J), J′	Chr B
	61–82	Mek/W	77,3	J′	Reinigung an SiO_2
	83–108	Mek/W	15,0	J′ + langsamere	n. w. u.
Total			384,6		

Die Fr G 112–128 und H 42–52 wurden vereinigt (300 mg braunes Harz) und nochmals an 30 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Chf-Me-Gemischen eluierten Anteile (210 mg) gaben aus Me-W 73 mg krist. Subst. J, Smp. 161–163°, die nach Pchr noch eine Spur J″ enthielt.

Die Fr G 153–316 und H 61–82 wurden ebenfalls vereinigt (220 mg braunes Harz) und auch an 22 g Kieselgel gereinigt. Die mit Chf-Me-Gemischen eluierten KEDDE-positiven Anteile (122 mg farbloses Harz) stellten ein stark angereichertes Präparat von J′ dar, das aber noch etwas J‴ enthielt. Reinigung vgl. Chromatographie K.

Tabelle 15. *Chromatographie J von 173 mg Fr B 116–200 an 100 g Kieselgel* MERCK *mit 50 ml W desaktiviert, 11–14 ml/Fr/2 Std.*

Fr	Nr.	Fliessmittel zu 80% mit W gesättigt	Eindampfrückstand Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
J	1–10	Be-Mek-(1:5)	5,0	–	n. w. u.
	11–18	Be-Mek-(1:5)	6,5	J + raschere	n. w. u.
	19–24	Be-Mek-(1:5)	45,0	J	Reinigung an SiO_2
	25–31	Be-Mek-(1:5)	13,3	J, J″	Chr L
	32–38	Be-Mek-(1:5)	8,0	J″ (stark braun)	n. w. u.
	39–60	Be-Mek-(1:5)	11,3	J″, J′	n. w. u.
	61–65	Be-Mek-(1:5)	6,1	(J″), J′	n. w. u.
	66–74	Be-Mek-(1:9)	30,3	J′	Reinigung an SiO_2
	75–95	Be-Mek-(1:9)	24,0	(J′)	n. w. u.
Total			149,5		

Die Fr J 19–24 (45,0 mg) wurden an 1,5 g Kieselgel chromatographiert. Die mit Chf-Me eluierten Anteile (27 mg) gaben aus Me-W 12,8 mg krist. Subst. J, Smp. 183–186°, das sich frei von J″ erwies.

Die Fr J 66–74 (30,3 mg) wurden ebenfalls an 1,5 g SiO_2 chromatographiert. Die mit Chf-Me eluierten Anteile (25,1 mg farbloses Harz) enthielten nach Pchr nur J′, sie stellten das bisher reinste Präparat dieses Glykosids dar.

Tabelle 16. *Chromatographie K, Reinigung von 122 mg J′* (aus Fr G 153–316 und Fr H 61–82) *an Kieselgel nach Vereinigung. Ausgeführt an 100 g Kieselgel* MERCK, *desaktiviert mit 50 ml W, 13 ml/Fr und 5 ml/Std.*

Fr	Nr.	Fliessmittel je zu 80% mit W gesättigt	Eindampfrückstand Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
K	1–38	Be-Mek-(7:50)	15,0	–	n. w. u.
	39–60	Be-Mek-(7:50)	24,3	J′ + raschere	n. w. u.
	61–91	Be-Mek-(1:9)	50,0	J′	Reinigung an SiO_2
	92–115	Be-Mek-(1:9)	10,2	J′, J‴	n. w. u.
	116–140	Mek	18,8	J‴	Reinigung an SiO_2
Total			118,3		

Tabelle 17. *Chromatographie L, Trennung von 178 mg J, J″-Gemisch an 120 g Kieselgel*

Fr	Nr.	Fliessmittel zu 80% mit W gesättigt	Eindampfrückstand Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
L	1–4	Be-Mek-(1:4)	30	–	n. w. u.
	5–10	Be-Mek-(1:4)	10,5	rascher als J	n. w. u.
	11–19	Be-Mek-(1:4)	61,3	J, J″	Chr M
	20–25	Be-Mek-(1:4)	23,5	J″	Endprod.
	26–50	Be-Mek-(1:4)	18,0	J″ + langsamere	n. w. u.
Total			143,3		

Die Fr K 61–91 (50 mg) wurden an 3,0 g SiO_2 chromatographiert. Die mit Chf-Me eluierten Anteile (39 mg) waren ein farbloses Harz, das nach Pchr nur J′ enthielt.

