

*2-Methyl-2-aza-bicyclo-[3,2,1]-octan*: Zu einer Aufschlämmung von 0,5 g  $\text{LiAlH}_4$  in 100 ml Äther tropfte man 2,1 g 2-Methyl-2-aza-bicyclo-[3,2,1]-octanon-(3) gelöst in 10 ml Äther. Nach beendiger Zugabe wurde 8 Std. unter Rückfluss erhitzt und das entstandene Amin in üblicher Weise isoliert und im Kugelrohr destilliert: 0,4 g vom Sdp. ca.  $150^\circ$ ,  $n_D^{20} = 1,4778$ .

*Pikrat*: Aus Essigester umkristallisiert. Smp.  $267^\circ$  (Zersetzung).

$\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}, \text{C}_6\text{H}_3\text{O}_7\text{N}_3$  (354,3) Ber. C 47,3 H 5,12% Gef. C 47,7 H 5,01%

Der Verfasser ist Herrn Prof. TH. WAGNER-JAUREGG, Leiter der Forschungsabteilung der Firma SIEGFRIED AG., Zofingen, für wertvolle Hinweise bei dieser Arbeit sehr zu Dank verpflichtet, ebenso dankt er dem Leiter des analytischen Labors, Herrn Dr. E. HÄBERLI für die Ausführung der Mikroanalysen und Aufnahme der Spektren. Besonderer Dank gebührt Herrn W. VOGEL für seine saubere und geschickte Durchführung der Experimente.

### Zusammenfassung

Es wird über die Synthese neuer Azabicyclo-octane berichtet. Zum 3-Aza-bicyclo-[3,3,0]-octan (Cyclopentanopyrrolidin) und dem 3-Aza-bicyclo-[3,2,1]-octan (Cyclopentanopiperidin) gelangte man durch Reduktion des Cyclopentan-1,2-dicarbon-säureimids bzw. des Cyclopentan-1,3-dicarbon-säureimids mit  $\text{LiAlH}_4$ . Das 2-Aza-bicyclo-[3,2,1]-octan erhielt man durch  $\text{LiAlH}_4$ -Reduktion des 2-Aza-bicyclo-[3,2,1]-octanons-(3), sein N-Methylderivat analog aus dem N-methylierten Lactam. Ein grundsätzlich anderer Weg führte über das Acetonyl-cyclopentanon-(2) und dessen Umsetzung mit Ammoniak in Gegenwart von Wasserstoff und RANEY-Nickel zum 3-Methyl-2-aza-bicyclo-[3,3,0]-octan. Dieses erwies sich als identisch mit einer früher auf anderem Wege hergestellten Base (Amin F<sup>1</sup>).

Forschungsabteilung der SIEGFRIED AG., Zofingen

## 6. Die Glykoside der Wurzeln und Samen von *Pachycarpus schinzianus* (SCHLTR.) N. E. BR.

Glykoside und Aglykone, 194. Mitteilung<sup>1)2)</sup>

von W. Schmid, H. P. Uehlinger, Ch. Tamm und T. Reichstein

(20. XI. 58)

*Pachycarpus schinzianus* (SCHLTR.) N. E. BR. ist eine in Südafrika heimische Asclepiadacee<sup>3)</sup>, deren Wurzeln nach unabhängigen Angaben von Herrn Dr. DYER<sup>4)</sup> wie auch von Herrn Dr. POLE EVANS<sup>5)</sup> in Südafrika neben *Xysmalobium undulatum*

<sup>1)</sup> 193. Mitteilung: F. THUDIUM, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **42**, 2 (1959).

<sup>2)</sup> Die Untersuchung der Genine aus den Wurzeln der von Dr. POLE EVANS in Transvaal gesammelten Droge (Probe f) stellt einen Auszug aus der Diss. W. SCHMID, Basel, dar, die demnächst erscheint.

<sup>3)</sup> Zur Systematik vgl. A. A. BULLOCK, Notes on African Asclepiadaceae III, Kew Bulletin **1953**, 329 (1953).

<sup>4)</sup> Wir danken Herrn Dr. R. A. DYER, Chief Division of Botany and Plant Pathology, Pretoria, auch hier bestens für das von ihm beschaffte wertvolle Material und seine zusätzlichen Angaben.

<sup>5)</sup> Wir danken Herrn Dr. I. B. POLE EVANS, seinerzeit in Irene, Transvaal, auch hier bestens für dieses wertvolle Material und seine zusätzlichen Angaben (Brief vom 9. 11. 1951). Danach unterscheiden die Eingeborenen jener Gegend nicht zwischen den Wurzeln von *Xysmalobium undulatum* und *Pachycarpus schinzianus*.

zur Herstellung der «Uzara-Medizin»<sup>6)</sup> verwendet werden. Hier wird über eine orientierende Analyse der Wurzeln und Samen berichtet.

*Beschaffung des Ausgangsmaterials.* Es standen insgesamt die folgenden Proben zur Verfügung:

a) 330 g trockene Blätter, erhalten im Januar 1952 von Herrn Dr. DYER, Pretoria<sup>4)</sup>.

b) 840 g in Scheiben geschnittene und getrocknete Wurzeln, erhalten ebenfalls im Januar 1952 von Herrn Dr. DYER, Pretoria.

Die Proben a) und b) stammten von der Pretoria University Experimental Farm, ca. 6 Meilen östlich des Stadtzentrums von Pretoria.

c) 920 g Wurzeln (in Scheiben geschnitten und getrocknet), erhalten von Herrn Dr. POLE EVANS, Irene, Transvaal<sup>5)</sup>, im Januar 1952.

d) 2,82 kg Blätter und Stengel (getrocknet), erhalten von Herrn Dr. POLE EVANS am 22. März 1952.

e) 5,43 kg Blätter (trocken), erhalten von Herrn Dr. POLE EVANS am 2. März 1954.

f) 6,5 kg in Scheiben geschnittene und getrocknete Wurzeln, erhalten von Herrn Dr. POLE EVANS am 2. März 1954.

g) 1,14 kg Samen, erhalten von Herrn Dr. POLE EVANS am 8. März 1954.

Die Proben c–g wurden in der Umgebung von Irene gesammelt.

*Pachycarpus schinzianus* wächst fast ausschliesslich in der Highveld Gegend von Transvaal, oft zusammen mit *Xysmalobium undulatum*.

Die beiden Herren, die uns das Material sandten, sind ausgezeichnete Kenner der südafrikanischen Flora. Daher dürfte sichere Gewähr vorliegen, dass es sich um die genannte Species gehandelt hat. Fig. 1 zeigt ein Herbarmuster den Proben a) und b) entsprechend.

Bisher wurden die Proben b) und c)<sup>7)</sup> sowie ein Teil der Probe g) (Samen) orientierend geprüft (H. P. U.), ferner wurde ein Teil von Probe f) (Wurzeln) möglichst genau auf Genine untersucht (W. S.). Hier wird über diese Arbeiten berichtet.

*Orientierende Analyse der zwei Proben b) und c) (Wurzeln)* (ausgeführt von H.P.U.)<sup>7)</sup>. 840 g Probe b) (Wurzeln aus Pretoria) sowie 920 g Probe c) (Wurzeln aus Transvaal) wurden nach früher beschriebener Methode<sup>8)</sup>, aber ohne Entfettung und ohne Fermentierung extrahiert. Es wurden die in Tab. 1 beschriebenen rohen Extrakte erhalten, von denen einige auch orientierend biologisch geprüft werden konnten.

Eine orientierende Prüfung der Chf-, Chf-Alk-(9:1)-, Chf-Alk-(4:1)- und Chf-Alk-(2:1)-Extr. im Papierchromatogramm ist in Fig. 2 wiedergegeben.

Die Chf-Alk-(2:1)- und Chf-Alk-(3:2)-Extr. wurden bisher nicht weiter untersucht.

*Untersuchung der Ae-Extrakte.* 900 mg des Ae-Extr. (entspr. 718 g Wurzeln) aus Probe b) wurden zunächst durch Verteilung zwischen Petroläther und 80-proz. Methanol gereinigt und gaben 785 mg gereinigten Ae-Extr. Dieser wurde an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, worauf sich 24 mg krist. Substanz D (Präp. HPU 2) isolieren liessen. Andere Kristalle wurden hier nicht erhalten<sup>9)</sup>.

<sup>6)</sup> H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. **34**, 46 (1951), u. frühere Lit. daselbst.

<sup>7)</sup> Die Untersuchung dieser zwei Proben musste aus äusseren Gründen vorzeitig abgebrochen werden.

<sup>8)</sup> J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. **34**, 1821 (1951).

<sup>9)</sup> Die Mutterlaugen dieser Kristalle wurden noch nicht untersucht.

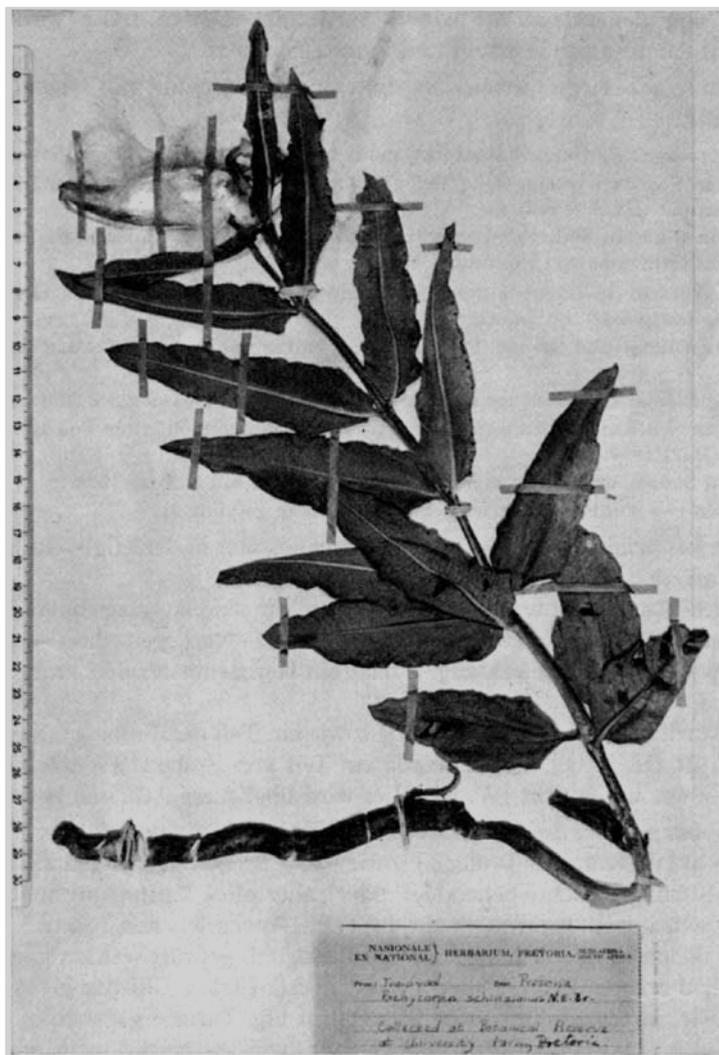


Fig. 1. *Pachycarpus schinzianus* (SCHLTR.) N. E. BR. Herbarmuster mit Fruchtstand entspr. den Proben a) und b). Collected at Botanical Reserve at University farm Pretoria. Erhalten von Herrn Dr. R. A. DYER am 4. 1. 1952 (Photo Dr. L. JENNY, Basel)

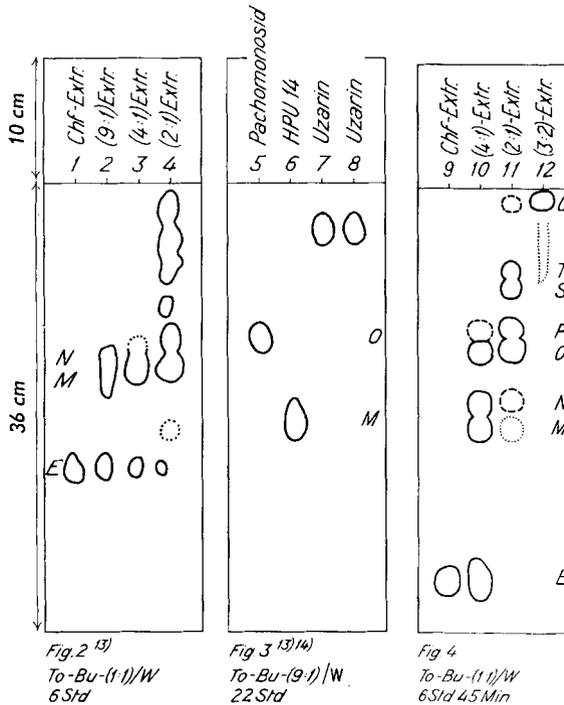
Der Ae-Extr. aus Probe c) wurde direkt an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, wobei sich 12 mg krist. Substanz B (Präp. HPU 11), sowie 20,3 mg krist. Substanz D isolieren liessen<sup>9)</sup>.

*Untersuchung der Chf-Extrakte.* 3 g des Chf-Extr. (entspr. 720 g Wurzeln) aus Probe b) wurden an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, worauf sich 9,5 mg krist. Substanz D isolieren liessen und aus später eluierten Fraktionen wenig Kristalle vom Smp. 228–255° (RAYMOND-Reaktion: negativ, nicht untersucht). Der Chf-Extr. aus Probe c) wurde an  $\text{SiO}_2$  chromatographiert, lieferte dabei aber keine Kristalle.

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus den zwei Wurzelproben<sup>10)</sup>

Extrakt	840 g Wurzeln aus Pretoria b)		Biol. Prüfung <sup>11)</sup>	920 g Wurzeln aus Irene c)	
	Menge			Menge	
	in g	in %		in g	in %
Ae-Extr. roh <sup>12)</sup> . . . . .	1,05	0,125		0,88	0,096
Chf-Extr. . . . .	3,50	0,417	ca. 1/2	0,725	0,079
Chf-Alk-(9:1)-Extr. . . . .	0,90	0,107	ca. 1/4-1/5	} 6,70	0,727
Chf-Alk-(4:1)-Extr. . . . .	4,85	0,578	ca. 1/4-1/5		
Chf-Alk-(2:1)-Extr. . . . .	4,20	0,50		4,75	0,516
Chf-Alk-(3:2)-Extr. . . . .	7,40	0,88		0,80	0,086

Beispiel für die Kontrolle durch Papierchromatographie<sup>10)</sup>



<sup>10)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

<sup>11)</sup> Die Prüfung wurde bisher nur am isolierten Froschherz ausgeführt. Wir danken der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier für die Ausführung dieser Prüfung. Die Zahlen bedeuten ungefähre Wirkungsintensität im Vergleich zu Ouabain.

<sup>12)</sup> Enthält auch Pe-lösliche Stoffe.

<sup>13)</sup> Dieses Papierchromatogramm hat nur orientierenden Charakter, da die benützten Systeme und Bedingungen für die Differenzierung aller vorhandenen Stoffe nicht ausreichten.

<sup>14)</sup> In früheren Chromatogrammen zeigte Uzarin eine grössere Laufstrecke als Pachomonosid (HPU1), die Ursache konnte nicht abgeklärt werden. Auch im System To-Bu-(1:1)/W lief Uzarin fast so schnell (oder schneller) als Pachomonosid.

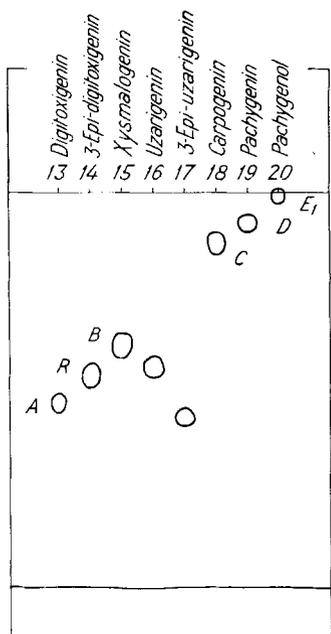


Fig. 5  
Be-Chf-(7.5)/An-Fmd-(3.1)  
2Std 15.Min

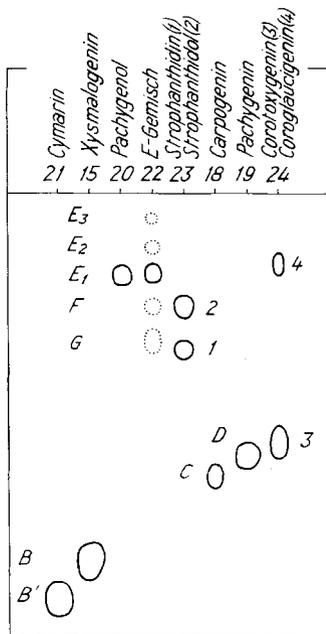


Fig. 6  
Chf/An-Fmd-(4.1)  
3Std

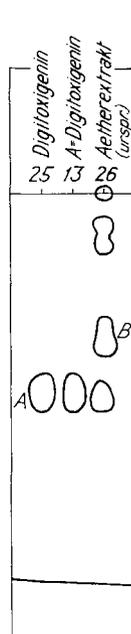


Fig. 7  
Be-Chf-(7.5)/  
An-Fmd-(3.1)  
2Std

- 1 = 0,4 mg Chf-Extr. von Wurzeln aus Pretoria (Probe b)
- 2 = 0,4 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr. von Wurzeln aus Pretoria (Probe b)
- 3 = 0,4 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr. von Wurzeln aus Pretoria (Probe b)
- 4 = 0,4 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. von Wurzeln aus Pretoria (Probe b)
- 5 = 0,1 mg Pachomonosid = HPU 1
- 6 = 0,1 mg Subst. HPU 14
- 7 = 0,1 mg Uzarin, Originalpräparat R. TSCHESCHE
- 8 = 0,1 mg Uzarin, aus Wurzeln von Probe b (Pretoria)
- 9 = 0,3 mg Chf-Extr. aus Wurzeln aus Irene (Probe f)
- 10 = 0,3 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Wurzeln aus Irene (Probe f)
- 11 = 0,3 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus Wurzeln aus Irene (Probe f)
- 12 = 0,3 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. aus Wurzeln aus Irene (Probe f)
- 13 = 0,05 mg A = Digitoxigenin aus *Pachycarpus schinzianus*
- 14 = 0,05 mg R = 3-Epi-digitoxigenin<sup>16)</sup>
- 15 = 0,1 mg B = Xysmalogenin
- 16 = 0,05 mg Uzarigenin, authentisch aus Odorosid B
- 17 = 0,05 mg 3-Epi-uzarigenin, synthetisch aus Uzarigenin<sup>15)</sup>
- 18 = 0,1 mg C = Carpogenin
- 19 = 0,1 mg D = Pachygenin
- 20 = 0,1 mg E<sub>1</sub> = Pachygenol
- 21 = 0,1 mg B' = Cyamarin
- 22 = 0,2 mg E-Gemisch
- 23 = je 0,1 mg Strophanthidin (1) und Strophanthidol (2)
- 24 = je 0,1 mg Corotoxigenin (3) und Coroglaucigenin (4)
- 25 = 0,05 mg Digitoxigenin, authentisch aus *Digitalis purpurea*

<sup>15)</sup> Vgl. Exp. Teil dieser Arbeit.

<sup>16)</sup> H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **36**, 985 (1953).

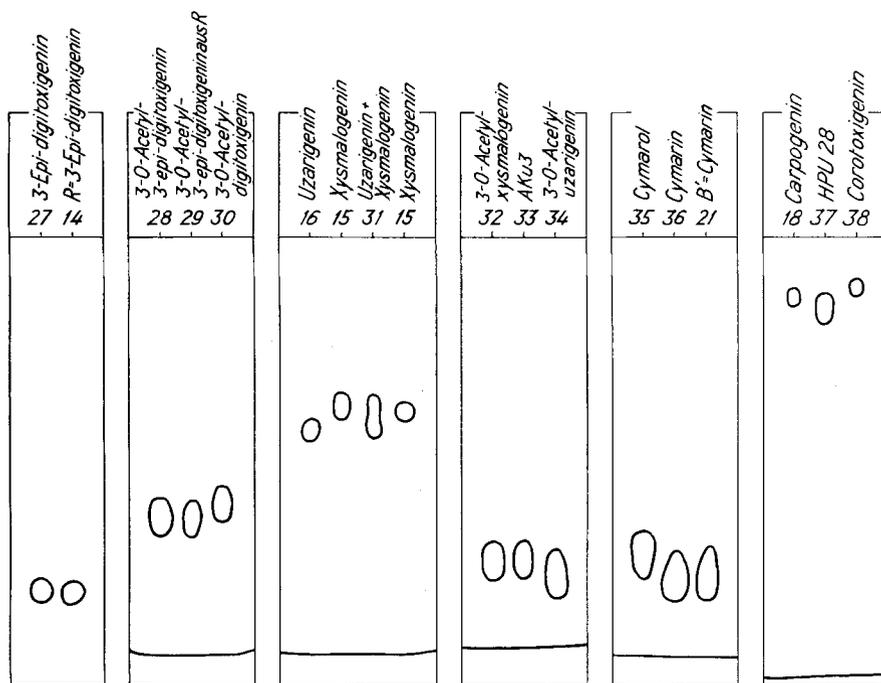


Fig. 8

Be-Chf-(7:5)/  
An-Fmd-(4:1)  
5Std

Fig. 9

Be/An-Thiodiäthy-  
lenglykol-(4:1)  
3Std 15 Min

Fig. 10

Be-Chf-(7:5)/  
An-Fmd-(4:1)  
2Std 10 Min

Fig. 11

Be/An-Thiodiäthylen-  
glykol-(4:1)  
3Std

Fig. 12

Chf/An-Fmd-  
(3:1)  
1Std 45 Min

Fig. 13

Be-Chf-(7:5)/  
An-Fmd-(4:1)  
3Std

- 26 = 0,4 mg Ae-Extr. aus Wurzeln aus Irene (Probe f)  
 27 = 0,03 mg 3-Epi-digitoxigenin, synthetisch aus Digitoxigenin<sup>17)</sup>  
 28 = 0,05 mg 3-O-Acetyl-3-epi-digitoxigenin authentisch  
 29 = 0,05 mg 3-O-Acetyl-digitoxigenin aus R  
 30 = 0,05 mg 3-O-Acetyl-digitoxigenin  
 31 = je 0,05 mg Xysmalogenin und Uzarigenin  
 32 = 0,05 mg 3-O-Acetyl-xysmalogenin  
 33 = 0,05 mg Präparat AKu 3 = 3-O-Acetyl-xysmalogenin, aus *Xysmalobium undulatum*<sup>17)</sup>  
 34 = 0,05 mg 3-O-Acetyl-uzarigenin  
 35 = 0,05 mg Cymarol  
 36 = 0,05 mg Cymarol  
 37 = 0,1 mg HPU 28  
 38 = 0,1 mg Corotoxigenin

*Untersuchung der Chf-Alk-(9:1)- und -(4:1)-Extrakte.* Diese zwei Extr. der Probe b) gaben im Papierchromatogramm (Nr. 2 und 3 in Fig. 2<sup>13)</sup>) praktisch dieselben zwei Flecke (E, M + N)<sup>18)</sup> und wurden daher vereinigt. 4 g davon (entspr. 584 g Wurzeln) wurden einer Verteilungschromatographie<sup>19)</sup>20) unterworfen. Das Resultat ist aus Fig. 14 ersichtlich.

<sup>17)</sup> Vgl. Diss. A. KURITZKES, Basel, die demnächst erscheint.

<sup>18)</sup> Ob diese einheitlich sind, ist sehr fraglich.

<sup>19)</sup> Ausgeführt nach H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953).

<sup>20)</sup> Für den wirksamen Bereich wurde das System Chf-Bu-(4:1)/W verwendet. Die genaue Zusammensetzung der beweglichen Phase aller Fraktionen ist unterhalb von Fig. 14 angegeben.

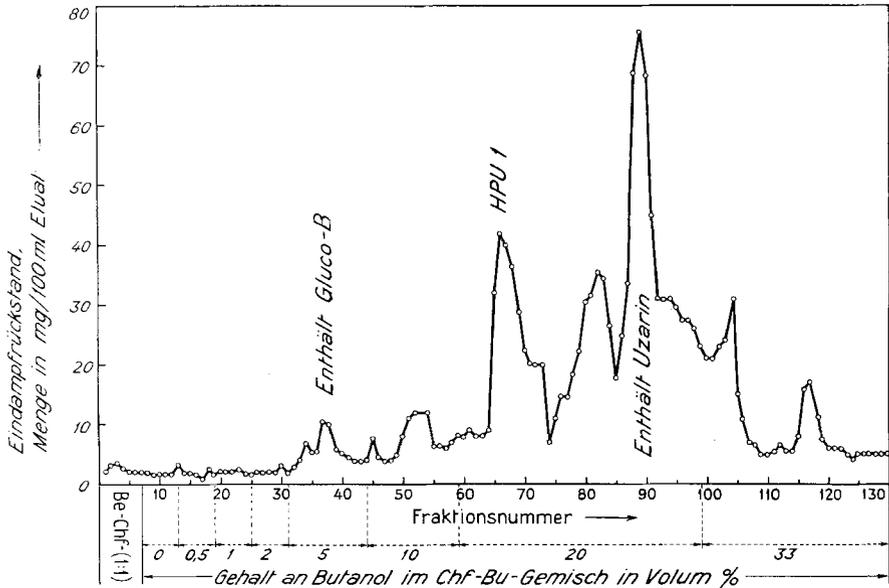


Fig. 14. Verteilungschromatographie von 4 g Gemisch der Chf-Alk-(9:1)- und -(4:1)-Extr. aus Probe b)

Die Fr. 66–72 (387 mg) gaben 77 mg krist. Glykosid HPU1 (Pachomonosid, entspr. Fleck O). Aus den Fr. 82–117 (1665 mg) liessen sich 169 mg rohes krist. Uzarin gewinnen.

