

**106. Die Glykoside der Wurzeln von *Pachycarpus lineolatus* (DECNE.) BULLOCK (oder *P. Schweinfurthii* (N. E. BR.) BULLOCK)<sup>1)</sup>**

Glykoside und Aglykone, 201. Mitteilung<sup>2)</sup>

von **Eva Abisch, Ch. Tamm und T. Reichstein**

(14. III. 59)

Am 13. November 1953 erhielten wir von Herrn PD. Dr. H. HESS<sup>3)4)</sup> 3,8 kg getrocknetes Wurzelpulver einer Asclepiadacee aus Angola, die nach seinen Angaben dort als «Utende» bezeichnet und als uteruskontrahierendes Mittel bei Schweregeburten verwendet wird<sup>5)</sup>. Das Material wurde von Pater J. DAMANN<sup>4)</sup> beschafft<sup>6)</sup>, der auch zugehöriges Herbariummaterial mit Blüten und Früchten (Fig. 1 und 2) zur Verfügung stellte. Wir sandten letztere nach Kew, wo die Bestimmung in entgegenkommender Weise durchgeführt wurde. Herr MILNE-REDHEAD<sup>4)</sup>, der zufällig früher selbst über diese Pflanze gearbeitet hat, schrieb uns am 23. Februar 1954 wie folgt:

«The plants submitted are *Pachycarpus lineolatus* (DECNE.) BULLOCK, until recently known as *Asclepias lineolata* (DECNE.) SCHLTR. Mr. BULLOCK has agreed with me in separating this species from its close ally, *Pachycarpus schweinfurthii* (N. E. BR.) BULLOCK, with which it has been much confused. It might be worth your while reading his note which was published in Kew Bulletin 1953, p. 333. From this it will be seen that these two allied but taxonomically quite distinct species often grow in close proximity. It seems to me, therefore, that the material examined by you might equally well belong to *P. schweinfurthii*, a species which might possibly differ biochemically from *P. lineolatus*. I am sorry, therefore, that doubt must still remain as to the specific identity of your material.»

Danach ist offenbar die Möglichkeit nicht auszuschliessen, dass unser Material auch Wurzeln von *P. schweinfurthii* enthielt.

Am 19. Oktober 1954 konnte uns Herr Dr. HESS nochmals 2,5 kg gleiches Wurzelpulver beschaffen. Über chemische Untersuchungen von *Pachycarpus lineolatus* oder *P. schweinfurthii* ist uns nichts bekannt<sup>8)</sup>. Wir beschreiben hier eine orientierende chemische Untersuchung.

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. EVA ABISCH-FRENKEL, Basel 1957.

<sup>2)</sup> 200. Mitteilung: HERBERT JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **42**, 977 (1959).

<sup>3)</sup> Institut für spezielle Botanik, Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

<sup>4)</sup> Wir möchten Pater DAMANN und Herrn Dr. H. HESS für das wertvolle Material und Herrn E. W. B. H. MILNE-REDHEAD (Herbarium der Royal Botanical Gardens Kew) für seine Mühe auch hier unseren besten Dank aussprechen.

<sup>5)</sup> Dosis ca. 1 Löffel des Pulvers.

<sup>6)</sup> Es stammte aus dem Gebirgsbusch bei Tchilema, Gebiet von Quingenges im Osten der Provinz Benguela, Angola. Nach GOSSWEILER<sup>7)</sup> wird *Asclepias lineolata* SCHLECHTER häufig in Bie' und Huila gefunden, seltener in Cuanza-Norte. Die Pflanze hat knollenartige Wurzeln und sehr dekorative Blüten. GOSSWEILER erwähnt auch *Asclepias semilunata* (A. RICH.) N. E. BR. unter dem Namen «Utinda». Bei keiner von beiden ist eine medizinische oder andere Anwendung erwähnt.

<sup>7)</sup> J. GOSSWEILER, Nomes indigenas de plantas de Angola, Luanda 1953.

<sup>8)</sup> Einige andere Arten der Gattung *Pachycarpus* wurden in letzter Zeit in unserem Institut untersucht<sup>9)</sup> und lieferten vorwiegend Cardenolid-Glykoside.

<sup>9)</sup> U. a. *Pachycarpus schinzianus*, vgl. W. SCHMID, H. P. UEHLINGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **42**, 72 (1959).

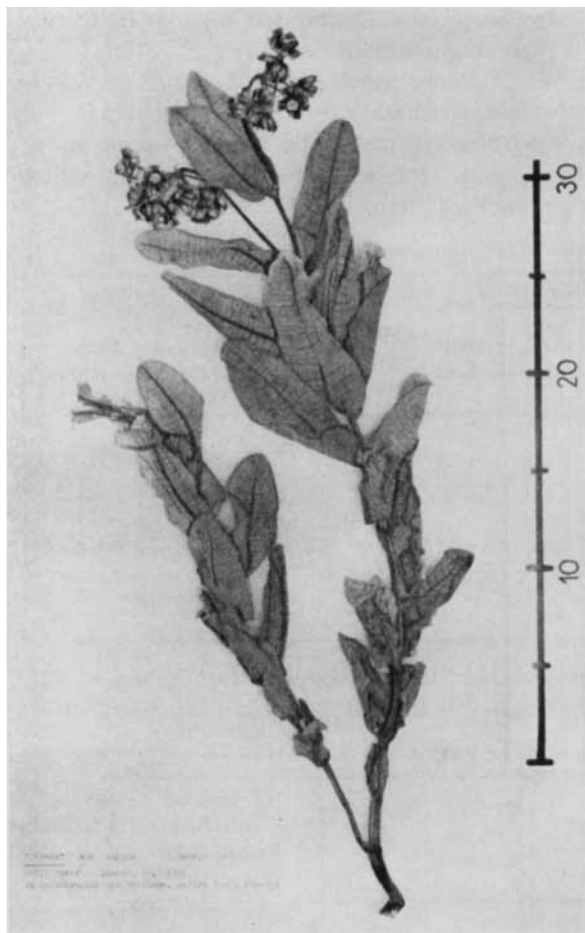


Fig. 1. *Pachycarpus lineolatus* (DECNE.)  
BULLOCK. «Utende»  
Herbarmuster mit Blüten (H. HESS, Dez. 1953)  
Coll. Pater J. DAMANN, 16. 2. 1953 im Gebirgsbusch  
bei Tchilema, Gebiet von Quingenges,  
Prov. Benguela, Angola.  
Maßstab in cm



Fig. 2. *Pachycarpus lineolatus*  
(DECNE.) BULLOCK. «Utende»  
Herbarmuster mit Frucht (H. HESS,  
Dez. 1953). Coll. Pater J. DAMANN,  
16. 2. 1953 im Gebirgsbusch bei Tchilema,  
Gebiet von Quingenges, Prov.  
Benguela, Angola. Maßstab in cm

#### Extraktion des Wurzelpulvers und Vortrennung der Extrakte<sup>10)</sup>

*Vorversuche.* Vorprüfungen ergaben, dass das Material keine Alkaloide, aber reichlich Glykoside enthält. Zur Entscheidung, ob es direkt extrahiert oder zuerst einer Selbstfermentierung unterworfen werden soll, wurden folgende Vorversuche angestellt.

a) 50 g Wurzelpulver wurden direkt mit wässrigem Alkohol auf 60° erwärmt und die Auszüge nach früherer Vorschrift<sup>11)</sup> mit  $Pb(OH)_2$  gereinigt, im Vakuum

<sup>10)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel usw., vgl. Einleitung zum Exp. Teil.

<sup>11)</sup> J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1821 (1951).

vom Alkohol befreit und die wässrige Suspension fraktioniert mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen ausgeschüttelt.

b) Eine zweite Probe von 50 g Wurzelpulver wurde zuerst 4 Tage mit Wasser bei 27° unter wenig Toluol geweicht und anschliessend wie oben behandelt. Die Resultate (vgl. Tab. 1) waren wenig verschieden, und es ist fraglich, ob ein merklicher fermentativer Abbau stattgefunden hat. Trotzdem entschlossen wir uns, in den Hauptversuchen die «Fermentierung» durchzuführen.

Tabelle 1. Ausbeuten an Rohextrakten aus je 50 g Wurzelpulver

Art des Extraktes <sup>10)</sup>	a) Ohne Fermentierung				b) Mit Fermentierung			
	Menge in mg (in %)	KEDDE-Reaktion <sup>12)</sup>	KELLER-KILIANI-Reaktion <sup>13)</sup>	Bitterer Geschmack	Menge in mg (in %)	KEDDE-Reaktion <sup>12)</sup>	KELLER-KILIANI-Reaktion <sup>13)</sup>	Bitterer Geschmack
Ae-Extr. . .	640 (1,28)	—	+	—	830 (1,66)	±	+	—
Chf-Extr. . .	190 (0,38)	(+)	+	schwach	170 (0,34)	+	+	+
Chf-Alk-(2:1)-	210 (0,24)	(+)	—	schwach	140 (0,28)	braun	—	schwach
Chf-Alk-(3:2)-	60 (0,12)	—	—	—	nicht hergestellt			

*Hauptversuche.* In zwei Hauptversuchen wurden hierauf 1,01 kg resp. 3 kg Wurzelpulver «mit Fermentierung» extrahiert<sup>14)</sup>. Über die Ausbeuten orientiert Tab. 2.

Tabelle 2. Ausbeuten an Rohextrakten in 2 Hauptversuchen

Art des Extraktes	1. Portion mit 1,01 kg Wurzelpulver in g   in %		KELLER-KILIANI-Reaktion	LEGAL-Test <sup>15)</sup>	2. Portion mit 3 kg Wurzelpulver in g   in %	
Ae-Extr. . .	9,95	0,985	+	—	} 47,3	1,57 <sup>14)</sup>
Chf-Extr. . .	4,2	0,416	+	±		
Chf-Alk-(2:1)-	2,8	0,277	—	—		

*Biologische Prüfung.* Die 3 Extrakte aus dem 1. Hauptversuch wurden orientierenden biologischen Prüfungen unterzogen<sup>16)</sup>.

Der Ae-Extr. zeigte am isolierten Froschherz in der Konzentration von 10<sup>-4</sup> (g pro ml) eine schwache cardiotonische Wirkung; beim Chf-Extrakt war die Wirkung deutlich, betrug jedoch nur ca. 1/50 derjenigen von Ouabain. Der Chf-Alk-(2:1)-Extr. zeigte in der Konzentration von 10<sup>-4</sup> (g pro ml) keine digitalisartige Wirkung.

<sup>12)</sup> D. L. KEDDE, Diss. Leyden; vgl. I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952). Ausgeführt als Tüpfelprobe auf Papier mit 0,4 mg Material.

<sup>13)</sup> Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).

<sup>14)</sup> Da sich inzwischen gezeigt hatte, dass Ae- und Chf-Extr. im wesentlichen dieselben Stoffe enthalten, wurde im zweiten Hauptversuch kein Ae-Extr. mehr bereitet.

<sup>15)</sup> Ausführung nach K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 98 (1952).

<sup>16)</sup> Wir danken der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier für die Ausführung dieser Prüfungen.

Alle 3 Extrakte zeigten eine etwa gleich starke tonisierende Wirkung auf den isolierten Darm und den isolierten Uterus des Meerschweinchens.

Der Chf- und der Chf-Alk-(2:1)-Extr. zeigten *in situ* am Kaninchen in Dosen von mindestens 0,5–1 mg/kg eine gewisse tonisierende Wirkung auf den Darm, die jedoch nur kurzdauernd war. Ae- und Chf-Extr. wiesen einen gewissen, jedoch nur kurzdauernden uterotonischen Effekt auf.

Die sehr schwache Wirkung am isolierten Froschherzen sowie die negative oder nur sehr schwache KEDDE-Reaktion zeigten, dass die Pflanze nur kleine Mengen von Cardenoliden enthalten konnte. Die Hauptmenge bestand, wie sich später zeigte, aus Ester-Glykosiden.

### Chemische Untersuchung

Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurde noch nicht weiter untersucht. Wir beschreiben hier die Trennung der Ae- und Chf-Extrakte.

Mit den zwei Präparaten aus Portion 1 wurden zunächst eine Reihe von Vorversuchen durchgeführt. Die wichtigsten sind in Tab. 3 zusammengestellt. Die milde saure Hydrolyse schien die besten Aussichten zu liefern, um mit dem Minimum an sekundären Reaktionen zu leichter trennbaren Stoffgemischen zu kommen. Die Hauptmenge des Materials aus beiden Portionen wurde daher diesem Verfahren unterzogen. Erhalten wurden die in Tab. 4 genannten Ausbeuten.

Tabelle 3. Vorversuche mit Extrakten aus 1. Portion

Art der Behandlung, darunter Art der Reaktionsprodukte	Angewandte Menge, darunter Erhaltene Menge			
	in mg		in %	
	Ae-Extr.		Chf-Extr.	
1. Direkte Chromatographie an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .	keine Krist.		keine Krist.	
2. Verseifung mit Alkali . . . . .	10		10,5	
Neutrale Anteile . . . . .	7,5	75	5	48
ätherlösl. Säuren . . . . .	2	20	4	38
3. Trennung mit Ketonreagens T <sup>17)</sup> .	201		186	
Ketonfreies Material . . . . .	151	75	155	83,3
Ketofraktion . . . . .	35	17,4	9	4,8
4. Milde saure Hydrolyse <sup>18)</sup> . . . . .	406		410 <sup>19)</sup>	
Genin-Glykosid-Gemisch . . . . .	217	53,5	280	68,3
Zuckersirup roh . . . . .	123	30,3	78	19

<sup>17)</sup> A. GIRARD & G. SANDULESCO, Helv. 19, 1095 (1930).

<sup>18)</sup> Halbstündiges Kochen mit 0,05-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> in 50-proz. Methanol. Unter diesen Bedingungen werden in der Regel nur die Glykoside von 2-Desoxyzuckern gespalten.

<sup>19)</sup> Dieses Material scheint noch ein wenig freien Zucker enthalten zu haben (KELLER-KILIANI-Reaktion: positiv). Im Hauptversuch wurde das Genin-Glykosid-Gemisch (nach der milden sauren Hydrolyse des Chf-Extraktes) daher mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Dabei wurden nur 53,3% erhalten. Es wurde so weniger Zucker mitgerissen, aber offenbar auch ein Teil des Genin-Glykosid-Gemisches nicht extrahiert.

Tabelle 4. *Milde saure Hydrolyse der Hauptmenge der Ae- und Chf-Extrakte aus beiden Drogen-Portionen*

Verwendeter Extrakt Menge in g	Ae-Extr. Portion 1 5,527 g		Chf-Extr. Portion 1 0,41 g <sup>20)</sup>		Chf-Extr. Portion 2 <sup>21)</sup> 47,3 g	
	Menge in g   in %		Menge in g   in %		Menge in g   in %	
Genin-Glykosid-Gemisch roh . . . . .	3,263	59	s. Tab. 3		25,19	53,2 <sup>18)</sup>
Genin-Glykosid-Gemisch fettfrei <sup>22)</sup> . . . . .	2,751	49,7			22,79	48
Zuckersirup . . . . .	2,080	37,7			16,68	35,2 <sup>24)</sup>

Durch die weiter unten beschriebenen, teilweise mühsamen Trennungen liessen sich aus dem Genin-Glykosid-Gemisch (teilweise direkt, teilweise erst nach alkalischer Verseifung) vier krist. Genine (A, B, C und G) gewinnen. Von diesen war A identisch mit Sarcostin<sup>26)26)27)</sup>. B, C und G waren, soweit wir feststellen konnten, neue Stoffe; sie werden wie folgt benannt: B = Lineolon, C = Utendin, G erwies sich als Mono-O-benzoyl-lineolon und wird entweder so oder als Subst. G (aus *Pachycarpus lineolatus*) bezeichnet. Ausserdem waren nach Papierchromatogrammen noch eine Reihe weiterer (vermutlich verwandter) Stoffe in teilweise erheblichen Mengen anwesend. Das Zuckergemisch bestand zur Hauptsache aus zwei Komponenten, nämlich D-Cymarose sowie einer neuen Biose, die als Thevetosido-cymarose erkannt wurde.

Wir beschreiben im Folgenden zuerst die Untersuchung der Genin-Glykosid-Gemische und anschliessend diejenige der Zucker.

*Untersuchung der Genin-Glykosid-Gemische.* Mit den zwei aus Portion 1 erhaltenen Genin-Glykosid-Gemischen (aus milder saurer Hydrolyse von Ae- und Chf-Extr.) wurden zuerst die in Tab. 5 genannten Vorversuche durchgeföhrt. Es zeigte sich, dass dieses Material reichlich zuckerfreie Spaltstücke (Genine) enthielt, von denen sich zwei (G und C, letzteres nur aus Ae-Extr.) durch Chromatographie an  $Al_2O_3$  in Kristallen fassen liessen. Daher wurde die ganze vorhandene Menge aus Ae-Extr. auf diese Art getrennt (siehe Tab. 5) und nur die amorphen Anteile einer Verseifung mit Alkali unterworfen (siehe unten).