Die Fr K 116–140 wurden auch an 1 g SiO_2 gereinigt und lieferten 13,4 mg Subst. J″ als farbloses Glas.

Zur Isolierung weiterer Mengen von J und J″ wurden die folgenden Anteile vereinigt: Kristalle (70 mg) und deren ML (63 mg) aus den gereinigten Fraktionen G 112–128 und H 42–52, Fr J 25–31 (13 mg) und Fr B 201–261 (32 mg). Das Ganze (178 mg) wurde an 120 g Kieselgel, desaktiviert mit 60 ml W, chromatographiert. 10 ml/Fr mit 3 ml/Std., vgl. Tab. 17.

Tabelle 18. *Chromatographie M, 61,3 mg Fr L 11–19 an 22 g Kieselgel* MERCK, 2,5 ml/Fr/30 Min.

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
M	1–27	Chf-Me-(88:12)	8,0	—	n. w. u.
	28	Chf-Me-(88:12)	5,5	J	Endprod.
	29–35	Chf-Me-(88:12)	33,0	J	Endprod. krist.
	36–51	Chf-Me-(88:12)	5,5	J, J″	n. w. u.
	52–68	Chf-Me-(88:12)	7,5	—	
Total			59,5		

Die Fr M 29–35 gaben aus Me-W 20 mg krist. Subst. J, Smp. 163–165°.

Trennung von Gruppe III. Das Material, Fr A 51–72, wurde an 400 g Kieselgel MERCK, desaktiviert mit 200 ml W, chromatographiert, 20–26 ml/Fr/30 Min., vgl. Tab. 19.

Tabelle 19. *Chromatographie N von 695 mg Gruppe III an 400 g SiO_2*

			Eindampfrückstand		
Fr	Nr.	Fliessmittel zu 75% mit W gesättigt	Menge in mg	KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
N	1–24	Be-Mek-(1:19)	490	—	n. w. u.
	25–30	Be-Mek-(1:19)	178	rascher als K	n. w. u.
	31–38	Be-Mek-(1:19)	173	rascher als K	n. w. u.
	39–54	Be-Mek-(1:19)	460	K + raschere	n. w. u.
	55–74	Be-Mek-(1:19)	336	K + Spur raschere	Reinigung an SiO_2
	75–105	Be-Mek-(1:19)	210	K, K′	n. w. u.
	106–160	Be-Mek-(1:19)	384	K′ + Spur raschere	Chr Q
	161–360	Be-Mek-(1:19)	725	K′ + langsamere	n. w. u.
Total			2956		

Die starke Gewichtszunahme dürfte daher kommen, dass regeneriertes SiO_2 verwendet wurde.

Zur Isolierung von K wurden zunächst die Fr N 55–74 (336 mg) an 18 g Kieselgel MERCK nochmals chromatographiert (Tab. 20).

Die Fr O 9–12 gaben aus Me-W 26 mg krist. Subst. K, Smp. 164–166°. Die Fr 8 (55,8 mg) wurde nochmals an 7 g SiO_2 chromatographiert (Chr P). Die Fr 11–17 (31 mg) zeigten im Pchr nur den K-Fleck und gaben aus Me-W noch 10 mg reine Kristalle, Smp. 162–166°. Nach Aufarbeitung der Mutterlaugen und Umkristallisieren wurden insgesamt 60 mg analysenreines krist. K vom Smp. 173–175° erhalten.

Zur Isolierung von K′ wurden die Fr N 106–160 (384 mg) zunächst durch Chromatographie an 24 g SiO_2 vorgereinigt. Es liessen sich zunächst 188 mg KEDDE-negatives Material abtrennen.