Die amorphen Fr. 32–45 (250 mg) dürften auf Grund des folgenden Versuchs u. a. Gluco-B enthalten haben. Sie wurden mit TAKA-Amylase<sup>21)</sup> behandelt, worauf sich 58,6 mg Ae- und 45,1 mg Chf-lösliche und 18,8 mg Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile gewinnen liessen. Der erstgenannte lieferte nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  9,2 mg krist. Substanz B (Präp. HPU13). Die Chf- und Chf-Alk-(2:1)-löslichen Anteile wurden nicht untersucht.

Die 6,7 g Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Probe c) wurden ebenfalls einer Verteilungschromatographie unterworfen (vgl. Fig. 15). Aus den Fr. 17–20 (429 mg) liessen sich dabei 143,3 mg krist. Glykosid HPU14 (entspr. Fleck M) isolieren. Die Fr. 29–41 (1323 mg) lieferten noch 431 mg krist. Glykosid HPU1. Andere Kristalle wurden hier nicht erhalten. Insbesondere liess sich aus den schwerer eluierbaren Fraktionen, in denen die Anwesenheit von Uzarin vermutet wurde, trotz nochmaliger Chromatographie an  $\text{SiO}_2$  und Impfen mit authentischem Material kein Uzarin isolieren. Die relativen Laufstrecken der drei isolierten Glykoside im Papierchromatogramm sind aus Fig. 3<sup>14)</sup> ersichtlich.

*Orientierende Untersuchung der Samen (Probe g)* (ausgeführt von H. P. U.). 450 g Samen wurden genau nach der früheren Vorschrift (mit Entfettung und mit Fermentierung<sup>8)</sup>) extrahiert und lieferten die in Tab. 2 genannten Ausbeuten.

<sup>21)</sup> Es handelt sich um ein Präparat aus *Aspergillus oryzae*. Wir danken der SCHWEIZ. FERMENT AG., Basel, auch hier bestens für dieses Material.

Tabelle 2. Ausbeuten an rohen Extrakten aus 450 g Samen

Extrakt	Menge		Flecke im Papierchromatogramm <sup>13)</sup>
	in g	in %	
Pe-Extr. . . . .	100	22,2	C + D (gemeinsam), E
Ae-Extr. gereinigt . . . .	2,65	0,59	
Chf-Extr. . . . .	2,65	0,59	
Chf-Alk-(4:1)-Extr. . . . .	2,0	0,45	langgezogenes Band
Chf-Alk-(2:1)-Extr. . . . .	0,9	0,20	

Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. (0,9 g) wurde nicht weiter untersucht.

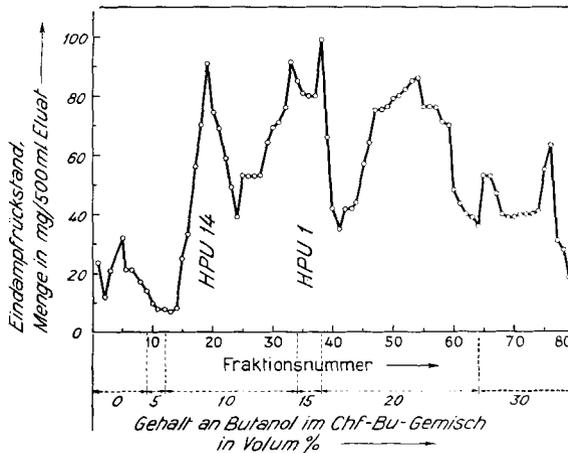


Fig. 15. Verteilungschromatographie von 6,7 g Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Probe c)

*Untersuchung des Ae-Extr. aus Samen (Probe g).* Dieses Material lieferte nach chromatographischer Trennung an  $Al_2O_3$  die vier folgenden Kristallisate: 259 mg Substanz C (HPU 23), 170 mg Substanz D (HPU 2), 56 mg Substanz  $E_1$  (HPU 25), 45,8 mg Substanz HPU37, Smp. 228–244° (RAYMOND-Reaktion: negativ, nicht untersucht).

*Untersuchung des Chf-Extr. aus Samen (Probe g).* Dies Material lieferte nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  noch 246,7 mg krist. Substanz  $E_1$ . Andere Kristalle wurden nicht erhalten.

*Untersuchung des Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Samen (Probe g).* Von diesem Extr. wurden 1,9 g (entspr. 428 g Samen) mit TAKA-Amylase<sup>21)</sup> behandelt. Die anschließende Trennung gab die in Tab. 3 genannten Ausbeuten.

Tabelle 3. Ausbeuten nach Behandlung von 1,9 g Chf-Alk-(4:1)-Extr. mit TAKA-Amylase

Extrakt	Menge	
	in mg	in %
Ae-Extr. B . . . . .	263	13,9
Chf-Extr. B . . . . .	465	24,5
Chf-Alk-(4:1)-Extr. B . . .	1016	53,5

Der Chf-Extr. B und der Chf-Alk-(4:1)-Extr. B wurden nicht untersucht.

Aus dem Ae-Extr. B liessen sich nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  61,9 mg krist. Substanz HPU28 gewinnen, die äusserst ähnliche Eigenschaften wie Substanz C (Carpogenin) zeigte, aber im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 13) wenig aber deutlich schneller lief als diese. Andere Kristalle wurden nicht erhalten.

Von den genannten aus den Proben b), c) und g) isolierten Stoffen erwiesen sich B, C, D, HPU28 und  $E_1$  als Genine (siehe unten). HPU1, HPU3 (Uzarin) und HPU14 stellten Glykoside dar. Von diesen ist HPU1 sicher ein neuer Stoff, den wir als Pachomonosid bezeichnen. HPU14 konnte noch nicht untersucht werden. HPU1 sowie das bekannte Uzarin (HPU 3) enthalten als Zucker lediglich D-Glucose. Sie lassen sich dementsprechend mit der Glucosidase aus *Aspergillus oryzae* abbauen<sup>22)</sup>23). Aus Uzarin (HPU3) wurde wie früher<sup>6)</sup>22)24)25) Uzaringenin erhalten, das weiter als 3-O-Acetyl-Derivat charakterisiert und mit authentischem Material eindeutig identifiziert wurde. Pachomonosid (HPU1) lieferte in gleicher Weise ein Genin, das mit Substanz D (Pachygenin) identisch war. Wie der Versuch mit den amorphen Fraktionen aus Chf-Alk-(4:1)-Extr. von Probe b) zeigt, ist auch Genin B zum Teil in einem Glykosid enthalten, das sich mit TAKA-Amylase bis zur Geninstufe spalten lässt.

*Genauere Untersuchung der Genine aus Probe f).* Da die Glykoside aus *Pachycarpus schinzianus* nach obigen Versuchen offenbar sehr schwer trennbar sind und weitgehend nur D-Glucose als Zucker enthalten, wurde in der folgenden Untersuchung eine grössere Menge Wurzeln von Probe f) insbesondere auf Genine untersucht. Dafür wurden 2,1 kg Wurzelpulver zunächst wieder wie oben extrahiert. Sie lieferten die in Tab. 4 genannten Ausbeuten an Extrakten. Alle Fraktionen, insbesondere die weniger polaren, wurden papierchromatographisch in Systemen, die eine möglichst gute Differenzierung gestatten (Fig. 4, 5 und 6), untersucht und die weitere Trennung in gleicher Weise kontrolliert.

Tabelle 4. Ausbeuten an rohen Extrakten aus 2,1 kg Wurzeln (Probe f)

Extrakt	Menge		Flecken im Papierchromatogramm <sup>26)</sup> 27)
	in g	in %	
Pe-Extr. <sup>28)</sup> . . . . .	11,58	0,55	KEDDE negativ
Ae-Extr. gereinigt <sup>28)</sup> . .	11,63	0,55	A, R, B, C, D, E
Chf-Extr. . . . .	17,0	0,81	B', C, D, E
Chf-Alk-(4:1)-Extr. . . .	8,61	0,41	(E), M, N, O, (P)
Chf-Alk-(2:1)-Extr. . . .	8,02	0,38	(M), (N), O, P, S, T, (U)
Chf-Alk-(3:2)-Extr. . . .	10,67	0,51	(T), U

<sup>22)</sup> R. TSCHESCHE, K. SELFHORN & K. H. BRATHGE, Chem. Ber. **84**, 576 (1951).

<sup>23)</sup> R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **40**, 284 (1957).

<sup>24)</sup> R. TSCHESCHE & K. H. BRATHGE, Chem. Ber. **85**, 1042 (1952).

<sup>25)</sup> R. TSCHESCHE, MARIA-ELISABETH RÜHSEN & G. SNATZKE, Chem. Ber. **88**, 686 (1955).

<sup>26)</sup> Schwache Flecken in Klammern, vgl. Papierchromatogramm Fig. 4.

<sup>27)</sup> Der R-Fleck wurde erst nach chromatograph. Anreicherung sichtbar. Der E-Fleck entspricht einem Substanzgemisch. Er läuft im System Be-Chf-(7:5)/An-Fmd-(4:1) gar nicht, lässt sich aber in rascher laufenden Systemen teilweise in mehrere Flecken ( $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ , F und G) auftrennen (vgl. Nr. 22 in Fig. 6). Als Abkürzung für diese Folge von Flecken wird auch dort der Buchstabe E als Sammelname verwendet (vgl. Nr. 22 in Fig. 6).

<sup>28)</sup> Nach Verteilung des rohen Ae-Extr. zwischen Pe und 80-proz. Me.

*Trennung der Ae- und Chf-Extr. aus Probe f).* Wie aus zahlreichen Papierchromatogrammen ersichtlich war, enthielten der Ae- und der Chf-Extr. vorwiegend 7 Stoffe, von denen sich später 6 als Genine erwiesen. Sie werden zunächst mit den Buchstaben A, R, B, C, D, E<sub>1</sub> und B' bezeichnet. Dieselben Bezeichnungen werden hier auch für die zugehörigen Flecke im Papierchromatogramm verwendet. Durch teilweise wiederholte Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und SiO<sub>2</sub> liessen sich daraus die Substanzen A, B, D, E<sub>1</sub> und B' in Kristallen isolieren. Die Ausbeute war aber schlecht, da die Trennung teilweise recht schwierig war. R und C wurden aus diesem Material präparativ nicht isoliert. Von den krist. Stoffen erwies sich B' als Glykosid (Cymarín), die andern alle als Genine (siehe unten).

*Untersuchung der Chf-Alk-Extr. aus Probe f).* In den Chf-Alk-Extr. war vorwiegend ein Gemisch von Glykosiden enthalten. Diese Extrakte wurden einzeln mit TAKA-Amylase<sup>21)</sup> abgebaut. Die Behandlung wurde mit den nicht gespaltenen Anteilen jeweils ein- bis zweimal wiederholt. Wie die papierchromatographische Kontrolle ergab (vgl. Tab. 20 im exp. Teil), entstanden aus allen drei Chf-Alk-Extr. im wesentlichen dieselben Abbauprodukte, nämlich die 6 Genine A, R, B, C, D und E<sub>1</sub>, die nach Papierchromatogramm mit den entsprechenden Stoffen aus dem ursprünglichen Ae- und Chf-Extr. identisch sind. Über die totale Ausbeute an abgebautem Material orientiert Tab. 5.

Tabelle 5. Gesamtausbeute an Abbauprodukten bei fermentativem Abbau von 24,29 g Glykosidgemisch aus 2,1 kg trockenen Wurzeln (Probe f)

Zum Abbau mit TAKA-Amylase wurde verwendet:	nach 2-3maliger Wiederholung wurde erhalten:		
		in g	in %
7,39 g Chf-Alk-(4:1)-Extr.	Ae-lösl. Anteil Chf-lösl. Anteil	2,113	8,06
6,92 g Chf-Alk-(2:1)-Extr.			
9,98 g Chf-Alk-(3:2)-Extr.			
24,29 g total eingesetzt	Total Geningemisch	4,628	18,4
	Nicht abgebautes Material <sup>29)</sup>	7,377	30,3

Das nicht abgebaute Material (7,3779) zeigte im Papierchromatogramm, soweit ersichtlich, noch alle ursprünglichen Flecken (M-U). Es wurde nicht weiter untersucht. Das erhaltene Geningemisch (4,628 g) wurde zunächst auch durch Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und SiO<sub>2</sub> getrennt, wobei sich alle 6 Genine A, R, B, C (sehr wenig), D und E<sub>1</sub> in Kristallen papierchromatographisch rein gewinnen liessen. Ausserdem wurden von den zwei Substanzen E<sub>2</sub> und E<sub>3</sub> je wenige Milligramme in einheitlichen Kristallen erhalten. Diese wurden aber noch nicht weiter untersucht. Aus den Mutterlaugen wurden durch präparative Chromatographie<sup>30)</sup><sup>31)</sup> noch weitere Mengen von C, B und E<sub>1</sub> abgetrennt. Über die insgesamt aus Probe f) so erhaltenen Ausbeuten an krist. Stoffen orientiert Tab. 6. Darin wird in den letzten zwei Kolonnen

<sup>29)</sup> Chf-Alk-(2:1)-Extr. IV, sowie Chf-Alk-(3:2)-Extr. VI und VII, vgl. Tab. 20 im exp. Teil.

<sup>30)</sup> Ausführung nach E. v. ARX & R. NEHER, Helv. 34, 1664 (1951).

<sup>31)</sup> Es wurde das System Be-Chf-(7:5)/An-Fmd-(4:1) verwendet.

auch eine Schätzung der wirklich in den trockenen Wurzeln enthaltenen Mengen gegeben.

Tabelle 6. *Totale Ausbeuten an krist. Stoffen aus den ursprünglichen Ae- und Chf-Extr., sowie aus den nach Abbau mit TAKA-Amylase gewonnenen Ae- und Chf-löslichen Anteilen*

Substanz	Aus 2,1 kg trockenen Wurzeln (Probe f)			
	in Kristallen isoliert <sup>32)</sup>		Schätzung der tatsächlich in der Wurzel enthaltenen Menge <sup>33)</sup>	
	in mg	in %	in mg	in %
B'	100	0,0047	380	0,0181
A	37	0,0018	110	0,0052
R	49	0,0023	120	0,0057
B	375	0,0179	690	0,0328
C	108	0,0051	370	0,0176
D	597	0,0284	1960	0,0932
E <sub>1</sub>	446	0,0213	1475	0,0702
E <sub>2</sub>	6	0,0003	890	0,0432
E <sub>3</sub>	5	0,0002	230	0,0109
F	—	—	175	0,0083
G	—	—	150	0,0071
I	—	—	70	0,0033
K	—	—	190	0,0091

*Biologische Prüfung.* Herr Dr. CHEN<sup>34)</sup> hatte die Freundlichkeit, die Genine B<sup>35)</sup>, D und E<sub>1</sub>, sowie das Glykosid HPU1 (Pachomonosid) orientierend an der Katze zu prüfen. Über das Ergebnis orientiert Tab. 7. Darin sind auch früher von ihm gefundene Werte für einige isomere oder nahe verwandte Genine angegeben.

Obleich unser Präparat von Xysmalogenin (entspr. Genin B) nur an einem Tier geprüft werden konnte, entsprach das Resultat recht gut dem früher erhaltenen Wert für das Präparat von TSCHESCHE & BRATHGE<sup>35)</sup>. Xysmalogenin ist demnach eher noch etwas schwächer wirksam als Uzarigenin. Pachygenin gab ein sehr ähnliches Resultat, während Pachygenol merklich schwächer war. Es ist aber zu berücksichtigen, dass die Prüfung bisher nur an einem einzigen Tier durchgeführt werden konnte. Pachomonosid war (rein gewichtsmässig) ca. 3-5mal toxischer als Pachygenin, was als normal anzusehen ist.

<sup>32)</sup> Im Falle nur ein Teil des Materials getrennt wurde, ist hier die auf 2,1 kg Wurzeln umgerechnete Menge angegeben.

<sup>33)</sup> Grobe Schätzung der Grössenordnung auf Grund der Ausbeuten, der Kristallisierbarkeit und der Stärke der Flecken im Papierchromatogramm.

<sup>34)</sup> Wir danken Herrn Dr. K. K. CHEN, Indianapolis, auch hier bestens für die Übermittlung der Resultate (Brief vom 23. 12. 1957). Für genauere Messungen war die verfügbare Menge ungenügend.

<sup>35)</sup> Die Identifizierung von Genin B mit dem Xysmalogenin von TSCHESCHE & BRATHGE<sup>24)</sup> ist erst nach Abschluss dieser Arbeit von Herrn A. KURITZKES ausgeführt worden<sup>17)</sup>.

Tabelle 7. *Biologische Prüfung an der Katze (intravenöse Infusion)*

Substanz	Zahl der eingesetzten Tiere	Letale Dosis mg/kg
B = Xysmalogenin (VII)	1	2,770
D = Pachygenin (XII) .	2	1,927 und 3,137
E <sub>1</sub> = Pachygenol (XIV) .	1	> 6,171 <sup>36)</sup>
HPU1 = Pacho- monosid (XVII) . . . .	10	0,6649 ± 0,0582 <sup>37)</sup>
Digitoxigenin (I) . . . .		0,459 ± 0,0363 <sup>38)</sup>
Uzarigenin (X) <sup>39)</sup> . . . .	10	1,519 ± 0,1832 <sup>40)</sup>
Urezigenin . . . . .	2	1,278 und 2,075 <sup>24)</sup>
Xysmalogenin . . . . .	1	2,507 <sup>24)</sup>
3-Epi-digitoxigenin (III) .		> 36,76 <sup>18)</sup>

### Beschreibung, Charakterisierung und teilweise Identifizierung der isolierten Stoffe

In Tab. 8 sind die wichtigsten physikalischen und analytischen Daten der isolierten Stoffe und ihrer O-Acetyl-Derivate zusammengestellt. Zum Schluss sind darin auch noch die entsprechenden Daten von 3-Epi-uzarigenin, Urezigenin, Xysmalogenin und O-Acetyl-xysmalogenin wiedergegeben. Die letztgenannten Stoffe sind von TSCHESCHE und Mitarb.<sup>23)24)25)</sup> aus technisch gewonnenem «Uzaron» nach fermentativem Abbau isoliert worden. Danach ist Urezigenin mit 3-Epi-uzarigenin identisch<sup>24)</sup>, das in kleiner Menge durch Reduktion von Uzarigenon mit NaBH<sub>4</sub> gewonnen worden war<sup>25)</sup>. Da wir zu Vergleichszwecken 3-Epi-uzarigenin benötigten, haben wir versucht, es auf gleichem Weg zu gewinnen, was uns aber nicht gelang. Hingegen konnte durch Reduktion des Uzarigenons mit Al-Isopropylat nach MEERWEIN-PONNDORF ein Gemisch erhalten werden, aus dem sich neben viel Uzarigenin (X) etwa 14% krist. 3-Epi-uzarigenin (XXIV) isolieren liessen<sup>41)</sup>. Es zeigte die in Tab. 8 genannten Kennzahlen. Im IR.-Spektrum war bei 9,98  $\mu$  eine mittelstarke Bande sichtbar, die für 3 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\alpha$ -steroiden typisch ist<sup>42)</sup>. Das Produkt liess sich im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 5) von Uzarigenin differenzieren. Tab. 9 gibt die relativen Laufstrecken der hier interessierenden Stoffe im Papierchromatogramm und Tab. 10 die Farbreaktionen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

<sup>36)</sup> Herr Dr. K. K. CHEN schreibt dazu: «The 6,171 mg failed to kill the cat. However it seemed to have some cardiotonic action because it caused slowing of the heart rate, followed by acceleration.»

<sup>37)</sup> Geometrisches Mittel der letalen Dosis. Brief vom 15. 10. 1953.

<sup>38)</sup> K. K. CHEN, Ann. Rev. Physiol. **7**, 677 (1945).

<sup>39)</sup> S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. **32**, 939 (1949).

<sup>40)</sup> Geometrisches Mittel. W. RITTEL & T. REICHSTEIN, Helv. **37**, 1361 (1954).

<sup>41)</sup> Über eine bessere Methode wird demnächst berichtet.

<sup>42)</sup> R. N. JONES & F. HERLING, J. Amer. chem. Soc. **78**, 1152 (1956).

Tabelle 8. Die wichtigsten Daten der isolierten Stoffe<sup>43)</sup>

Fleck- und Stoff- bezeichnung	Smp. [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	$\lambda_{\max}$ (log $\epsilon$ ) in $m\mu$	Vermutl. Brutto- formel	Zuk- ker- prü- fung	Lit.
HPU1 = Pachomonosid (XVII)	243–245° –108,8 $\pm$ 3 (Me-W)	217 (4,22) 307,5 (2,29)	C <sub>29</sub> H <sub>40</sub> O <sub>10</sub>	+	15)
HPU4 = O-Acetyl-pachomonosid (?) <sup>44)</sup>	180–190°/220–248°	217 (4,17) 298 (1,72) <sup>44)</sup>	C <sub>37</sub> H <sub>48</sub> O <sub>14</sub> (?)		15)
HPU3 = Uzarin, aus Me-Ae (XVI)	206–208° –1,4 $\pm$ 3 (Me)	217 (4,22)	C <sub>35</sub> H <sub>54</sub> O <sub>14</sub>	+	15)
Uzarin, aus Py-W (Lit.- Werte)	266–270° –27,0 (Py)		C <sub>35</sub> H <sub>54</sub> O <sub>14</sub>	+	24)
Glykosid HPU14	256–258° –24,5 $\pm$ 3 (Py)	217 (4,22) 308,5 (1,74)	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>9</sub>	+	15)
A = Digitoxigenin (I)	234–244° +17,8 $\pm$ 3 (Me)	216 (4,22)	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	45)46)
3-O-Acetyl-digitoxigenin (II)	215–222° +21,4 $\pm$ 2 (Chf)	216,5 (4,23)	C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>		45)39) 47)
R = 3-Epi-digitoxigenin (III)	278–287° +24,4 $\pm$ 3 (Me)	217 (4,20)	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	16)
3-O-Acetyl-3-epi-digitoxi- genin (IV)	209–212° +42,4 $\pm$ 1,5 (Chf)		C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>		16)
HPU9 = Uzarigenin (X)	229–245° +14,7 $\pm$ 3 (Alk)		C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	39)24)
HPU10 = 3-O-Acetyl- uzarigenin (XI)	262–266° +4,6 $\pm$ 2 (Chf)	217 (4,20)	C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>		
B = Xysmalogenin (VII)	241–259° +16,6 $\pm$ 3 (Me)	217 (4,22)	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	–	15)
O-Acetyl-xysmalogenin (VIII)	258–269° –13,5 $\pm$ 2 (Chf)		C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>		15)
C = Carpogenin (V)	256–265° +0,06 $\pm$ 3 (Me)	217 (4,22) 304 (1,40)	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	–	15)
O-Acetyl-carpogenin (VI)	208–211° +17,4 $\pm$ 2 (Me)		C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>		15)
Genin HPU28 (XIX)	194–218° –9,7 $\pm$ 1,5 (Me)	217 (4,22) 307 (1,45)	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	–	
D = Pachygenin (XII)	120/216–221° –120,0 $\pm$ 3 (Me) –121,6 $\pm$ 3 (Chf)	217 (4,22) 308 (2,05)	C <sub>23</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	–	15)
O-Acetyl-pachygenin (XIII)	278–286° –167,7 $\pm$ 3 (Chf)	217 (4,23) 308 (2,06)	C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>		15)
E <sub>1</sub> = Pachygenol (XIV)	123–128/215–232° +10,2 $\pm$ 2 (Me)	217 (4,22)	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	–	15)

<sup>43)</sup> Wo nicht ausdrücklich bemerkt, handelt es sich um Werte, die an den aus *Pachycarpus schinzianus* isolierten Präparaten ermittelt wurden.

<sup>44)</sup> Das krist. O-Acetyl-Derivat HPU4 wurde aus amorphen ML des Pachomonosids bereitet. Es ist daher unsicher, ob es sich um O-Acetyl-pachomonosid handelt, das UV.-Spektrum spricht eher dagegen.

<sup>45)</sup> A. WINDAUS & G. STEIN, Ber. deutsch. chem. Ges. **61**, 2436 (1928).

<sup>46)</sup> F. HUNZIKER & T. REICHSTEIN, Helv. **28**, 1472 (1945), vgl. frühere Lit. daselbst.

<sup>47)</sup> K. MEYER & T. REICHSTEIN, Helv. **30**, 1508 (1947).

Tabelle 8 (Fortsetzung)

Fleck- und Stoff- bezeichnung	Smp. [ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	$\lambda_{\max}$ (log $\epsilon$ ) in m $\mu$	Vermutl. Brutto- formel	Zucker- prüfung	Lit.
Di-O-acetyl-pachygenol (XV)	219–229° – 32,0 $\pm$ 3 (Me)	217 (4,26)	C <sub>27</sub> H <sub>36</sub> O <sub>7</sub>		15)
B' = Cymarın (XXI)	129–137° + 39,0 $\pm$ 2 (Me)	217 (4,17) 303 (1,48)	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>9</sub> + H <sub>2</sub> O	+	15) 48)
O-Acetyl-cymarın (XXII)	153–163°/175–180° + 49,4 $\pm$ 3 (Me)		C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>10</sub>		49)
HPU 31 = 3-Epi- uzarigenin (XXIV)	224–236° + 17,5 $\pm$ 3 (Chf)		C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	15)
Vergleichswerte nach Literatur					
Urezigenin natürl. teilsynth.	270–275° + 4,1 (Chf) 225–240° keine Drehung		C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	24) 25)
3-O-Acetyl-urezigenin	215–248° + 12 (Chf)		C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>		25)
Xysmalogenin	230–248° + 19; + 21 (Alk)		C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	–	24)
O-Acetyl-xysmalogenin	250–255° – 5,9 (Chf)		C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub>		24)
O-Acetyl-smalogenin	265–267°	217 –	C <sub>25</sub> H <sub>34–36</sub> O <sub>5</sub>		25)

Tabelle 9. Relative Laufstrecken im Papierchromatogramm<sup>9)</sup>

Substanz	System		
	I	II	III
	R <sub>Digitoxigenin</sub>	R <sub>Strophanthidin</sub>	R <sub>Uzarin</sub>
3-Epi-uzarigenin . . . . .	1,07		
Digitoxigenin . . . . .	1,00		
3-Epi-digitoxigenin . . . . .	0,87		
Uzarigenin . . . . .	0,83		
Cymarın . . . . .	–	2,61	
Xysmalogenin . . . . .	0,73	2,35	
Genin HPU 28 . . . . .	0,30	–	
Carpogenin . . . . .	0,25	1,82	
Pachygenin . . . . .	0,14	1,68	
Strophanthidin . . . . .	–	1,00	
Pachygenol . . . . .	~ 0	0,61	
Glykosid HPU 14 . . . . .			4,15
Pachomonosid (HPU 1) . . . . .			2,70
Uzarin . . . . .			1,00

System I = Be-Chf-(7:5)/An-Fmd-(3:1)

System II = Chf/An-Fmd-(3:1)

System III = To-Bu-(9:1)/W

48) J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **31**, 883 (1948).49) W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, *J. biol. Chemistry* **67**, 609 (1926) (Smp.); A. STOLL, J. RENZ & W. KREIS, *Helv.* **20**, 1487 (1937) (Drehung).