*Trennung des Chf-Extr. aus 2. Portion.* In gleicher Weise wurden die 22,79 g fettfreies Genin-Glykosid-Gemisch aus dem Chf-Extr. der 2. Portion an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Sie gaben 2,55 g (11,2%) Subst. G (Rohkristalle) und 39 mg (0,17%) Subst. C (Rohkristalle). Von den verbleibenden Mutterlaugen und amorphen Frak-

<sup>20)</sup> Bisher wurde nur diese Probe hydrolysiert.

<sup>21)</sup> Entspr. der Summe von Ae- und Chf-Extr. von Portion 1.

<sup>22)</sup> Gereinigt durch Verteilung zwischen Pe und 80-proz. Me<sup>23)</sup>. Der erhaltene Pe-Extr. (fettartiges Material) wurde nicht untersucht.

<sup>23)</sup> R. E. WINKLER & T. REICHSTEIN, Helv. **37**, 721 (1954).

<sup>24)</sup> Nur am aliquoten Teil bestimmt. Das Rohprodukt gab mit KEDDE-Reagens positive Reaktion.

<sup>25)</sup> J. W. CORNFORTH & J. C. EARL, J. chem. Soc. **1939**, 737.

<sup>26)</sup> J. W. CORNFORTH & J. C. EARL, J. chem. Soc. **1940**, 1443.

<sup>27)</sup> Die Identifizierung von Subst. A mit Sarcostin wurde erst nach Abschluss dieser Arbeit durchgeföhrt<sup>28)</sup>.

<sup>28)</sup> Vgl. Diss. J. M. NASCIMENTO, Basel, die demnächst erscheint.

tionen wurden sämtliche Anteile vereinigt, soweit sie mit Chf-Me-(1:1) noch von der Säule eluierbar waren (15,3 g). Dazu kamen 2 g analoges Material aus Ae-Extr. von 1. Portion. Das Ganze (17,3 g) wurde mit 5-proz. KOH in Me 5 Std. gekocht. Die Aufarbeitung lieferte 11,31 g Neutralteile und 6,54 g ätherlösl. Säuren. Letztere bestanden zur Hauptsache aus Benzoesäure und enthielten noch eine kleine Menge Zimtsäure. Mühsamer war die Trennung der Neutralteile.

Tabelle 5. Vorversuche mit fettfreien Genin-Glykosid-Gemischen aus Portion 1

Reaktionen, Art der Behandlung, darunter Art der Reaktionsprodukte, isolierte krist. Stoffe	Angewandte Menge in mg, darunter erhaltene Menge			
	Gen <sup>29)</sup> aus Ae-Extr.		Gen <sup>29)</sup> aus Chf-Extr.	
	in mg	in %	in mg	in %
KELLER-KILIANI-Reaktion <sup>13)</sup> . . . . .	negativ		schwach +	
Zuckerprüfung <sup>30)</sup> . . . . .	nicht geprüft		+	
Direkte Chromatographie an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . .	2751 <sup>32)</sup>		280	
Subst. G krist. . . . .	236	8,6	6,3	2,2
„ C „ . . . . .	7,3	0,26	—	0
Heisse Verseifung mit Alkali . . . . .	97		nicht ausgeführt	
Neutrales . . . . .	65	67		
Ätherlösl. Säuren . . . . .	32	33		
Prüfung auf Lactone . . . . .	negativ			
„ „ Essigsäure usw. . . . .	negativ			
Trennung mit Ketonreagens T <sup>17)</sup> . .	120		nicht ausgeführt	
Ketonfreies Material . . . . .	86	71,6		
Ketone . . . . .	22	18,3		

*Untersuchung der nach Verseifung des Genin-Glykosid-Gemisches erhaltenen Neutralteile.* Die bei obiger alkalischer Verseifung erhaltenen Neutralteile erwiesen sich als kompliziertes Gemisch. Im Papierchromatogramm<sup>33)</sup> (Nr. 3 in Fig. 3 und 5, Entwicklung mit SbCl<sub>3</sub>) waren (teilweise erst nach vorheriger präparativer Anreicherung durch Verteilungschromatographie) 10 Flecke<sup>34)</sup> sichtbar, die als A, A1, B, C, D, E, F,  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  bezeichnet werden<sup>35)</sup>. Das ganze Material (11,31 g) wurde zunächst in 3 Portionen an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, wobei jedoch nur eine teilweise Trennung

<sup>29)</sup> Gen = Genin-Glykosid-Gemisch, fettfrei, entspr. Tab. 4.

<sup>30)</sup> Zuckerprüfung nach energischer saurer Hydrolyse mit \*KILIANI-Mischung\*<sup>31)</sup>, Ausführung nach P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).

<sup>31)</sup> Mischung von 35 ml AcOH, 55 ml W und 10 ml konz. HCl, vgl. H. KILIANI, Arch. Pharmac. 251, 567 (1913).

<sup>32)</sup> Diese Zahlen entsprechen bereits dem Hauptversuch.

<sup>33)</sup> Die Kontrolle im Papierchromatogramm wurde systematisch erst von dieser Stufe an durchgeführt. Die früheren Stufen gaben schlecht reproduzierbare Resultate.

<sup>34)</sup> Da mit einem unspezifischen Reagens (SbCl<sub>3</sub>) entwickelt werden musste, ist es unsicher, ob alle vorhandenen Stoffe erfasst sind.

<sup>35)</sup> Ausserdem waren noch einige rascher wandernde Stoffe sichtbar. Die Flecke  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  wurden erst nach präparativer Anreicherung sichtbar.

erfolgte. In papierchromatographisch reinen Kristallen liessen sich aus einer Portion (5,77 g, vgl. Tab. 11 im Exp. Teil) nur 47 mg Subst. C und 181 mg Subst. A isolieren. Ausserdem wurden insgesamt 4,02 g Kristallgemische erhalten, die nach Papierchromatogramm nur A und C enthielten. Diese Kristalle und die zugehörigen Mutterlaugen<sup>36)</sup> wurden vereinigt und das Ganze (6,284 g) einer zweimaligen Verteilungschromatographie unterworfen, worauf sich noch 1,785 g C und 1,830 g A rein isolieren liessen.

Die Totalausbeute an krist. Stoffen, auf 4,01 kg Wurzelpulver berechnet, war:

2,74 g (0,0684%) Subst. G (Präp. EA 5)  
 2,24 g (0,056 %) Subst. C (Präp. EA 19)  
 2,46 g (0,0612%) Subst. A (Präp. EA 20) = Sarcostin<sup>27)</sup>

Die Eigenschaften dieser drei Stoffe sind in Tab. 8 zusammengestellt und werden anschliessend besprochen. Wir beschreiben hier zuerst noch die Untersuchung der Zucker.

*Die Untersuchung der Zucker aus milder saurer Hydrolyse. – Zuckersirup aus Ae-Extr.* Dieses Material zeigte im Papierchromatogramm im System Bu-Py-W-(6:4:3) nur *einen* Fleck. In anderen Systemen (vgl. Fig. 7 und Fig. 8) konnten besonders nach Destillation weitere Flecke erkannt werden.

Die 2,08 g Zuckersirup wurden in 8 Portionen durch Destillation im Molekular Kolben bei 0,02 Torr grob in die folgenden 2 Fraktionen getrennt (Tab. 6).

Tabelle 6. *Destillation des Zuckersirups aus Ae-Extr.*

Fr.	Badtemp.	Menge	Flecke im Pchr. <sup>37)</sup>
1	bis 110°	1,52 g (73%)	d, (c), b, (a), Nr. 26 in Fig. 7 und 8
2	110–160°	0,187 g ( 9%)	(d), (c), (b), (a) Nr. 27 in Fig. 7 und 8
Rückstand		0,345 g (16,6%)	hellbraunes Harz, reduzierte nicht. Enthielt vermutlich noch Glykoside oder Genine.

Wie ersichtlich, war praktisch der ganze Zucker destillierbar. Zudem enthielten beide Fraktionen nach Papierchromatogramm dieselben Komponenten.

Fr. 1 gab die zwei Flecke d und b sehr stark. Fleck d entspricht Cymarose und Fleck b einer Biose (siehe unten). Die schwachen Flecke c und a zeigten Laufstrecken wie Oleandrose und Thevetose; eine sichere Identifizierung erfolgte aber nicht. Nach längerem Stehen bei 0° liess sich aus Fr. 1 ein Teil der Cymarose direkt in Kristallen abscheiden<sup>38)</sup>. Eine relativ glatte Trennung der zwei Hauptbestandteile gelang nach vorheriger Oxydation wie folgt:

Eine Probe (532 mg) von Fr. 1 wurde mit Bromwasser oxydiert<sup>39)</sup> und das erhaltene rohe Lacton (502 mg) im Molekularkolben bei 0,02 Torr destilliert, wobei jetzt gute Trennung eintrat.

<sup>36)</sup> Diese enthielten nach Pchr. ausser A und C noch etwas A 1, das aber nicht kristallin erhalten wurde.

<sup>37)</sup> Pchr. = Papierchromatogramm. In Klammern: schwache Flecke.

<sup>38)</sup> 171 mg Sirup gaben 54 mg rohe und daraus 31 mg analysenreine Kristalle.

<sup>39)</sup> Ausführung nach C. W. SHOPPEE & T. REICHSTEIN, *Helv.* **23**, 975 (1940).

Tabelle 7. Destillation der Zuckerlactone aus Fr. 1 von Tab. 6

Fr.	Badtemp.	Menge	Bestand vorwiegend aus
a)	100–110°	290 mg 57,8%	Cymaronsäure-lacton
b)	110–160°	176 mg 35 %	Bionsäure-lacton

Fr. a) gab mit Phenylhydrazin in guter Ausbeute krist. D-Cymaronsäure-phenylhydrazid<sup>39)</sup>. Fr. b) lieferte aus Me-Ae 100 mg krist. Bionsäure-lacton (Präp. EA 10), dessen Konstitution unten beschrieben wird.

Die relativ kleine Fr. 2 (hochsiedender Teil) des Zuckersirups (Tab. 6) gab ein ähnliches Resultat (vgl. Exp. Teil, A 6c).

*Zuckersirup aus Chf-Extr.* Dies Material (78 mg) bestand zur Hauptsache aus denselben zwei Zuckern, die sich in Form krist. Derivate isolieren liessen (vgl. Exp. Teil, B 6).

*Aufklärung des Bionsäure-lactons (Präp. EA 10) als Thevetosido-D-cymaronsäure-lacton.* Dieser gut kristallisierende Stoff zeigte Smp. 187°,  $[\alpha]_D^{24} = +57,8^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1 in Chf) und  $[\alpha]_D^{28} = +44,2^\circ \pm 2^\circ$  (c = 1 in W). Er besass kein Reduktionsvermögen und liess sich bei 0,02 Torr und 120–160° unzersetzt sublimieren. Die Analyse passte auf C<sub>14</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub> mit einer Methoxyl- und zwei C-Methyl-Gruppen. Nach energischer saurer Hydrolyse mit KILIANI-Mischung wurde reduzierender Zucker gebildet. Das Hydrolysat zeigte im Papierchromatogramm die folgenden zwei Flecke: a) einen reduzierenden Fleck, der in drei Systemen (Nr. 41 in Fig. 11–13) dieselbe Laufstrecke zeigte wie L-Thevetose; b) einen nicht reduzierenden Fleck<sup>40)</sup>, der in zwei Systemen (Nr. 37 in Fig. 9 und 10) dieselbe Laufstrecke zeigte wie D-Cymaronsäure-lacton.

Danach muss Präp. EA 10 ein Thevetosido-cymaronsäure-lacton darstellen. Da aus dem Hydrolysat der Rohglykoside eine grössere Menge freier D-Cymarose isoliert wurde, ist anzunehmen, dass der Cymaronsäure-Rest des Bionsäure-lactons auch in der D-Form vorlag. Auf Grund der relativ schweren Hydrolysierbarkeit ist es wahrscheinlich, dass der Thevetosido-Rest pyranosid gebunden ist<sup>42)</sup>. Wenn man von der noch unbestimmten Bindungsart der Thevetose absieht, kommen für die Biose nur die Formeln Ia und Ib in Frage und für das krist. Bionsäure-lacton die Formeln IIa und IIb. Bei den letzteren sollte die Entscheidung ( $\gamma$ - oder  $\delta$ -Lacton) durch das IR.-Spektrum scheinbar leicht möglich sein. Auffallenderweise lag die C=O-Bande des Präparates (EA 10) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (gesättigte Lösung, Kurve mit Wasserdampf geeicht) bei 5,687  $\mu$  (fest in Paraffinöl ebenfalls bei 5,685, und in KBr bei 5,70–5,74  $\mu$  breite Bande). Dieser Wert liegt gerade in der Mitte zwischen denjenigen, die für  $\gamma$ -Lactone (ca. 5,63) und für  $\delta$ -Lactone (ca. 5,75) typisch sind. Ein sicherer Ent-

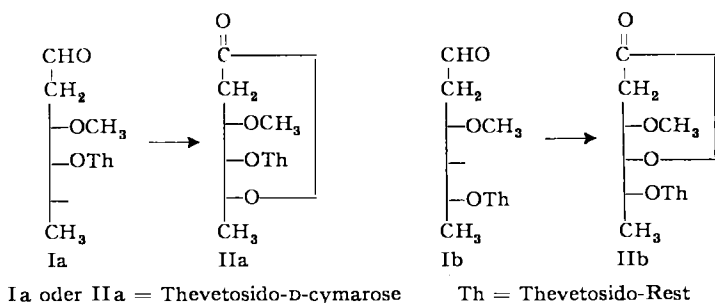
<sup>40)</sup> Entwickelt durch Behandlung mit NH<sub>2</sub>OH (10 Min. bei 20° trocknen) und anschliessende Behandlung mit 1-proz. FeCl<sub>3</sub> in 1-proz. HCl nach ABDEL-AKHER & SMITH<sup>41)</sup>. Das Verfahren ist zum Nachweis von Lactonen, Estern und Amiden geeignet; Cardenolide, 20,21-Dihydrocardenolide und Bufadienolide reagieren unter diesen Bedingungen aber nicht.

<sup>41)</sup> M. ABDEL-AKHER & F. SMITH, J. Amer. chem. Soc. **73**, 5859 (1951).

<sup>42)</sup> Es wurde aber noch nicht geprüft, ob es sich um D- oder L-Thevetose handelt, ersteres ist wahrscheinlicher. Auch die Bindungsart ( $\alpha$ - oder  $\beta$ -) ist bisher unbestimmt.



scheid ist somit nicht erbracht; auf Grund der bisher geprüften Modelle<sup>43)</sup> glauben wir, dass Formel IIa wahrscheinlich ist. Das würde bedeuten, dass die Biose mit dem Genin ursprünglich pyranosid verknüpft war.



*Besprechung der in krist. Form isolierten Genine.* Die drei, wie oben beschrieben, nach milder saurer und teilweise anschliessender alkalischer Hydrolyse in ungefähr gleicher Ausbeute isolierten Stoffe A, C und G erwiesen sich, wie erwähnt, als Genine. Die wichtigsten Eigenschaften dieser Substanzen sowie einiger ihrer Derivate sind in Tab. 8 zusammengestellt. Darin ist auch Subst. B (= Lineolon = EA 12) aufgenommen<sup>44)</sup>. Sie werden anschliessend einzeln besprochen.

*Subst. G = Mono-O-benzoyl-lineolon (= Präp. EA 5).* Wir vermuten, dass dieser Stoff die Formel  $C_{28}H_{36}O_6$  (lufttrocken mit zwei Mol. Kristallwasser) besitzt<sup>45)</sup>, obgleich die Analysen besser auf  $C_{27}H_{36}O_6$  passten. Bei der C-Methyl-Bestimmung nach KUHN-ROTH<sup>53)</sup> wurden zwei Mol. flüchtige Säure gefunden<sup>54)</sup>. Subst. G enthält eine reaktive Ketogruppe und lieferte ein krist. Oxim (vermutlich  $C_{28}H_{37}O_6N$ ) und ein amorphes Semicarbazon (vermutlich  $C_{28}H_{39}O_6N_3$ ), deren N-Gehalt auf die angegebenen Formeln passte. Im UV. (Fig. 14) zeigte Subst. G nur die Absorption der Benzoylgruppe (siehe unten). Im IR. (fest in Paraffinöl, vgl. Fig. 19) enthält die HO-Region bei ca.  $2,96 \mu$  eine breite Bande entspr. mehreren, teils assoziierten HO-Gruppen und Kristallwasser. Die Bande bei  $5,91 \mu$  (vermutlich auch die bei  $7,36 \mu$ ) dürfte einer Ketogruppe mit H-Bindung ( $>C=O \dots HO-$ )<sup>55)</sup> entsprechen und die Banden bei  $5,83, 6,25, 6,31$  und  $9,78 \mu$  der Benzoylgruppe.