Tabelle 20. *Chromatographie O von 336 mg Fr N 55–74 an 18 g SiO_2*

Fr	Nr.	Fliessmittel je 30 ml	Eindampfrückstand: Menge in mg	Eindampfrückstand: KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
O	1–5	Chf-Me-(9:1)	155	–	n. w. u.
	6–7	Chf-Me-(85:15)	17,5	K + raschere	n. w. u.
	8	Chf-Me-(85:15)	55,8	K + raschere	Chr P
	9–12	Chf-Me-(85:15)	75	K	Endprod.
	13–19	Chf-Me-(70:30)	10	(K)	n. w. u.
Total			313,3		

Tabelle 21. *Chromatographie Q, 75 mg gereinigte Fr N 106–160, an 50 g SiO_2*

Fr	Nr.	Fliessmittel zu 20% mit W gesättigt	Eindampfrückstand: Menge in mg	Eindampfrückstand: KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
Q	1–135	Be-iPr-(7:3)	20	–	n. w. u.
	136–185	Be-iPr-(7:3) +2% Me	18	K', L + raschere	n. w. u.
	186–300	Be-iPr-(7:3) +2% Me	57,6	K'	Reinigung an SiO_2
Total			95,6		

Tabelle 22. *Verteilungschromatographie R von 1,01 g Gruppe IV*

Fr	Nr.	Fliessmittel zu 70% mit W gesättigt	Eindampfrückstand: Menge in mg	Eindampfrückstand: KEDDE-Reaktion bzw. Flecke im Pchr oder Dchr	Weitere Verarbeitung
R	1–25	Be-Mek-Bu-(5,5:3:1)	280	–	n. w. u.
	26–36	Be-Mek-Bu-(5:3:1)			
	37–40	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	10	+	n. w. u.
	41–45	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	52	a, (b)	Präp. Pchr. 1
	46–48	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	43	a, (b)	
	49–51	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	43	a, b	Präp. Pchr 2, 3
	52–56	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	17,7	a, b, (c)	
	57–60	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	41,8	a, b, (c)	
	61–65	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	20	a, b, c, (d)	Präp. Pchr 4, 5
	66–74	Be-Mek-Bu-(5:3:1)	30,2	a, b, c, d	
	75–79	Be-Mek-Bu-(4,75:3:1)	13,3	(a), b, c, d, (c)	n. w. u.
	80–83	Be-Mek-Bu-(4,75:3:1)	10,4	(b), (d), c, e	n. w. u.
	84–90	Be-Mek-Bu-(4,75:3:1)	15,0	c, e, (d)	n. w. u.
	91–97	Be-Mek-Bu-(4,5:3:1)	52,2	c, e, d	n. w. u.
	98–110	Be-Mek-Bu-(4,5:3:1)	84,8	c, e, d, f	n. w. u.
	111–115	Be-Mek-Bu-(4,5:3:1)	22,9	(c), (e), (d), f, (g)	n. w. u.
	116–135	Be-Mek-Bu-(4,5:3:1)	76	f, g	Präp. Pchr 6
	136–145	Be-Bu-(7:3)	28,8	f, (g)	
	146–165	Be-Bu-(7:3)	16,8	f + langsamere	n. w. u.
Total			857,9	auf Säule bleibt braune Zone zurück	

Die mit Chf-Me-Gemischen eluierten KEDDE-positiven Anteile gaben beim Eindampfen 75 mg farbloses Harz. Im Dchr waren K', L und ein rascher laufender Fleck sichtbar. Dieses Material diente zur Chromatographie Q an 50 g Kieselgel MERCK, mit 5 ml W desaktiviert, 5–7 ml/Fr/30 Min., vgl. Tab. 21.

Die Fr Q 186–300 wurden nochmals durch Chromatographie an 6 g SiO_2 gereinigt. Die mit Chf-Me eluierten Anteile (47 mg) gaben aus Me-Ae 19,8 mg krist. K' vom Smp. 256–260°.

Trennung von Gruppe IV. Die 1,01 g Material wurden durch Verteilungschromatographie vorgetrennt. Dazu diente eine Säule Nr. 2, gefüllt mit 250 g gereinigtem Kieselgur mit 250 ml W vermischt, in Be-Mek-Bu-(5,5:3:1) zu 70% mit W gesättigt, 60 ml/Fr/6 Std., vgl. Tab. 22.