Tabelle 10. Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  (offen auf weisser Tüpfelplatte bei 20° stehen-gelassen)

Zeit	HPU 1 = Pachomonosid	HPU 3 = Uzarin	Uzarin <sup>24)</sup>	Glykosid HPU 14
0'	ocker	orange-rot	orange-rot	orange
10'	ocker	orange-rot, Rand violett	orange-rot, Rand violett	orange, Rand olivgrün
20'	ocker	blau	blau	blaugrün
1 Std.	ocker	grünblau	grünblau	grün
2 Std.	ocker	meergrün	meergrün	gelbgrün
3 Std.	aufgehellt bräunlich	meergrün	meergrün	schmutzig grün
5 Std.	aufgehellt bräunlich	olivgrün, Rand gelbgrün	olivgrün	ocker
24 Std.	aufgehellt bräunlich	ocker	ocker	
	A = Digitoxigenin		Acetat von A	
0'	blass hellgelb		farblos	
1'	gelb		blassgelb	
5'	dunkelgelb, Rand rötlich		gelb	
10'	orange, Rand rötlich		gelb, Rand grünlich	
15'	rot, Rand blaugrün		gelb, Rand blau	
30'	rotviolett, Rand grünlich-blau		grünstichig-blau	
40'	braun-violett		grünstichig-blau	
50'	braun-schwarz		grünlich-blau	
70'			hellgrün	
90'			blassgrün mit ocker Flocken	
	R = 3-Epi-digitoxigenin		Acetat von R	
0'	farblos		farblos	
1'	grünlich-gelb		grünstichig gelb	
2'	gelb		gelb	
5'	orange, Rand blau		gelb	
10'	orange, Rand breit blau		gelb, Rand orange	
15'	orange, Rand breit blau		orange, Rand blau	
20'	tiefblau		orange, Rand blau	
30'	grünlich-blau		orange-blau, Rand blau	
45'	grünblau		violett, Rand blau	
60'	grünlich mit ocker Flocken		blau	
80'	hellbraun		blau	
140'	hellbraun		grünlich-blau	
	HPU 9 = Uzarigenin		HPU 10 = 3-O-Acetyl-uzarigenin	
0'	farblos		gelb	
1'	gelb-orange		-	
10'	gelb-orange		gelb, Rand grün	
20'	gelb-orange		schmutzig grün	
25'	gelb-orange, Rand grün		blaugrün	

Tabelle 10. (Fortsetzung)

Zeit	HPU 9 = Uzarigenin	HPU 10 = 3-O-Acetyl-uzarigenin	
30'	–	blau	
1 Std.	meergrün	grünlich, Rand ocker	
2 Std.	blau	ocker	
3 Std.	blau mit kupferrotem Niederschlag		
24 Std.	ocker		
	B = Xysmalogenin	O-Acetyl-xysmalogenin	
0'	orange	orange	
1'	orange	orange	
10'	orange, Rand blau	orange, Rand blau	
20'	blau	blau	
40'	grünlich-blau	–	
60'	laubgrün	grünblau	
70'	–	grün	
80'	hellgrün		
120'	grünbraun		
	C = Carpogenin	O-Acetyl-carpogenin	HPU 28
0'	farblos	zitronengelb	zitronengelb
1'	gelb		
5'	gelb		
10'	gelb		gelb-orange;
20'	gelb, Rand blass		dieser Farbton bleibt
30'	grünstichig-gelb	gelb mit orange Stich	bestehen, verblasst
40'	grünstichig-gelb		allmählich
45'		orange	
60'	grüngelb		
75'		olivgrün	
80'	grüngelb		
140'	grüngelb		
	D = Pachygenin	O-Acetyl-pachygenin	E <sub>1</sub> = Pachygenol
0'	gelb	orange	gelb
1'	orange		orange
5'	rotbraun	braun	orange
10'	rotbraun		orange, Rand grünlich
15'	orange-braun		rotbraun, Rand grünlich
20'	orange-braun		braun, Rand grünlich
30'	orange-braun	beige-braun	braungrün, Rand blass
40'	rotviolett	braune Flocken	braungrün
60'	violett mit braunen Flocken		
80'	blassviolett mit braunen Flocken		
100'			braungrün
120'	braun		
180'			grünbraun, Rand rötlich

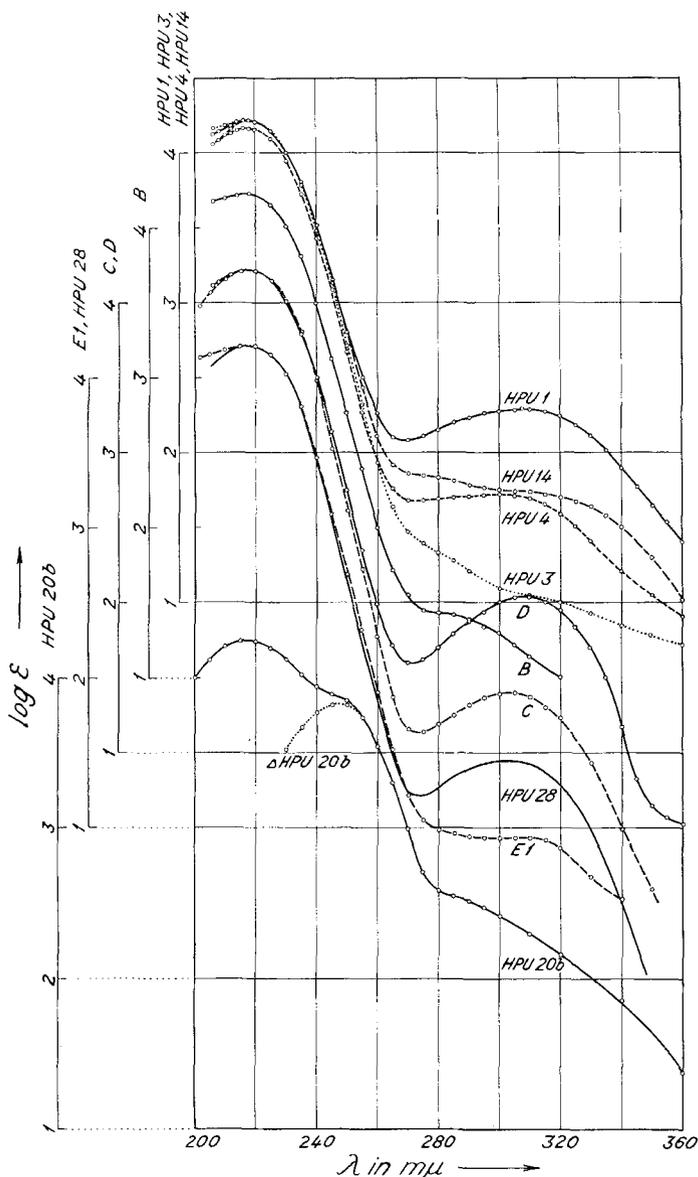


Fig. 16. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>50)</sup>

- Kurve HPU 28 = Genin HPU 28 (XIX), Smp. 151–153°, Maxima bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und bei 307 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 1,45$ ), ber. auf  $C_{23}H_{32}O_5 = 388,48$ .
- Kurve HPU 20b = Präparat HPU 20b, amorph aus Di-O-acetyl-pachygenin mit  $CrO_3$ , Maximum bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,24$ ).
- Kurve  $\Delta$ HPU 20b = Differenzkurve  $\log(\epsilon_{HPU\ 20b} - \epsilon_{Digitoxigenin})$ , Maximum bei 247 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 3,82$ ).

Kurve HPU 1 = Pachomonosid (XVII), Smp. 232,5–235°, Maxima bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und bei 307,5 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 2,29$ ), ber. auf  $C_{29}H_{40}O_{10} = 548,6$ .

Kurve HPU 14 = O-Acetyl-pachomonosid (?) (XVIII), Smp. 180–190°, Maxima bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,17$ ) und bei 298 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 1,72$ ), ber. auf  $C_{37}H_{48}O_{14} = 716,75$ .

Kurve HPU 3 = Uzarin (XVI), Smp. 206–208°, Maximum bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ), ber. auf  $C_{35}H_{54}O_{14} = 698,78$ .

Kurve HPU 14 = Glykosid HPU 14 (XX), Smp. 256–258°, Maximum bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und Schulter bei ca. 308 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 1,74$ ), ber. auf  $C_{29}H_{42}O_9 = 534,6$ .

Kurve B = Xysmalogenin (VII), Smp. 242–244°, Maximum bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ), ber. auf  $C_{23}H_{32}O_4 = 372,48$ .

Kurve C = Carpogenin (V), Smp. 255–257°, Maxima bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und bei ca. 305 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 1,40$ ), ber. auf  $C_{23}H_{32}O_5 = 388,48$ .

Kurve D = Pachygenin (XII), Smp. 215–217,5°, Maxima bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und bei 308,5 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 2,05$ ), ber. auf  $C_{23}H_{30}O_5 = 386,47$ .

Kurve E<sub>1</sub> = Pachygenol (XIV), Smp. 220–223°, Maximum bei 217 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ), ber. auf  $C_{23}H_{32}O_5 = 388,48$ .

<sup>50)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER mit einem Unicam SP-500-Spektrophotometer.

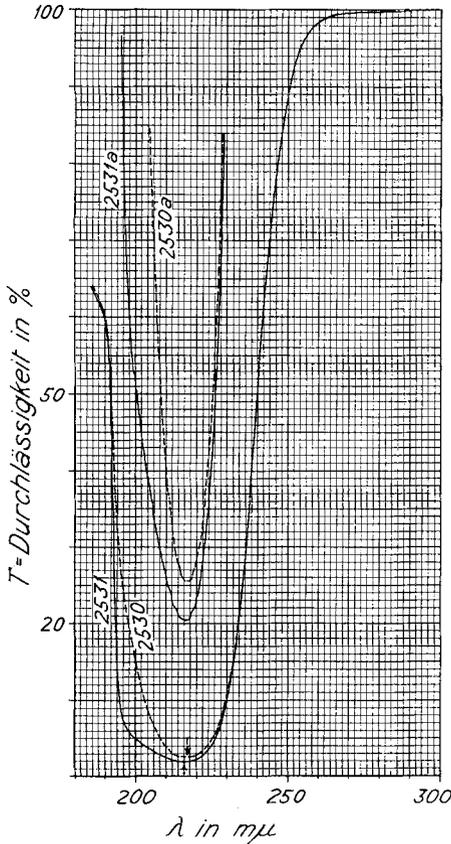


Fig. 16a

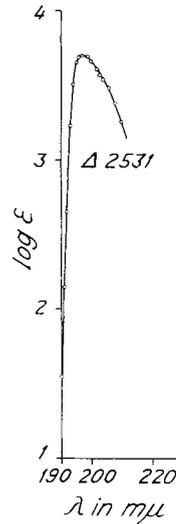


Fig. 16b

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol im kurzwelligen Gebiet<sup>51)</sup>

- Kurve 2531 = 3-O-Acetyl-xysmalogenin (VIII), Smp. 258–269°, Maximum bei 216  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,225$ ), ber. auf  $C_{25}H_{34}O_5 = 414,58$ .
- Kurve 2531 a = dasselbe, aber Ordinaten 10fach verkleinert.
- Kurve 2530 = 3-O-Acetyl-uzarigenin (XI), Smp. 257–261°, Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $C_{25}H_{36}O_5 = 416,60$ . Der langwellige Ast deckt sich mit Kurve 2531.
- Kurve 2530 a = dasselbe, aber Ordinaten 10fach verkleinert.
- Kurve  $\Delta 2531$  = Differenzkurve  $\log (\epsilon_{3-O-Acetyl-xysmalogenin} - \epsilon_{3-O-Acetyl-uzarigenin})$ , Maximum bei 197,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,70$ )<sup>52)</sup>.

<sup>51)</sup> Aufgenommen von den Herren K. STICH & G. ROTZLER in einem selbstregistrierenden Spektrophotometer, Modell Beckman DK 2 mit ausgesuchter Optik in  $N_2$ -Atmosphäre. Kompensationsfehler  $< 1\%$  bei 100% Durchlässigkeit.  $T = J/J_0 \cdot 100$ <sup>53)</sup>. Aus T ist der molare Extinktionskoeffizient  $\epsilon$  nach folgender Formel zu berechnen:  $\epsilon = 1/(c \cdot d) \log 100/T$ . Hier war c immer genau 0,001 Mol pro Liter und d = 0,101 cm.

<sup>52)</sup> Berechnet man in gleicher Weise die Differenzkurve zwischen 3-O-Acetyl-xysmalogenin und 3-O-Acetyl-digitoxigenin, so ergibt sich ein ganz ähnliches Maximum bei 197  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,62$ ).

<sup>53)</sup> Über die genauere Aufnahmetechnik vgl. den Artikel von K. STICH, G. ROTZLER & T. REICHSTEIN, der demnächst erscheint.

Von den isolierten Stoffen konnten A (Digitoxigenin), R (3-Epi-digitoxigenin), B (Xysmalogenin)<sup>55</sup>, sowie die nur in kleinen Mengen aus Probe b erhaltenen Stoffe Uzarin und Uzarigenin und das nur aus Probe f) isolierte B' (Cymarin) mit authentischem Material identifiziert werden<sup>54</sup>). In allen Fällen (ausser beim Uzarin, das kein krist. O-Acetylderivat liefert) wurden auch die krist. O-Acetylderivate bereitet und in gleicher Weise mit authentischem Material verglichen. Die anderen Substanzen konnten mit keinen bekannten Stoffen identifiziert werden. Sie erhielten neue Namen. Alle in Kristallen isolierten Stoffe werden im folgenden kurz besprochen.

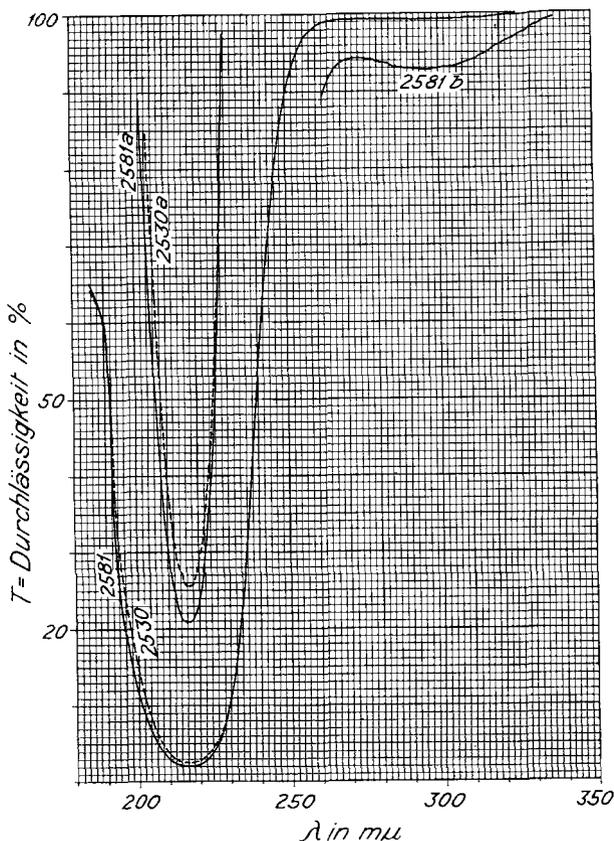


Fig. 16c. UV.-Absorptionsspektren im kurzwelligen Gebiet<sup>51</sup>)

- Kurve 2581 = Carpogenin (V), Smp. 256–265°, Maxima bei 216  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und bei 296  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 1,51$ ), ber. auf  $C_{23}H_{30}O_5 = 388,49$ .  
 Kurve 2581 a = dasselbe mit 10fach verkleinerten Ordinaten.  
 Kurve 2581 b = dasselbe mit 10fach gedehnten Ordinaten.  
 Kurve 2530 = 3-O-Acetyl-uzarigenin (XI), Smp. 257–261°, Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,20$ ), ber. auf  $C_{25}H_{36}O_5 = 416,60$ .  
 Kurve 2530 a = dasselbe mit 10fach verkleinerten Ordinaten.

<sup>54</sup>) Bei Identifizierungen bedeutet «übl. Krit.» (= nach üblichen Kriterien), dass der Stoff nach Smp., Drehung, Mischprobe, Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  und Laufstrecke im Papierchromatogramm mit dem Vergleichsmaterial identisch war. Wo erwähnt, wurden auch die IR.-Absorptionsspektren aufgenommen und genau verglichen.

*Pachomonosid* (= *Subst. HPU1*) (XVII). Dieser Stoff erwies sich als methoxylfrei. Die Analyse passte auf  $C_{29}H_{40}O_{10}$ , ebenso die Höhe des kurzwelligen Maximums im UV. (vgl. Kurve HPU1 in Fig. 16). Daneben war im UV. bei ca. 307  $m\mu$  ein weiteres Maximum sichtbar, dessen Extinktion ( $\log \epsilon = 2,29$ ) für eine isolierte Aldehyd- oder Ketogruppe aber auffallend hoch ist. Diese Anomalität könnte durch die isolierte Doppelbindung verursacht sein, die die Molekel enthält (vgl. Pachygenin). Aus den Mutterlaugen des Pachomonosids liess sich ein krist. O-Acetylderivat (XVIII) gewinnen, dessen Carbonyl-Maximum im UV. bei 298  $m\mu$  lag und nur ein

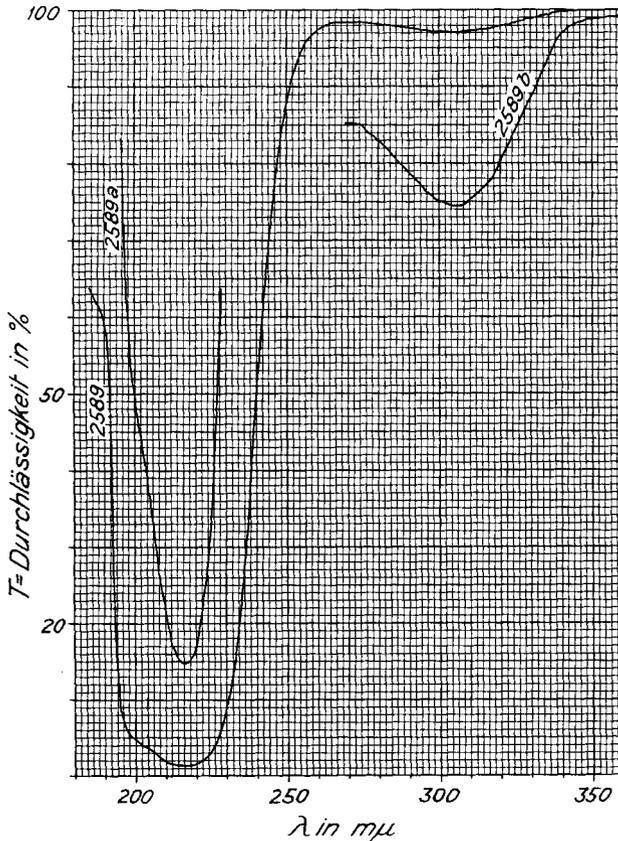


Fig. 16d

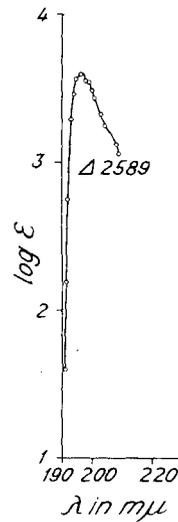


Fig. 16e

UV.-Absorptionsspektren im kurzwelligen Gebiet<sup>51)</sup>

- Kurve 2589 = O-Acetyl-pachygenin (XIII), Smp. 278–286°, Maxima bei 216  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,26$ ) und bei ca. 305  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,10$ ), ber. auf  $C_{25}H_{32}O_6 = 428,50$ .
- Kurve 2589a = dasselbe mit 10fach verkleinerten Ordinaten.
- Kurve 2589b = dasselbe mit 10fach gedehnten Ordinaten.
- Kurve  $\Delta 2589$  = Differenzkurve  $\log (\epsilon_{O\text{-Acetyl-pachygenin}} - \epsilon_{3\text{-O-Acetyl-strophanthidin}})$ , Maximum bei 197  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,61$ ).

$\log \epsilon = 1,77$  zeigte; es ist daher unsicher, ob ein Derivat des Pachomonosids vorlag. Mit TAKA-Amylase<sup>21)</sup> liess sich Pachomonosid wie erwähnt leicht spalten. Obwohl auf die Isolierung des Zuckers verzichtet werden musste, ist kaum ein Zweifel mög-

lich, dass es sich um D-Glucose gehandelt hat. Das erwähnte Genin war mit Pachygenin (D, siehe unten) identisch. Aus der molekularen Drehung folgt, dass Pachomonosid, entsprechend der Regel von KLYNE<sup>55)</sup>, ein  $\beta$ -D-Glucosid darstellt.

Glykosid HPU3 erwies sich als identisch mit Uzarin (XVI). Der Abbau mit TAKA-Amylase<sup>21)</sup> lieferte dementsprechend das bekannte Uzarigenin (X).

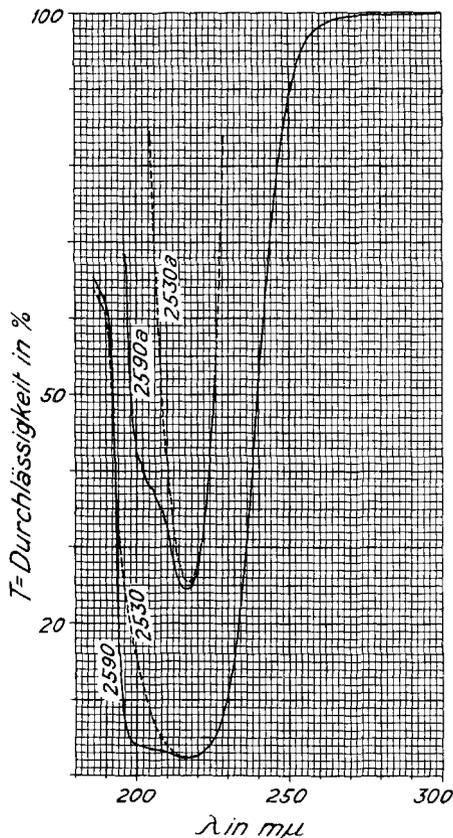


Fig. 16f

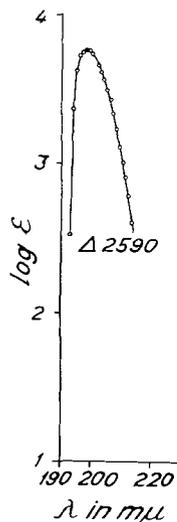


Fig. 16g

UV.-Absorptionsspektren im kurzwelligen Gebiet<sup>51)</sup>

- Kurve 2590 = Di-O-acetyl-pachygenol (XV), Smp. 219–229°, Maximum bei 216,5 mμ (log ε = 4,20), ber. auf C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub> = 472,55.  
 Kurve 2590a = dasselbe mit 10fach verkleinerten Ordinaten.  
 Kurve Δ2590 = Differenzkurve log (ε<sub>Di-O-acetyl-pachygenol</sub> - ε<sub>β-O-Acetyl-uzarigenin</sub>), Maximum bei 198 mμ (log ε = 3,76).

Glykosid HPU14 (XX) ist vermutlich ein neuer Stoff; da er aber ungenügend charakterisiert ist, wurde auf eine besondere Benennung vorläufig verzichtet. Nach dem UV.-Absorptionsspektrum (vgl. Kurve HPU14 in Fig. 16) dürfte er eine Aldehyd- oder Ketogruppe enthalten.

Subst. A (WS12) wurde mit Digitoxigenin (I) identifiziert.

<sup>55)</sup> W. KLYNE, Biochem. J. 47, xli (1950).

*Subst. R* (WS14) war identisch mit 3-Epi-digitoxigenin (III). IR.-Absorptionsspektren vgl. Fig. 17.

*Subst. B* (WS 1 = HPU11) wurde erst nach Abschluss dieser Arbeit mit dem Xysmalogenin von TSCHESCHE & BRATHGE<sup>24)</sup> identifiziert<sup>17)</sup>, für das TSCHESCHE, RÜHSEN & SNATZKE<sup>25)</sup> eine Teilformel mit anomalem Bau vorgeschlagen haben.