<sup>43)</sup> In demselben Apparat und unter möglichst gleichen Bedingungen gemessen, fanden wir für die folgenden Modellsubstanzen ( $\gamma$ -Lactone der Zuckerreihe) die angegebenen Maxima: Flüssiges D-Cymaronsäure-lacton in  $CH_2Cl_2$   $5,618 \mu$ ; krist. D-Digitalonsäure-lacton in KBr  $5,63 \mu$ ; krist. D-Gulonsäure-lacton in KBr  $5,60$ , in Paraffinöl  $5,62 \mu$ .

<sup>44)</sup> Subst. B ist nach Papierchromatographie in dem Neutralstoffgemisch aus der Verseifung enthalten. In krist. Form wurde sie aber bisher nur durch Verseifung von Subst. G erhalten.

<sup>45)</sup> Anmerkung siehe Seite 1023.

<sup>53)</sup> R. KUHN & H. ROTH, Ber. deutsch. chem. Ges. **66**, 1274 (1933); vgl. Methoden der organ. Chemie (HOUBEN-WEYL), Analytische Methoden E. MÜLLER, 4. Aufl., Bd. II (Stuttgart 1953). Ausgeführt nach Originalvorschrift, aber in der Apparatur von E. WIESENBERGER, Mikrochem. Mikrochim. Acta **33**, 51 (1947).

<sup>54)</sup> Da Subst. G eine Benzoylgruppe enthält, die bei der Bestimmung nach KUHN & ROTH<sup>53)</sup> mit der Essigsäure aus der phosphorsäuren Lösung abdestilliert, würde dieses Resultat dafür sprechen, dass mindestens eine C-Methylgruppe vorliegt. Dementsprechend gab freies Lineolon 1 Äquiv. flüchtige Säure.

<sup>55)</sup> Ob eine Ketogruppe vorliegt, lässt sich daraus nicht sicher erschliessen.

Tabelle 8. *Eigenschaften und Reaktionen der Subst. G, C, A und B*

	Subst. G (= EA 5) Mono-O-benzoyl- lineolon	Subst. C (= EA 19) Utendin	Subst. A (= EA 20) Sarcostin	Subst. B (= EA 12) Lineolon
Smp. . . . .	247–251°	247–251°	150°/260–263°	233–239°
$[\alpha]_D$ in Me . . . . .	$-62,6^\circ \pm 2^\circ$	$+9,6^\circ \pm 2^\circ$	$+67,0^\circ \pm 2^\circ$	$+13,0^\circ \pm 2,5^\circ$
Vermutliche Formel . . . . .	$C_{28}H_{36}O_6$ <sup>45)</sup>	$C_{21}H_{34}O_5$	$C_{21}H_{34}O_6$	$C_{21}H_{32}O_5$ <sup>45)</sup>
Methoxyl . . . . .	abwesend	Gef. 2,6–3,3% <sup>46)</sup>	abwesend	abwesend (nur bei G geprüft)
H <sub>2</sub> -Verbrauch bei Hydrierung <sup>47)</sup> . . . . .	5,4 Mol.	1,02 Mol.	vgl. O-Acetyl- Derivat	vgl. O-Acetyl-Derivat
Tetranitromethan <sup>48)</sup> . . . . .	positiv (gelb)	positiv (gelb)	positiv (gelb)	positiv (gelb)
KELLER-KILIANI- Reaktion <sup>48)</sup> . . . . .	negativ	tiefblau	grün	rotbraun-weinrot
Xanthhydroprobe <sup>49)</sup> . . . . .	negativ	negativ (blassgrün)	negativ	negativ
Zuckerprüfung <sup>50)</sup> . . . . .	negativ	negativ	negativ	negativ
LEGAL-Probe <sup>50)</sup> . . . . .	orange	negativ	negativ	orange-ziegelrot
Verseifbarkeit mit Alkali . . . . .	+ (liefert B)	—	—	—
$\lambda_{max}$ in $m\mu$ (log $\epsilon$ ) in Alk . . . . . (Fig. Nr.) <sup>51)</sup> . . . . . Entspr. . . . .	230 (4,13), 273,5 (3,06) Fig. 14 Benzoyl- gruppe	196,5 (3,82) Fig. 16 Doppelbindung 3fach substit.	196,5 (3,87) Fig. 17 Doppelbindung 3fach substit.	196,5 (3,95), 290 (1,97) Fig. 18 Ketogruppe und Doppelbindung isoliert
Ketogruppe . . . . .	anwesend	abwesend	abwesend	anwesend
Acetyl-Derivat . . . . .	= EA 41	= EA 21	= EA 23	= EA 22
Smp. . . . .	221–225°	257–262°	208–210°	243–245°
$[\alpha]_D$ . . . . .	$-49,2^\circ$ $\pm 3^\circ$ (An)	$-15,9^\circ \pm 2^\circ$ (Me)	$+19,8^\circ \pm 2^\circ$ (Me)	$-47,0^\circ \pm 2^\circ$ (Me)
Vermutliche Formel . . . . .	$C_{30}H_{38}O_7$	$C_{27}H_{40}O_8$	$C_{27}H_{40}O_9$	$C_{28}H_{36}O_7$
Entspr. AcO-Zahl . . . . .	1	3	3	2
H <sub>2</sub> -Verbr. bei Hydr. . . . .	(vgl. Genin)	(vgl. Genin)	1,03 Mol.	2,09 Mol.
Benzoyl-Derivat . . . . .	= EA 17	= EA 42	= EA 43	= EA 17
Smp. . . . .	218–221°	275–278°	253–260°	(vgl. O-Benzoyl-G)
$[\alpha]_D$ . . . . .	$-27,2^\circ \pm 2^\circ$ (Me)	$+70,3^\circ \pm 3^\circ$ (Py)	nicht analysiert	
Vermutliche Formel . . . . .	$C_{35}H_{40}O_7$	$C_{35}H_{42}O_7$		
Entspr. BzO-Zahl . . . . .	1	2		

<sup>45)</sup> Die Werte der Verbrennungen (vgl. Exper. Teil) passten bei G besser auf  $C_{27}H_{36}O_6$  und bei B auf  $C_{20}H_{30}O_6$ . Polyhydroxy-Verbindungen sind aber oft schwer zu trocknen. Bei Aufstellung der vermutlichen Bruttoformel wurde auch die vermutete Verwandtschaft zu A und C berücksichtigt.

<sup>43)</sup> Ursache nicht abgeklärt. <sup>47)</sup> Berechnet auf angegebene Formel.

<sup>48)</sup> Ausführung nach K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. **35**, 98 (1952) (teilweise in Me).

<sup>49)</sup> M. M. PESEZ, Ann. pharmac. franç. **10**, 104 (1952).

<sup>50)</sup> Ausführung nach K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. **35**, 98 (1952).

<sup>51)</sup> Das kurzwellige Gebiet (195–210  $m\mu$ ) wurde in N<sub>2</sub>-Atmosphäre nach spezieller Methodik<sup>52)</sup> vermessen.

<sup>52)</sup> Zur Methodik vgl. K. STICH, G. ROTZLER & T. REICHSTEIN, Helv. (in Vorbereitung).

Tabelle 9. *Farbreaktionen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>*  
 nach angegebener Zeit, auf weisser Porzellantüpfelplatte bedeckt stehengelassen

	Subst. G (EA 5) Mono-O-benzoyl- lineolon	Subst. C (EA 19) Utendin	Subst. A (EA 20) Sarcostin	Subst. B (EA 12) Lineolon
Freie Genine	orange (1–20') braunorange (30') rotbraun (45') violettbraun (60') blauviolett (90') blau (5 Std.) grünlich (18 Std.)	braunviolett (0–1') grauviolett (2–5') grau (10') graublau (15') stahlblau (30–120') grau (5 Std.)	orange (1–2') rostbraun (5') braun (10') tief braun (15–60') grünsschwarz (2 Std.) dunkelgrün (5 Std.)	orange (1–10') braun (15') hellblau (1 Std.) graugrün (2½ Std.) grün (24 Std.)
O-Acetyl- Derivate	orange (1–2') braunorange (5') braun (15') violettbraun (30') violett (45–60') blauviolett (2 Std.) verblasst (4 Std.)	gelb (1–2') ocker (5'–1 Std.) hellbraun (1½ Std.) braun (2 Std.) rotbraun (3 Std.) violett (6 Std.)	ocker (1–2') braun (5–10') braun mit vio- lettem Rand (30') violett (1–2 Std.) blauviolett (5 Std.) dunkelblau (24 Std.)	orange (1–2') orangebraun (5') rotbraun (10') tiefbraun (45') braunschwarz (1 Std.) tiefviolett (1½ Std.) tief blauviolett (6 Std.)
O-Benzoyl- Derivate	orange (1–5') orangebraun (10') braunrosa (15') grauviolett (30–45') violett (1–6 Std.)	braunviolett (1') blauviolett (2–5') stahlblau (10'–2 St.) verblasst (4 Std.)	blassrosa (1') blassbraun (2–5') rosa (10–30') violettrosa (45–60') leuchtend rotviolett (2 Std.) leuchtend violett (4 Std.)	Di-O-Benzoyl-B ist identisch mit Benzoyl-G

Subst. G gab bei der Acetylierung ein krist. Mono-O-acetyl-Derivat (EA 41). Auch bei der Benzoylierung nahm es eine Benzoylgruppe auf und lieferte ein krist. Derivat (Mono-O-benzoyl-Subst. G = EA 17, C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>O<sub>7</sub>), das somit insgesamt zwei Benzoylgruppen enthielt. Letzteres zeigte im IR. (in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Fig. 20) in der HO-Region nur eine Bande bei 2,80 μ, muss demnach mindestens eine freie HO-Gruppe enthalten haben.

Subst. B = *Lineolon* (= *Präp.* EA 12). Subst. G liess sich durch Kochen mit KOH in Methanol verseifen. Erhalten wurden ca. 0,9 Mol. Benzoesäure und ein krist. Neutralstoff (vermutliche Formel C<sub>21</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub>), der als *Lineolon* = Subst. B (= *Präp.* EA 12) bezeichnet wird. Derselbe Stoff war nach Papierchromatogramm (Nr. 3 in Fig. 5) auch im Gemisch der Verseifungsprodukte des amorphen Genin-Glykosid-Gemisches enthalten, aber daraus nicht rein erhalten worden. Bei der Verseifung von Subst. G sind im wesentlichen keine weiteren Veränderungen in der Molekel eingetreten, denn die Benzoylierung von Subst. B lieferte in guter Ausbeute ein krist. Di-O-benzoyl-Derivat, das mit dem O-Benzoyl-Derivat (EA 17) von Subst. G identisch war (IR.-Spektren vgl. Fig. 20). Im UV. zeigte Subst. B die Absorption der Benzoylgruppe nicht mehr, jedoch (Fig. 18) eine schwache Bande bei ca. 290 mμ (log ε = 1,97), entsprechend einer (evtl. β,γ-ungesättigten) Ketogruppe, und im kurz-

welligen Gebiet<sup>52)</sup> (Fig. 18) eine starke Bande bei  $196,5 \mu$  ( $\log \varepsilon = 3,95$ ), die zur Hauptsache einer (vermutlich trisubstituierten) isolierten Doppelbindung entspricht<sup>56)</sup>. Letztere machte sich auch durch die starke Gelbfärbung mit Tetranitromethan bemerkbar. Im IR. (in  $\text{CHCl}_3$ ) waren Banden bei  $2,81$ – $2,85$  und  $3,0 \mu$  sichtbar, entsprechend mehreren, teilweise assoziierten HO-Gruppen, sowie starke Banden bei  $5,90$ ,  $7,40$  und  $9,56 \mu$ . Die zwei erstgenannten dürften wieder der assoziierten Keto-gruppe entsprechen<sup>57)</sup>. In KBr (vgl. Fig. 21) waren entsprechende Banden bei  $5,94$ ,  $7,39$  und  $9,53$ – $9,65 \mu$  sichtbar.

Die Acetylierung von Subst. B lieferte ein krist. O-Acetyl-Derivat (EA 22), dessen Analyse für das Vorliegen eines Di-O-acetyl-Derivats  $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{O}_7$  spricht<sup>58)</sup>. Auch dieser Stoff zeigte im IR. (in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , vgl. Fig. 22) nur eine HO-Bande bei  $2,82 \mu$ . Im normalen UV.-Bereich war wieder nur ein schwaches Maximum bei  $290 \text{ m}\mu$  ( $\log \varepsilon = 1,65$ ) entspr. der Ketogruppe sichtbar.

*Subst. B 1 (EA 30)*. Um die Frage zu prüfen, ob Subst. B ein Abkömmling von Subst. C sein könnte, bei dem eine HO-Gruppe zu einer Ketogruppe oxydiert ist, wollten wir diese Ketogruppe reduzieren. An Stelle von Subst. B haben wir die Reduktion direkt mit Subst. G ausgeführt, da die Benzoylgruppe von diesem Reduktionsmittel ohnehin leicht entfernt wird. Die Behandlung von  $100 \text{ mg}$  Subst. G mit  $\text{LiAlH}_4$  in siedendem Äther-Tetrahydro-furan-(1:1) lieferte  $84 \text{ mg}$  rohes Neutralprodukt, das gut kristallisierte, das sich aber als Gemisch erwies und im Papierchromatogramm (Nr. 9 in Fig. 4) neben dem Hauptfleck B 1<sup>59)</sup> noch zwei weitere Flecke zeigte. Der C-Fleck war nicht vorhanden. Durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  liess sich B 1 nicht rein erhalten und wurde daher durch präparative Papierchromatographie isoliert. Die reinen Kristalle zeigten Smp.  $251$ – $255^\circ$  (Zers.) und  $[\alpha]_D^{27} = +51,1^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,875$  in Me), waren also von Subst. B auch deutlich verschieden. Im IR. (in KBr) zeigte Subst. B 1 nur noch eine sehr schwache Ketobande bei  $5,87 \mu$ . Im UV. (in Alkohol, Fig. 15) war nur eine scharfe Bande bei  $196,5 \text{ m}\mu$ ,  $\log \varepsilon = 3,85$  (ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_6$ ) sichtbar, entsprechend einer trisubstituierten Doppelbindung.

*Substanz C = Utendin (Präp. EA 19)*. Die Analysen passten auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_6$ . Die C-Methyl-Bestimmung gab 2 Mol. flüchtige Säure. Das IR.-Spektrum (fest in KBr, vgl. Fig. 24) war zwischen  $5,6$ – $6,0 \mu$  leer, was die Anwesenheit einer Ketogruppe ausschliesst. Im UV. (in Alkohol) war nur im kurzwelligen Bereich (Fig. 16) bei  $196,5 \text{ m}\mu$ ,  $\log \varepsilon = 3,82$  (ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_6$ ) wieder eine scharfe Bande sichtbar, ent-

<sup>56)</sup> Die schwächere Absorption der Ketogruppe scheint in diesem Fall nicht stark zu stören.

<sup>57)</sup> Die deutliche Bande bei  $7,09 \mu$ , die in KBr sichtbar wird, entspricht vermutlich einer (evtl. tertiären) C–OH-Gruppe, denn sie ist auch im IR.-Spektrum von Utendin, sowie (schwächer) auch bei Sarcostin (in Paraffinöl) vorhanden. Sie würde sonst auf die Gruppierung  $-\text{CH}_2-\text{CO}-$  deuten. Eine solche Bande zeigen Fünfring-Ketone mit  $\text{CH}_2$  neben CO. 21-Hydroxy-20-ketosteroide zeigen in KBr eine meist schwächere Bande bei  $7,12 \mu$  (sowie eine weitere bei  $7,36$ – $7,40 \mu$ ). Bei Sechsring-Ketonen liegt die Bande etwas kurzwelliger ( $6,95$ – $7,06 \mu$ ).

<sup>58)</sup> Daneben liessen sich wenig Kristalle eines zweiten Acetylderivats (EA 31) erhalten, das bei der Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  etwas leichter eluiert wurde. Es zeigte Smp.  $154$ – $156^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +55,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,92$  in Me). Zum Unterschied von Di-O-acetyl-B (EA 22) zeigte es im IR. (in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , vgl. Fig. 23) im HO-Bereich zwei Banden bei  $2,84$  und  $3,00$ – $3,02 \mu$  sowie weitere Banden bei  $5,78$ ;  $5,90$ ;  $7,32$ ;  $8,11$ ;  $8,51$  ( $9,18$ ) und  $9,70 \mu$ . Es ist demnach möglich, dass die rohe Subst. B doch noch eine kleine Menge eines anderen Stoffes enthielt, der vermutlich aus B mit Alkali entstand.