Ausführung der präp. Pchr [30]. 19 cm breite Papierbogen (WHATMAN Nr. 1), 46 cm lang, wurden in eine Lösung von An-Fmd-(3:1) eingelegt, 10 Min. darin belassen, dann an der Luft getrocknet. An der Startlinie wurden ca. 6 mg Subst. aufgetragen, 48 Std. im System Chf-iPr-Fmd-(45:3:1) entwickelt und im Dunkeln 4 Std. bei 20° getrocknet. Die Zonen wurden durch Federstriche mit KEDDE-Reagens sichtbar gemacht, ausgeschnitten, zerkleinert und mit Me und Me-W extrahiert. Die Extrakte wurden im Vakuum bei 40–50° eingedampft, der Rückstand in wenig W aufgenommen und mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Nach Waschen mit Wasser, Trocknen und Eindampfen wurde an SiO_2 mit Chf-Me-Gemischen chromatographiert. In dieser Weise wurden die in Tab. 23 genannten Präparate isoliert.

Tabelle 23. *Isolierung der Substanzen a, b, f und g durch präp. Pchr*

Chr Nr.	Verwendete Fr	Anzahl Papierblätter	Eingesetzte Menge in mg	Isolierte Flecke, Gewicht nach Reinigung
1	R 41–45	9	52	a 28 mg
2,3	R 46–56	18	103,7	a 67 mg
4,5	R 57–74	14	91,5	a 20 mg
				b 11 mg (aus 3, 4, 5)
6	R 116–145	16	103	f 12 mg
				g 20 mg

Beschreibung der isolierten neuen Stoffe. UV.-Spektren und Tüpfelreaktion vgl. Tab. 5, Farbreaktionen mit H_2SO_4, Tab. 6a und 6b.

Cannodimethosid (H'). Das aus Chr E und F erhaltene Material wurde durch präp. Dchr nachgereinigt. Farbloses Glas, $[\alpha]_D^{23} = -14{,}1° \pm 3{,}5°$ ($c = 0{,}57$ in Me).

Strophallosid (J). Aus Me-W farblose Nadeln, Smp. 163–165° (aus Chr M) oder Smp. 183–186° (aus Chr J). Die folgenden Bestimmungen wurden mit der niedriger schmelzenden Form ausgeführt. $[\alpha]_D^{23} = +5{,}0° \pm 2°$ ($c = 0{,}905$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 9. Trocknung zur Analyse gab 8,24% Gewichtsverlust; $C_{29}H_{42}O_{10} + 3\ H_2O$ (604,7) Ber. 8,93%.

$C_{29}H_{42}O_{10} + {}^1/_2\ H_2O$ (559,5) Ber. C 62,23 H 7,75% Gef. C 62,22 H 7,76%

Nach Pchr, Dchr, Drehung, Smp., Mischprobe, IR.-Spektrum, MANNICH- und KILIANI-Spaltung identisch mit einem Präparat (Subst. E) aus den Samen von *Antiaris toxicaria* [4] [5]. Das Acetylderivat kristallisierte nicht.

16-O-Acetyl-glucogitodimethosid (J'). Zur Untersuchung diente das amorphe Präparat (aus Chr J und K), $[\alpha]_D^{23} = -19{,}4° \pm 3°$ ($c = 0{,}67$ in Me). Abbau mit Schneckenferment vgl. folgende Publikation.

Glykosid J''. Dieser Stoff aus Chr F und L lag nur als amorphes Konzentrat vor.

Glucogitodimethosid (J'''). Erhalten aus Chr K als farbloses Glas, $[\alpha]_D^{23} = -21{,}5° \pm 9°$ ($c = 0{,}21$ in Me). Abbau mit Schneckenferment, vgl. folgende Publikation.

Strophanollosid (K). Isoliert aus Chr O und P. Aus Me-W farblose Nadeln, Smp. 172–175°, $[\alpha]_D^{23} = -6{,}9° \pm 2°$ ($c = 0{,}80$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 10. Trocknung zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 120° (Schweinchen) gab 11,4% Gewichtsverlust; $C_{29}H_{44}O_{10} + 4\ H_2O$ (623,5) Ber. 11,51%.

$C_{29}H_{44}O_{10}$ (552,5) Ber. C 63,02 H 8,03% Gef. C 63,22 H 8,17%

Reduktion von J zu K vgl. folgende Publikation.