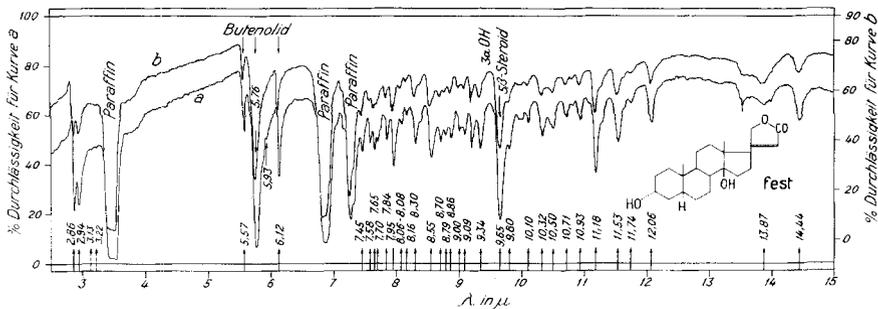


Fig. 17. IR.-Absorptionsspektren von 3-Epi-digitoxigenin (III)

Fest in Paraffinöl mit NaCl-Prisma<sup>56)</sup>. Kurve a = Präparat R aus *Pachycarpus schinzianus*; Kurve b = Vergleichspräparat, synthetisch<sup>16)</sup>

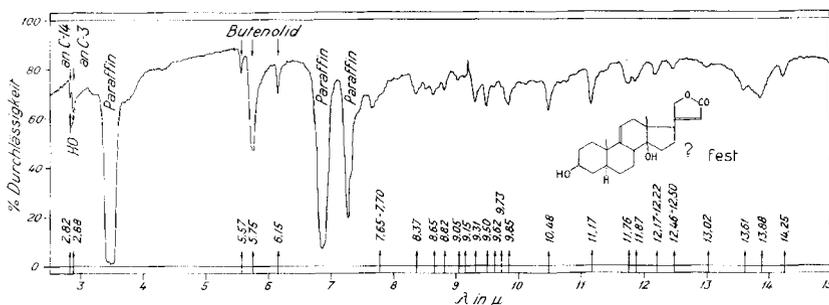


Fig. 18. IR.-Absorptionsspektrum von Xysmalogenin (VII) aus *Pachycarpus schinzianus* Fest in Paraffinöl mit NaCl-Prisma<sup>56)</sup>.

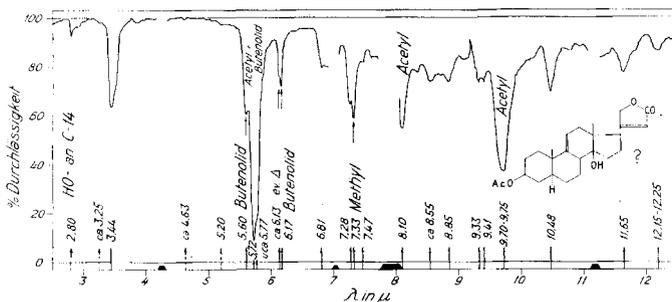


Fig. 19. IR.-Absorptionsspektrum von 3-O-Acetyl-xysmalogenin (VIII) aus *Pachycarpus schinzianus* 0,0525-m. in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  mit NaCl-Prisma<sup>56)</sup>

<sup>56)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER in einem PERKIN-ELMER-Double beam IR.-Spectrophotometer, Modell 21.

Entgegen der Vermutung dieser Autoren enthält der Stoff aber ausser dem Butenolidring noch eine isolierte Doppelbindung, ist sonst aber normal gebaut. Er besitzt Formel VII, in der lediglich die Lage der isolierten Doppelbindung noch nicht gesichert ist. Die Formel stützt sich auf folgende Befunde: Die Analyse passte auf die Zusammensetzung  $C_{23}H_{32}O_4$ . Das UV.-Absorptionsspektrum (Kurve B in Fig. 16) zeigte ein Maximum, dessen Höhe mit dem errechneten Molekulargewicht gut in

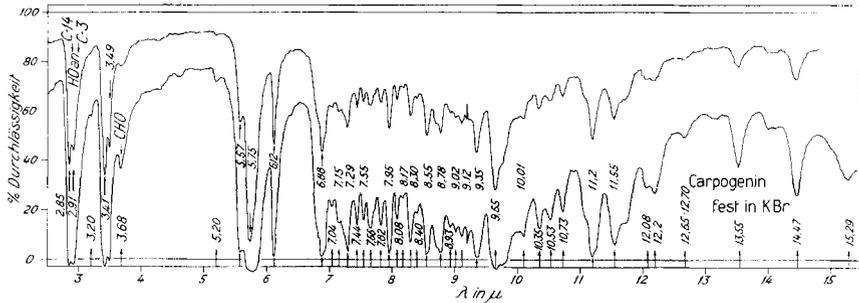


Fig. 20. IR.-Absorptionsspektrum von Carpogenin (V)  
Fest in KBr mit NaCl-Prisma<sup>57</sup>); 1,15 und 4,83 mg pro Pastille

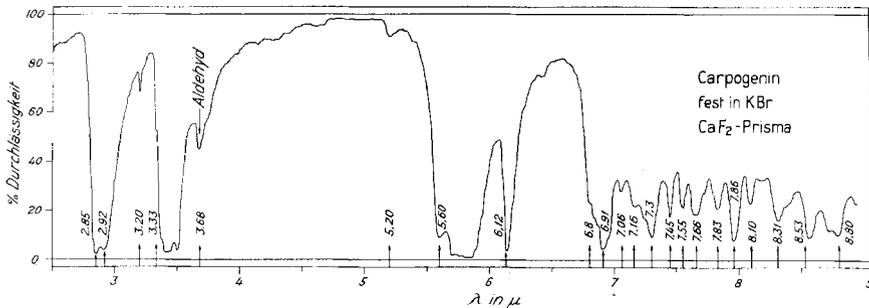


Fig. 20a. IR.-Absorptionsspektrum von Carpogenin (V)  
Fest in KBr mit CaF<sub>2</sub>-Prisma<sup>57</sup>); 4,83 mg pro Pastille

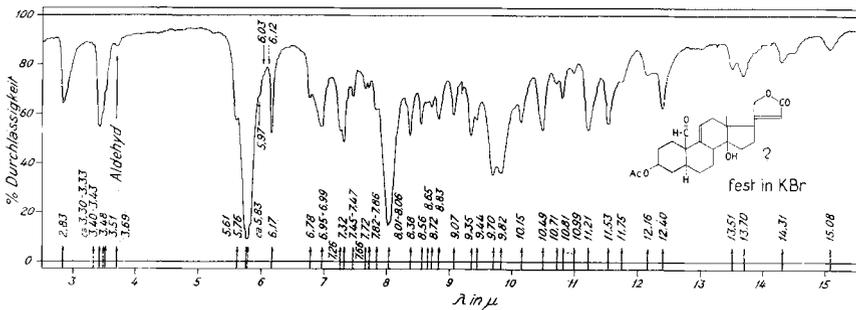


Fig. 21. IR.-Absorptionsspektrum von O-Acetyl-pachygenin (XIII)  
Fest in KBr mit NaCl-Prisma<sup>57</sup>); 1 mg pro Pastille

<sup>57</sup>) Aufgenommen von den Herren K. STICH & G. ROTZLER in demselben Apparat. Die in KBr aufgenommenen Proben wurden nicht vibriert<sup>58</sup>).

<sup>58</sup>) Über den Einfluss des Vibrierens vgl. G. ROBERTS, Anal. Chemistry 29, 911 (1957).

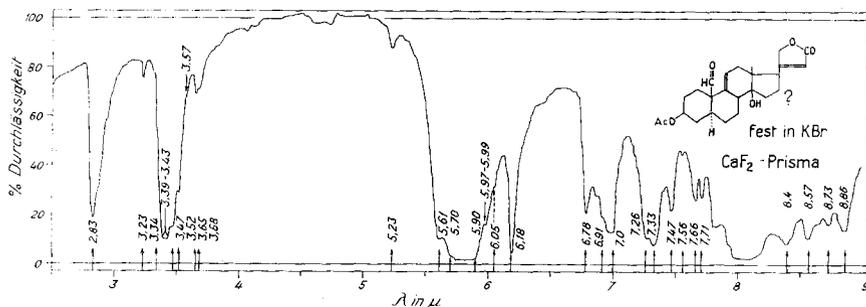


Fig. 21 a. IR.-Absorptionsspektrum von *O*-Acetyl-pachygenin (XIII) Fest in KBr mit CaF<sub>2</sub>-Prisma<sup>57</sup>); 3,85 mg pro Pastille

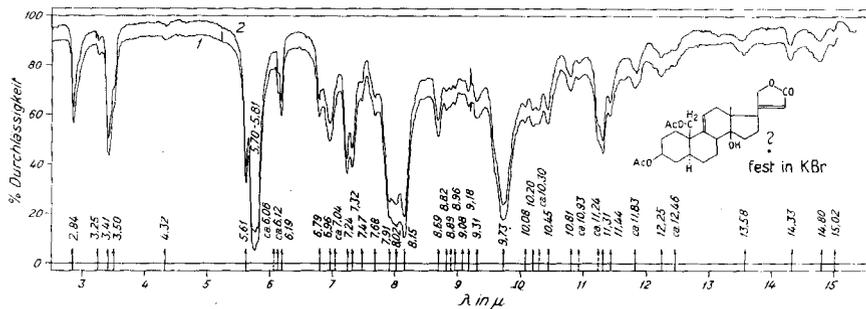


Fig. 22. IR.-Absorptionsspektrum von *Di-O*-acetyl-pachygenol (XV)

Fest in KBr mit NaCl-Prisma<sup>57</sup>). Kurve 1 = Präparat erhalten durch Acetylierung von Genin E<sub>1</sub>, direkt isoliert aus *Pachycarpus schinzianus*. Kurve 2 = Präparat erhalten durch Acetylierung von Pachygenol aus Pachygenin mit NaBH<sub>4</sub>. Je 1 mg pro Pastille

Einklang steht. Ein praktisch gleiches UV.-Absorptionsspektrum zeigte das krist. 3-*O*-Acetyl-xysmalogenin (VIII). Dieses gab aber mit Tetranitromethan eine sehr deutliche Gelbfärbung und bei genauer Aufnahme des kurzwelligen Gebietes<sup>59</sup>) die in Fig. 16 a (Kurven 2531 und 2531 a) wiedergegebene Absorption. Die Kurven 2530 und 2530 a geben zum Vergleich die unter genau denselben Bedingungen erhaltene Absorption von 3-*O*-Acetyl-uzarigenin (XI). Es ist sofort ersichtlich, dass die Kurve von 3-*O*-Acetyl-xysmalogenin unsymmetrisch ist und offenbar zwei unabhängigen chromophoren Systemen entspricht, wobei der langwellige Ast mit der Absorption des 3-*O*-Acetyl-uzarigenins zusammenfällt. Unter der Annahme, dass dieser Teil der Kurve von einem normalen Butenolidring herrührt, lässt sich das versteckte kurzwellige Maximum leicht errechnen, wenn man die Differenzkurve (vgl. Fig. 16 b) konstruiert. Diese ergibt ein Maximum bei ca. 197–197,5 mμ, log ε = 3,62. Eine solche Absorption ist für Steroide mit dreifach substituierter Doppelbindung charakteristisch<sup>59</sup>). 3-*O*-Acetyl-xysmalogenin (VIII) nahm bei der Hydrierung mit Pt in Eisessig zwei Mol. Wasserstoff auf. Das krist. Hydrierungsprodukt war mit 3-*O*-Acetyl-dihydro-uzarigenin (IX) identisch<sup>60</sup>). Die IR.-Absorptionsspektren von Xys-

<sup>59</sup>) Von Δ<sup>9</sup>:<sup>11</sup>-Steroiden haben wir bisher als Modelle nur solche mit 5β-Konfiguration gemessen. Sie zeigten in Alkohol ein Maximum bei 197,5 mμ, log ε = 3,84.

<sup>60</sup>) Diese Reaktion und die Identifizierung des Hydrierungsproduktes ist zuerst von Herrn A. KURITZKES an einem Präparat aus *Xysmalobium undulatum* ausgeführt worden<sup>17</sup>).

malogenin (VII) (Fig. 18) und von 3-O-Acetylxysmalogenin (VIII) (Fig. 19) sind mit dieser Formel vereinbar. Es ist von Interesse, dass die Banden der 3-O-Acetyl-Gruppe wenigstens bis zu ca.  $10 \mu$  im wesentlichen gleich liegen wie bei gesättigten  $3\beta$ -Acetoxy- $5\alpha$ -steroiden<sup>42)</sup>61). Die isolierte Doppelbindung hat auf ihre Lage offenbar keinen grossen Einfluss<sup>62)</sup>. Xysmalogenin wurde von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig relativ schwer angegriffen, doch muss diese Reaktion noch genauer geprüft werden.

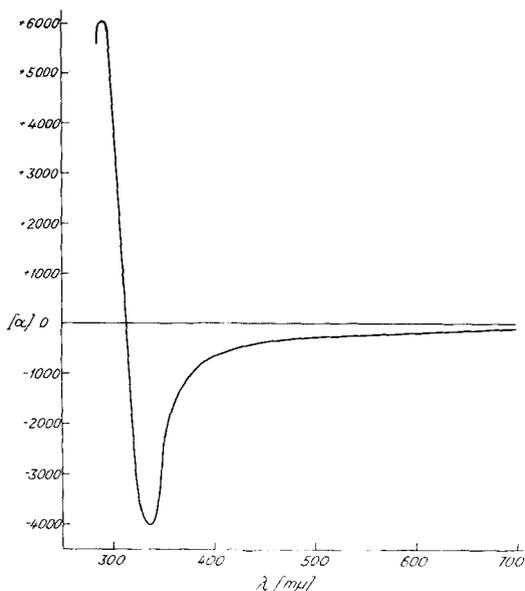


Fig. 23. *Optische Rotationsdispersion*<sup>63)</sup> von *Pachygenin* (XII)  
In Dioxan (700–310  $m\mu$ :  $c = 0,055$ ; 320–285  $m\mu$ :  $c = 0,011$ ),  $25^\circ$

*Subst. C* = Carpogenin (V) (WS15 = HPU 23). Dieser nur in kleiner Menge erhaltene Stoff gab Analysenwerte, die auf die Formel  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$  passten. Im UV. (vgl. Kurve C in Fig. 16) war neben dem Butenolid-Maximum ein zweites bei ca. 305  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 1,40$ ) sichtbar, das auf eine isolierte Carbonylgruppe (insbesondere eine Aldehydgruppe) deutet. Bei genauer Aufnahme des kurzwelligen Gebietes (vgl. Fig. 16c)<sup>59)</sup> ist zwar eine ganz leichte Asymmetrie der Kurve erkennbar; sie dürfte aber von einer Aldehydgruppe und nicht von einer isolierten Doppelbindung herühren. Eine praktisch gleiche Absorptionskurve liefert nämlich unter denselben Bedingungen Strophanthidin. Die Konstruktion einer Differenzkurve ist unter diesen Umständen mit einem zu grossen Fehler behaftet, um eine brauchbare Aussage über die wahre Absorption des kurzwelligen Chromophors (Aldehydgruppe) zu gestatten<sup>64)</sup>. Trotzdem glauben wir, dass dies Resultat die Anwesenheit einer min-

61) Ausser den zwei starken Banden bei ca. 8,10 und 9,70–9,75  $\mu$  sind auch noch schwache Banden bei 7,72, 8,55, 8,85 und 9,33  $\mu$  sichtbar. Von den «Schlüsselbanden», die diese Autoren<sup>42)</sup> angeben (1152 und 1133  $\text{cm}^{-1}$ ) ist die erstgenannte (bei ca. 8,71  $\mu$ ) allerdings höchstens angedeutet.

62) Dies ist für die Beurteilung der Spektren von Pachygenin und Pachygenol nützlich.

63) Wir danken Herrn Prof. C. DJERASSI für die Messung der Rotationsdispersion.

64) In alkoholischer Lösung ist unterhalb 195  $m\mu$  das Streulicht so stark, dass die Werte unzuverlässig werden.

destens dreifach-substituierten, isolierten C=C-Doppelbindung weitgehend ausschliesst.

Im IR.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 20 und 20a) sind bei  $2,85 \mu$  und  $2,91 \mu$  zwei HO-Gruppen sichtbar, ein entsprechendes Dublett findet sich bei  $9,65 \mu$  und ca.  $9,75 \mu$ . Das Fehlen einer Bande bei  $9,98$ – $10,0 \mu$  schliesst die Anwesenheit einer  $3\alpha$ -Hydroxy- $5\alpha$ -Gruppierung aus<sup>42</sup>). Von den Banden des Butenolidringes ( $5,57 \mu$ , ca.  $5,75 \mu$  und  $6,12 \mu$ )<sup>65</sup>) scheint die mittlere (Hauptbande) zusammengesetzt und muss auch die Absorption der Carbonylgruppe enthalten, entspr. einer Aldehydgruppe oder einem Sechsring-Keton. Die in starker Konzentration sehr deutliche Bande bei  $3,68 \mu$  zeigt, dass es sich tatsächlich um eine Aldehydgruppe handelt. Von den kurzwelligen Banden der C-H-Region ist diejenige bei  $3,20 \mu$  (besonders deutlich bei Aufnahme mit  $\text{CaF}_2$ -Prisma, vgl. Fig. 20a) für den Butenolidring charakteristisch<sup>66</sup>). Sichere Anzeichen für das Vorliegen einer zusätzlichen Doppelbindung sind nicht sichtbar<sup>67</sup>). Ein Versuch zur Aufnahme der Rotationsdispersion gab kein brauchbares Resultat<sup>68</sup>). Carpogenin ist offenbar isomer mit Corotoxigenin<sup>68</sup>); im Papierchromatogramm (Nr. 18 in Fig. 6 und 13) lief es ein wenig schneller wie dieses, mit Tetranitromethan zeigte es keine Gelbfärbung. Carpogenin lieferte ein krist. O-Acetyl-Derivat  $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_6$  (VI), das sich mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig zu einer amorphen Säure oxydieren liess, deren Methylester bisher ebenfalls nicht kristallisierte.

*Subst. HPU 28 (XIX).* Dieser Stoff erwies sich als Genin und zeigte ausser einem erheblich tieferen Smp. und einer etwas grösseren Laufstrecke im Papierchromatogramm sehr ähnliche Eigenschaften wie Carpogenin. Auch die Analysenwerte und das UV.-Absorptionsspektrum (Kurve HPU 28 in Fig. 16) waren praktisch identisch und die IR.-Absorptionsspektren äusserst ähnlich. Die Differenzierung ist aber noch ungenügend, und daher wird vorläufig kein besonderer Name für diesen Stoff vorgeschlagen. Wir glauben aber, dass HPU 28 nicht mit Carpogenin identisch, sondern damit isomer ist.

*Subst. D = Pachygenin (XII) (WS 2 = HPU 2 = HPU 17).* Die Analyse dieses neuen Stoffes passte auf  $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_5$ . Er zeichnet sich durch eine auffallend starke Linksdrehung aus. Pachygenin lieferte ein krist. O-Acetyl-Derivat  $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_6$  (XIII). Im UV.-Absorptionsspektrum des Pachygenins (vgl. Kurve D in Fig. 16) ist neben dem Maximum des Butenolidringes wieder ein zweites bei ca.  $308 \text{ m}\mu$  mit auffallend hoher Extinktion ( $\log \epsilon = 2,05$ ) sichtbar. Die Lage entspricht einer Aldehydgruppe. Bei genauer Messung des kurzwelligen Gebietes<sup>53</sup>) (am O-Acetyl-Derivat ausgeführt

<sup>65</sup>) Dazu gehören noch vermutlich Banden bei ca.  $3,23$  (sehr schwach),  $7,66$  (schwach) und ca.  $12,12$ – $12,25 \mu$ .

<sup>66</sup>) Diese Bande findet sich bei  $3,23 \mu$  sehr deutlich auch in den Spektren von 3-O-Acetyl-uzarigenin und 3-O-Acetyl-digitoxigenin in KBr, wenn ca.  $4,5$ – $5 \text{ mg}$  pro Tablette verwendet werden. Wir vermuten, dass sie der C-H-Schwingung an C-22 entspricht.

<sup>67</sup>) Unsicher ist die Deutung der kleinen Zacke bei  $3,33 \mu$ , die nur in Fig. 20a sichtbar ist. Der Lage nach entspricht sie genau einer normalen C-H-Schwingung an C=C-Doppelbindung. In den IR.-Absorptionsspektren von 3-O-Acetyl-uzarigenin und 3-O-Acetyl-digitoxigenin in KBr ist sie nicht sichtbar, auch wenn dieselbe hohe Konzentration ( $4,7 \text{ mg}$  pro Pastille) und das Auflösungsvermögen des  $\text{CaF}_2$ -Prismas verwendet werden. Trotzdem können wir diese schwache Bande beim Carpogenin nicht als Beweis für das Vorliegen einer zusätzlichen Doppelbindung anerkennen.

<sup>68</sup>) A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 1073 (1952) und frühere Lit. daselbst.

vgl. Fig. 16d) wurde eine Kurve erhalten, die derjenigen des 3-O-Acetyl-xysmalogenins (Kurve 2531 in Fig. 16a) äusserst ähnlich ist und auf das Vorliegen einer isolierten Doppelbindung deutet. Die Konstruktion einer Differenzkurve (vgl. Fig. 16e) gab hier ein Maximum bei  $197\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,61$ ), das der ungefähren Absorption der Doppelbindung entsprechen sollte. Im IR. (Fig. 21 und 21a) zeigte 3-O-Acetyl-pachygenin (XIII) bei  $2,83\ \mu$  die Absorption der tertiären HO-Gruppe. Bei den Banden des Butenolidringes ( $3,23\ \mu$  [nur in Fig. 21a sichtbar],  $5,61\ \mu$ , ca.  $5,73\text{--}5,79\ \mu$  und  $6,17\ \mu$ ) enthält die mittlere auch noch die Absorption der Acetylgruppe (ca.  $5,76\ \mu$ ). Ferner ist zwischen  $5,81\ \mu$  und  $5,83\ \mu$  eine deutliche Schulter sichtbar, die einer isolierten Carbonylgruppe (Sechsring-ke-ton oder Aldehyd) entspricht. Die schwache, aber in hoher Konzentration sehr deutliche Bande bei ca.  $3,68\ \mu$  zeigt, dass es sich um eine Aldehydgruppe handelt. Ob die schwache Schulter bei ca.  $3,34\ \mu$  von der isolierten Doppelbindung herrührt, ist unsicher (vgl. eine ähnliche Zacke beim Carpogenin und Fussnote 67). Hingegen glauben wir, dass die kleine Zacke bei  $6,05\ \mu$  (in Fig. 21a) der C-H-Schwingung an C-11, also einer  $\Delta^{9:11}$ -Doppelbindung entsprechen könnte. Von den Banden, die sich der Acetoxygruppe zuordnen lassen, deutet die Form der  $8,01\text{--}8,05\ \mu$ -Bande auf äquatoriale Stellung. Die kleinen Banden bei  $7,72$ ,  $8,56$ ,  $8,65$  und  $8,83\ \mu$  sprechen für das Vorliegen eines  $3\beta$ -Acetoxy- $5\alpha$ -steroids<sup>42</sup>). Auch das negative Acetylierungsincrement der molekularen Drehung<sup>69</sup>) wäre mit einer solchen Konfiguration vereinbar. Weder Pachygenin noch sein 3-O-Acetyl-Derivat XIII gaben mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Trotzdem enthält Pachygenin eine isolierte Doppelbindung, wie sich aus dem UV.-Absorptionsspektrum und der Reduktion zu Pachygenol (siehe unten) eindeutig ergibt. Die hohe Extinktion der Aldehydgruppe im UV. deutet darauf hin, dass diese Doppelbindung sich in der Nähe dieser Aldehydgruppe, vielleicht in Homokonjugation mit ihr (z. B. wie in den Formeln XII und XIII) befindet. Dadurch wird offenbar auch die Komplexbildung mit Tetranitromethan sehr weitgehend abgeschwächt oder verhindert<sup>70</sup>). Die Rotationsdispersion<sup>63</sup>) (vgl. Fig. 23) zeigte einen einfachen negativen<sup>71</sup>) COTTON-Effekt. Sie ist ähnlich, aber quantitativ verschieden von derjenigen des Strophanthidins<sup>72</sup>). 3-O-Acetyl-pachygenin (XIII) war schwer hydrierbar und nahm nur 1 Mol.  $\text{H}_2$  leicht auf. Relativ glatt gelang die Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$ . Es wurde dabei ein krist. Stoff erhalten, den wir Pachygenol (XIV) nennen und der sich als identisch mit der folgenden Subst.  $\text{E}_1$  erwies. IR.-Absorptionsspektren der Di-O-acetyl-Derivate vgl. Fig. 22.

3-O-Acetyl-pachygenin (XIII) wurde von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig langsam angegriffen, wobei auffallenderweise sehr wenig Säure entstand. Aus dem Gemisch der erhaltenen Neutralstoffe liess sich durch Chromatographie ein noch unreines, aber krist. Präparat HPU20 abtrennen, das im UV.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei ca.  $247\text{ m}\mu$  zeigte und daher eine  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Ketongruppierung enthalten dürfte. Ein noch etwas schwerer eluierbares amorphes Präparat (HPU20b) aus diesem Versuch zeigte dieselbe Bande noch etwas stärker (vgl. Kurve HPU20b in Fig. 16).

<sup>69</sup>) D. A. R. BARTON & W. KLYNE, Chemistry & Ind. **26**, 755 (1948).