<sup>59)</sup> Der B 1-Fleck zeigte im verwendeten System praktisch dieselbe Laufstrecke wie B, aber mit  $\text{SbCl}_3$  eine deutlich andere Färbung.

sprechend einer trisubstituierten Doppelbindung. Subst. C zeigte dementsprechend deutliche Gelbfärbung mit Tetranitromethan und nahm bei der Hydrierung 1 Mol.  $H_2$  auf. Bei der Acetylierung lieferte sie ein gut krist. Tri-O-acetyl-Derivat  $C_{27}H_{40}O_8$ , das gegen  $CrO_3$  in Eisessig (4 Std. bei  $20^\circ$ ) weitgehend beständig war. Im IR. (in  $CH_2Cl_2$ ) zeigte es in der HO-Region zwei Banden bei 2,80 und 2,89  $\mu$  und enthielt demnach noch mindestens 2 freie HO-Gruppen. Dies zeigt, dass alle 5 Sauerstoffatome der Subst. C in Form von HO-Gruppen vorliegen. Falls die angegebene Bruttoformel richtig ist, muss der Stoff demnach vier carbocyclische Ringe enthalten. Bei der Benzoylierung wurde ein krist. Di-O-benzoyl-Derivat erhalten, das sich mit  $CrO_3$  in Eisessig zu einem krist. Dehydro-Derivat (EA 46) dehydrieren liess. Dieses lieferte mit KOH unter Orange- $\rightarrow$  Braunfärbung nur amorphes Material, was darauf deutet, dass ein Keton vorgelegen hat.

Die bisherigen Resultate wären mit der Annahme verträglich, dass Utendin gleich oder ähnlich gebaut ist wie Sarcostin (siehe unten), und dass es sich von letzterem durch das Fehlen einer tertiären HO-Gruppe (an C-8 oder C-14 in der Teilformel III von CORNFORTH & EARL) unterscheidet.

Subst. A = Sarcostin (Präp. EA 20) wurde nach Abschluss dieser Arbeit mit Sarcostin<sup>25)26)</sup> identifiziert<sup>28)</sup>. Der Stoff dürfte in Übereinstimmung mit den Resultaten von CORNFORTH & EARL<sup>25)26)</sup> die Formel  $C_{21}H_{34}O_6$  besitzen, obgleich die Analysen teilweise besser auf  $C_{20}H_{34}O_6$  passten. Im UV. (in Alkohol, Fig. 17) zeigte auch Sarcostin nur im kurzwelligen Gebiet eine scharfe Bande bei 196,5  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,87$ , entsprechend einer trisubstituierten Äthylengruppe. Im IR. (fest in Paraffinöl) war in der CO-Region keine Bande sichtbar.

Acetylierung lieferte ein krist. Produkt, dessen Analysen in Übereinstimmung mit CORNFORTH & EARL<sup>25)26)</sup> auf ein Tri-O-acetyl-Derivat  $C_{27}H_{40}O_8$  passten. Es zeigte im IR. (in  $CH_2Cl_2$ ) in der HO-Region zwei Banden bei 2,82 und 2,90  $\mu$ , so dass es noch mindestens zwei freie HO-Gruppen enthielt. Bei der Hydrierung mit Pt in Eisessig nahm es 1 Mol.  $H_2$  auf und lieferte ein krist. Dihydroderivat (EA 32, vermutlich  $C_{27}H_{42}O_8$ ), das mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr gab und bei dem die starke Absorption im UV. bei 196,5  $m\mu$  verschwunden war.

O-Acetyl-A (EA 23) wurde von  $CrO_3$  in Eisessig bei  $20^\circ$  leicht angegriffen. Es entstand in schlechter Ausbeute ein krist. Stoff (nicht analysiert), der als Dehydrotri-O-acetyl-sarcostin (= EA 29) bezeichnet wird. Er zeigte im UV. ein Maximum

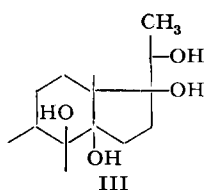
bei 282  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,08$ ), was stark auf ein  $\beta,\gamma$ -ungesättigtes Keton  $\text{>C}=\text{C}(\text{O})\text{-}$  deutet. Im IR. (in  $CH_2Cl_2$ , vgl. Fig. 25) war in der HO-Region nur eine scharfe Bande bei 2,79  $\mu$  sichtbar. Die Acetylbande bei 5,77  $\mu$  war stark und relativ breit. Obwohl dieser Bereich für ein Sechsring-Keton zu kurzwellig ist, kann das Vorliegen eines solchen wegen der Breite der Bande nicht sicher ausgeschlossen werden. Auch das Vorliegen

einer  $\alpha$ -Acetoxy-keto-Gruppe  $\text{>C}(\text{O})\text{-OAc}$  wäre möglich<sup>60)</sup>.

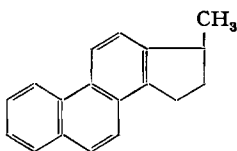
<sup>60)</sup> Wenn die von CORNFORTH & EARL<sup>26)</sup> für Sarcostin vorgeschlagene Teilformel III (oder eine entsprechende mit C-Nor-D-homo-Gerüst) richtig ist, so könnte es sich am ehesten um ein Diketon handeln, das durch oxydative Spaltung zwischen C-8 und C-14 entstanden ist. Falls sich die Doppelbindung wie beim Cholesterin in 5-Stellung befindet, wäre sowohl die Bildung eines  $\beta,\gamma$ -ungesättigten Ketons, sowie die schlechte Ausbeute (solche Ketone sind gegen  $CrO_3$  nicht beständig) leicht erklärbar.

Die Benzoylierung von Subst. A lieferte in schlechter Ausbeute ein krist. hochschmelzendes O-Benzoyl-Derivat (nicht analysiert), das in Me, Ae und An ähnlich schwer löslich war wie Di-O-benzoyl-C. Die zwei Stoffe gaben auch bei der Mischprobe keine Depression, aber die Farbreaktionen mit 84-proz.  $H_2SO_4$  waren deutlich verschieden (vgl. Tab. 9).

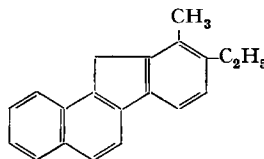
Die bisherigen Befunde sprechen dafür, dass Sarcostin die Formel  $C_{21}H_{34}O_6$  mit nur einer Doppelbindung besitzt. Eine Ketogruppe ist abwesend, der Stoff sollte demnach 4 Ringe enthalten. Von den 6 Sauerstoffatomen liegen nach unseren Befunden mindestens fünf, nach CORNFORTH & EARL vermutlich alle sechs als HO-Gruppen vor. Von diesen sind drei (vermutlich primäre oder sekundäre) mit  $Ac_2O$ -Py bei  $20^\circ$  acetylierbar.



Teilformel für Sarcostin nach CORNFORTH & EARL<sup>26)</sup>



IV  
DIELS'scher  
Kohlenwasserstoff,  
Smp.  $126^\circ$



V  
JACOBS'scher  
Kohlenwasserstoff  
Smp.  $154^\circ$

Ob sich unter den nicht acetylierbaren HO-Gruppen eine schwer acetylierbare sekundäre befindet, oder ob alle tertiär sind, lässt sich vorläufig nicht sicher sagen. Die Tatsache, dass Tri-O-acetyl-sarcostin von  $CrO_3$  leicht angegriffen wird, spricht nicht gegen die letztgenannte Möglichkeit. Die von CORNFORTH & EARL<sup>26)</sup> für Sarcostin vorgeschlagene Teilformel III enthält 3 tertiäre, vermutlich nicht acetylierbare HO-Gruppen, von denen aber zwei benachbart sind, was die Angreifbarkeit durch  $CrO_3$  unter Bildung eines Diketons leicht erklären würde. CORNFORTH & EARL haben Sarcostin auch mit Selen dehydriert. Sie erhielten ein Kohlenwasserstoffgemisch und sprachen die Vermutung aus, dass es im wesentlichen den DIELS'schen Kohlenwasserstoff IV enthielt. Wir haben diese Reaktion ebenfalls durchgeführt<sup>61)</sup> und zwar haben wir Substanz A (= Sarcostin) mit Se 36 Std. auf  $350^\circ$  erhitzt.

Diese Bedingungen wurden gewählt, weil KÄGI & MIESCHER<sup>62)</sup> gezeigt haben, dass sie zur Gewinnung des DIELS'schen Kohlenwasserstoffs besonders günstig sind, was wir durch Vorversuche bestätigen konnten<sup>63)</sup>. Aus 1 g Subst. A wurde jedoch ein Gemisch erhalten, aus dem sich neben viel kleinemolekularem Material nach Destillation und wiederholter Chromatographie nur wenig mg eines unscharf bei ca.  $170$ – $208^\circ$  schmelzenden Kohlenwasserstoffgemisches isolieren liessen, das nach dem UV.-Spektrum (vgl. Exp. Teil) im wesentlichen ein Chrysenderivat darstellen dürfte. Sarcostin gibt aber bei der Selendehydrierung ein besseres Resultat, wenn diese nur bei ca.  $315^\circ$  (24 Std.) ausgeführt wird. NASCIMENTO und Mitarb.<sup>64)</sup> erhielten unter

<sup>61)</sup> Dieser Versuch erfolgte, bevor Substanz A mit Sarcostin identifiziert war.

<sup>62)</sup> H. KÄGI & K. MIESCHER, *Helv.* **22**, 683 (1939).

<sup>63)</sup> Aus 1,027 g  $3\beta,20$ -Dihydroxy-21-nor-pregnen-(5) wurden mit 2,6 g Se im Rohr nach 36 Std. bei  $350^\circ$  78,4 mg krist. DIELS'scher Kohlenwasserstoff IV erhalten. Ein analoger Versuch bei 22stündigem Erhitzen auf  $310$ – $315^\circ$  gab nur 30 mg solcher Kristalle.

<sup>64)</sup> J. M. NASCIMENTO, H. JÄGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.*, spätere Publikation.

diesen Bedingungen als Hauptprodukt den JACOBS'schen Kohlenwasserstoff V. Dieser ist offenbar gegen Se bei 350° nicht beständig. Danach besteht die Möglichkeit, dass Sarcostin das Gerüst des C-Nor-D-homo-pregnans enthält<sup>64a)</sup>.

### Diskussion der Ergebnisse

Die bisherigen Versuche zeigen, dass die Wurzeln der untersuchten Pflanze *Pachycarpus lineolatus* (DECNE.) BULLOCK ein Gemisch von Glykosiden enthalten, die sich als Esterglykoside erwiesen. Ähnlich gebaute Stoffe wurden in *Marsdenia condurango* REICHB.<sup>65-67)</sup>, *Sarcostemma australe* R. BR.<sup>25)26)</sup>, *S. viminale* R. BR.<sup>68)</sup>, *Dregea volubilis* (L.) BENTH. et HOOK.<sup>69)</sup> sowie *Asclepias glaucophylla* SCHLECHTER<sup>28)</sup> gefunden, die alle ebenfalls zur Familie der Asclepiadaceen gehören. Kondurangin (amorph) enthält nach KORTE & WEITKAMP<sup>67)</sup> in wechselnden Mengen Zimtsäure und je ein Mol. D-Glucose, D-Cymarose, D-Thevetose und Des-cinnamoyl-kondurangogenin. Letzteres liess sich bisher nicht kristallisieren<sup>70)</sup> und wurde zuerst als ein Dihydroxy-methoxy-dodecahydro-fluorenon aufgefasst<sup>67)71)</sup>. Da es aber bei der Dehydrierung mit Selen den JACOBS'schen Kohlenwasserstoff V<sup>72)</sup> lieferte<sup>73)</sup>, dürfte wiederum ein Stoff oder Stoffgemisch mit Pregnan oder C-Nor-D-homo-pregnangerüst vorgelegen haben<sup>74)</sup>.

*Dregea volubilis*<sup>69)</sup> lieferte ein Gemisch von Esterglykosiden, die verschiedene leicht abspaltbare Zucker, darunter auch D-Cymarose und als Säure (verestert) vorwiegend Isovaleriansäure enthielten. Vier offenbar nahe verwandte Genine wurden isoliert<sup>75)</sup>. Von diesen gab Drevogenin A nach Hydrierung, Verseifung und Dehydrierung mit Selen den JACOBS'schen Kohlenwasserstoff V, dem damals noch die Formel C<sub>21</sub>H<sub>20</sub> zugeschrieben wurde<sup>69)</sup>. Für die krist. Drevogenine A und B wurden daher Formeln vorgeschlagen, die für die zugrunde liegenden freien Ketole (Des-

<sup>64a)</sup> J. W. CORNFORTH hat inzwischen für Sarcostin eine Formel mit C-Nor-D-homo-pregnangerüst vorgeschlagen, vgl. Chem. & Industry, im Druck. Wir danken Herrn Dr. CORNFORTH auch hier für die Übersendung einer Kopie des Manuskripts vor der Drucklegung.

<sup>65)</sup> F. KORTE, Chem. Ber. **88**, 1527 (1955) und frühere Lit. daselbst.

<sup>66)</sup> F. KORTE & I. KORTE, Z. Naturforsch. **10b**, 223 (1955).

<sup>67)</sup> F. KORTE & M. WEITKAMP, Chem. Ber. **89**, 2669 (1956).

<sup>68)</sup> Privatmitteilung von Herrn Prof. O. JEGER, Zürich.

<sup>69)</sup> R. E. WINKLER & T. REICHSTEIN, Helv. **37**, 721 (1954).

<sup>70)</sup> Wir vermuten, dass auch dort Gemische von evtl. nahe verwandten Stoffen vorlagen.

<sup>71)</sup> Das von KORTE & WEITKAMP<sup>67)</sup> auf S. 2671 in Abb. 2a wiedergegebene IR.-Spektrum passt allerdings gar nicht zu einer solchen Annahme, da es in der CO-Region nur zwei kleine Zacken bei ca. 5,9 und 6,1  $\mu$  zeigt. Die daselbst in Abb. 1, Kurve 2 wiedergegebene UV.-Absorption des «dimeren» (amorphen) Des-cinnamoyl-kondurangogenins (das durch Benzoylierung erhalten wurde) entspricht dagegen der Absorption eines Benzoessäureesters (Maxima bei ca. 230 und 270 m $\mu$ ). Nach Privatmitteilung von Herrn Dr. F. KORTE, für die auch hier bestens gedankt sei, ist die Beschriftung in Abb. 2 teilweise verwechselt. Die gestrichelte Kurve in Abb. 2a ist Drevogenin D (nicht B) und die ausgezogene Kurve in Abb. 2b ist Drevogenin B (und nicht D).

<sup>72)</sup> Konstitutionsbeweis durch Synthese vgl. L. KELLER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **41**, 1633 (1958).

<sup>73)</sup> Privatmitteilung von Herrn Dr. F. KORTE. Die Identität ist gut gesichert, vgl. <sup>72)</sup>.

<sup>74)</sup> Natürlich besteht auch noch die Möglichkeit, dass ein etwas anderes C-Gerüst vorlag, das erst bei der Dehydrierung in das Vierringsystem von V übergeht.

<sup>75)</sup> Von den zuckerfreien Spaltstücken waren die Drevogenine A, B und D gut kristallisiert. Drevogenin C wurde nur als Gallerte erhalten. Die Drevogenine A und B enthielten Isovaleriansäure, Drevogenin D war frei davon und Drevogenin C wurde nicht geprüft.

isovaleryl-drevogenin A usw.) eine Bruttoformel  $C_{22}H_{34}O_6$  ergeben<sup>76)</sup>. Da inzwischen erkannt wurde, dass der JACOBS'sche Kohlenwasserstoff die Formel V (also  $C_{20}H_{18}$ )

Beispiele der Kontrolle durch Papierchromatographie<sup>10) 77)</sup>

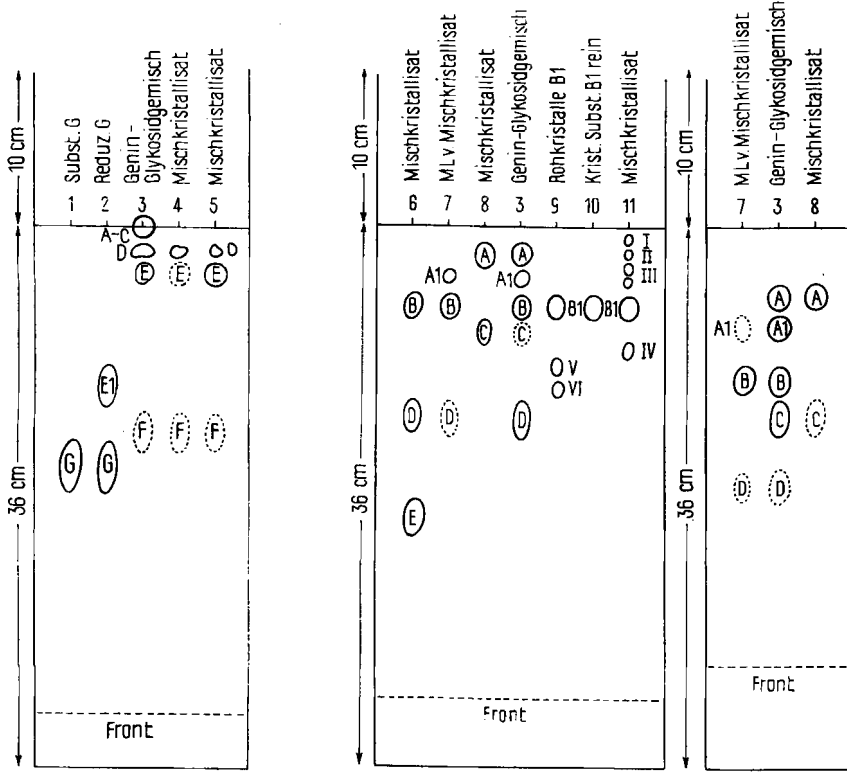


Fig. 3  
Be-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)  
2 1/2 Std.