Glucokamalosid (*K'*). Isoliert aus Chr Q. Aus Me-Ae farblose Körner, Smp. 258–262°, $[\alpha]_D^{24} = -4{,}8° \pm 2°$ ($c = 1{,}005$ in Me). Wegen Substanzmangel musste auf eine Analyse verzichtet werden. Abbau mit Schneckenferment vgl. folgende Publikation.

Sarmethosid (*a*). Zur Untersuchung diente das amorphe Präparat aus Chr R. Farbloses Glas, $[\alpha]_D^{23} = -7{,}6° \pm 2°$ ($c = 0{,}9$ in Me). Abbau vgl. folgende Publikation.

Glykosid b. Dieser Stoff aus Chr R lag nur als amorphes Konzentrat vor.

Glykosid f. Dieser Stoff aus Chr R wurde nur als farbloses amorphes Präp. erhalten.

Glykosid g. Dieser Stoff aus Chr R wurde nur als gelbliches amorphes Konzentrat erhalten.

Glucostreblosid (*M*). Aus Me farblose Plättchen, Smp. 244–246°, $[\alpha]_D^{26} = +8{,}9° \pm 2°$ ($c = 1{,}015$ in Me-W-(4:1)). Umkristallisieren aus Chf-iPr-Me gab Plättchen vom Smp. 258–262°. IR.-Spektrum vgl. Fig. 11. Zur Analyse diente die tiefer schmelzende Form. Trocknung gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{37}H_{56}O_{15}$ (740,82) Ber. C 59,98 H 7,62 $-OCH_3$ 8,35% Gef. C 59,07 H 7,80 $-OCH_3$ 8,33%

Abbau mit Schneckenferment usw. vgl. folgende Publikation.

Tetra-O-acetyl-glucostreblosid. 26 mg Glucostreblosid wurden mit 1 ml Ac_2O und 1,5 ml abs. Py 4 Tage auf 36° erwärmt. Die Aufarbeitung (mit Chf) gab 36 mg amorphes Rohprodukt. Reinigung an SiO_2 und Kristallisation aus iPr-Ae gab 19,2 mg farblose breite Nadeln, Smp. 241–243°, $[\alpha]_D^{24} = +6{,}6° \pm 2°$ ($c = 1{,}02$ in Me). Trocknung gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{45}H_{64}O_{19}$ (908,96) Ber. C 59,46 H 7,10 $-OCH_3$ 6,83% Gef. C 59,68 H 7,43 $-OCH_3$ 8,16%

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

SUMMARY

The highly polar cardenolide glycosides from the root bark of *Streblus asper* contain components which are attacked by snail glycosidases and thereby transformed into chloroform-soluble monoglycosides. The remaining water-soluble (chloroform-insoluble) portion is a mixture of highly polar glycosides of mono- or disaccharides. 21 cardenolides could be detected in this material by paper chromatography. Of these 4 could be isolated in crystals and 8 other ones in amorphous form, giving only one spot each in paper chromatograms. One of these glycosides, Strophallosid (J), has recently been obtained from seeds of *Antiaris toxicaria*. The 11 other cardenolides are most probably new compounds. The main component is the crystalline glucostrebloside (M), which is not attacked by strophanthobiase although it contains terminal D-glucose.

Institut für Organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

[1] 259. Mitteilung: P. MÜHLRADT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Liebigs Ann. Chem. (im Druck).
[2] M. P. KHARE, S. S. BHATNAGAR, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. *45*, 1515 (1962).
[3] M. P. KHARE, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. *45*, 1534 (1962).
[4] P. MÜHLRADT, Diss. Basel 1964.
[5] P. MÜHLRADT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. *47*, 2164 (1964).
[6] D. L. KEDDE, Diss. Leiden 1946; Pharmac. Weekbl. *82*, 741 (1947); Ausführung nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. *52*, 643 (1952).
[7] O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. *34*, 108 (1951); H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. *36*, 357 (1953).
[8] E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. *37*, 680 (1954).
[9] B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. *43*, 1579 (1960).
[10] J. SCHMUTZ & T. REICHSTEIN, Pharmac. Acta Helv. *22*, 370 (1947).
[11] A. STOLL & J. RENZ, Enzymologia *7*, 362 (1939).