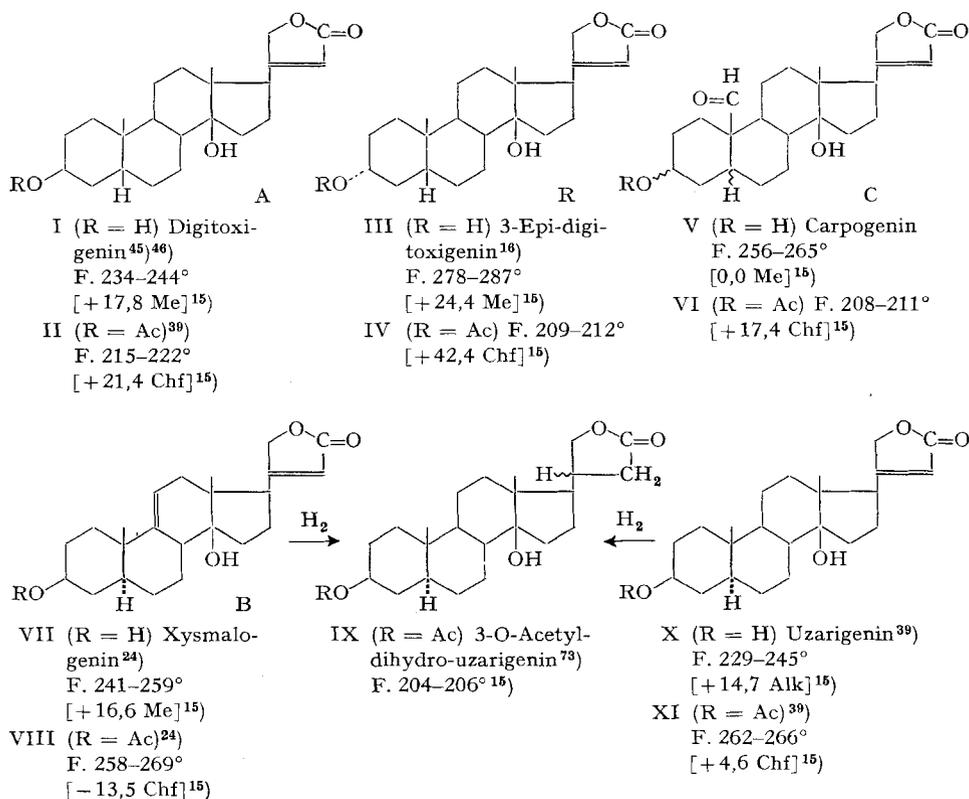
<sup>70</sup>) Möglicherweise ist die stark negative Drehung auch durch diese Homokonjugation bedingt.

<sup>71</sup>) Definition vgl. C. DJERASSI & W. KLYNE, Proc. chem. Soc. **1957**, 55.

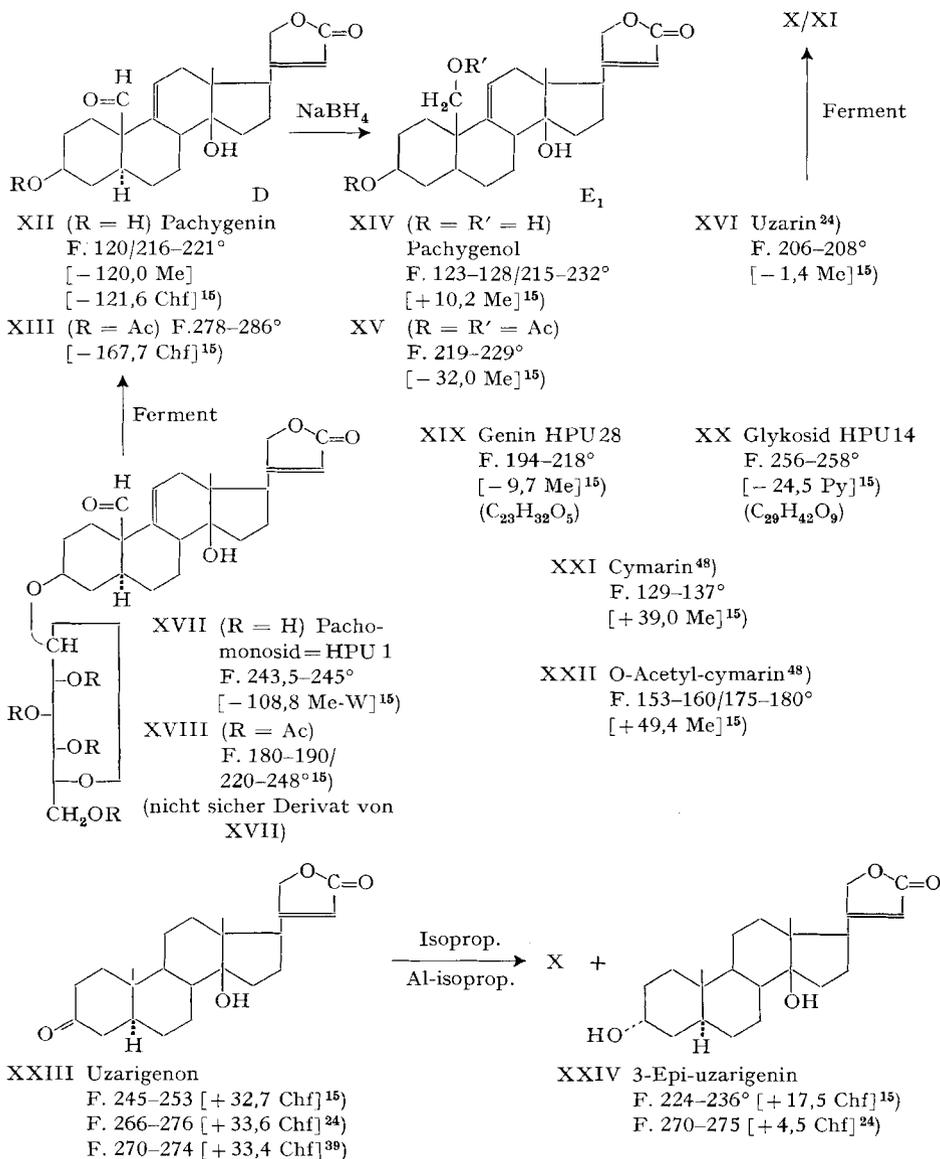
<sup>72</sup>) C. DJERASSI, O. HALPERN, V. HALPERN, O. SCHINDLER & CH. TAMM, Helv. **41**, 250 (1958), und weitere Lit. daselbst.

*Subst. E<sub>1</sub>* = Pachygenol (XIV) (WS5 = HPU25). Die Analysen dieses Stoffes passten auf C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>. Im UV. (Kurve E<sub>1</sub> in Fig. 16) war nur das Maximum des Butenolidringes sichtbar, wobei aber der kurzwellige Ast kaum abfiel, was bereits auf eine isolierte Doppelbindung deutet. Acetylierung lieferte das krist. Di-O-acetyl-pachygenol (XV) C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub>. Dieses gab mit Tetranitromethan eine sehr deutliche Gelbfärbung und nahm bei der Hydrierung 2 Mol. Wasserstoff auf. Das Hydrierungsprodukt kristallisierte bisher nicht. Die genaue Messung des kurzwelligen UV.-Absorptionsspektrums (vgl. Fig. 16f) bestätigt die Anwesenheit einer isolierten tri-substituierten Doppelbindung. Die Konstruktion einer Differenzkurve (vgl. Fig. 16g) gab ein Maximum bei 198 mμ, log ε = 3,76, das mit einer Δ<sup>9:11</sup>-Doppelbindung (wie in den Formeln XIV und XV) wohl vereinbar wäre. Im IR.-Absorptionsspektrum (vgl. Fig. 22) des Di-O-acetyl-pachygenols ist bei 2,84 μ die tertiäre HO-Gruppe deutlich. Die Bande einer Aldehydgruppe (bei 3,68 μ) fehlt erwartungsgemäss. Dagegen sind bei ca. 6,06 und 6,12 μ zwei schwache Banden sichtbar, die möglicherweise von der isolierten Doppelbindung herrühren könnten. Gegen CrO<sub>3</sub> war Di-O-acetyl-pachygenol (XV) bei 20° einige Zeit beständig.

*Subst. E<sub>2</sub>*. Dieser Stoff wurde bisher nur in sehr geringer Menge rein isoliert und nicht untersucht.



<sup>73</sup>) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 730 (1952).



Die Formeln V, VI, XII, XIII, XIV und XV haben bisher nur spekulativen Charakter. In VII ist die Lage der isolierten Doppelbindung nicht bewiesen.

Ac =  $\text{CH}_3\text{C}(=\text{O})$ . Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln an.

*Subst. E<sub>3</sub>*. Auch dieser Stoff wurde bisher nur in sehr kleiner Menge isoliert und nicht untersucht.

*Subst. B'* wurde mit Cymar identifiziert und als krist. O-Acetyl-derivat charakterisiert. Der Stoff wurde nur in kleiner Menge aus Probe f) erhalten.

Die genannten Befunde erlauben, den isolierten Stoffen die in den Formeln I–XXIV wiedergegebene Konstitution zuzuerteilen, wobei aber V, VI, XII, XIII, XIV, XV, XVII und XVIII noch rein hypothetischen Charakter haben und sich vorwiegend auf Analogien stützen.

### Diskussion der Ergebnisse

Die bisherigen Versuche zeigen, dass *Pachycarpus schinzianus* ein Gemisch digitaloider Aglykone und Glykoside produziert, von denen die letzteren (bis auf Cymarins)<sup>74)</sup> dieselben Aglykone enthalten, wie sie auch in freiem Zustand aufgefunden wurden. Die Hauptmenge der Glykoside scheint als Zucker ausschliesslich D-Glucose zu enthalten und lässt sich dementsprechend mit geeigneten Glucosidasen (Hepato-pankreas-saft der Weinbergschnecke (*Helix pomatia*), Fermentgemisch aus *Aspergillus oryzae* usw.) bis zur Geninstufe spalten. Glykoside dieses Typs wurden auch in anderen Asclepiadaceen gefunden, so in *Xysmalobium undulatum*<sup>6)</sup>, *Periploca nigrescens*<sup>75)</sup> und *Glossostelma spatulatum*<sup>76)</sup>. Von den Geninen wurde Digitoxigenin bisher noch in keiner Asclepiadacee nachgewiesen, 3-Epi-digitoxigenin überhaupt noch in keiner andern Pflanze<sup>77)</sup>. Xysmalogenin kommt mit Uzarigenin zusammen in den Wurzeln von *Xysmalobium undulatum*<sup>6)17)</sup> vor. Carpogenin, Pachygenin und Pachygenol sind neue Stoffe, die auch in *Xysmalobium undulatum* nicht vorzukommen scheinen. Umgekehrt haben wir Uzarigenin, das eines der Hauptgenine von *Xysmalobium undulatum* darstellt, nur in recht kleiner Menge und bisher nur aus Probe b) isolieren können. In Probe f) war es auch papierchromatographisch nicht nachweisbar<sup>78)</sup> (Probe c) wurde nicht so genau geprüft). Es besteht daher die Möglichkeit, dass Probe b) durch Zufall eine kleine Menge Wurzeln von *Xysmalobium undulatum* enthalten hatte<sup>79)</sup>. Vorläufig können wir daher nur sagen, dass Uzarigenin in den Wurzeln von *Pachycarpus schinzianus* entweder nur in relativ kleinen Mengen oder gar nicht vorkommt. Die Wurzeln sind auch insgesamt nicht so glykosidreich wie diejenigen von *Xysmalobium undulatum*. Sollten aber die Rohglykoside von *Pachycarpus schinzianus* (besonders auf den Magen-Darm-Trakt) eine ähnliche Wirkung entfalten wie diejenigen von *Xysmalobium undulatum*, so ist es begreiflich, dass beide Drogen in der Volksmedizin für denselben Zweck benützt werden.

Wir danken dem *Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die Unterstützung dieser Arbeit.

---

<sup>74)</sup> Strophanthidin, das Aglykon des Cymarins, wurde nicht isoliert und konnte auch papierchromatographisch nicht festgestellt werden. Fleck G hat eine ähnliche, aber von Strophanthidin unterscheidbare Laufstrecke.

<sup>75)</sup> R. MAULI & CH. TAMM, *Helv.* **40**, 299 (1957).

<sup>76)</sup> R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **40**, 305 (1957).

<sup>77)</sup> CH. TAMM, Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der glyk. Herzgifte: Zucker und Glykoside, in L. ZECHMEISTER, Fortschritte der Chemie org. Naturstoffe, XIV, 71 (Wien, 1957).

<sup>78)</sup> Uzarigenin und Xysmalogenin lassen sich in den benützten Systemen eindeutig differenzieren. Für den sicheren Nachweis sehr kleiner Mengen von Uzarigenin (weniger als 5%) in Gemischen mit viel Xysmalogenin wäre allerdings eine vorhergehende präparative Anreicherung nötig gewesen. Eine solche wurde hier auch bei Probe f nicht durchgeführt.

<sup>79)</sup> Nach Bericht von Herrn Dr. R. A. DYER (24. Mai 1958) ist dies nicht völlig auszuschliessen. Beide Drogen waren sorgfältig verpackt, wurden aber in demselben Paket an uns gesandt.

### Experimenteller Teil

Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. -2°, darüber -3°. Substanzproben zur Bestimmung der optischen Drehung, sowie zur Aufnahme der UV.- und IR.-Absorptionsspektren, wurden 1 Std. bei 70° und 0,01 Torr getrocknet; zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf (oder andern Lösungsmitteln wie angegeben), Waschen mit 2-n. HCl (bei CrO<sub>3</sub>-Oxydation mit 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 2-n. Soda und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Chromatographien nach der Durchlaufmethode<sup>80</sup>) an alkalifreiem Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (reaktiviert bei 185°<sup>81</sup>) oder SiO<sub>2</sub><sup>82</sup>), der Tüpfelreaktion auf Papier mit RAYMOND'S Reagens<sup>83</sup>), KEDDE-Reagens<sup>84</sup>) und 2,4,2',4'-Tetranitrodiphenyl<sup>23)</sup><sup>85</sup>), der Farb-reaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><sup>48</sup>), der Farb-reaktion mit Tetranitromethan<sup>86</sup>), der KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>48</sup>), der Zuckerprüfung<sup>87</sup>), der Papierchromatographien<sup>19)</sup><sup>88</sup>) und der präparativen Papierchromatographien<sup>30</sup>) nach früheren Angaben.

Für Lösungsmittel gelten folgende Abkürzungen: AcOH = Eisessig, (Ac)<sub>2</sub>O = Acetanhydrid, Alk = Äthanol, Ae = Diäthyläther, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid (entsäuert)<sup>83</sup>), Me = Methanol, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, Thiogl = Thiodiäthylenglykol = β,β'-Dihydroxy-diäthyl-sulfid, To = Toluol, W = Wasser. Verhältnis-zahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina. An-Fmd-(3:1) oder -(4:1) sowie An-Thiogl-(4:1) bei Papierchromatogrammen bedeuten, dass das Papier zur Imprägnierung durch eine solche Lösung gezogen und dann an der Luft kurz getrocknet<sup>19</sup>) wurde. ML = eingedampfte Mutterlauge, n. u. = noch nicht weiter untersucht. Die Identifizierung und Differenzierung der Gene aus den verschiedenen Proben erfolgte jeweils durch Smp., Mischprobe, Drehung, Farb-reaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Papierchromatogramm, und wo erwähnt durch IR.-Absorptionsspektren. In zweifelhaften Fällen wurde fast stets zur Charakterisierung das O-Acetyl-Derivat bereitet und in gleicher Weise verglichen.

#### Orientierende Untersuchung von Probe b (Wurzeln aus Pretoria)

*Extraktion* (ausgeführt am 24. 11. 1952 von H. P. U.). 840 g trockene Wurzeln wurden in der Schlagmühle zerkleinert und nach früherer Vorschrift<sup>89</sup>) behandelt. Die zuletzt verbliebene, mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelte wässrige Phase enthielt aber noch sehr viel Glykoside<sup>90</sup>). Sie wurde bei pH = 6 im Vakuum auf ca. 125 ml eingeeengt, mit festem Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> halb gesättigt und sechsmal mit je 250 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt, worauf die nun verbliebene wässrige Phase praktisch frei von Glykosiden war und verworfen wurde. Die Chf-Alk-(3:2)-Auszüge wurden nur mit wenig halbgesättigter Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung, zweimal unter Zusatz von 5% festem K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gewaschen<sup>90</sup>). Es wurden die in Tab. 1 angegebenen Mengen an Extrakten erhalten.

*Untersuchung des Ae-Extr. aus Probe b.* 900 mg Ae-Extr. (entspr. 718 g Wurzeln) wurden in 25 ml 80-proz. Me dreimal mit je 50 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Lösungen wurden zweimal mit 25 ml 80-proz. Me ausgeschüttelt. Die Pe-Auszüge wurden verworfen. Die wässrig methanolischen Phasen wurden im Vakuum von Me befreit und mit Chf ausgeschüttelt. Erhalten wurden 785 mg gereinigter Ae-Extr. Dieser wurde an 23,5g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (80 ml Lösungsmittel pro Fr.).

<sup>80</sup>) T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Trans. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

<sup>81</sup>) J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1292 (1944), Fussnote 2, aber reaktiviert bei 180-190°.

<sup>82</sup>) SiO<sub>2</sub>, engporig, 0,15-0,3 mm Korngrösse «für Chromatographie», bezogen von Dr. BENDER & Dr. HOBEIN AG., Zürich 42.

<sup>83</sup>) Ausführung nach O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951).

<sup>84</sup>) I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).

<sup>85</sup>) F. ULLMANN & J. BIELECKI, Ber. deutsch. chem. Ges. 34, 2174 (1901); SIMA M. LOSANTSCH, *ibid.* 4, 404 (1871).

<sup>86</sup>) K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 98 (1952); H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *ibid.* 38, 1721 (1955).

<sup>87</sup>) P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).

<sup>88</sup>) E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954).

<sup>89</sup>) Wie bei Versuch 2 von HUBER *et al.*<sup>6</sup>) beschrieben.

<sup>90</sup>) Vgl. «Prüfung auf Ouabain *et al.*» bei J. v. EUW *et al.*<sup>8</sup>).

Die Fr. 1–5 (eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben 325 mg amorphes Material (n. u.).

Die Fr. 6–11 (208 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1) und Chf) gaben aus Me-Ae 24 mg krist. Pachygenin (D), Smp. 205–212°.

Die Fr. 12–24 (eluiert mit Chf und Chf-Me bis zu 10% Me-Gehalt) gaben noch 256 mg amorphes Material (n. u.).

*Untersuchung des Chf-Extr. aus Probe b.* 3 g Chf-Extr. (entspr. 720 g Wurzeln) wurden an 90 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (300 ml Lösungsmittel pro Fr.).

Die Fr. 1–2 (eluiert mit Chf) gaben 85 mg braunes Öl (n. u.).

Die Fr. 3–5 (39 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 9,5 mg krist. Pachygenin (D), Smp. 208–214°.

Die Fr. 6–34 (eluiert mit Chf-Me bis zu 50% Me-Gehalt) gaben 328 mg amorphes Material (n. u.).

Die Fr. 35–37 (113 mg, eluiert mit Me) gaben aus Chf-Me etwas farblose Würfel, Smp. 228–255°, RAYMOND-Reaktion: negativ; n. u.

Auch mit Chf-Me-Äthylacetat-(1:1:1) unter Zusatz von 1% AcOH liess sich der noch fehlende Teil nicht von der Säule ablösen.

*Untersuchung der Chf-Alk-(9:1)- und -(4:1)-Extr. aus Probe b.* Die zwei genannten Extr. wurden vereinigt (5,75 g) und 4 g davon (entspr. 580 g Wurzeln) einer Verteilungschromatographie (vgl. Fig. 14) unterworfen. Benützt wurden 1,8 kg Kieselgur-W-1:1<sup>88)</sup>, die in Be-Chf-(1:1) suspendiert in Säule Nr. 3<sup>88)</sup> eingeführt wurden. Alle 12 Std. wurde eine Fr. von ca. 200 ml abgetrennt.

Die Fr. 1–65 (eluiert mit Be-Chf-(1:1), Chf und Chf-Bu bis zu 20% Bu-Gehalt) gaben 705 mg amorphes Material. Davon wurden 250 mg (Fr. 32–45) für einen fermentativen Abbau verwendet (siehe unten).

Die Fr. 66–72 (387 mg, eluiert mit Chf-Bu-(4:1)) gaben aus Me-Ae 77 mg Pachomonosid (HPU1), Smp. 220–238°.

Die Fr. 73–81 (eluiert mit Chf-Bu-(4:1)) gaben 308 mg Material, das nicht kristallisiert werden konnte (n. u.).

Die Fr. 82–117 (1665 mg, eluiert mit Chf-Bu-(4:1) und -(2:1)) gaben aus Me-Ae nach längerem Stehen 169 mg rohes Uzarin (HPU3) in kugeligen Drusen, Smp. 178–183°. Von den vereinigten ML wurden 560 mg für einen fermentativen Abbau verwendet (siehe unten).

Die Fr. 118–130 (66 mg, eluiert mit Chf-Bu-(2:1)), RAYMOND-Reaktion nur noch schwach positiv, n. u.

*Fermentativer Abbau der Fr. 32–45 aus obiger Verteilungschromatographie.* 250 mg Material der Fr. 32–45, in 100 ml W gelöst, wurden mit der trüben Lösung von 300 mg TAKA-Amylase<sup>21)</sup> in 25 ml W und 1 ml To versetzt. Dann wurde mit wenig Essigsäure auf pH = 6 gebracht und unter  $CO_2$  3 Tage bei 37° unter gelegentlichem Umschwenken stehengelassen. Aufarbeitung wie früher beschrieben<sup>70)</sup> und fraktioniertes Ausschütteln gab 58,6 mg Ae-lösliche, 45,1 mg Chf-lösliche und 18,8 mg Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile. Die zwei letztgenannten wurden n. u. Die 58,6 mg Ae-löslichen Anteile wurden an 1,5 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Fr. 1–2 (22,1 mg braunes Öl, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) wurden verworfen.

Die Fr. 3–4 (16,2 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 9,2 mg krist. Präp. HPU11, Smp. 225–231°, das mit Xysmalogenin(B) identifiziert wurde (W. S.).

*Fermentativer Abbau der Uzarin-ML aus Probe b.* 560 mg amorphes Material (ML des Uzarins aus Fr. 82–117 von obiger Verteilungschromatographie) wurden in 200 ml W mit 600 mg TAKA-Amylase genau wie oben behandelt und lieferten: 140,9 mg Ae-lösliche, 156 mg Chf-lösliche, 108,6 mg Chf-Alk-(4:1)-lösliche und 24,6 mg Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile. Die zwei letztgenannten wurden n. u.

Die Ae- und Chf-Auszüge wurden vereinigt (296,7 mg) und an 8,4 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Die Fr. 1–2 (13,5 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) waren amorph (n. u.).

Die Fr. 3–14 (125 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1), Chf und Chf-Me-(99:1)) gaben aus Me-Ae 60,9 mg krist. Uzarigenin, Smp. 221–246°. Zur Analyse wurde aus Me-Ae und reinem Me umkristallisiert. Smp. 229–245°,  $[\alpha]_D^{21} = +14,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,86$  in Alk<sup>91)</sup>).

$C_{23}H_{34}O_4$  (374,50) Ber. C 73,76 H 9,15% Gef. C 73,67 H 9,21% (OAB)

Nach «übl. Krit.» identisch mit authentischem Uzarigenin aus Odorosid B<sup>39)</sup>.

<sup>91)</sup> RANGASWAMI & REICHSTEIN<sup>39)</sup> fanden Smp. 230–246°,  $[\alpha]_D^{20} = +14,0^\circ \pm 3^\circ$  in Alk. TSCHESCHE & BRATHGE<sup>24)</sup> fanden Smp. 240–256°,  $[\alpha]_D^{20} = +10,5^\circ$  in Alk.

*O-Acetyl-uzarigenin aus obigem Präparat.* 22 mg Uzarigenin (obiges Präparat) wurden mit 1 ml abs. Py und 0,4 ml (Ac)<sub>2</sub>O 48 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 24,7 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me hexagonale Plättchen, Smp. 262–266°,  $[\alpha]_D^{25} = +4,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,09$  in Chf)<sup>92</sup>).

C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>O<sub>5</sub> (416,54) Ber. C 72,08 H 8,71% Gef. C 71,89 H 8,85% (OAB)

Authentisches 3-O-Acetyl-uzarigenin und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren gleich.

### Orientierende Untersuchung von Probe c (Wurzeln aus Irene)

920 g Wurzeln Probe c wurden (am 26. 5. 1953) genau wie bei Probe b extrahiert, es wurde lediglich auf das Ausschütteln mit Chf-Alk-(9:1) verzichtet. Die Ausbeuten sind aus Tab. 1 ersichtlich.

*Untersuchung des Ae-Extr. aus Probe c.* Dieses Material (880 mg) wurde ohne vorherige Reinigung an 27 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (pro Fr. 90 ml Lösungsmittel).

Die Fr. 1–2 (eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben 73,9 mg amorphes Material (n. u.).

Die Fr. 3–6 (111 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben aus Me-Ae 12 mg Kristalle, Smp. 227–232°. Nach Umkristallisieren hexagonale Plättchen, Smp. 242–244°, die mit Xysmalogenin (B) identifiziert wurden.

Die Fr. 7–11 (178 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 20,3 mg Pachygenin (D), Smp. 212–216°. O-Acetylderivat Smp. 267–270°,  $[\alpha]_D^{24} = -166,5^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,63$  in Chf). Die Mischprobe mit dem Analysenpräparat HPU 19 (siehe fermentativer Abbau von Pachomonosid weiter unten) gab keine Depression.

*Untersuchung des Chf-Extr. aus Probe c.* Die 720 mg wurden an 21 g «Silikatgemisch»<sup>93</sup> chromatographiert, lieferten aber keine Kristalle (n. u.).

*Untersuchung des Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Probe c.* Die 6,7 g Material wurden einer Verteilungschromatographie (wie oben) an 2,7 kg Kieselgur-W-(1:1) unterworfen. Es wurde jede 24 Std. eine Fr. von ca. 700 ml abgetrennt (vgl. Fig. 15).

Die Fr. 1–16 (eluiert mit Chf und Chf-Bu-(95:5)) gaben 239 mg amorphes Material (n. u.).

Die Fr. 17–20 (429 mg, eluiert mit Chf-Bu-(9:1)) gaben aus Me-Ae 143,4 mg krist. Präparat HPU 14, Smp. 248–257°.

Die Fr. 21–28 (620 mg, eluiert mit Chf-Bu-(9:1)) blieben amorph (n. u.).

Die Fr. 29–41 (1323 mg, eluiert mit Chf-Bu-(9:1) und -(4:1)) gaben aus Me-Ae 431 mg krist. Pachomonosid (HPU 1), Smp. 243–247°.

Die Fr. 42–89 (2944 mg, eluiert mit Chf-Bu-(4:1) und -(2:1)) gaben keine Kristalle. Die Fr. 49–77 (zusammen 1700 mg) wurden vereinigt und an 66 g «Silikatgemisch»<sup>93</sup> chromatographiert, aber auch nach Impfen mit krist. Uzarin liessen sich keine Kristalle erhalten.