Fig. 4  
To-Bu-(9:1)/W, 3-6 Std.

Fig. 5  
Be-Bu-(6:1)/W  
3-4 Std.

Entwickelt mit  $SbCl_3$ <sup>78)</sup>. Die in Fig. 3-6 wiedergegebenen Flecke zeigten am Tageslicht die folgenden Färbungen (im UV. meist Fluoreszenz).

A = Sarcostin	= dunkelblau	I (nicht isoliert) = rosa
A 1 = (nicht isoliert)	= gelbgrün	II .. .. = grau
B = Lineolon	= blau → violett	III .. .. = blau
B 1 = Präp. EA 30	= violett → blau	IV .. .. = grauviolett
C = Utendin	= grauviolett	V .. .. = grün
D = (nicht isoliert)	= rosa	VI .. .. = gelb
E = .. ..	= braunviolett	α .. .. = rosa
E 1 = .. ..	= blau → violett	β .. .. = gelb
F = .. ..	= blau	γ .. .. = blau
G = Mono-O-benzoyl-lineolon	= blassblau	

<sup>76)</sup> Dieselbe Formel wurde für das Drevogenin D vorgeschlagen.

<sup>77)</sup> Die hier in jeder Fig. zusammengefassten Stoffe oder Gemische sind nicht alle auf demselben Papier gelaufen. Die relativen Laufstrecken wurden an Hand von Testproben, die auf jedem Papier mitliefen, ermittelt.

<sup>78)</sup> R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* **34**, 2278 (1951).



besitzt<sup>72)</sup>, glauben wir, dass auch die Drevogenine Abkömmlinge des Pregnans oder C-Nor-D-homo-pregnans sind<sup>74)</sup>, dass also Des-isovaleryl-drevogenin A und die drei anderen genannten Ketole die Formel  $C_{21}H_{32}O_6$  (teilweise evtl.  $C_{21}H_{34}O_6$ ) besitzen und mit Sarcostin nahe verwandt sind. Nach KORTE & WEITKAMP<sup>67)</sup> zeigten Kondurangin und Drevosid C sehr ähnliche Eigenschaften. Wir glauben aber, dass beide Präparate noch Gemische von Esterglykosiden darstellten.

Die bisherigen Versuche sprechen dafür, dass die genannten Asclepiadaceen eine Reihe von Esterglykosiden produzieren, in denen eine Gruppe nahe verwandter Polyhydroxysteroiden mit verschiedenen Säuren verestert und mit verschiedenen Zuckern glykosidisch verknüpft sind. Die bisher in dieser Gruppe aufgefundenen Steroide stellen vermutlich einfach ungesättigte Pregnan- oder C-Nor-D-homo-pregnan-Derivate dar und besitzen die Formeln  $C_{21}H_{32-34}O_{5-6}$  teilweise mit, teilweise ohne Ketogruppe.

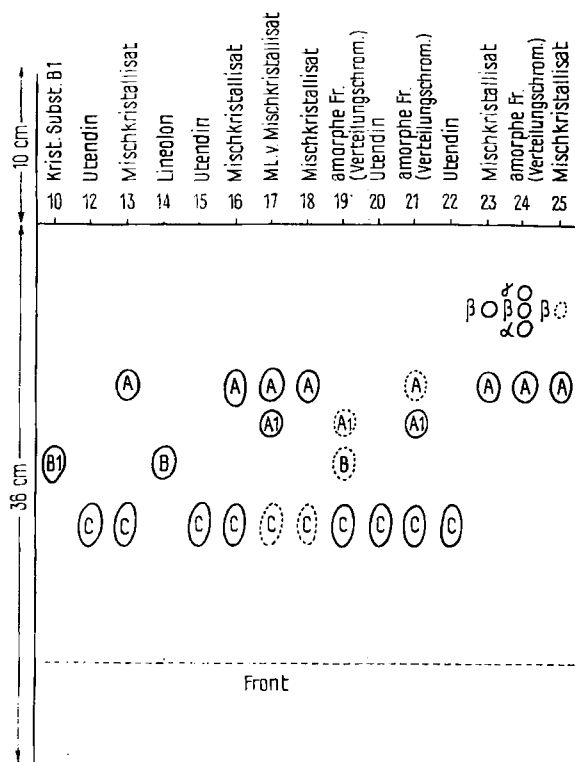


Fig. 6. To-Bu-(4:1)/W, ca. 3 Std. Entwickelt mit  $SbCl_5$ <sup>78)</sup>

- 1 = 0,05 mg krist. Mono-O-benzoyl-lineolon = Subst. G (EA 5).
- 2 = 0,05 mg amorphes Reduktionsprodukt aus Subst. G mit  $LiAlH_4$  in Dioxan-Ae.
- 3 = 0,10 mg amorphe Neutralteile nach alkalischer Verseifung des Genin-Glykosid-Gemisches aus Chf-Extrakt 2. Portion (vgl. Exper. Teil C 3).
- 4 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 2 von Tab. 11.
- 5 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 3 von Tab. 11.
- 6 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 7 von Tab. 11.
- 7 = 0,05 mg ML der Kristalle aus Fr. 8 von Tab. 11.

- 8 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 13 von Tab. 11.
- 9 = 0,05 mg Rohkristalle von Subst. B 1 vor Reinigung durch präp. Pchr.
- 10 = 0,05 mg krist. Subst. B 1 (EA 30) nach Reinigung durch präp. Pchr.
- 11 = 0,05 mg Kristalle aus der Chromatographie des Reduktionsproduktes von Subst. G mit  $\text{LiAlH}_4$  in Tetrahydrofuran-Ae (aus den mit Chf-Me-(95:5) eluierten Anteilen).
- 12 = 0,05 mg krist. Utendin = Subst. C (EA 19) aus Genin-Glykosid-Gemisch vor der Verseifung isoliert (vgl. Exper. Teil A 5b).
- 13 = 0,05 mg Mischkristallisat vom Smp. 243-246° (EA 16), erhalten aus Genin-Glykosid-Gemisch (aus Ae-Extr.) nach Verseifung und Chromatographie der neutralen Anteile (vgl. Exper. Teil A5d2).
- 14 = 0,05 mg krist. Lineolon = Subst. B (EA 12).
- 15 = 0,05 mg krist. Utendin aus Fr. 9, Tab. 11.
- 16 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 10, Tab. 11.
- 17 = 0,05 mg ML der Kristalle aus Fr. 9-18, Tab. 11.
- 18 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 16, Tab. 11.
- 19 = 0,05 mg amorphe Fr. 9, Tab. 12.
- 20 = 0,05 mg krist. Utendin aus Fr. 9, Tab. 12.
- 21 = 0,05 mg amorphe Fr. 12 aus Tab. 12.
- 22 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 12, Tab. 12.
- 23 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 32-49, Tab. 12.
- 24 = 0,05 mg amorphe Fr. 69-76, Tab. 13.
- 25 = 0,05 mg Kristalle aus Fr. 69-76, Tab. 13.

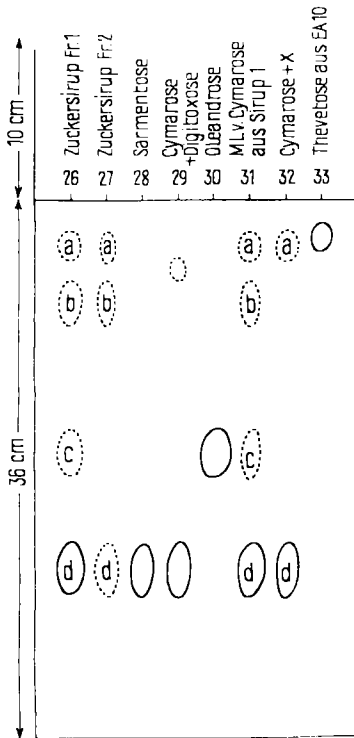


Fig. 7. To-Bu-(4:1)/W  
18 Std., Front abgetropft

Entwickelt mit Anilinphtalat<sup>7b)</sup>

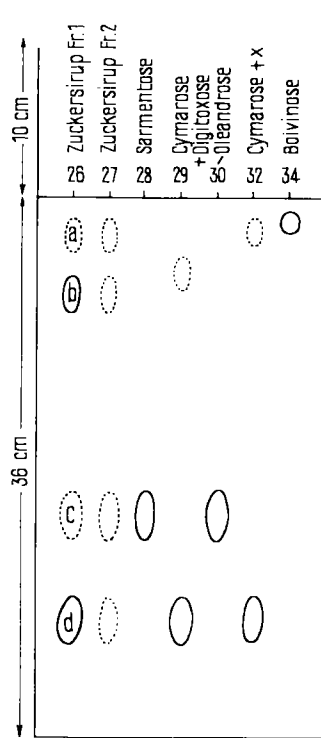


Fig. 8. To-Methyläthylketon-(1:1)/W  
23 Std., Front abgetropft

<sup>7b)</sup> S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).

- 26 = 0,10 mg Zuckersirup aus Ae-Extr. Destillat Fr. 1 (bis 110°) (vgl. Tab. 6).  
 27 = 0,10 mg Zuckersirup aus Ae-Extr. Destillat Fr. 2 (110–160°) (vgl. Tab. 6).  
 28 = 0,05 mg krist. D-Sarmentose.  
 29 = 0,05 mg krist. D-Cymarose mit Spur D-Digitoxose.  
 30 = 0,05 mg krist. L-Oleandrose.  
 31 = 0,10 mg ML von Cymarose aus Zuckersirup Destillat Fr. 1 (vgl. Exp. Teil A6b).  
 32 = 0,05 mg krist. Cymarose aus Zuckersirup Destillat Fr. 1 (vgl. Exp. Teil A6b).  
 33 = 0,05 mg vermutl. Thevetose aus EA 10 nach Hydrolyse.  
 34 = 0,025 mg D-Boivinose.

Zuordnung der Flecke: Fleck a läuft langsamer als Digitoxose, er könnte Boivinose oder Thevetose entsprechen. Fleck b entspr. Thevetosido-cymarose, Fleck c entspr. Oleandrose und Fleck d der Cymarose.

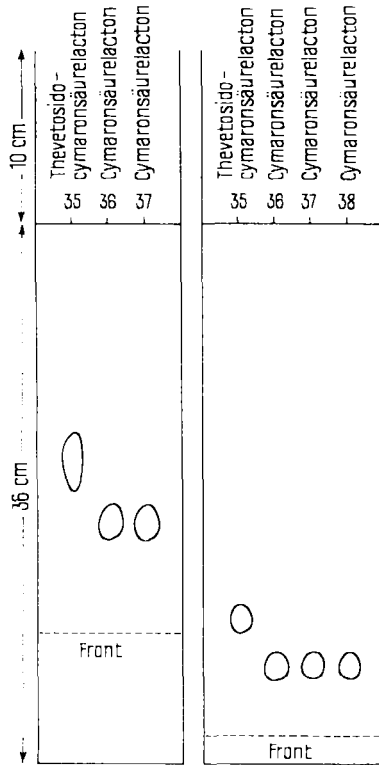


Fig. 9 To-Bu-(1:1) gesättigt mit W 6 $\frac{1}{4}$  Std.  
 Fig. 10 Methyläthylketon gesättigt mit W 5 $\frac{1}{4}$  Std.

Fig. 9-10 = Chromatographie der Lactone. Entwickelt durch Umsetzung mit NH<sub>2</sub>OH, dann Behandlung mit FeCl<sub>3</sub>-HCl-Lösung<sup>41)</sup>

- 35 = 0,05 mg krist. Thevetosido-cymaronsäure-lacton (EA 10).  
 36 = 0,05 mg Cymaronsäurelacton von Cymarose aus *Pachycarpus lineolatus*.  
 37 = 0,05 mg Cymaronsäurelacton aus Hydrolyse von Präp. EA 10 mit «KILIANI-Mischung».  
 38 = 0,05 mg Cymaronsäurelacton nach Oxydation von Fr. 2, Tab. 6 (höher siedender Teil des Zuckersirups aus Ae-Extr.).

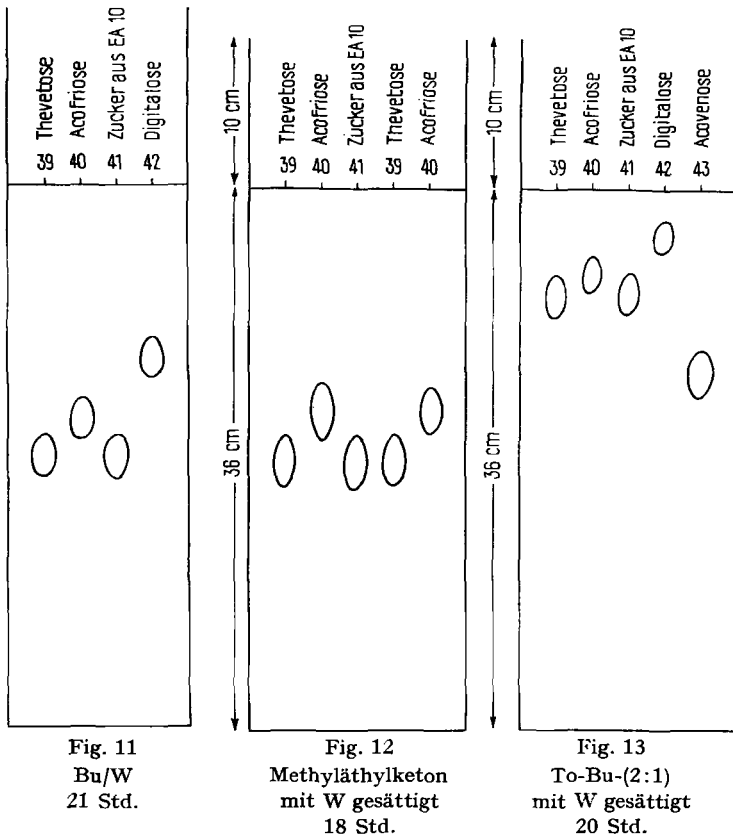


Fig. 11  
Bu/W  
21 Std.

Fig. 12  
Methyläthylketon  
mit W gesättigt  
18 Std.

Fig. 13  
To-Bu-(2:1)  
mit W gesättigt  
20 Std.

Bei den Fig. 9, 10, 12 und 13 wurde das Papier vorher *nicht* mit W imprägniert.

- 39 = 0,025 mg krist. L-Thevetose.  
 40 = 0,025 mg krist. L-Acofriose.  
 41 = 0,025 mg Zucker aus Präp. EA 10 nach Hydrolyse mit «KILIANI-Mischung».  
 42 = 0,025 mg D-Digitalose.  
 43 = 0,025 mg L-Acovenose.

Für diese Arbeit standen uns zur Materialbeschaffung Mittel aus den *Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes* zur Verfügung, wofür auch hier bestens gedankt sei.

### Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benutzter Ausführung bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Drehungsbestimmung wurden 45 Min. bei 0,01 Torr und 70–80° getrocknet, zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$ . «Übliche Aufarbeitung» bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Ausschütteln mit Chf (oder anderem Lösungsmittel, falls vermerkt), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung und W, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum bei 40–70° Badtemp. Die Adsorptionschromatographie nach dem Durchlaufverfahren<sup>85</sup>, an alkalifreiem  $Al_2O_3$ <sup>86</sup>, das aber nur bei 180–190° reaktiviert wurde, die Verteilungschromatographie<sup>87</sup>, die KEDDE-Reaktion<sup>12</sup>, der LEGAL-Test<sup>50</sup>, die Prüfung auf 2-Desoxyzucker mit p-Nitrophenyl-

<sup>85</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Farad. Soc. **7**, 305 (1949).

<sup>86</sup> J. V. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. **27**, 1922, Fussnote 2 (1944).