[12] W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. *35*, 434 (1952).
[13] J. A. MOORE, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. *37*, 755 (1954).
[14] N. SCHOORL, Chem. Weekbl. *12*, 481 (1915).
[15] B. TOLLENS & H. ELSENER, Kurzes Handbuch der Kohlenhydrate, 4. Aufl., Leipzig 1935, p. 96.
[16] H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. *36*, 357 (1953).
[17] G. R. DUNCAN, J. Chromatogr. *8*, 37 (1962).
[18] V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, Rev. Univ. nac. Cordoba *32*, 439 (1945); M. PESEZ, Ann. pharmac. franç. *10*, 104 (1952).
[19] A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, Bull. Soc. chim. France [5] *17*, 288 (1950); P. BELLET, Ann. pharmac. franç. *8*, 471 (1950).
[20] K. B. JENSEN, Acta pharmacol. toxicol. *9*, 99 (1953); Chem. Abstr. *48*, 2322b (1954).
[21] D. F. MOWERY, Analyt. Chemistry *29*, 1560 (1957).
[22] C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. *75*, 737 (1942).
[23] H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. *63*, 2866 (1930); Ausführung nach [24].
[24] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. *34*, 1740 (1951).
[25] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. *31*, 883 (1948).
[26] S. M. PARTRIDGE, Nature *164*, 443 (1949).
[27] E. STAHL, Dünnschichtchromatographie, Springer Verlag 1962, Kapitel: D. WALDI, Steroide, p. 256ff; M. L. LEWBART, W. WEHRLI, H. KAUFMANN & T. REICHSTEIN, Helv. *46*, 517 (1963); M. BRENNER & A. NIEDERWIESER, Experientia (Basel) *17*, 237 (1961).
[28] F. KORTE & H. SIEPER, J. Chromatogr. *13*, 90 (1964).
[29] H. HALPAAP, Chem.-Ing. Techn. *35*, 488 (1963).
[30] E. v. ARX & R. NEHER, Helv. *39*, 1664 (1956).

---

256. Die Glykoside von *Streblus asper* LOUR. 4. Mitteilung[1]) Strukturbestimmung einiger stark wasserlöslicher Glykoside

Glykoside und Aglykone, 261. Mitteilung[2])

von **A. R. Manzetti** und **T. Reichstein**

(15. X. 64)

Aus der Wurzelrinde von *Streblus asper* LOUR. sind, ausser den früher [1] [2][3]) erwähnten chloroformlöslichen Stoffen, kürzlich [3] 13 stark wasserlösliche Cardenolidglykoside (H, H', J, J', J'', J''', K, K', a, b, f, g und M) isoliert worden, davon 4 (J, K, K' und M) in Kristallen, die andern in amorpher, aber papierchromatographisch[4]) reiner Form. Substanz J (Strophallosid) ist inzwischen in etwas grösserer Menge auch aus den Samen von *Antiaris toxicaria* isoliert worden [5] [6] [7]. Die 12 andern Stoffe waren vermutlich neu; für H', J', J''', K, K', a und M wurden Trivialnamen vorgeschlagen. Es wird hier über die Konstitutionsermittlung der Stoffe H', J, J', J''', K,

[1]) Auszug aus Diss. A. R. MANZETTI, Basel 1964.

[2]) 260. Mitteilung, vgl. vorstehende Arbeit [3][3]).

[3]) Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2329.

[4]) Die Entwicklung der Papierchromatogramme geschah mit KEDDE-Reagens [4]. Dieses gibt mit allen Butenoliden violette Flecke; Empfindlichkeit im Papierchromatogramm ca. 0,01 mg. Die amorphen Präparate, die mit diesem Reagens in verschiedenen Systemen nur *einen* Fleck gaben, dürften daher wahrscheinlich nur ein Cardenolid enthalten haben; es ist aber unsicher, wieviel andere Verunreinigungen anwesend waren, die mit KEDDE-Reagens keine Färbung gaben. Auf Grund der Intensität der Absorption im UV. bei 217 mμ dürfte dieser Anteil aber nicht sehr gross gewesen sein.