### Orientierende Untersuchung der Samen (Probe g)

450 g Samen wurden genau nach den für *Strophanthus*-Samen gegebenen Vorschriften<sup>8</sup>) mit Fermentierung extrahiert und gaben die in Tab. 2 angegebenen Ausbeuten (ausgeführt am 7. 10. 1953 von H. P. U.).

*Untersuchung des Ae-Extr. aus Samen (Probe g).* Die 2,65 g Material wurden an 80 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (je 250 ml Lösungsmittel pro Fr.).

Die Fr. 1–3 (650 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) blieben amorph (n. u.).

Die Fr. 4–5 (389 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 259 mg krist. Carpogenin (C), Smp. 248–256°.

Die Fr. 6–7 (157,3 mg, eluiert mit Chf) blieben amorph (n. u.).

Die Fr. 8–11 (540 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1)) gaben aus Me-Ae 170 mg Pachygenin, Smp. 208–219°.

Fr. 12 (84,8 mg, eluiert mit Chf-Me-(99:1)) kristallisierte nicht (n. u.).

<sup>92</sup>) RANGASWAMI & REICHSTEIN<sup>39</sup>) fanden (hexagonale oder rhombische Blättchen) Smp. 267–268°,  $[\alpha]_D^{28} = +8,2^\circ \pm 3^\circ$  (in Chf). TSCHESCHE & BRATHGE<sup>24</sup>) fanden Smp. 266–272°,  $[\alpha]_D^{18} = +5,6^\circ$  (in Chf).

<sup>93</sup>) W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 434 (1952).

Die Fr. 13–18 (329 mg, eluiert mit Chf-Me-(99:1)) gaben aus Me-Ae 56 mg Pachygenol ( $E_1$ ), mit Doppel-Smp. 132–140°/229–233°.

Die Fr. 19–22 (116,6 mg, eluiert mit Chf-Me-(95:5)) kristallisierten nicht (n. u.).

Die Fr. 23–24 (139 mg, eluiert mit Chf-Me-(3:1)) gaben aus Me-Ae 45,8 mg krist. Präparat HPU 37, Smp. 228–244°. LEGAL-Reaktion: negativ; n. u.

*Untersuchung des Chf-Extr. aus Samen (Probe g).* Die 2,65 g Chf-Extr. wurden an 80 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (250 ml Lösungsmittel pro Fr.).

Die Fr. 1–6 (549 mg, eluiert mit Be-Chf, reinem Chf und Chf-Me-(99:1)) kristallisierten nicht (n. u.).

Die Fr. 7–13 (492 mg, eluiert mit Chf-Me-(99:1)) gaben aus Me-Ae 246,7 mg Pachygenol mit Doppel-Smp. 135°/228–235°.

Die Fr. 14–24 (1310,8 mg eluiert mit Chf-Me bis 25% Me-Gehalt und zuletzt mit Chf-Me-Äthylacetat-(1:1:1) unter Zusatz von 1% AcOH) blieben amorph (n. u.).

*Untersuchung des Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Samen (Probe g).* 1,9 g dieses Materials (entspr. 428 g Samen) wurden in 20 ml Me gelöst; diese Lösung wurde mit 250 ml W vermischt und von Me im Vakuum vollständig befreit. Dann wurde mit 2 g TAKA-Amylase in 50 ml W und 5 ml To versetzt und verschlossen unter gelegentlichem Umschwenken 6 Tage bei 37° stehengelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 263 mg Ae-lösliche, 465 mg Chf-lösliche und 1,016 g Chf-Alk-(4:1)-lösliche Anteile.

Die 263 mg Ae-lösl. Anteile wurden an 8 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (25 ml Lösungsmittel je Fr.).

Fr. 1–3 (24,9 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) blieben amorph (n. u.).

Die Fr. 4–6 (86,9 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 61,9 mg Genin HPU 28, mit Doppel-Smp. 153°/184–193° (im Papierchromatogramm nur schwer von Carpogenin (C) unterscheidbar).

Die Fr. 7–16 (127,1 mg, eluiert mit Chf sowie Chf-Me bis zu 25% Me-Gehalt) kristallisierten nicht (n. u.).

Die 460 mg Chf-löslichen Anteile wurden ebenfalls an 14 g  $Al_2O_3$  chromatographiert, lieferten aber keine Kristalle.

**Genauere Untersuchung der Geneine aus den Wurzeln von Probe f** (ausgeführt am 3. 2. 1956 von W. S.).

*Extraktion.* 2,1 kg Wurzeln wurden genau wie oben behandelt und gaben die in Tab. 4 genannten Mengen an Extr., die in Papierchromatogrammen möglichst genau geprüft wurden. Der rohe Ae-Extr. gab nach Verteilung zwischen Pe und 80-proz. Me 11,63 g gereinigten Ae-Extr.

*Untersuchung des Ae-Extr.* Dieses Material zeigte im Papierchromatogramm zunächst die 5 Flecke A, B, C, D, E<sup>27</sup>). 11,08 g davon (entspr. 2,0 kg Wurzeln) wurden in zwei Portionen zunächst an  $Al_2O_3$  chromatographiert (vgl. Tab. 11 und 12).

Fr. 1–4 (Tab. 11) wurden verworfen.

Fr. 5 (Tab. 11) diente für nochmalige Chromatographie Tab. 14.

Fr. 6–8 (Tab. 11) dienen für nochmalige Chromatographie Tab. 15.

Die ML Fr. 9–19 (Tab. 11) dienen für Chromatographie Tab. 15.

Die ML Fr. 20–22 (Tab. 11) wurden vereinigt und gaben aus Me-Ae nochmals 50 mg D.

Fr. 23–47 (Tab. 11) n. u.

Die Fr. 1–3 (Tab. 12) wurden verworfen.

Fr. 4–6 (Tab. 12) dienen zur Chromatographie Tab. 13.

Fr. 7–15 (Tab. 12) dienen zur Chromatographie Tab. 14.

Die ML Fr. 16–17 (Tab. 12) dienen zur Chromatographie Tab. 15.

Die ML Fr. 18–21 (Tab. 12) n. u.

Die ML Fr. 22–23 (Tab. 12) wurden vereinigt und gaben aus Me-Ae nochmals 31 mg D.

Fr. 24–48 (Tab. 12) n. u.

Die Fr. 1–15 (Tab. 13) zeigten nur schwach rötliche RAYMOND-Reaktion.

Die Fr. 1–6 (Tab. 13) n. u.

Die Fr. 7–15 (Tab. 13) gaben aus Me-W 33 mg Kristalle WS4; RAYMOND: negativ; n. u.

Die Fr. 16–18 (Tab. 13) n. u.

Die Fr. 19–21 (Tab. 13) dienen für Chromatographie Tab. 15.

Die Fr. 22–24 (Tab. 13) n. u.

Tabelle 11. *Chromatographie von 5,31 g Ae-Extr. aus Probe f an 165 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 500 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-3	Be	—	RAYMOND neg.	amorph
4	Be-Chf-(99:1)	16	RAYMOND neg.	amorph
5-6	Be-Chf-(99:1)	66	A,B	amorph
7-8	Be-Chf-(98:2)	75	A,B,C	amorph
9	Be-Chf-(98:2)	27	A,B,C	2 mg, 249–256°, B
10-12	Be-Chf-(95:5)	218	B,C	8 mg, 248–249°, B
13-15	Be-Chf-(90:10)	275	B,C	28 mg, 249–250°, B
16-18	Be-Chf-(75:25)	472	B,C	84 mg, 248–251°, B
19	Be-Chf-(50:50)	167	B,C,D	16 mg, 246–249°, B
20-21	Be-Chf-(50:50)	225	B,C,D	25 mg, 233–239°, B,D
22	Chf	730	D	83 mg, 215–225°, D
23-24	Chf	375	D,E	amorph
25-27	Chf-Me-(99:1)	686	E	amorph
28-30	Chf-Me-(98:2)	52	E	amorph
31-33	Chf-Me-(95:5)	103	E	amorph
34-36	Chf-Me-(90:10)	120	E	amorph
37-39	Chf-Me-(60:40)	49	E,G	amorph
40-42	Chf-Me-(50:50)	29	E,G	amorph
43	Gem. <sup>94</sup> 0,5% AcOH	234	E,G	amorph
44-45	Gem. 1 % AcOH	695	E,G	amorph
46	Gem. 1 % AcOH	32	RAYMOND pos.	amorph, dunkelbraun
47	Gem. 5 % AcOH	123	RAYMOND neg.	amorph

Die nach Papierchromatogramm viel A enthaltenden Fr. (Fr. 5 (Tab. 11), Fr. 7–15 (Tab. 12)) wurden vereinigt (136 mg) und an 6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (Tab. 14).

Die Fr. 1–19 (Tab. 14) n. u.

Die Fr. 20–25 (Tab. 14) zeigten im Papierchromatogramm einen raschlaufenden, aber mit KEDDE-Reagens nur schwach erscheinenden Flecken  $\alpha$  (mit RAYMOND-Reagens war die Farbe lila, aber erst mit 0,5 g Material schwach positiv<sup>95</sup>).

In Fr. 26–27 (Tab. 14) zeigte sich zwischen A und B erstmals ein weiterer Fleck R.

Die übrigen A, B und C enthaltenden Fr.<sup>96</sup> wurden vereinigt (1,23 g) und an 45 g Silicagel chromatographiert (vgl. Tab. 15).

Die Fr. 1–7 (Tab. 15) waren RAYMOND-negativ, wurden verworfen.

Die Fr. 8–13 (Tab. 15) zeigten im Papierchromatogramm wieder den raschlaufenden Flecken  $\alpha$ .

In den Fr. 14–18 (Tab. 15) trat ein neuer Fleck  $\beta$ <sup>95</sup> auf.

Die Fr. 15–18 (Tab. 15) wurden für einen Versuch zur papierchromatographischen Trennung von  $\alpha$  und  $\beta$  verwendet.

In den Fr. 19–21 (Tab. 15) war der Fleck A sehr stark. Fr. 19 und die ML von Fr. 20–21 wurden vereinigt (389 mg) und an 12 g Silicagel chromatographiert, siehe Tab. 16.

Fr. 22–25 (Tab. 15) n. u.

<sup>94</sup> Gemisch Chf-Me-Äthylacetat-(1:1:1).

<sup>95</sup> Der Fleck  $\alpha$  lief im System von Fig. 5 fast mit der Front, ca. 1,6mal so weit wie A. Der Fleck  $\beta$  (vgl. Tab. 15) lief in demselben System nur 0,5mal so weit wie A (also langsamer als B). Auch dieser gab mit RAYMOND-Reagens eine schwache lila Färbung.

<sup>96</sup> Die Fr. 6–8 (Tab. 11), ML Fr. 9–19 (Tab. 11), ML Fr. 16–17 (Tab. 12), Fr. 19–21 (Tab. 13).

Tabelle 12. *Chromatographie von 5,77 g Ae-Extr. aus Probe f an 170 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 500 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-3	Be	–		
4-6	Be-Chf-(99:1)	663	s. Tab. 13	
7-9	Be-Chf-(98:2)	6	A	amorph
10-12	Be-Chf-(95:5)	22	A	amorph
13-15	Be-Chf-(90:10)	66	A,B	amorph
16-17	Be-Chf-(60:40)	200	A,B	47 mg, 220–250°, B
18	Be-Chf-(60:40)	99	B,C	25 mg, 229–248°, B
19-20	Be-Chf-(50:50)	118	B,C	27 mg, 221–249°, B
21	Be-Chf-(50:50)	30	B,C	6 mg, 210–250°, B+C
22-23	Chf	1119	D	131 mg, 208–222°, D
24	Chf	87	D,E	amorph
25-27	Chf-Me-(99:1)	694	E	amorph
28-30	Chf-Me-(98:2)	229	E	amorph
31-33	Chf-Me-(95:5)	194	E	amorph
34-36	Chf-Me-(90:10)	86	E	amorph
37-39	Chf-Me-(60:40)	60	E,G	amorph
40-42	Chf-Me-(50:50)	78	E,G	amorph
43	Gem. <sup>94)</sup> 0,5% AcOH	26	E,G	amorph
44	Gem. 1 % AcOH	532	E,G	amorph
45	Gem. 4 % AcOH	280	E	amorph
46	Gem. 4 % AcOH	268	positiv	amorph
47	Gem. 5 % AcOH	91	schwach positiv	amorph
48	Gem. 5 % AcOH	142	negativ	viel Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

Tabelle 13. *Chromatographie von 667 mg Material (Fr. 4-7 von Tab. 12) an 20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 60 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-3	Be	196	rötlich	amorph
4-6	Be-Chf-(99:1)	52	rötlich	amorph
7-9	Be-Chf-(98:2)	40	} im Papierchr. keine Flecken sichtbar	10 mg, 172/198–219°, WS4
10-12	Be-Chf-(95:5)	98		18 mg WS4
13-15	Be-Chf-(90:10)	57		5 mg, 142–144/194–200° WS4
16-18	Be-Chf-(60:40)	64		α,A
19-21	Be-Chf-(50:50)	38	A,B	amorph
22-23	Chf	9		amorph
24	Chf-Me-(99:1)	–		amorph

Tabelle 14. *Chromatographie von 136 mg A-Konzentrat an 6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 15 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-19	Be bis Be-Chf-(80:20)	146	negativ	
20	Be-Chf-(80:20)	4	schwach +, $\alpha$	amorph
21-24	Be-Chf-(80:20)	45	schwach +	amorph
25	Chf	17	schwach +	amorph
26-27	Chf	31	A,R,B	1,3 mg, 220-240°, A
28-29	Chf-Me-(99:1)	6	A,R,B	1,2 mg, 209-257°, B
30	Chf-Me-(99:1)	3	B,C	amorph
31	Chf-Me-(98:2)	0,5	B,C	amorph

Tabelle 15. *Chromatographie von 1,23 g Gemisch von A, B und C an 45 g SiO<sub>2</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 125 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-7	Be bis Be-Chf-(90:10)	9,6	negativ	amorph
8-9	Be-Chf-(80:20)	7	$\alpha$ , lila	amorph
10-13	Be-Chf-(50:50)	397	$\alpha$ , lila	amorph
14-15	Be-Chf-(50:50)	42	$\alpha,\beta$ , lila	amorph
16-18	Be-Chf-(30:70)	70	$\alpha,\beta$ , lila	amorph
19	Chf	147	$\alpha,\Lambda$ ,B	amorph
20-22	Chf	280	$\alpha,\Lambda$ ,R,B	27 mg, 225-259°, B
23-26	Chf	112	R,B,C	amorph
27-29	Chf-Me-(99:1)	110	B,C	amorph
30-31	Chf-Me-(98:2)	19	B,C,D	amorph
32-33	Chf-Me-(95:5)	19	B,C,D	amorph
34-35	Chf-Me-(90:10)	20	C,D	amorph
36	Chf-Me-(80:20)	94	negativ	amorph, braun

Die Fr. 26-28 (Tab. 15) wurden zur papierchromatographischen Trennung von B und C verwendet.

Fr. 29-36 (Tab. 15) n. u.

Die Fr. 1-11 (Tab. 16) waren amorph, RAYMOND-Reaktion negativ, und wurden verworfen.

Die Fr. 12-14 (Tab. 16) blieben amorph.

Die Fr. 15-16 (Tab. 16) gaben aus Me-Ae nach Animpfen 21 mg krist. Subst. A.

Fr. 17 (Tab. 16) blieb amorph, n. u.

Die Fr. 18-21 (Tab. 16) gaben aus Me-Ae 6 mg krist. Subst. B, verunreinigt mit R und A.

Fr. 22-26 (Tab. 16) n. u.

*Papierchromatographische Trennung von  $\alpha$  und  $\beta$ .* 78 mg Gemisch (Fr. 15-18 von Tab. 15) wurden auf 14 Papierblättern (ca. 5 mg pro Blatt, Breite 19 cm, WHATMAN Nr. 1) nach v. ARX & NEHER<sup>30</sup>) im System Be-Chf-(7:5)/An-Fmd-(3:1) auf Front chromatographiert. Zur Lokalisierung der Zonen wurden schmale Streifen mit Tetranitrodiphenyl-Reagens entwickelt. Die aus-

geschnittenen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Zonen wurden mit W angeteigt, der Faserbrei mit gleichem Volumen Me versetzt, ausgepresst und viermal mit Me extrahiert. Die methanolisch-wässrige Lösung wurde im Vakuum stark eingengt, der Rückstand mit Chf ausgeschüttelt, mit W, 2-n. Soda, zweimal W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft.

Tabelle 16. *Chromatographie von 389 mg A-Konzentrat (Fr. 19–21 von Tab. 15) an 12 g  $\text{SiO}_2$*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 40 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1–11	Be bis Be-Chf-(50:50)	14	negativ	
12–14	Be-Chf-(30:70)	177	A	amorph
15–16	Be-Chf-(30:70)	92	A	21 mg, 218–241°, A
17	Be-Chf-(30:70)	21	A,R,B	amorph
18–19	Be-Chf-(30:70)	27	A,R,B	4 mg, 232–252°, B
20–21	Be-Chf-(15:85)	16	A,R,B	2 mg, 217–248°, B
22–24	Chf	19	R,B	amorph
25–26	Chf-Me-(99:1)	27	B (schwach)	amorph, dunkelbraun

Der Extr. der  $\alpha$ -Zonen (44 mg) wurde an 1,5 g Silicagel chromatographiert und lieferte 36 mg RAYMOND-positives Material. Dieses zeigte aber im Papierchromatogramm nur einen, kaum sichtbaren Fleck; n. u.

Der Extr. der  $\beta$ -Zonen (9,9 mg) zeigte positive Tetranitrodiphenyl-Reaktion. Er wurde ebenfalls an 300 mg Silicagel chromatographiert.

Die Fr. 1–4 (5,1 mg eluiert mit Be und Be-Chf-Gemischen) gaben mit Tetranitrophenyl-Reagens keine Färbung.

Fr. 5–6 (4,5 mg braunes Öl, eluiert mit Chf), gaben positive RAYMOND-Reaktion. Sie zeigten aber im Papierchromatogramm neben dem  $\beta$ -Fleck (Tetranitrodiphenyl-Reagens: rosa) auch den Fleck C (Tetranitrodiphenyl-Reagens: blau); n. u.

*Versuch zur papierchromatographischen Trennung von 87 mg B + C-Konzentrat (Fr. 26–28, Tab. 15).* Dies Material wurde auf 17 mit Formamid imprägnierten Papierblättern genau wie oben getrennt. Es wurden auch hier keine Kristalle erhalten.

*Untersuchung des Chf-Extr. aus Probe f.* Von diesem Material wurden 16,57 g (entspr. 2,05 kg Wurzeln) in zwei Portionen an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert (vgl. Tab. 17 und 18).

Die Fr. 1–3 (Tab. 17) und Fr. 1–4 (Tab. 18) waren RAYMOND-negativ, n. u.

Die Fr. 4 (Tab. 17) und Fr. 5 (Tab. 18) gaben je ein Kristallinat von B', verunreinigt mit C. Durch dreimaliges Umkristallisieren aus Me-Ae wurde B' rein erhalten, Smp. 129–137°. Die ML (327 mg) wurden papierchromatographisch getrennt in B', C und E.

Die Fr. 5 (Tab. 17) und Fr. 6 (Tab. 18) gaben reines D.

Die Fr. 6–8 (Tab. 17) und Fr. 7–9 (Tab. 18) blieben amorph, n. u.

Die Fr. 10 (Tab. 18) ergab 2 mg E, verunreinigt mit B' und D, n. u.

Die Fr. 9–10 (Tab. 17) und Fr. 11–12 (Tab. 18) gaben 162 mg E. Nach dreimaligem Umkristallisieren wurden 84 mg reines  $E_1$  erhalten mit dem Doppel-Smp. 123–132/210–233°.

Die Fr. 11–35 (Tab. 17) und Fr. 13–35 (Tab. 18) enthielten das Gemisch E und blieben amorph.

Alle E enthaltenden Fr. und ML (ML 9–10, Fr. 11–28 (Tab. 17) und ML 11–12, Fr. 13–29 (Tab. 18)) wurden vereinigt (2,19 g) und nochmals an 66 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert (vgl. Tab. 19).

Die Fr. 1–6 (Tab. 19) blieben amorph; n. u.

Die Fr. 7–8 (Tab. 19) gaben aus Me-Ae 11,3 mg krist.  $E_1$ , verunreinigt mit  $E_2$  und F.

Die Fr. 9–36 (Tab. 19) blieben amorph und zeigten im Papierchromatogramm die in Tab. 19 genannten Flecken  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ , F, G, I, K.

Tabelle 17. *Chromatographie von 8,34 g Chf.-Extr. aus Probe f an 250 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 800 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-3	Be-Chf-(50:50)	164	negativ	
4	Chf	229	B',C, E	103 mg, 120-125°, B',C
5	Chf	125	B', D,E	73 mg, 210-225°, D
6	Chf	53	B', D,E	amorph
7-8	Chf-Me-(99:1)	247	D,E	amorph
9-10	Chf-Me-(99:1)	179	D,E	71 mg, 214-225°, E <sub>1</sub>
11-13	Chf-Me-(98:2)	172	E	amorph
14-16	Chf-Me-(95:5)	229	E	amorph
17-19	Chf-Me-(90:10)	260	E	amorph
20-23	Chf-Me-(75:25)	266	E	amorph
24-27	Chf-Me-(60:40)	79	E	amorph
28-30	Me	168	E	amorph
31	Gem. <sup>94</sup> 0,5% AcOH	751	positiv	amorph
32-34	Gem. 1 % AcOH	2112	positiv	amorph
35	Gem. 2 % AcOH	112	negativ	amorph

Tabelle 18. *Chromatographie von 8,23 g Chf.-Extr. aus Probe f an 250 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 800 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1-4	Be-Chf-(50:50)	139	negativ	
5	Chf	216	B',C, E	51 mg, 118-127°, B',C
6	Chf	110	B', D,E	37 mg, 207-226°, D
7-9	Chf	113	B', D,E	amorph
10	Chf-Me-(99:1)	78	B', D,E	2 mg, 228-243°, B',D,E
11-12	Chf-Me-(99:1)	358	D,E	91 mg, 203-219°, E <sub>1</sub>
13-15	Chf-Me-(98:2)	97	positiv	amorph
16-18	Chf-Me-(95:5)	286	positiv	amorph
19-22	Chf-Me-(90:10)	314	positiv	amorph
23-26	Chf-Me-(75:25)	189	positiv	amorph
27-29	Chf-Me-(50:50)	87	positiv	amorph
30-32	Me	108	positiv	amorph
33	Gem. <sup>94</sup> 0,5% AcOH	149	positiv	amorph
34	Gem. 1 % AcOH	995	positiv	amorph
35	Gem. 2 % AcOH	698	negativ	amorph

*Papierchromatographische Trennung von B', C und E.* 327 mg ML von Fr. 4 (Tab. 17) und Fr. 5 (Tab. 18) wurden auf 57 Papierblättern, wie oben auf Front chromatographiert, System: Chf/An-Fmd-(4:1), Papier WHATMAN Nr. 1, pro Papier 5 mg aufgetragen. Zur Lokalisierung

Tabelle 19. *Chromatographie von 2,19 g E-Konzentrat an 66 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 200 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND-Reaktion <sup>97)</sup>	Menge, Smp. und Art
1–2	Be-Chf-(50:50)	87	negativ	
3–4	Be-Chf-(50:50)	19	positiv	
5–6	Chf	282	(B'?), D, E	amorph
7	Chf	153	(B'?), D, E	0,3 mg, 123–132°, E <sub>1</sub>
8	Chf-Me-(99,5:0,5)	186	(B'?), D, E	11 mg, 124–134/ 205–226°, E <sub>1</sub>
9–10	Chf-Me-(99,5:0,5)	168	E <sub>1–3</sub> , F	amorph
11–14	Chf-Me-(99:1)	192	E <sub>1–3</sub> , F I	amorph
15–18	Chf-Me-(98:2)	216	E <sub>1–3</sub> , F I	amorph
19–21	Chf-Me-(95:5)	236	E <sub>2</sub> , E <sub>3</sub> , F, G, I, K	amorph
22–25	Chf-Me-(90:10)	271	E <sub>2</sub> , I, K	amorph
26–28	Chf-Me-(75:25)	145	E <sub>2</sub> , K	amorph
29–31	Chf-Me-(50:50)	87	E <sub>2</sub> , K	amorph
32–36	Me	119	E <sub>2</sub> , K	amorph

der Zonen wurden schmale Streifen mit Tetranitrodiphenyl-Reagens entwickelt. Eine orientierende Lokalisierung war schon vorher möglich durch Beobachtung mit Hilfe des Fluoreszenzschirmes<sup>90)</sup> im UV.-Licht. Es wurden 7 Zonen ausgeschnitten. Diese wurden im Eluierapparat<sup>98)</sup> mit Me extrahiert. Nach Abtropfen von 2 ml waren die Streifen jeweils RAYMOND-negativ. Die weitere Aufarbeitung geschah wie oben.

Zone 1 (B') gab 195 mg braunen Schaum, der an 6 g Silicagel chromatographiert wurde. Die mit Chf und Chf-Me-Gemischen von 1–10% Me-Gehalt eluierten Fr. waren RAYMOND-positiv, blieben aber amorph. Diese wurden vereinigt (177 mg) und an 5,4 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Be-Chf-(3:1), Be-Chf-(1:1) und Chf eluierten Anteile (124 mg) gaben aus Me-Ae 39 mg krist. Subst. B' vom Smp. 119–132°.

Zone 2 (B', 2. Qualität) gab 24 mg braunes Öl. Dieses zeigte im Papierchromatogramm nur den Fleck B'; n. u.