<sup>87</sup> H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **36**, 357 (1953).

hydrazin nach WEBB & LEVY<sup>88)</sup>, die Xanthidrol-Reaktion nach PESEZ<sup>49)</sup>, die KELLER-KILIANI-Reaktion<sup>13)</sup> und die Zuckerprüfung<sup>30)</sup> wurden nach Literaturangaben durchgeführt.

Bei Gemischen beziehen sich die Verhältniszahlen, wo nichts anderes vermerkt, immer auf Volumina. Es gelten die folgenden Abkürzungen: AcOH = Eisessig, (Ac)<sub>2</sub>O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, «Gemisch» = Gemisch gleicher Teile Chf, Me und Äthylacetat, Mc = Methanol, Pgl = Propylenglykol, Pc = Petroläther, Sdp. 45–55°, Pn = Pentan, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

Ferner: ML = Eingedampfte Mutterlauge, n.u. = nicht untersucht, Pchr. = Papierchromatographic und Papierchromatogramm.

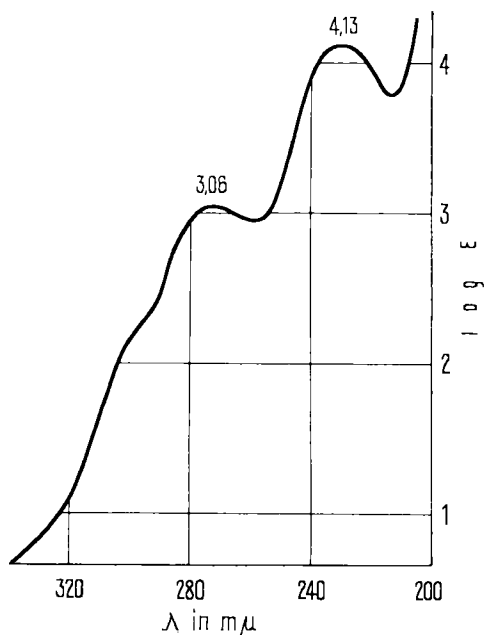


Fig. 14. UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol<sup>80)</sup>

Substanz G (E.A 5) Maxima bei 230 mμ, log ε = 4,13 und bei 273,5 mμ, log ε = 3,06,  
ber. auf C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub> + 2 H<sub>2</sub>O = 504,60

### I. Extraktion des Wurzelpulvers

**a) Vorproben.** -- 1. *Prüfung auf Alkaloide.* 50 g des geschmacklosen, schwach gelblichen Wurzelpulvers wurden achtmal mit je 100 ml wässrigem Alk, dessen Alk-Gehalt von 50 bis auf 95% gesteigert wurde, bei 50° extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden bei 12 Torr und 50° auf 50 ml eingengt, mit festem K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> auf pH = 9 gebracht und sechsmal mit je 150 ml Chf, dann sechsmal mit je 150 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit W, sechsmal mit je 15 ml 2-n. HCl, dann wieder mit W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Die HCl-Auszüge wurden bei 0° mit festem K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bis zur alkalischen Reaktion auf Phenolphthalein versetzt und mit Chf bzw. Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt, mit W gewaschen, getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden: 900 mg Chf-Extr. Neutralteile; 20 mg Chf-Extr. basische Teile; 500 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. Neutralteile und 100 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. basische Teile.

<sup>80)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER mit einem UNICAM-Spektrophotometer, Modell SP 500.

<sup>88)</sup> J. M. WEBB & H. B. LEVY, J. biol. Chemistry **213**, 107 (1955).

Fig. 15–18. *Absorptionsspektren im kurzwelligem UV. in Alkohol*<sup>82)</sup>

In Fig. 15–17 ist  $c = 0,001$  Mol. pro l (ber. auf die in Tab. 8 angegebenen Formeln). In Fig. 18 ist  $c = 1,50$  mg pro 4 ml. Hauptkurve überall für  $d = 0,101$  cm, untere Kurve  $d = 1$  cm

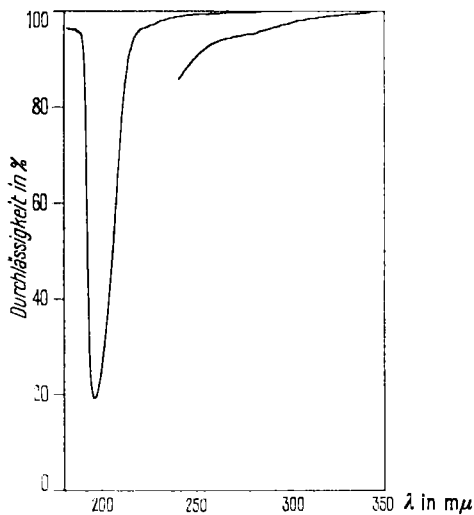


Fig. 15. *Subst. B 1 (EA 30)*

Maximum bei  $196,5$   $m\mu$ ,  $T = 19,2\%$ ,  
entspr.  $\log \epsilon = 3,85$

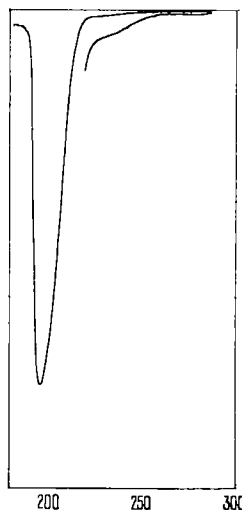


Fig. 16. *Utendin = Subst. C (EA 19)*

Maximum bei  $196,5$   $m\mu$ ,  $T = 21,6\%$   
entspr.  $\log \epsilon = 3,82$

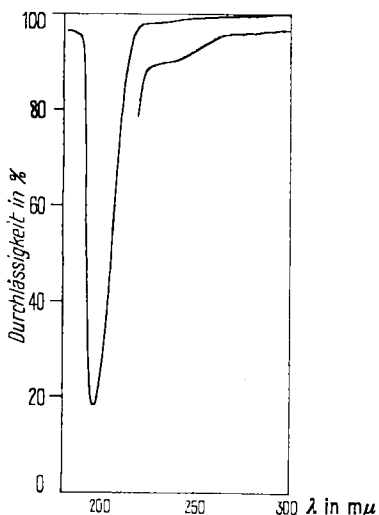


Fig. 17. *Sarcostin = Subst. A (EA 20)*

Maximum bei  $196,5$   $m\mu$ ,  $T = 18,2\%$   
entspr.  $\log \epsilon = 3,87$

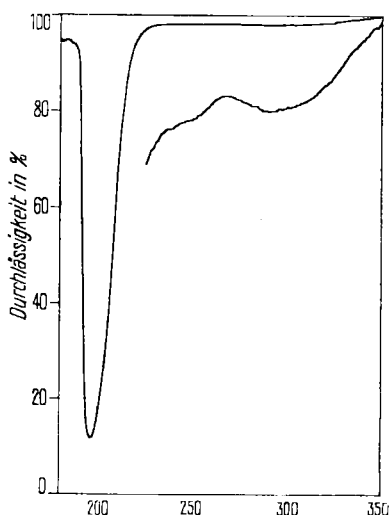


Fig. 18. *Lineolon = Subst. B (EA 12)*

Maxima bei  $196,5$   $m\mu$ ,  $T = 12,0\%$ ,  
entspr.  $\log \epsilon = 3,95$  und  $290$   $m\mu$ ,  
 $T = 98,0\%$ , entspr.  $\log \epsilon = 1,97$ <sup>81)</sup>

<sup>81)</sup> Das UV.-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-Subst. B (EA 22) war praktisch identisch und zeigte insbesondere ein Maximum bei  $196,0$   $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,96$ .

<sup>82)</sup> Aufgenommen von den Herren K. STICH & G. ROTZLER in einem selbstregistrierenden BECKMAN-Spektrophotometer Modell DK 2 mit ausgesuchter Optik in  $N_2$ -Atmosphäre<sup>52)</sup>.  $T = 100$  J/J<sub>0</sub>.

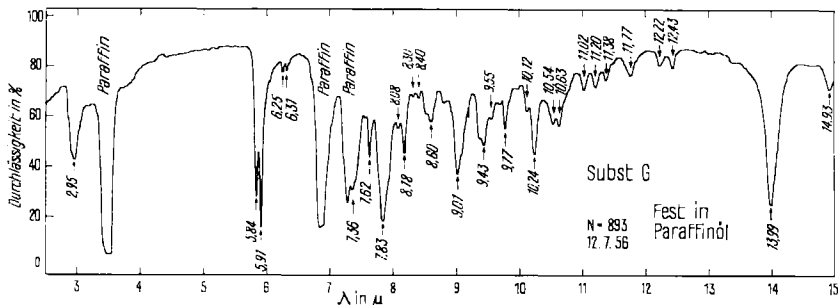


Fig. 19. IR.-Absorptionsspektrum von Subst. G (EA 5), fest in Paraffinöl,  $d = \text{ca. } 0,02 \text{ mm}$ <sup>83)</sup>

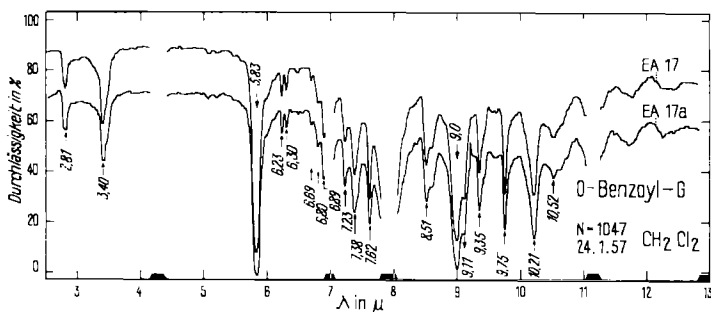


Fig. 20. IR.-Absorptionsspektren von Di-O-benzoyl-lineol in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>83)</sup>  
 Obere Kurve = Präp. EA 17 aus Subst. G,  $c = 0,048 \text{ Mol. pro Liter}$   
 Untere Kurve = Präp. EA 17a aus Lineolon (Subst. B),  $c = 0,055 \text{ Mol. pro Liter}$

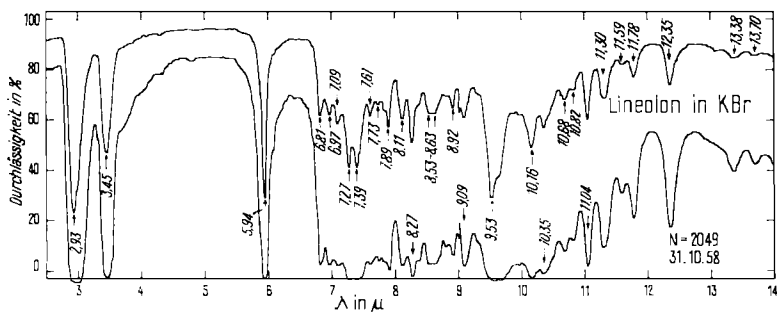


Fig. 21. IR.-Absorptionsspektren von Lineolon (= Subst. B = EA 12), fest in KBr<sup>84)</sup>.  
 Mit 0,95 und 4,86 mg pro Tablette. Die gesättigte Lösung in Chloroform zeigte in 0,5 mm Schichtdicke die CO-Schwingung als kleine scharfe Bande bei  $5,90 \mu$ .

Die «basischen» Teile gaben mit MEYER's Reagens<sup>89)</sup> keine Fällung und wurden nicht weiter untersucht.

<sup>83)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. ZOLLER in einem PERKIN-ELMER-double beam IR.-Spektrophotometer, Mod. 21.

<sup>84)</sup> Aufgenommen von den Herren K. STICH, G. ROTZLER & R. BÜHREN in demselben Apparat.

<sup>89)</sup> Nach Vorschrift in K. PAECH & M. V. TRACEY, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Bd. 4, p. 373, Verlag Springer 1955.

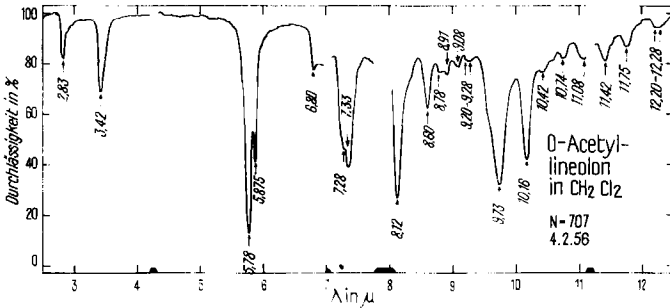


Fig. 22. IR.-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-lineolon (EA 22) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>83</sup>, d = 0,227 mm, c = 0,0507 Mol. pro Liter (2,2%)

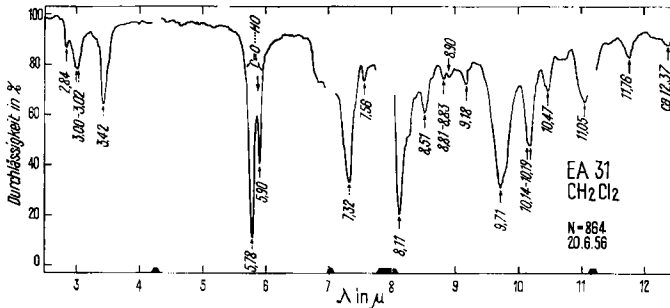


Fig. 23. IR.-Absorptionsspektrum von Pröp. EA 31 (Nebenprodukt von Di-O-acetyl-lineolon, EA 22) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>83</sup>, d = 0,06 mm c = 0,0535 Mol. pro Liter

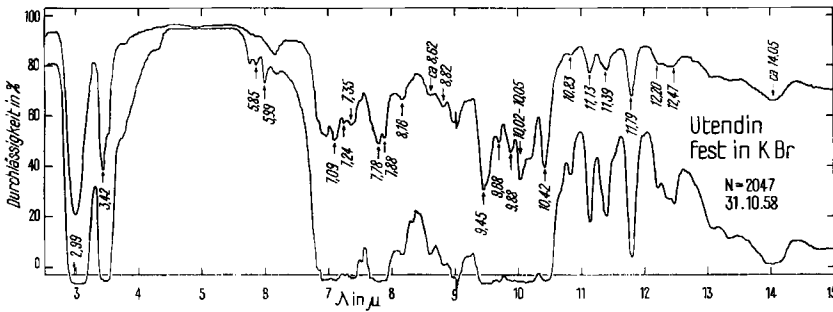


Fig. 24. IR.-Absorptionsspektren von Utendin (= Subst. C, Pröp. EA 19), fest in KBr<sup>84</sup>) mit 0,93 und 5,52 mg pro Pastille

2. *Extraktion der Vorprobe ohne Fermentierung.* 50 g Wurzelpulver wurden achtmal mit je 150 ml wässrigem Alk wie oben, aber bei 60° extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden bei 12 Torr und 50° auf 50 ml eingengt, mit 50 ml Alk und der Suspension des frisch aus 50 g Pb-Acetat-trihydrat bereitetem<sup>11)</sup> und in 60 ml 70-proz. Alk aufgeschlemmtem  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  versetzt und 15 Min. geschüttelt. Dann wurde durch ein mit gewaschenem Kieselgur gedichtetes Filter filtriert, das klare Filtrat mit verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf pH = 6 gebracht und nochmals filtriert. Dann wurde unter Einhaltung des pH = 6 im Vakuum auf 80 ml eingengt. Dieses Konzentrat wurde der Reihe nach je sechsmal mit je 150 ml Ac, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit wenig W, 2-n. Sodalösung und W gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Die



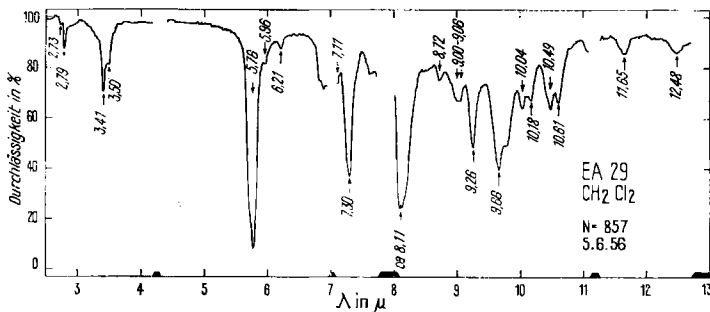


Fig. 25. IR-Absorptionsspektrum von Dehydro-tri-O-acetyl-sarcosin (EA 29) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ <sup>83)</sup>,  $d = 0,206$  mm,  $c = 0,05$  Mol. pro Liter

verbliebene wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum auf 40 ml eingengt, mit 4 g wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  versetzt und viermal mit je 50 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Dieser Auszug wurde mit etwas halbgesättigter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung, derselben Lösung unter Zusatz von etwas festem  $\text{K}_2\text{CO}_3$  und nochmals mit halbgesättigter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung gewaschen. Die filtrierten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum die in Tab. 1 genannten Ausbeuten.

3. *Extraktion der Vorprobe mit Fermentierung.* 50 g Wurzelpulver wurden mit 150 ml W angeteigt, mit 6 ml To versetzt und zuerst 44 Std. bei  $27^\circ$ , dann noch 9 Std. bei  $37^\circ$  verschlossen stehengelassen. Die Suspension wurde mit 150 ml Alk auf  $60^\circ$  erwärmt und weiter wie bei 1. behandelt. Auf Herstellung eines Chf-Alk-(3:2)-Extraktes wurde verzichtet. Erhalten wurden die in Tab. 1 genannten Ausbeuten.

**b) Extraktion der Hauptmenge.** – 1. *Portion:* 1,01 kg Wurzelpulver wurden «mit Fermentierung» wie bei a3) extrahiert. Ausbeuten vgl. Tab. 2.

2. *Portion:* 3 kg Wurzelpulver wurden «mit Fermentierung» wie bei a3) extrahiert. Auf das Ausschütteln mit Ae wurde verzichtet. Ausbeuten vgl. Tab. 2.

## II. Untersuchung der Rohextrakte

**A. Untersuchung des Ae-Extr. aus Hauptversuch 1. Portion.** – A1. *Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .* 2,49 g Ae-Extr. wurden an 75 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 250 ml der in Tab. 9 genannten Lösungsmittel.

Keine der Fraktionen liess sich kristallisieren.

A2. *Prüfung auf Verseifbarkeit.* 10 mg Ae-Extr. wurden mit 200 mg KOH in 2 ml Me 15 Min. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) lieferte 7,5 mg neutrale Anteile und 2 mg Chf-Ac-(1:3)-lösliche Säuren.

A3. *Umsetzung mit Ketonreagens T von GIRARD & SANDULESCO*<sup>17)91)</sup>. 209 mg Ae-Extr. und 166 mg Reagens T wurden in 1,5 ml Me gelöst, mit 0,16 ml AcOH versetzt und 23 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Dann wurde auf  $-12^\circ$  abgekühlt, mit einer Mischung von 7,5 ml W, 5,5 g Eis und 95% der zur Neutralisation der 0,16 ml AcOH nötigen Menge NaOH versetzt und dreimal mit je 20 ml Chf-Ac-(1:10) ausgeschüttelt. Die mit W, Sodalösung und W gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 151 mg neutrales Rohprodukt (ketonfreie Anteile) als farblosen Schaum. Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden mit HCl auf  $\text{pH} = 3$  angesäuert, mit 10 ml Chf-Ae-(1:10) versetzt und 3 Std. bei  $20^\circ$  geschüttelt. Dann wurde abgetrennt, die wässrige Phase, deren  $\text{pH}$  auf 5 gestiegen war, wieder mit HCl auf  $\text{pH} = 3$  gebracht und noch zweimal je 3 Std. mit 10 ml Chf-Ae-(1:10) geschüttelt. Die mit W, Sodalösung und W gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 35 mg neutrales Rohprodukt (Ketone). Beide Teile zeigten im UV. die Absorption der Benzoylgruppe.

<sup>91)</sup> Ausführung nach O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 521 (1951).

Tabelle 9. *Chromatographie von 2,49 g Ae-Extr. an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	KELLER-KILIANI-Reaktion	RAYMOND-Reaktion <sup>90)</sup>	Bitterer Geschmack
1-3	Pe-Be- (1:4)	25			
4-6	Be	—			
7-9	Be-Chf- (99:1)	—			
10-11	„ „ -(98:2)	Spur			
12-13	„ „ -(95:5)	3			
14-15	„ „ -(9:1)	10			
16-20	„ „ -(4:1)	423	blaugrün		
21-29	„ „ -(3:2)	844	blauviolett		
30-32	„ „ -(1:1)	119			
33-36	Chf	422	blau		
37-40	Chf-Me-(99:1)	137		schwach +	schwach
41-42	„ „ -(98:2)	22		„ +	„
43-44	„ „ -(95:5)	16		„ +	„
45-46	„ „ -(9:1)	21		„ +	„
47-48	„ „ -(4:1)	16		„ +	„
49-50	„ „ -(1:1)	28	blassviolett	„ +	„
51-52	Me	34			

A4. *Milde saure Hydrolyse.* 0,406 g Ae-Extr. wurde in 20 ml Me gelöst, mit 20 ml 0,1-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> versetzt und 25 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Me im Vakuum entfernt und die verbliebene Suspension noch 25 Min. auf 60° erwärmt. Nach Erkalten wurde viermal mit je 16 ml Chf-Ac-(1:3) ausgeschüttelt. Die mit W, Sodalösung und W gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 217 mg neutrales Genin-Glykosid-Gemisch als hellbraunes Harz (KELLER-KILIANI-Reaktion: negativ).

Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum bei 30° von Resten organischer Lösungsmittel befreit, mit frisch aus Ba(OH)<sub>2</sub> mit CO<sub>2</sub> gefälltem und gewaschenem BaCO<sub>3</sub> heiss neutralisiert und filtriert. Das klare Filtrat wurde mit einer Spur BaCO<sub>3</sub> versetzt und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde in 1 ml An aufgenommen, mit 10 ml Ae versetzt, und die Lösung wurde abfiltriert. Der geringe Niederschlag wurde nochmals gleich behandelt. Die vereinigten Lösungen gaben beim Eindampfen 123 mg fast farblosen Zuckersirup.

Im Hauptversuch wurden 5,527 g Ae-Extr. in zwei Ansätzen genau gleich hydrolysiert und gaben die in Tab. 4 genannten Ausbeuten.

A5. *Untersuchung des Genin-Glykosid-Gemisches aus Ae-Extr. — a) Befreiung von Fettresten.* 1,601 g Genin-Glykosid-Gemisch aus Ae-Extr. wurden gemäss früherer Vorschrift<sup>29)</sup> in 28 ml 80-proz. Me gelöst und dreimal mit je 14 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Auszüge wurden der Reihe nach dreimal mit je 7 ml 80-proz. Me gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Rückstand (146 mg erstarrendes Öl) n.u.

Die vereinigten wässrig-methanolischen Phasen wurden im Vakuum von Me befreit und mit Chf ausgeschüttelt. Trocknen und Eindampfen gab 1,3 g gereinigten Ae-Extr. als amorphes Pulver.

Die Reinigung von weiteren 1,662 g Genin-Glykosid-Gemisch gab 0,127 g Pe-Extr. und 1,451 g fettfreies Material (vgl. Tab. 4).

<sup>90)</sup> W. D. RAYMOND, Analyst **63**, 478 (1938).

b) *Chromatographie des gereinigten Genin-Glykosid-Gemisches aus Ae-Extr. an  $Al_2O_3$ . Isolierung von Subst. G und wenig Subst. C. – Erste Chromatographie:* Die 2,751 g gereinigtes Genin-Glykosid-Gemisch aus Ae-Extr. wurden an 82 g  $Al_2O_3$  chromatographisch in 25 Fraktionen aufgetrennt. Zur Eluierung jeder Fr. dienten je 275 ml Lösungsmittel. Insgesamt liessen sich 2,642 g (96% des Materials) eluieren, davon 207 mg (7,5%) erst mit «Gemisch» unter Zusatz von 0,5–2% Eisessig.

Die Fr. 2–5 (1,206 g, eluiert mit Bc-Chf-(1:1)) gaben aus Ae-Pe, dann aus An-Ae 63 mg krist. Subst. G (EA 5) vom Smp. 247–251,5°, nach Pchr. (Nr. 1 in Fig. 3) einheitlich, und 100 mg krist. Subst. G vom Smp. 240–243°. Die Fr. 9–11 (117 mg eluiert mit Chf und Chf-Mc-(99:1)) gaben aus An, dann aus Mc-Ae 7,6 mg krist. Subst. C (EA 19) vom Smp. 235–250°,  $[\alpha]_D^{27} = +4,7^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,69$  in Mc), nach Pchr. (Nr. 12 in Fig. 6) einheitlich. Die ML der Fr. 9–11 wurden mit den Fr. 9–21 (435 mg) vereinigt, dieses Material (529 mg) diente zur alkalischen Verseifung (vgl. C3). Die erst auf Zusatz von Eisessig eluierten Fr. 22–25 (207 mg) wurden n.u.

*Zweite Chromatographie:* Die ML der Fr. 2–5 (993 mg) wurden mit den amorphen Fr. 1 (630 mg) und 6–8 (249 mg) vereinigt und das Ganze (1872 mg) nochmals an  $Al_2O_3$  chromatographisch in 32 Fr. aufgetrennt. Die mit Bc-Chf-(4:1) und -(1:1) eluierten Anteile (885 mg) gaben noch insgesamt 73 mg rohe Kristalle von Subst. G. Die ML sowie alle amorphen Fr. wurden vereinigt. Dies Material (1747 mg) diente zur alkalischen Verseifung (vgl. C3).

c) *Vorversuch zur Trennung mit Ketonreagens T.* 215 mg amorphes Genin-Glykosid-Gemisch aus Versuch A4 wurden wie oben an  $Al_2O_3$  chromatographiert und gaben noch 17 mg krist. Subst. G. Die ML und die amorphen Fr., die bis und mit Chf-Me-(1:1) eluiert waren, wurden vereinigt (190 mg). Davon wurden 120 mg mit 100 mg Ketonreagens T wie bei A3 behandelt, wobei aber auch noch bei pH = 1 mit Chf-Ae-(1:10) ausgeschüttelt wurde (2. Ketonfraktion). Erhalten wurden: 86 mg Ketonfreies, 10 mg Ketofraktion 1 und 12 mg Ketofraktion 2. Alle drei Teile zeigten im UV. die Absorption des Benzoylrestes.

d) *Alkalische Verseifung des amorphen Genin-Glykosid-Gemisches.* 97 mg von Fr. 9 aus der zweiten  $Al_2O_3$ -Chromatographie (A5b) (eluiert mit Bc-Chf-(4:1)) wurden mit 1,61 ml 5-proz. KOH in Mc 5 Std. unter Rückfluss gekocht, wobei Braunfärbung eintrat. Dann wurde abgekühlt, mit 2 ml W versetzt, im Vakuum auf 2 ml eingengt und sechsmal mit je 10 ml Chf ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über  $Na_2SO_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 65 mg neutrales Rohprodukt, teilw. kristallin.

Die alkalische wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden mit reiner  $H_3PO_4$  bis zur kongosauren Reaktion versetzt und viermal mit je 10 ml Ae ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über  $Na_2SO_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 33,2 mg ätherlösl. Säuren. Diese wurden zur Prüfung auf Lactone in Ae aufgenommen und dreimal mit je 1,5 ml 2-n. Soda-lösung, dann zweimal mit je 1,5 ml W ausgeschüttelt. Trocknen und Eindampfen gab keinen wägbaren Rückstand. Die Sodauszüge gaben nach Ansäuern usw. wieder 32,5 mg ätherlösliche Säuren.

Die mit Ae ausgeschüttelte  $H_3PO_4$ -saure Phase wurde bei 60 Torr und 70° zum Sirup eingedampft. Das möglichst quantitativ aufgefangene Destillat verbrauchte bei der Titration 0,14 ml 0,01-n. NaOH (entspr. 0,08 mg Essigsäure).

Die analoge Verseifung einer grösseren Menge (vgl. Untersuchung des Chf-Extr. aus zweiter Portion unter C3) gab ein ähnliches Resultat.

d1) *Nachweis der Benzoesäure.* Die sauren Anteile (32,5 mg fast farblose Kristallmasse) wurden im Molekularkolben bei 60 Torr und 70° sublimiert. Es resultierten 28,2 mg farbloses Sublimat, Smp. 95–115°. Nach UV.-Spektrum und Pchr. lag fast reine Benzoesäure vor. Isolierung in reiner Form vgl. C3a.

d2) *Chromatographie der neutralen Anteile aus Verseifung.* Die 65 mg Neutralteile aus Verseifung (A5d) wurden an 1,95 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die Fr. 1–7 (33,4 mg, eluiert mit Bc-Chf-(1:1)) gaben aus An-Ac 3 mg Kristalle, Smp. 240–243° (Zers.), n.u. Die Fr. 9 (27 mg, eluiert mit Chf-Mc-(9:1)) gab aus An-Ae 14,5 mg Mischkristalle (EA 16) vom Smp. 243–246°. Nach Pchr. (Nr. 13 in Fig. 6) lag ein Gemisch der Subst. C und A vor.

A6. *Untersuchung der wasserlöslichen Anteile aus milder saurer Hydrolyse des Ae-Extr. –*

a) *Destillation des rohen Zuckersirups und Prüfung der Destillate.* Die 2,08 g Zuckersirup aus Hauptversuch wurden in 8 Portionen im Molekularkolben bei 0,02 Torr destilliert und gaben die in Tab. 6 genannten Destillate. In gleicher Weise wurden die 123 mg aus Vorversuch destilliert. Die zwei Fraktionen (Tab. 6) gaben im Pchr. die dort genannten Flecke.

b) *Isolierung von krist. Cymarose*. Eine Probe (171 mg) der Fr. 1 (Tab. 6) gab aus wenig Ae bei 0° unter W-Ausschluss nach mehreren Monaten 54 mg farblose Kristalle, Smp. 74–78°. Nach Pchr. (Nr. 32 in Fig. 7 u. 8) enthielten sie vorwiegend Cymarose und eine Spur eines langsam laufenden Zuckers (evtl. Thevetose). Destillation im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 100° sowie Kristallisieren aus Ae-Pn unter W-Ausschluss bei 0° gab 31 mg analysenreines Material in farblosen Nadeln, Smp. 76–78°. Diese zeigten im Pchr. nur *einen* Fleck.

c) *Oxydation des destillierten Zuckersirups mit Bromwasser: Cymaronsäure-lacton und Thevetosido-cymaronsäure-lacton (EA 10)*. 532 mg der Fr. 1 (Tab. 6) wurden in zwei Portionen genau nach Vorschrift<sup>39)</sup> mit Bromwasser oxydiert. Das rohe Lacton (502 mg) gab bei der Destillation im Molekularkolben bei 0,02 Torr und 100–110° 290 mg farbloses Destillat Fr. a) (Cymaronsäure-lacton). Aus dem verbliebenen Rückstand (212 mg) liessen sich bis 160° noch 176 mg Fr. b) als gelbliches Sublimat (rohes Bionsäure-lacton) erhalten. Dies gab aus Me-Ae 100 mg Präp. EA 10 in farblosen Kristallen vom Smp. 186,5–187,5°.

100 mg der Fr. 2 (Tab. 6) wurden analog oxydiert. Das rohe Lacton (107 mg) gab bei 0,03 Torr bis 108° (Fr. a) nur 20 mg rohes Cymaronsäure-lacton (Pchr. vgl. Nr. 38 in Fig. 10) und 54 mg von Fr. b) als gelbes zähes Harz bis 190° Badtemp. Letzteres liefert aus Me-Ae 11,8 mg krist. Bionsäure-lacton (EA 10) vom Smp. 186–187°. Im Kolben verblieben 20,3 mg kohligler Rückstand.

*D-Cymaronsäure-phenylhydrazid*<sup>39)</sup>. 65 mg dest. Cymaronsäure-lacton (Fr. a von Tab. 7) wurden mit 41 mg reinstem Phenylhydrazin in einer Spur abs. Alk 1 Std. auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung<sup>39)</sup> gab 45,5 mg rohe Kristalle. Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 156–157°.

**B. Untersuchung des Chf-Extr. aus Hauptversuch 1. Portion.** – B1. *Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*, 1,7 g Chf-Extr. wurden an 51 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fr. dienten je 170 ml der in Tab. 10 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 10. *Chromatographie von 1,7 g Chf-Extr. an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktionsnummer	Eluiermittel	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	KELLER-KILIANI-Reaktion	Bitterer Geschmack
1–6	Be-Chf-(1:5)	980	grün	nicht bitter
7–8	Chf	54		„ „
9–10	Chf-Me-(99:1)	40		
11–12	„ „ -(98:2)	29	negativ	schwach bitter
13–14	„ „ -(95:5)	48	„	bitter
15–16	„ „ -(9:1)	37		nicht bitter
17–19	„ „ -(4:1)	29		„ „
20–22	„ „ -(1:1)	25		„ „
23–25	Me	74		schwach bitter
26–27	«Gemisch» + 0,5% AcOH	193	negativ	„ „
28–29	„ +1 % „	141	„	nicht bitter
30–31	„ +2 % „	80		„ „

Nur die Fr. 11–31 zeigten teilweise eine schwach positive RAYMOND-Reaktion. Keine der Fr. gab Kristalle.

B2. *Prüfung auf Verseifbarkeit*. 10,5 mg Chf-Extr. wurden wie bei A2 behandelt und gaben 5 mg neutrale sowie 4 mg saure Anteile.