Zone 3 (C) gab 43,8 mg bräunlichen Schaum. Er wurde an 1,5 g Silicagel chromatographiert. Die mit Chf-Me-(98:2) eluierten Fr. waren RAYMOND-positiv, blieben aber amorph. Das vereinigte Material (33 mg weisser Schaum) wurde an 1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Be-Chf-(1:1) eluierten Fr. gaben aus Me-Ae 3,9 mg krist. Subst. C, vom Smp. 215–234°.

Zone 4 (C, 2. Qualität) gab 20 mg gelbes Öl. Dieses zeigte im Papierchromatogramm einen Fleck, der etwas langsamer lief als C. Er war unter dem Fluoreszenzschirm stark sichtbar, lieferte aber mit Tetranitrophenyl-Reagens nur eine schwache Reaktion; n. u.

Zone 5 (F) gab 18 mg gelbes Öl und zeigte im Papierchromatogramm zwei Flecken E<sub>1</sub> und F; n. u.

Zone 6 (E<sub>1</sub>) gab 41 mg gelbes Öl. Aus Me-Ae wurden 7 mg krist. Subst. E<sub>1</sub> mit dem Doppel-Smp. 125/252–261° erhalten.

Zone 7 (E<sub>2</sub>) gab 13 mg gelbes Öl, zeigte im Papierchromatogramm die Flecken E<sub>1</sub> und E<sub>2</sub>; n. u.

*Untersuchung der Chf-Alk-Extr. aus Probe f. – Abbau des Chf-Alk-(4:1)-Extr. aus Probe f mit TAKA-Amylase.* 7,39 g Extr. (entspr. 1,78 kg Wurzeln) wurden in 170 ml W gelöst, mit 8,5 g TAKA-Amylase versetzt, mit 1 Tropfen AcOH auf pH = 6 gestellt und mit 1 ml To überschichtet.

<sup>97)</sup> Die Flecken I und K wurden nicht eindeutig differenziert. I lief im System von Fig. 6 sehr wenig (ca. 0,1mal so weit wie E<sub>1</sub>) und K praktisch gar nicht.

<sup>98)</sup> Vgl. Publ. R. P. MARTIN, die demnächst erscheint. Es handelt sich im Prinzip um eine Anwendung der Papierchromatographie.

Dann wurde die Luft im Kolben durch CO<sub>2</sub> verdrängt und der Kolben nach möglicher Homogenisierung verschlossen und unter öfterem Umschwenken drei Tage bei 37° stehengelassen. Aufarbeitung wie früher lieferte die drei als Ae-Extr. II, Chf-Extr. II und Chf-Alk-(2:1)-Extr. II bezeichneten Extr. (vgl. Tab. 20).

Obiger Chf-Alk-(2:1)-Extr. II (3,18 g) wurde nochmals einer Fermentierung mit 3,5 g TAKA-Amylase unterworfen. Es resultierten die drei in Tab. 20 als Ae-Extr. III, Chf-Extr. III und Chf-Alk-(2:1)-Extr. III bezeichneten Extr.

Die Fermentierung wurde mit dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. III (1,695 g) noch ein drittes Mal mit 3,4 g TAKA-Amylase wiederholt, wobei die in Tab. 20 als Ae-Extr. IV, Chf-Extr. IV und Chf-Alk-(2:1)-Extr. IV bezeichneten Extr. erhalten wurden.

*Abbau des Chf-Alk-(2:1)-Extr. aus Probe f mit TAKA-Amylase.* 6,92 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. (entspr. 1,81 kg Wurzeln) wurden in 250 ml W<sub>2</sub> gelöst und wie oben mit 9,8 g TAKA-Amylase behandelt. Es resultierten der Ae-Extr. V, der Chf-Extr. V und der Chf-Alk-(3:2)-Extr. V (vgl. Tab. 20). Vor dem Ausschütteln mit Chf-Alk-(3:2) wurde die wässrige Phase mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> gesättigt. Ausbeuten vgl. Tab. 20. Der Chf-Alk-(3:2)-Extr. V (1,986 g) wurde nochmals analog mit 4 g TAKA-Amylase fermentiert. Es resultierten der Ae-Extr. VI, Chf-Extr. VI und Chf-Alk-(3:2)-Extr. VI, vgl. Tab. 20.

Tabelle 20. *Enzymatischer Abbau der Chf-Alk-(4:1)-, -(2:1)- und -(3:2)-Extr. aus Probe f mit TAKA-Amylase*

Extrakte	Menge in		Flecken im Papierchromatogramm <sup>27)</sup>
	mg	%	
Chf-Alk-(4:1)-Extr. . . . .	7390	100	M,N,O,P
Ae-Extr. II . . . . .	826	11,2	A,R,B,C,D,E
Chf-Extr. II . . . . .	741	10,0	Z <sup>99)</sup> ,C,D,E
Chf-Alk-(2:1)-Extr. II . . . . .	3158	42,8	
Chf-Alk-(2:1)-Extr. II . . . . .	3158	100	
Ae-Extr. III . . . . .	291	9,2	A,R,B,C,D,E
Chf-Extr. III . . . . .	373	11,8	Z <sup>99)</sup> ,C,D,E
Chf-Alk-(2:1)-Extr. III . . . . .	1695	53,6	
Chf-Alk-(2:1)-Extr. III . . . . .	1695	100	
Ae-Extr. IV . . . . .	102	6,0	A,R,B,C,-,E
Chf-Extr. IV . . . . .	180	10,6	Z <sup>99)</sup> ,C,D,E
Chf-Alk-(2:1)-Extr. IV . . . . .	1088	64,2	
Chf-Alk-(2:1)-Extr. . . . .	6920	100	M,N,O,P,S,T,U
Ae-Extr. V . . . . .	620	8,9	A,R,B,C,D,E
Chf-Extr. V . . . . .	938	13,5	Z <sup>99)</sup> ,C,D,E
Chf-Alk-(3:2)-Extr. V . . . . .	1986	28,6	
Chf-Alk-(3:2)-Extr. V . . . . .	1986	100	
Ae-Extr. VI . . . . .	74	3,7	B,C,D,E
Chf-Extr. VI . . . . .	126	6,3	E
Chf-Alk-(3:2)-Extr. VI . . . . .	1371	69,0	
Chf-Alk-(3:2)-Extr. . . . .	9986	100	(T),U
Ae-Extr. VII . . . . .	220	2,2	B,C,D,E
Chf-Extr. VII . . . . .	157	1,5	D,E
Chf-Alk-(3:2)-Extr. VII . . . . .	4918	50,2	

Total der Ae-Extr.: 2,113 g. Total der Chf-Extr.: 2,515 g.

<sup>99)</sup> Im benützten System laufen A,R,B nahezu gleich. Sie gaben zusammen nur einen sehr schwachen Fleck nahe der Front (als Fleck Z bezeichnet), der hauptsächlich aus R bestand.

*Abbau des Chf-Alk-(3:2)-Extr. aus Probe f mit TAKA-Amylase.* 9,98 g Chf-Alk-(3:2)-Extr. (entspr. 1,97 kg Wurzeln) wurden mit 750 ml W versetzt und mit 20 g TAKA-Amylase wie oben beschrieben behandelt, aber sechs Tage stehengelassen. Es wurden die drei Extr. Ae-Extr. VII, Chf-Extr. VII, Chf-Alk-(3:2)-Extr. VII erhalten (vgl. Tab. 20). Auf eine Wiederholung wurde hier verzichtet.

*Untersuchung der Ae-Extr. II–VII aus Fermentierung.* Der Ae-Extr. IV zeigte im Papierchromatogramm den Fleck D nicht. Er wurde daher als Vorversuch an 3 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (je 10 ml Lösungsmittel pro Fr.).

Fr. 1–13 (eluiert mit Be bis Be-Chf-(90:10)) gaben 6,7 mg KEDDE-negatives, amorphes Material; n. u.

Fr. 14–23 (32,5 mg eluiert mit Be-Chf-(80:20) und Be-Chf-(70:30)) gaben aus Me-Ae 15 mg krist. Gemisch von A, R, B, C. Durch Umkristallisieren aus Me wurde 1,2 mg des schwerlöslichen R rein erhalten, Smp. 269–278°.

Fr. 24–27 (18,4 mg eluiert mit Be-Chf-(50:50)) gaben aus Me-Ae 9 mg D, Smp. 202–214°.

Fr. 28–39 (eluiert mit Chf und Chf-Me-Gemischen) gaben 29,9 mg amorphes Material.

Alle ML und amorphen Fr. wurden zusammengespült und mit den Ae-Extr. II–VII vereinigt. Dieses Material (2,064 g) wurde an 120 g  $Al_2O_3$  (60fache Menge) chromatographiert (vgl. Tab. 21).

Tabelle 21. *Chromatographie der vereinigten Ae-Extr. II–VII an 120 g  $Al_2O_3$*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 200 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1–3	Be-Chf-(99:1)	116	negativ	Öl
4–6	Be-Chf-(98:2)	24	negativ	Öl
7–9	Be-Chf-(95:5)	5	negativ	Öl
10	Be-Chf-(90:10)	3	negativ	Öl
11–13	Be-Chf-(80:20)	22	schwach+	Öl
14–16	Be-Chf-(70:30)	12	schwach+	Öl
17–18	Be-Chf-(50:50)	33	$\alpha$ ,R	Schaum
19–22	Be-Chf-(50:50)	137	A,R,B	84 mg, Mischkrist. A,R,B
23–31	Be-Chf-(50:50)	174	B,C	129 mg, Mischkrist. B,C
32	Chf	100	B,C,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub>	9 mg, B
33–39	Chf	448	D,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,F,G	198 mg, D
40–42	Chf-Me-(99:1)	72	D,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,F,G	amorph
43–44	Chf-Me-(98:2)	114	D,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,F,G	29 mg, E <sub>1</sub>
45–46	Chf-Me-(98:2)	26	D,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub>	amorph
47–48	Chf-Me-(95:5)	34	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,F	amorph
49–50	Chf-Me-(90:10)	23		amorph
51–53	Chf-Me-(75:25)	39		amorph
54–56	Chf-Me-(50:50)	56	positiv	amorph
57	Gem. <sup>94</sup> 0,5% AcOH	10	positiv	amorph
58	Gem. 1 % AcOH	425	positiv	amorph

Die Fr. 1–10 (Tab. 21) waren amorph, gaben mit RAYMOND-Reagens keine Färbung, wurden verworfen.

Die Fr. 11–16 (Tab. 21) waren amorph, gaben mit RAYMOND-Reagens nur schwache Färbung, enthielten viel Fett; n. u.

Die Fr. 17–18 (Tab. 21) enthielten  $\alpha$  und R. Letzteres kristallisierte auch nach Animpfen mit dem inzwischen isolierten R nicht.

Fr. 19 (Tab. 21) lieferte aus Me-Ae-Pe ein Mischkristallisat (A, R und B), das nach Papierchromatogramm viel A und B enthielt; n. u.

Die Fr. 20–21 (Tab. 21) lieferten aus Me-Ae-Pe Mischkristallisate von A, R und B, die hauptsächlich R enthielten. Umkristallisieren aus Me lieferte 26 mg reines R, vom Smp. 278–287°.

Fr. 22 (Tab. 21) gab aus Me-Ae-Pe ebenfalls Mischkristalle (A, R und B). Nach Umkristallisieren aus Me resultierten 5 mg papierchromatographisch reines B.

Die Fr. 23–31 (Tab. 21) gaben aus Me-Ae 129 mg Mischkristallisat von B und C. Umkristallisieren änderte das Verhältnis von B zu C nicht merklich. Dieses Material wurde zur papierchromatographischen Trennung von B und C verwendet.

Die Fr. 33–39 (Tab. 21) lieferten aus Me-Ae 198 mg papierchromatographisch reines D.

Die Fr. 40–42 (Tab. 21) blieben amorph; n. u.

Die Fr. 43–44 (Tab. 21) lieferten aus Me-Ae reines E<sub>1</sub>, Smp. 210–234° (E<sub>2</sub> und F, die sonst in kleinen Mengen mitkristallisierten, blieben hier in der Mutterlauge). Nach Smp., Drehung und Papierchromatogramm war dieses identisch mit E<sub>1</sub> aus dem Chf-Extr.

Die Fr. 46–58 (Tab. 21) kristallisierten nicht; n. u.

*Papierchromatographische Trennung der Fr. 23–31 (Tab. 21).* In diesen Fr. waren beim Auftragen der üblichen Menge im Papierchromatogramm nur die Flecken B und C sichtbar. Das gesamte Material (170 mg Kristalle und ML) wurde auf 22 Papierblättern im System Be-Chf-(7:5)/An-Fmd-(4:1), wie oben auf Front chromatographiert. Nach Eluierung im Apparat<sup>98</sup>) wurden die in Tab. 22 aufgeführten Resultate erhalten.

Tabelle 22. *Auftrennung von 170 mg Eluat (Fr. 23–31, Tab. 21) durch präp. Papierchromatographie*

Zone	Flecken im Papierchr.	Eluate roh, Ausbeute in mg	Kristalle		
			mg	Smp.	Art
1	A,R,B	13,3	–		
2	B <sub>1</sub> (R)	45,8	17	235–255°	B
3	B	26,2	4,5	241–260°	B
4	C	76,0	–		
5	C	22,0	–		
6	C,D,E	20,3	–		

Die Zonen 4 und 5 wurden vereinigt (98 mg) und an 3 g Silicagel chromatographiert.

Fr. 1–4 (11,7 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) waren RAYMOND-negativ, wurden verworfen.

Fr. 5–11 (76,2 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1)) gaben aus Me-Ae 54,3 mg C, Smp. 243–254°.

Fr. 12–13 (4,8 mg, eluiert mit Chf-Me-(95:5)) erwiesen sich als ein Gemisch (Fleck C und einer auf der Startlinie); wurde verworfen.

Zone 1 und 6 blieben amorph; n. u.

Zone 2 und 3 lieferten aus Me-Ae 21,5 mg krist. Subst. B.

*Untersuchung der Chf-Extr. II–VII aus Fermentierung.* Die vereinigten Chf-Extr. (2,515 g) wurden an 77 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (vgl. Tab. 23).

Die Fr. 1–3 (Tab. 23) gaben gelbes Öl; sie kristallisierten nicht und dienten für Chromatographie Tabelle 24.

Fr. 4 (Tab. 23) gab aus Me-Ae 7 mg C; die ML diente für Chromatographie Tabelle 24.

Die Fr. 5–6 (Tab. 23) blieben amorph und dienten für Chromatographie Tabelle 24.

Die Fr. 7–10 (Tab. 23) gaben aus Me-Ae 38 mg D, Smp. 219–232°.

Fr. 11 (Tab. 23) gab aus Me-Ae 5 mg D, das mit wenig E<sub>2</sub> verunreinigt war; Smp. 219–234°.

Fr. 12 (Tab. 23) gab aus Me-Ae 6 mg E<sub>2</sub>, Smp. 244–261° (einzige Fr., aus der E<sub>2</sub> isoliert werden konnte); n. u.

Fr. 13–14 (Tab. 23) blieben amorph, nach Papierchromatogramm überwiegt E<sub>2</sub>; n. u.

Die Fr. 15–17 (Tab. 23) gaben aus Me-Ae 232 mg E<sub>1</sub>, nach Papierchromatographie identisch mit früher isoliertem E<sub>1</sub>.

Tabelle 23. *Chromatographie der vereinigten Chf-Extr. II–VII an 77 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 250 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1–3	Be-Chf-(50:50)	133	Z <sup>99</sup> ),C	amorph
4	Be-Chf-(30:70)	66	Z,C,E	7 mg, C
5–6	Be-Chf-(30:70)	62	Z,C,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub>	amorph
7–10	Be-Chf-(30:70)	107	D,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub>	38 mg, 219–232°, D
11	Chf	20	D,E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub>	5 mg, 219–234°, D (E <sub>2</sub> )
12	Chf	33	E <sub>2</sub> <sup>100</sup> ),E <sub>3</sub> ,F	6 mg, 244–261°, E <sub>2</sub>
13–14	Chf	56	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,F	amorph
15–17	Chf-Me-(99:1)	586	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,F	232 mg, 126/220–234°, E <sub>1</sub>
18	Chf-Me-(99:1)	30	positiv	amorph
19–21	Chf-Me-(98:2)	107	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,F	amorph
22–23	Chf-Me-(95:5)	111	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,G	amorph
24	Chf-Me-(95:5)	55	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,G	5 mg, 248–257°, E <sub>3</sub>
25	Chf-Me-(95:5)	33	E <sub>1</sub> ,E <sub>2</sub> ,E <sub>3</sub> ,G	amorph
26–27	Chf-Me-(90:10)	44	positiv	amorph
28–30	Chf-Me-(75:25)	173	E <sub>2</sub> ,I	amorph
31–32	Chf-Me-(50:50)	82	E <sub>2</sub> ,I	amorph
33–35	Me	83	E <sub>2</sub> ,I	amorph
36–37	Gem. <sup>94</sup> ) 1% AcOH	414	E <sub>2</sub> ,I	amorph

Tabelle 24. *Chromatographie der Fr. 1–6 von Tab. 23 an 9 g SiO<sub>2</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 25 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		mg	Flecken bzw. RAYMOND- Reaktion	Menge, Smp. und Art
1–4	Be-Chf-(90:10)	86	negativ	–
5–8	Be-Chf-(80:20)	29	negativ	–
9–11	Be-Chf-(50:50)	12	negativ	–
12–15	Be-Chf-(30:70)	20	α,A,R,B	amorph
16	Chf	8	R	1 mg, 264–274°, R
17–18	Chf	15	R,B,C,D	5 mg, 240–256°, C
19–20	Chf-Me-(99:1)	32	B,C,D	13 mg, 225–256°, C
21	Chf-Me-(99:1)	18	C,D	amorph
22–23	Chf-Me-(99:1)	10	C,E <sub>1</sub>	amorph
24	Chf-Me-(98:2)	3	positiv	amorph
25	Chf-Me-(95:5)	5	C,E <sub>1</sub>	amorph
26–28	Chf-Me-(90:10)	9	n. u.	amorph
29–31	Chf-Me-(75:25)	8	n. u.	amorph

<sup>100</sup>) E<sub>2</sub> überwiegt, so dass E<sub>1</sub> im Papierchromatogramm nicht beobachtet wurde.

Die Fr. 18–23 (Tab. 23) blieben amorph, n. u.

Fr. 24 (Tab. 23) gab aus Me-Ae 5 mg E<sub>3</sub>, Smp. 248–257° (einzige Fr., aus der bisher E<sub>3</sub> isoliert wurde); n. u.

Fr. 1–3 (Tab. 23), die ML der Fr. 4 (Tab. 23) und die Fr. 5–6 (Tab. 23), die alle Z, C und E enthielten, wurden vereinigt (274 mg) und an 9 g Silicagel chromatographiert (vgl. Tab. 24).

Die Fr. 1–11 (Tab. 24) waren RAYMOND-negativ und wurden verworfen.

Die Fr. 12–15 (Tab. 24) blieben amorph, sie zeigten im Papierchromatogramm die Flecken  $\alpha$ , A, R, B (schwach).

Fr. 16 (Tab. 24) gab aus Me-Ae 1 mg R, Prismen, Smp. 264–274°.

Fr. 17–20 (Tab. 24) gaben aus Me-Ae 18 mg C, Smp. 241–255°, das nach Papierchromatogramm identisch mit obigem Präparat war, das durch präparative Papierchromatographie isoliert wurde.

Fr. 21–31 (Tab. 24) kristallisierten nicht; n. u.

### Bereitung von Substanzen zu Vergleichszwecken

*3-O-Benzoyl-3-epi-digitoxigenin* (WS18). 19,8 mg 3-Epi-digitoxigenin, Smp. 276–286°, wurden in 2,5 ml abs. Py gelöst, bei 0° mit 0,5 ml Benzoylchlorid versetzt und die rosafarbene Lösung 15 Std. unter H<sub>2</sub>O-Ausschluss bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 0,5 ml Me versetzt und noch weitere 3 Std. stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 34,5 mg dunkelgrünes Öl. Es wurde zuerst an 900 mg Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, dann nochmals an 1,5 g Silicagel chromatographiert. Aus Me-Ae (1:9) 15,6 mg Nadeln, Smp. 193–196°. Umkristallisation aus Me-Ac-(1:9)/Pe gab 13,1 mg Nadeln, Smp. 193–196°,  $[\alpha]_D^{26} = +42,2^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,32 in Chf).

C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>O<sub>5</sub> (478,6) Ber. C 75,28 H 8,00% Gef. C 75,34 H 7,88% (OAB)

Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: farblos (0'), gelb (1'), orange, Rand blau (15'), blau (40'), grün (120'), grün mit braunen Flocken (180'). Im Papierchromatogramm läuft das Benzoat etwas rascher als das Acetat.

Authentisches *Cymar*in aus *Strophanthus kombé*, farblose Nadeln aus Me-Ae, Smp. 137–141°,  $[\alpha]_D^{26} = +42,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,06 in Me).

Authentisches *O-Acetyl-cymar*in (aus obigem Präparat), farblose verfilzte Nadeln, zeigte Smp. 160–165°, wobei oft ein kleiner Teil erst bei 182–189° schmolz,  $[\alpha]_D^{26} = +50,0^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,19 in Me).

*Teilsynthese von 3-Epi-uzarigenin*. 729 mg Uzarigenon<sup>39)</sup> wurden in 100 ml abs. Isopropanol gelöst, mit 3 g frisch dest. Al-Isopropylat versetzt und langsam destilliert (1 Tropfen pro Min.). Nach 4 Std. wurde im Vakuum eingedampft, mit 2-n. HCl und Eis versetzt und mit 100 ml Chf ausgeschüttelt. Die mit je 10 ml 2-n. HCl, 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und W gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Lösung lieferte beim Eindampfen 733 mg Rohprodukt (farbloser Schaum). Davon wurden 682 mg an 20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert (70 ml pro Fr.).

Die Fr. 1–11 (46,2 mg, eluiert mit Be und Be-Chf-Gemischen bis zu 50% Chf-Gehalt) blieben amorph; n. u.

Die Fr. 12–13 (42,8 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben aus Ae 5 mg Kristallgemisch, Smp. 239–261° (nach Papierchromatogramm Uzarigenon + 3-Epi-uzarigenin).

Die Fr. 14–15 (86,8 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben aus Me-Ae 38,2 mg 3-Epi-uzarigenin, Smp. 203–219°.

Die Fr. 16–17 (356 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1) und reinem Chf) gaben aus Me-Ae 262 mg Uzarigenin, Smp. 222–244°,  $[\alpha]_D^{25} = +14,6^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,03 in Alk). Das daraus bereitete 3-O-Acetyl-Derivat, hexagonale Plättchen aus Me-Ae, Smp. 262–266°,  $[\alpha]_D^{26} = +5,1^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1,09 in Chf), war nach Mischprobe und IR.-Absorptionsspektrum identisch mit authentischem 3-O-Acetyl-uzarigenin aus Odorosid B. Das *3-Epi-uzarigenin* wurde aus Me-Ae umkristallisiert. Rechteckige Plättchen, Smp. 224–236°,  $[\alpha]_D^{27} = +17,5^\circ \pm 3^\circ$  (c = 0,77 in Chf). Nach Papierchromatogramm einheitlich und von Uzarigenin eindeutig differenzierbar (vgl. Fig. 5)<sup>17)</sup>. Im IR.-Absorptionsspektrum (in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) zeigte es eine mittelstarke Bande bei 9,98  $\mu$ , die für die 3 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\alpha$ -steroides typisch ist<sup>42)</sup>.

### Charakterisierung und Identifizierung<sup>54)</sup> der isolierten Stoffe

*Pachomonosid* (HPU 1). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 243–245°,  $[\alpha]_D^{23} = -108,8^\circ \pm 3^\circ$  (c = 0,76 in Me-W-(1:1)). Gewichtsverlust bei Trocknung 6,23; 6,36%. C<sub>29</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub> + 2 H<sub>2</sub>O (584,63), ber. H<sub>2</sub>O 6,18%.

C<sub>29</sub>H<sub>40</sub>O<sub>10</sub> (548,61) Ber. C 63,49 H 7,35% Gef. C 63,44; 63,42 H 7,59; 7,52% (OAB, A.P.)

Der Stoff war methoxylfrei; KELLER-KILIANI-Reaktion: negativ; RAYMOND-Reaktion: positiv; Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 10. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve HPU1 in Fig. 16. Biolog. Prüfung vgl. Tabelle 7. Die ML des Glykosids lieferte ein krist. O-Acetyl-Derivat (HPU 4), Nadelbüschel aus Me-Ae; Smp. 180–190°/220–248°. Das UV.-Absorptionsspektrum in Alk zeigte wieder zwei Maxima, ein starkes bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,17$ ) und ein sehr flaches bei 298  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 1,72^{101}$ ), ber. auf  $C_{37}H_{46}O_{14} = 716,75$ .

*Uzarin* (HPU 3) aus Probe b. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Splitter, Smp. 206–208°,  $[\alpha]_D^{20} = -1,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,85$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 8,7; 8,3%.

$C_{35}H_{54}O_{14}$  (698,78) Ber. C 60,15 H 7,79% Gef. C 60,54; 60,38 H 7,79; 7,71% (OAB, A.P.)

Der Stoff war methoxylfrei. Ein Originalpräparat von TSCHESCHE<sup>102</sup>) zeigte nach Umkristallisieren aus Me-Ae einen Doppel-Smp. 208–ca. 228°/256–258°,  $[\alpha]_D^{24} = +0,16^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,63$  in Me)<sup>103</sup>). Die Mischprobe zeigte denselben Doppel-Smp. Weitere Identifizierung nach «übl. Krit.», sowie durch Abbau der ML mit TAKA-Amylase. Im UV.-Absorptionsspektrum war nur ein Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,23$ ) vorhanden.

*Glykosid HPU 14*. Aus Me-Ae farblose Plättchen, Smp. 256–258° (Zers.),  $[\alpha]_D^{26} = -24,5^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,61$  in Py). Gewichtsverlust bei Trocknung 0,42%.

$C_{29}H_{42}O_9$  (534,63) Ber. C 65,15 H 7,92% Gef. C 65,12; 65,14 H 8,03; 7,99% (OAB, A.P.)

KELLER-KILIANI-Reaktion: negativ<sup>104</sup>), Zuckerprüfung: positiv, Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 10. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 16.

*Genin HPU 28*. Aus Me-Ae farblose rechteckige Plättchen, Smp. 194–218°,  $[\alpha]_D^{25} = -9,7^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 0,86$  in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung 6,29%.

$C_{23}H_{32}O_5$  (388,49) Ber. C 71,10 H 8,30% Gef. C 71,05 H 8,25% (A.P.)

UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 16, Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 10.

*Abbau von Pachomonosid mit TAKA-Amylase*. 402 mg Pachomonosid vom Smp. 243–247° wurden in 480 ml W mit 400 mg TAKA-Amylase<sup>21</sup>) wie oben 3 Tage bei 37° fermentiert. Aufarbeitung wie dort gab 250 mg Chf-lösliche und 35 mg Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile (letztere n. u.). Das Chf-lösliche Material wurde an 7,5 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (je 25 ml pro Fr.). Die mit Chf eluierten Anteile (227,7 mg) gaben aus Me-Ae 217,5 mg krist. Pachygenin (Präp. HPU 17). Nach Umkristallisieren farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln, Smp. 234–236°,  $[\alpha]_D^{24} = -115,9^\circ$  ( $c = 1,03$  in Me).

$C_{23}H_{30}O_5$  (386,47) Ber. C 71,48 H 7,82% Gef. C 71,13; 71,28% H 8,13; 8,14% (OAB, A.P.)

Weitere Identifizierung nach «übl. Krit.», sowie durch UV.-Absorptionsspektrum mit zwei Maxima bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,25$ ) und 308,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,01$ ).

*O-Acetyl-pachygenin aus obigem Präparat*. 174 mg Pachygenin (obiges Präparat HPU 17) wurde wie oben acetyliert. Das Rohprodukt gab aus Me das Präparat HPU 19 in farblosen Nadeln, Smp. 268–270°,  $[\alpha]_D^{22} = -164,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,26$  in Chf). Weitere Identifizierung nach «übl. Krit.».

$C_{25}H_{32}O_6$  (428,50) Ber. C 70,07 H 7,53% Gef. C 69,80 H 7,70% (A.P.)

*Substanz A = Digitoxigenin (I) (WS 12)*. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 234–244°,  $[\alpha]_D^{26} = +17,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,85$  in Me). Identifizierung mit Digitoxigenin nach «übl. Krit.».

*3-O-Acetyl-digitoxigenin (WS 13)*. 9,4 mg Substanz A wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,2 ml  $(Ac)_2O$  48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 11 mg Rohprodukt. Aus Ae-Pe 5,5 mg farblose Prismen, Smp. 215–222°. Identifizierung mit authentischem 3-O-Acetyl-digitoxigenin nach «übl. Krit.».

<sup>101</sup>) Demnach ist es nicht sicher, ob es sich um das Tetra-O-acetyl-pachomonosid handelt. Nach der Höhe dieses Maximums könnte evtl. ein O-Acetyl-Derivat des Glykosids HPU 14 vorliegen.

<sup>102</sup>) Wir danken Herrn Prof. R. TSCHESCHE, Hamburg, auch hier bestens für die Überlassung dieses Materials.

<sup>103</sup>) TSCHESCHE & BRATHGE<sup>24</sup>) fanden nach Umkristallisieren aus Py-W, Smp. 266–270°,  $[\alpha]_D^{20} = -27,0^\circ$  (in Py).

<sup>104</sup>) Das Resultat ist nicht völlig eindeutig, da das Glykosid sich bereits mit Säure allein blaugrün färbt (vgl. Tab. 10).

Substanz R = 3-Epi-digitoxigenin (III) (WS14). Dieser schwer lösliche Stoff kristallisierte aus Me in farblosen Prismen, Smp. 278–287°,  $[\alpha]_D^{26} = +24,3^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,33$  in Me). Nach «übl. Krit.» und IR.-Absorptionsspektrum in Nujol (vgl. Fig. 17) identisch mit authentischem Material.

3-O-Acetyl-3-epi-digitoxigenin (IV) (WS17). 18,4 mg Subst. R wurden wie üblich acetyliert. Das Rohprodukt gab aus Chf-Ae-Pe 20 mg farblose Prismen, Smp. 209–212°,  $[\alpha]_D^{28} = +42,4^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,55$  in Chf), weitere Identifizierung nach «übl. Krit.».

Substanz B = Xysmalogenin (VII) (WS1 = HPU11). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 241–259°,  $[\alpha]_D^{25} = +16,6^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,65$  in Me), Mittelwert (die Einzelbestimmungen schwankten etwas).

$C_{23}H_{32}O_4$  (372,48) Ber. C 74,16 H 8,66 O 17,18% Gef. C 73,88 H 8,97 O 17,28% (OAB)

Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 10; KELLER-KILIANI-Probe: negativ; Zuckerprobe: negativ; Tetranitromethanprobe: positiv; Biolog. Prüfung vgl. Tabelle 7. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve B in Fig. 16. Papierchromatographisches Verhalten vgl. Fig. 5.

3-O-Acetyl-xysmalogenin (VIII) (WS3). 52,2 mg Xysmalogenin wurden mit 1 ml abs. Py und 0,4 ml  $(Ac)_2O$  48 Std. bei 20° stengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 54 mg Rohprodukt. Aus Me-Ae 31,8 mg Nadeln, Smp. 255–262°. Chromatographie der ML gab noch 9,2 mg Kristalle, Smp. 249–263°. Das aus Me-Ae umkristallisierte Präparat zeigte den Smp. 258–269°,  $[\alpha]_D^{24} = -13,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,01$  in Chf).

$C_{25}H_{34}O_5$  (414,52) Ber. C 72,43 H 8,27% Gef. C 72,14 H 8,29% (OAB)

Tetranitromethanprobe: positiv (starke Gelbfärbung). Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$ : wie Xysmalogenin: orange (0'), orange, Rand blau (10'), blau (20'), grünblau (60'), grün (70'). Kurzwelliges UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 16a und 16b, IR.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 19.

3-O-Acetyl-dihydro-uzarigenin aus 3-O-Acetyl-xysmalogenin. 5,932 mg 3-O-Acetyl-xysmalogenin wurden mit 11,5 mg  $PtO_2$  in 2 ml Eisessig bei 20° und 747 Torr im Apparat von CLAUSON-KAAS & LIMBORG hydriert<sup>105</sup>). Die Gas-Aufnahme betrug 0,730 ml (2,08 Mol-Äquiv.) und war nach 24 Std. beendet. Das eingedampfte Filtrat gab aus Me-Ae 4,2 mg Plättchen, Smp. 205–207°. 3-O-Acetyl-dihydro-uzarigenin und die Mischprobe schmolzen gleich. Beide Präparate zeigten im Papierchromatogramm dieselbe Laufstrecke (Entwicklung mit  $SbCl_3$ ).

Prüfung auf Beständigkeit gegen  $CrO_3$ . 20 mg 3-O-Acetyl-xysmalogenin (VIII) vom Smp. 258–269° wurden in 5 ml oxydationsbeständigem Eisessig gelöst (schwerlöslich) und mit 0,16 ml 2-proz.  $CrO_3$ -Lösung (3,2 mg  $CrO_3$  entspr. 1 O-Äquiv.) versetzt. Nach 5 Std. bei 20° war noch unverbrauchtes  $CrO_3$  nachweisbar. Es wurde 1 ml Me zugesetzt und 16 Std. stengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 21 mg Rohprodukt. Aus Chf-Ae 13,6 mg Nadeln, die nach Umkristallisieren aus Chf-Ae bei 252–263° schmolzen.  $[\alpha]_D^{26} = -11,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,04$  in Chf). Nach Papierchromatogramm war das Präparat identisch mit dem Ausgangsmaterial.

Substanz C = Carpogenin (V) (WS15 = HPU23). Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 256–265°,  $[\alpha]_D^{21} = +0,06^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,83$  in Me). Trocknung zur Analyse gab 0,2% Gewichtsverlust.

$C_{23}H_{32}O_5$  Ber. C 71,10 H 8,30 O 20,60%  
(388,48) Gef. „ 71,25 „ 8,31 „ 20,91% (OAB)  
„ 71,21 „ 8,33 (A.P.)

KELLER-KILIANI-Reaktion: negativ; Zuckerprobe: negativ; Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 10. Papierchromatogramm vgl. Nr. 18 in Fig. 5. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve C in Fig. 16, sowie Fig. 16c. IR.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 20 und 20a.

O-Acetyl-carpogenin (VI) (WS16). 48 mg Carpogenin wurden mit 2 ml abs. Py und 0,8 ml  $(Ac)_2O$  48 Std. bei 20° stengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 53 mg Rohprodukt. Aus Me-Ae 38,8 mg farblose Kristalle, Smp. 200–211°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren Smp. 208–211°,  $[\alpha]_D^{25} = +17,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,93$  in Me).

$C_{25}H_{34}O_6$  (430,52) Ber. C 69,74 H 7,96% Gef. C 69,49 H 8,05% (OAB)

Dehydrierungsversuch. 33 mg 3-O-Acetyl-carpogenin vom Smp. 208–211° wurden in 1,0 ml AcOH innerhalb 12 Std. mit insgesamt 0,56 ml 2-proz.  $CrO_3$ -AcOH-Lösung (11,2 mg  $CrO_3$ ) versetzt (die Dehydrierung verlief sehr schleppend). Aufarbeitung wie oben gab 15 mg neutrale Anteile und 19 mg farblose amorphe Säure. Letztere wurde mit  $CH_2N_2$  methyliert. Der Methyl ester kristallisierte bisher nicht.

<sup>105</sup>) N. CLAUSON-KAAS & F. LIMBORG, Acta chem. scand. 1, 884 (1947).

Substanz D = *Pachygenin* (XII) (WS2 = HPU2 = HPU17). Aus Me-Ae farblose Nadeln mit Doppel-Smp. 120/216–221°,  $[\alpha]_D^{24} = -120,0^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,75$  in Me),  $[\alpha]_D^{22} = -121,6^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,78$  in Chf). Trocknung zur Analyse gab 7,1 und 6,5% Gewichtsverlust.

$C_{23}H_{30}O_5$	Ber. C 71,48	H 7,82	O 20,70%
(386,47)	Gef. „ 71,92	„ 8,09	„ 20,65% (OAB)
	„ 71,44	„ 7,80	(A.P.)

Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 10. Laufstrecke im Papierchromatogramm vgl. Nr. 19 in Fig. 5 und 6. UV.-Absorptionsspektrum von Präparat HPU2 vgl. Kurve D in Fig. 16. Biolog. Prüfung vgl. Tab. 7. Optische Rotationsdispersion vgl. Fig. 23.

*O-Acetyl-pachygenin* (XIII) (HPU12 = HPU19). 223 mg Pachygenin (XII) wurden mit 2,5 ml abs. Py und 1,6 ml  $(Ac)_2O$  48 Std. bei 20° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 220 mg Rohprodukt. Mehrmaliges Umkristallisieren aus Me-Ae lieferte 150 mg farblose Nadeln, Smp. 278–286°,  $[\alpha]_D^{22} = -167,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,76$  in Chf). Trocknung zur Analyse gab 1,1% Gewichtsverlust.

$C_{25}H_{32}O_6$ (428,50)	Ber. C 70,07	H 7,53%	Gef. C 70,70	H 7,92% (OAB)
----------------------------	--------------	---------	--------------	---------------

Tetranitromethaunprobe: nicht eindeutig. Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$ : orange (0'), braun (5'), beige-braun (30'), braune Flocken (40'). Kurzwelliges UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 16d. IR.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 21 und 21a.

*Mikrohydrierung*<sup>105</sup>). Einwaage 11,611 mg. Nach 24 Std. waren bei 18°/745 Torr 0,81 ml  $H_2$  (1,23 Mol-Äquiv.) aufgenommen. Diese Lösung gab aber mit RAYMOND-Reagens immer noch eine Blaufärbung (!). Das eingedampfte Filtrat gab aus wenig Alk 2,2 mg farblose Nadeln, Smp. 175–187°, RAYMOND-Reaktion: negativ. Die Mischprobe mit 3-O-Acetyl-dihydro-corotoxinin (vom Smp. 175–187°) schmolz bei 168–178°. Laufstrecke im Papierchromatogramm (System Be/An-Thiogl.(4:1)) war ca. 1,1mal grösser als diejenige von 3-O-Acetyl-dihydro-corotoxinin.

*Präparative Hydrierung*. 125 mg 3-O-Acetyl-pachygenin wurden in 50 ml Eisessig gelöst, mit 41 mg  $PtO_2$ ,  $H_2O$  versetzt und so lange ( $8\frac{1}{2}$  Std.) hydriert, bis die RAYMOND-Reaktion mit ca. 0,01 mg negativ ausfiel. Zweimaliges Umkristallisieren aus Me-Ae gab 31 mg Plättchen, Smp. 200–213°. Das UV.-Absorptionsspektrum dieser Kristalle zeigte Banden bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,29$ ) und 308  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,10$ ). Daraus folgte, dass in den Kristallen noch ca. 12% des Butenolidrings nicht hydriert waren und die Aldehydgruppe nicht reduziert war.

*Oxydationsversuch*. 72,5 mg 3-O-Acetyl-pachygenin vom Smp. 266–269° wurden in 7 ml AcOH innerhalb 24 Std. mit insgesamt 0,765 ml 2-proz.  $CrO_3$ -AcOH-Lösung (15,3 mg  $CrO_3$ , entspr. 1,38 O-Äquiv.) versetzt, worauf noch  $CrO_3$  nachweisbar war. Nach Zusatz von 0,2 ml Me wurde noch 12 Std. stehengelassen. Die Aufarbeitung wie oben gab 65 mg neutrale Anteile, die an 2 g  $Al_2O_3$  chromatographiert wurden.

Die Fr. 1–10 (24,7 mg, eluiert mit Be und Be-Chf-Gemischen bis zu 50% Chf-Gehalt) gaben aus Me-Ae 15,2 mg Kristallgemisch (Ausgangsmaterial mit Oxydationsprodukt).

Fr. 11 (3,7 mg, eluiert mit Chf) gab aus Me-Ae 0,8 mg Kristalle, Smp. 228–245° (n. u.).

Die Fr. 12–15 (11 mg, eluiert mit Chf) gaben aus Me-Ae 5,2 mg krist. Präparat HPU20, Smp. 208–220°. Nach UV.-Absorptionsspektrum lag ein Gemisch vor, das ein  $\alpha,\beta$ -ungesättigtes Keton enthielt. Das IR.-Absorptionsspektrum in  $CH_2Cl_2$  zeigt neben den Banden einer HO- und der Butenolid-Gruppe eine starke Bande bei 6,0  $\mu$  (entspr.  $\alpha,\beta$ -ungesättigtem Sechsring-Keton).

Die Fr. 16–17 (13,7 mg, Präparat HPU20b, eluiert mit Chf-Me, amorph) zeigten ein fast gleiches IR.-Absorptionsspektrum wie HPU20. Im UV. (Fig. 16) zeigte dies Material die Bande des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ketons noch stärker als das krist. Präparat HPU20.

Subst.  $E_1 =$  *Pachygenol* (XIV). – a) *Präparat WS21 aus Pachygenin mit  $NaBH_4$* . 102 mg Pachygenin wurden in 8 ml 80-proz. Alk gelöst, auf –20° abgekühlt, mit der Lösung von 23 mg  $NaBH_4$  in 2 ml 80-proz. Alk versetzt und das pH durch Zutropfen von 6-proz. AcOH auf pH = 8 gestellt (Lackmus blau, Phenolphthalein schwach rosa)<sup>106</sup>). Dann wurde 5 Std. unter pH-Kontrolle bei 0° stehengelassen. Die Aufarbeitung nach früherer Vorschrift<sup>16</sup>) gab 100 mg Rohprodukt. Zweimaliges Umkristallisieren aus Me-Ae gab 48 mg Präparat WS21 in farblosen Nadeln mit Doppel-Smp. 123–128°/215–232°,  $[\alpha]_D^{26} = +10,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,93$  in Me).

<sup>106</sup>) Siehe Diss. H. MROZIK, die demnächst erscheint.

RAYMOND-Reaktion: positiv (blau-violett). Das UV.-Absorptionsspektrum zeigte ein Maximum bei  $217 \mu\mu$  ( $\log \epsilon = 4,21$ ). Nach «übl. Krit.» identisch mit direkt isoliertem Präparat WS5.

*Di-O-acetyl-pachygenol (XV): Präparat WS22 aus Präparat WS21.* 25 mg Kristalle von obigem Präparat WS21 wurden in 1,5 ml abs. Py und 0,4 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  48 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 32 mg Rohprodukt. Aus Be-Pe 25,5 mg Präparat WS22, zu Büscheln vereinigte Blättchen, Smp.  $219\text{--}228^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -29,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,99$  in Me). Kurzwelliges UV.-Absorptionsspektrum vgl. Fig. 16f. Tetranitromethanprobe: positiv, Gelbfärbung. Nach «übl. Krit.» sowie nach IR.-Absorptionsspektrum in KBr (vgl. Fig. 22) identisch mit Präparat WS6.

b) *Präparat WS5, isoliert aus Wurzeln.* Aus Me-Ae farblose Nadeln, Doppel-Smp.  $121^\circ/210\text{--}233^\circ$ , oder rechteckige Plättchen, Smp.  $220\text{--}232^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +9,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,19$  in Me). Trocknung zur Analyse gab 7,5 und 6,5% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$  (388,48) Ber. C 71,10 H 8,30% Gef. C 70,25; 71,12 H 8,41; 8,57% (OAB, A.P.)

KELLER-KILIANI-Probe: negativ; Zuckerprobe: negativ; Farbreaktion mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  vgl. Tabelle 10. UV.-Absorptionsspektrum vgl. Kurve E<sub>1</sub> in Fig. 16. Biolog. Prüfung vgl. Tabelle 7. Nach «übl. Krit.» identisch mit dem durch Reduktion von Pachygenin erhaltenen Präparat WS21.

*Di-O-acetyl-pachygenol (XV): Präparat WS6 aus Präparat WS5.* 52 mg Pachygenol (Präparat WS5) wurden mit 1 ml abs. Py und 0,4 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  48 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 63 mg Rohprodukt. Zweimaliges Umkristallisieren aus Be-Pe lieferte 54,5 mg zu Büscheln vereinigte rechteckige Blättchen, Smp.  $219\text{--}229^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -32,0^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,82$  in Me). Trocknung zur Analyse gab 2 und 0% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_7$  (472,55) Ber. C 68,62 H 7,68% Gef. C 68,22; 69,09 H 7,79; 7,83% (OAB)

Tetranitromethanprobe: starke Gelbfärbung; Farbreaktion mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : orange (0'), orange, Rand gelbgrün (10'), orange, Rand hellgrün (20'), grüngelb (25'), schmutzig gelbbraun (45'), braun (180'). Nach «übl. Krit.» und IR.-Absorptionsspektrum in KBr war das Acetat identisch mit dem Präparat WS22.

*Prüfung auf Beständigkeit gegen  $\text{CrO}_3$ .* 11 mg Di-O-acetyl-pachygenol wurden in 2 ml gegen  $\text{CrO}_3$  beständigem Eisessig gelöst, mit 0,86 ml 2-proz.  $\text{CrO}_3\text{-AcOH}$ -Lösung versetzt und 8 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen, worauf noch  $\text{CrO}_3$  nachweisbar war. Es wurden 0,5 ml Me zugesetzt und 15 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 10,8 mg Rohprodukt. Aus Be-Pe 5,6 mg Plättchen vom Smp.  $216\text{--}228^\circ$ . Im Papierchromatogramm gleiche Laufstrecke wie Ausgangsprodukt.

*Di-O-acetyl-tetrahydro-pachygenol.* 16,951 mg Di-O-acetyl-pachygenol wurden mit 34 mg  $\text{PtO}_2$  in 2 ml Eisessig bei  $19^\circ$  und 747 Torr hydriert. Nach 24 Std. waren 1,99 ml  $\text{H}_2$  aufgenommen (entspr. 2,2 Mol-Äquiv.). Die Lösung gab mit RAYMOND-Reagens keine Färbung. Das im Vakuum eingedampfte Filtrat wog 18,1 mg. Es kristallisierte bisher nicht.

*Substanz B' = Cymarín (XXI) (WS7).* Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp.  $129\text{--}137^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +39,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,18$  in Me). Trocknung zur Analyse gab 2,3% Gewichtsverlust.

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_9$  (548,65) Ber. C 65,67 H 8,08  $\text{OCH}_3$  5,66%

$\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_9 + 1\text{H}_2\text{O}$  (566,67) „ C 63,58 H 8,18  $\text{OCH}_3$  5,48%

Gef. „ 63,16 „ 8,10 „ 7,82% (OAB)

KELLER-KILIANI-Reaktion: positiv. UV.-Absorptionsspektrum: Maxima bei  $217 \mu\mu$  ( $\log \epsilon = 4,15$ ) und  $303 \mu\mu$  ( $\log \epsilon = 1,47$ ). Nach «übl. Krit.» war B' identisch mit authentischem Cymarín aus *Strophanthus kombé*.

*O-Acetyl-cymarín (XXII) (WS8).* 23,9 mg Subst. B' wurden mit 0,5 ml abs. Py und 0,5 ml  $(\text{Ac})_2\text{O}$  48 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 28,8 mg Rohprodukt, das an 1 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(3:1) eluierten Anteile (25,6 mg) gaben aus Be-Ae-Pe 16,9 mg filzige Nadeln. Nach Umkristallisieren aus Be-Ae-Pe Smp.  $153\text{--}160^\circ/175\text{--}180^\circ$ ,  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +49,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,86$  in Me). Nach «übl. Krit.» war das Präparat identisch mit authentischem O-Acetyl-cymarín.

*Genin E<sub>2</sub>.* Aus Me-An farblose, sechseckig begrenzte Körner, Smp.  $276\text{--}282^\circ$ .

*Genin E<sub>3</sub>.* Aus Me-An farblose Stäbchen und daneben wollige Drusen, Smp.  $290\text{--}300^\circ$  (Zers.).

Die Analysen wurden teilweise unter Leitung von Herrn E. THOMMEN im mikroanalytischen Labor des Instituts (OAB), teilweise von A. PEISKER, Brugg (A. P.), ausgeführt.

### Zusammenfassung

Die Wurzeln und Samen von *Pachycarpus schinzianus* (SCHLTR.) N. E. BR. enthalten reichliche Mengen digitaloider Glykoside. Aus den Wurzeln liessen sich bei einer Probe kleine Mengen von Uzarin sowie von zwei neuen Glykosiden, Pachomonosid und Glykosid HPU 14, isolieren.

Durch Einwirkung von Glucosidasen wurde das Glucosidgemisch weitgehend abgebaut. Aus den Wurzeln wurden neben wenig Cymaridin die folgenden Genine erhalten: Digitoxigenin, 3-Epi-digitoxigenin, Xysmalogenin, Carpogenin, Pachygenin und Pachygenol, sowie kleine Mengen weiterer Genine (HPU 28, Subst. E<sub>2</sub> und E<sub>3</sub>), deren Differenzierung von bekannten Stoffen nicht völlig sicher ist. Carpogenin, Pachygenin und Pachygenol stellen neue Stoffe dar, für die hypothetische Formeln vorgeschlagen werden. Xysmalogenin besitzt genau gleichen Bau wie Uzarigenin, enthält aber noch eine zusätzliche Doppelbindung.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

## 7. Über eine neuartige Isomerisierung des $\Delta^2$ -Cyclopentenyl-acetonoxims (Darstellung und Eigenschaften bicyclischer Pyrrolin-Derivate)

2. Mitteilung <sup>1)</sup>

von **Rudolf Griot** und **Theodor Wagner-Jauregg**

(22. XI. 58)

Kürzlich berichteten wir über die Gewinnung zweier neuer Amine (I und E) bei der Behandlung von  $\Delta^2$ -Cyclopentenyl-acetonoxim mit Zinkstaub in Eisessig<sup>1)</sup>. Das Amin I (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO) stellt ein Isomerisierungsprodukt des Ausgangsmaterials dar, wogegen das Amin E (C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>N) Sauerstoff-frei ist. Letzteres liefert durch Wasserstoffaddition das *Amin F* (C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N). Dessen Konstitution als *3-Methyl-2-azabicyclo-[3,3,0]-octan (3-Methyl-2-azapentalan)* ergab sich eindeutig auf Grund der Synthese aus 1-Acetonyl-cyclopentanon-(2), Wasserstoff und Ammoniak in Gegenwart von RANEY-Nickel<sup>2)</sup>. Die beiden Fünfringe sind im Amin F wahrscheinlich in *cis*-Stellung verknüpft, da nur diese Anordnung im Kalottenmodell eine spannungsfreie Molekel ergibt. Die strukturelle Beziehung des Amins F zum  $\Delta^2$ -Cyclopentenyl-acetonoxim ist aus deren Strukturformeln ohne weiteres erkennbar (s. Reaktionsschema 1).

Dem Amin E teilten wir in unserer 1. Mitteilung mit Vorbehalt die Strukturformel E(e) zu. Diese stellt ein kondensiertes carbocyclisches System mit je einem Drei-, Vier- und Fünf-Ring dar und enthält eine NH<sub>2</sub>-Gruppe. Das Amin E reagiert nämlich mit salpetriger Säure quantitativ unter Stickstoffabspaltung (VAN-SLYKE-

<sup>1)</sup> Als 1. Mitteilung gilt die Arbeit von R. GRIOT & TH. WAGNER-JAUREGG, *Helv.* **41**, 867 (1958). Identische Verbindungen sind in der 1. und 2. Mitteilung mit den gleichen Buchstaben, bzw. römischen Zahlen bezeichnet. Abgeänderte Strukturformeln werden durch ein zusätzliches n in Klammern gekennzeichnet, z. B. E(n).

<sup>2)</sup> R. GRIOT, *Helv.* **42**, 67 (1959).