B3. *Umsetzung mit Melonreagens T von GIRARD & SANDULESCO*. 186 mg Chf-Extr. und 150 mg Reagens T wurden genau wie bei A3 behandelt (aber Ausschütteln mit reinem Chf) und gaben 155 mg ketonfreie Anteile (brauner Schaum) sowie 9 mg rohe Ketone (gelblicher Schaum).

B4. *Milde saure Hydrolyse*. 410 mg Chf-Extr. wurden in 20 ml Me und 20 ml 0,1-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 30 Min. gekocht. Die Aufarbeitung wie bei A4 (aber Ausschütteln mit reinem Chf) gab 280 mg Genin-Glykosid-Gemisch sowie 78 mg rohen Zuckersirup. Die Hauptmenge Chf-Extr. wurde n.u.

B5. *Chromatographie des Genin-Glykosid-Gemisches an  $Al_2O_3$* . Die 280 mg Genin-Glykosid-Gemisch aus obigem Vorversuch (B4) wurden an 8,4 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Be-Chf-(1:1) eluierten Anteile (152 mg) gaben aus An-Pe und nach Impfen rohe Subst. G (EA 5). Nach Umkristallisieren aus An-Ae 6,3 mg reine Kristalle, Smp. 247,5–254,5° (Mischprobe ebenso). Die ML sowie die amorphen Fraktionen wurden vereinigt. Dies Material reagierte bei der Zuckerprüfung deutlich positiv.

B6. *Untersuchung des Zuckers*. Die 78 mg roher Zuckersirup (B4) lieferten bei Destillation im Molekularkolben bei 0,01–0,02 Torr bis 120° 57 mg Destillat. Davon wurden 50,6 mg mit Bromwasser oxydiert<sup>90</sup>). Das rohe Lacton gab bei der Destillation 27 mg rohes Cymaronsäure-lacton (Sdp. bis 100° bei 0,03 Torr) und 16,5 mg einer Fr. 100° bis 150°. Letztere lieferte aus Me-Ae 7,3 mg krist. Bionsäure-lacton, Smp. 187–189° (Misch-Smp. ebenso).

Die 27 mg rohes Cymaronsäure-lacton gaben nach Erhitzen mit 17 mg Phenylhydrazin 19,5 mg rohe Kristalle und daraus 14 mg Cymaronsäure-phenylhydrazid in farblosen Nadeln, Smp. 156,5–157°,  $[\alpha]_D^{24} = +1,8^\circ \pm 2,5^\circ$  ( $c = 0,91$  in Me), Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso.

**C. Untersuchung des Chf-Extr. aus Hauptversuch 2. Portion.** – C1. *Milde saure Hydrolyse*. Die ganzen 47,3 g Material wurden in zwei Portionen wie bei A4 beschrieben behandelt (Ausschütteln mit Chf-Ae-(1:3))<sup>92</sup>) und gaben die in Tab. 4 genannten Ausbeuten. Das hier erhaltene Genin-Glykosid-Gemisch gab bei der KELLER-KILIANI-Reaktion keine Färbung. Es wurde wieder durch Verteilung zwischen 80-proz. Me und Pe gereinigt.

C2. *Chromatographie des Genin-Glykosid-Gemisches an  $Al_2O_3$* . Die ganzen 22,79 g gereinigtes Genin-Glykosid-Gemisch wurden in zwei Portionen an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Insgesamt wurden erhalten:

Aus den ersten mit Be-Chf-(4:1) eluierten Fraktionen aus Ae 3 mg Kristallnadeln, Smp. 150–170° (EA 40), n.u.

Aus den mit Be-Chf-(9:1), -(4:1) und -(1:1) eluierten Anteilen (total 12,175 g) aus An-Pe 2,55 g rohe Kristalle von Subst. G (EA 5).

Aus den mit Chf und den ersten mit Chf-Me-(99:1) eluierten Anteilen (total 3,897 g) aus An-Pe 39 mg rohe Kristalle von Subst. C (EA 19).

Die ML der Kristalle, sowie alle amorphen Fr. von beiden Chromatographien, soweit sie mit Chf-Me-(1:1) eluierbar waren, wurden vereinigt. Dies Material (15,53 g) diente zur alkalischen Verseifung.

C3. *Alkalische Hydrolyse des amorphen Genin-Glykosid-Gemisches*. Die zuletzt genannten 15,53 g Material von Versuch C 2 wurden mit 2 g analogem Material aus Versuch A 5 b vereinigt. Das Ganze (17,53 g) wurde in drei Portionen wie bei A 5 d mit 5-proz. KOH in Me versetzt. Erhalten wurden insgesamt 11,31 g neutrale Anteile und 6,54 g ätherlöst. Säuren. Die Prüfung der letzteren auf Lactone gab wieder ein negatives Resultat.

a) *Untersuchung der ätherlöst. Säuren*. Die rohe Säure gab im Pchr. im System Alk-W-konz.  $NH_3$ -(80:16:4) nur einen deutlichen Fleck, entspr. Benzoesäure.

Eine Probe (0,244 g) wurde im Molekularkolben grob fraktioniert und gab die folgenden vier Fraktionen: Fr. 1: 0,157 g (64,4%) bis 75°/12–16 Torr; Fr. 2: 0,037 g (15,2%) bis 75°/12–16 Torr; Fr. 3: 0,008 g (3,28%) bis 75°/12–16 Torr; Fr. 4: 0,020 g (8,2%) bis 150°/0,03 Torr.

Fr. 1 (farblos) war gegen alkalisches  $KMnO_4$  beständig und gab aus Pn bei 0° ca. 70 mg reine Benzoesäure in farblosen Blättchen (Smp. 123–124°). Die ML diente zur Herstellung des Anilids.

Fr. 2 war ein Gemisch (n.u.).

Fr. 3 entfärbte alkalisches  $KMnO_4$  und bestand nach UV.-Absorptionsspektrum zu ca. 70% aus Zimtsäure (Maxima bei 204, 215, 221 und 272  $m\mu$ ), Benzoesäure war abwesend. Kristallisation aus Be-Pe gab 2,5 mg farblose Blättchen, Smp. 132–134° (kleiner Rest bis 260°), Misch-Smp. mit authentischer Zimtsäure ebenso.

b) *Chromatographie der neutralen Anteile aus Verseifung an  $Al_2O_3$* . 5,77 g aus Verseifung (C3) wurden an 170 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 500 ml der in Tab. 11 genannten Lösungsmittel.

<sup>92</sup>) Die Ausbeute war etwas schlechter als im Vorversuch. Vermutlich ist ein relativ wasserlöslicher Teil des Genin-Glykosid-Gemisches im W verblieben. In einer Portion wurde die rohe Zuckerlösung daher noch mit reinem Chf ausgeschüttelt und gab noch 1,19 g braunes Material, das positive KELLER-KILIANI-Reaktion zeigte (n. u.).

Tabelle 11. *Chromatographie von 5,77 g neutraler Anteile aus Verseifung C 3*

Fraktions-Nr.	Eluiermittel	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Farbe	Kristalle	
				Menge in mg	Flecke im Pchr.
1	Be-Chf-(1:1)	257	braun	—	
2	„ „ -(1:1)	517	„	151	D, E, F (Nr. 4 in Fig. 3)
3	„ „ -(1:1)	137	gelblich	42	D, E, F (Nr. 5 in Fig. 3)
4-5	„ „ -(1:1)	230	„	73	D, E
6-7	„ „ -(1:1)	132	farblos	10	B, D, E (Nr. 6 in Fig. 4)
8	Chf	308	gelblich	74	B, D (in ML auch A 1, Nr. 7 in Fig. 4)
9	Chf	474	„	47	C (in ML noch A, A 1) (Nr. 15 in Fig. 6)
10	Chf	798	„	602	A, C (in ML auch A 1)
11-15	Chf	1467	„	1090	A, C (in ML auch A 1)
16	Chf-Me-(98:2)	472	gelb	367	A, C (in ML auch A 1)
17-18	„ „ -(98:2)	280	hellbraun	181	A + Spur C (in ML auch A 1)
19-20	„ „ -(95:5)	103	braun	—	A im Rohprodukt
21	„ „ -(9:1)	43	„	—	
22	„ „ -(4:1)	26	„	—	
23	„ „ -(1:1)	24	„	—	

Nur 47 mg C wurden in reinen Kristallen aus Fr. 9 erhalten, Smp. 248–252°. Die 181 mg rohe Kristalle von Subst. A aus Fr. 17–18 zeigten einen Smp. von 150/247–255°,  $[\alpha]_D^{24} = +56,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Me), und enthielten vermutlich noch etwas C oder  $\beta$ .

Die ML von Fr. 9 und Fr. 17–18 sowie Kristalle und ML der Fr. 10–16 wurden vereinigt (3,151 g) und zusammen mit analogem Material aus den zwei anderen Chromatographien für die Verteilungschromatographie verwendet (vgl. C3c1).

Zwei weitere Chromatographien mit 0,689 g und 4,85 g neutralen Teilen an  $Al_2O_3$  wurden analog durchgeführt, wobei im letztgenannten Fall nur die Fraktionen, die A, A 1 und C enthielten (2,725 g) abgetrennt wurden. Auf die Isolierung von Kristallen wurde ganz verzichtet.

c) *Trennung der Substanzgemische A, A 1 und C durch Verteilungschromatographie.* – c1) *Erste Verteilungschromatographie.* Für diese Trennung wurden alle Fraktionen vereinigt, die A, A 1 und C enthielten, und zwar: 0,400 g mit Chf bis Chf-Me-(1:1) eluiertes Material aus  $Al_2O_3$ -Chromatographie von 0,689 g neutralen Anteilen von Verseifung (C3b); die 3,151 g Material aus Chromatographie von 5,77 g neutralen Anteilen (Tab. 11); die 2,725 g Material aus Chromatographie von 4,859 g neutralen Anteilen (C3b). Das Ganze (6,284 g) wurde an einer Säule Nr. 3<sup>87</sup>, die mit 1,5 kg Kieselgur-W-(1:1) unter Be-Bu-(6:1) gefüllt war, durch Verteilungschromatographie in 54 Fraktionen getrennt. Laufgeschwindigkeit 30–33 ml pro Std., Temp. 16–18°. Über das Ergebnis orientiert Tab. 12.

Als Beispiele sind die Pchr. der Rohfraktionen 9 und 12 (Nr. 19 und 21) und der Kristalle aus Fr. 9, 12 und 32–49 (Nr. 20, 22 und 23) in Fig. 6 wiedergegeben.

Die Trennung der Kristalle aus Fr. 14–19 gelang weder durch fraktionierte Kristallisation noch durch Chromatographie an  $Al_2O_3$ .

c2) *Zweite Verteilungschromatographie.* Die folgenden Anteile von Fraktionen der Tab. 12 wurden vereinigt: 293 mg ML der Fr. 11–13; 1038 mg Fr. 14–19; 762 mg ML der Fr. 20–46; 48 mg Fr. 50–54; total 2141 mg. Dies Material wurde an Säule Nr. 2<sup>87</sup>, die mit 700 g Kieselgur-W-(1:1) unter Be gefüllt war, in 98 Fraktionen aufgetrennt. Laufgeschwindigkeit 20–22 ml pro Std. Über das Ergebnis orientiert Tab. 13.

Aus beiden Verteilungschromatographien wurden somit isoliert: die Stoffe C und A in papierchromatographisch reinen Kristallen; ausserdem noch Kristalle, die neben etwas Subst.  $\beta$  als Hauptkomponente Subst. A enthielten. Ausbeuten s. Tab. 14.

Tabelle 12. Erste Verteilungschromatographie von 6,284 g Gemisch von A, A 1 und C

Fraktions-Nr.	Eluiermittel		Eluat			
	Art <sup>93)</sup>	Volumen in ml	roh		Kristalle	
			Menge in mg	Flecke im Pchr.	Menge in mg	Flecke im Pchr.
1-2	Be-Bu-(6:1)	550	—	—	—	—
3-4	„ „ -(6:1)	525	765	RR <sup>94)</sup>	—	—
5	„ „ -(6:1)	235	323	RR <sup>94)</sup> , C, D	27	C
6-8	„ „ -(6:1)	995	1213	B, C	703	C
9-10	„ „ -(6:1)	450	441	A 1, B, C	268	C
11	„ „ -(6:1)	210	192	A 1, C	113	C
12	„ „ -(6:1)	225	214	A, A 1, C	128	C
13	„ „ -(6:1)	225	204	A, A 1, C	76	C
14	„ „ -(6:1)	200	173	A, A 1, C	Gemische	A, C
15-19	„ „ -(6:1)	1225	865	A, C	„	A, C
20-30	„ „ -(6:1)	2410	947	A, C	448	A
31	„ „ -(6:1)	225	68	A	850	$\beta$ , A
32-49	„ „ -(4:1)	3912	1045	A, $\beta$ <sup>95)</sup> }		
50-54	„ „ -(4:1)	1125	48	A, $\beta$ <sup>95)</sup>	36	$\beta$ , A

Tabelle 13. Zweite Verteilungschromatographie von 2,141 g Gemisch

Fraktions-Nr.	Eluiermittel		Eluat			
	Art <sup>93)</sup>	Volumen in ml	roh		Kristalle	
			Menge in mg	Flecke im Pchr. <sup>96)</sup>	Menge in mg	Flecke im Pchr. <sup>96)</sup>
1-2	Be	246	—	—	—	—
4-9	Be	838	19	RR <sup>94)</sup>	—	—
10-18	Be-Bu-(95:5)	1152	30	RR <sup>94)</sup>	—	—
19-21	„ „ -(9:1)	382	18	A, C	45	C
22-24	„ „ -(9:1)	367	116	A, B, C		
25-26	„ „ -(9:1)	244	121	A, C	64	C
27-36	„ „ -(9:1)	1178	618	A, A 1, C	333	C
37-39	„ „ -(9:1)	368	126	A, A 1, C	28	C
40-46	„ „ -(9:1)	846	202	A, A 1, C <sup>97)</sup>	Gemische	C + A
47-52	„ „ -(9:1)	708	131	$\Lambda$ , C	82	A
53-55	„ „ -(9:1)	350	64	A, C	49	A
56-58	„ „ -(9:1)	366	63	A	249	A
59-66	„ „ -(6:1)	928	237	A		
67-73	„ „ -(6:1)	852	176	$\Lambda$ ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )	156	$(\beta)$ , A
74-76	„ „ -(4:1)	360	39	A ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )		
77-85	„ „ -(4:1)	1080	70	(A), $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$	—	—
86-98	„ „ -(1:1)	1560	49	$\beta$ , $\gamma$	—	—

<sup>93)</sup> Jeweils zu 90% mit W gesättigt.<sup>94)</sup> RR = sehr rasch wandernde Flecke, n. u.<sup>95)</sup> Der Fleck  $\beta$  erst von Fr. 43 an.<sup>96)</sup> In Klammern — schwache Flecke.<sup>97)</sup> Der Fleck A 1 war bis Fr. 42 erkennbar.

Tabelle 14. Ausbeuten bei den zwei Verteilungschromatographien

	Subst. C rein (EA 19)	Subst. A rein (EA 20)	Subst. A verunreinigt mit wenig Subst. $\beta$
1. Verteilung	1,313 g	0,448 g	0,886 g
2. Verteilung	0,470 g	0,380 g	0,156 g
Zusammen	1,783 g	0,828 g	1,042 g

### III. Charakterisierung der in reiner krist. Form isolierten Stoffe

1. Substanz G (EA 5) = Mono-O-benzoyl-lineolon. Aus An-Pe und An-Ae farblose kurze Säulen, Smp. 247,5–251°,  $[\alpha]_D^{25} = -62,6^\circ \pm 2^\circ$  (c = 0,98 in Me). Gewichtsverlust bei Trocknung (Schweinchen): 7,55 (OAB); 10,89; 7,11% (A.P.).  $C_{28}H_{36}O_6 + 2 H_2O$  (504,60)  $H_2O$  ber. 7,14%

$C_{27}H_{36}O_6$  (456,56) Ber. C 71,03 H 7,95 O 21,02 «C-Methyl»<sup>98)</sup> 6,54%<sup>54)</sup>

$C_{28}H_{36}O_6$  (468,57) „ „ 71,77 „ 7,74 „ 20,49 «C-Methyl»<sup>98)</sup> 6,35%

Gef. „ 71,09; 71,14 „ 8,20; 8,21 „ 20,53 (OAB; A.P.)

Gef. Mol.-Gew. (RAST) = 443 (A.P.), «C-Methyl» 6,44% (A.P.)<sup>55)</sup>

7,627 mg Subst. (nicht getrocknet) nahmen bei der Hydrierung mit Pt in Eisessig 1,839 ml  $H_2$  (0°, 760 Torr) auf, entspr. 5,4 Mol. (ber. auf 504,60). Für Benzoylrest, Doppelbindung und Ketogruppe wären 5 Mol. zu erwarten, falls keine Hydrogenolysen eintreten.

Subst. G liess sich bei 0,02 Torr und 230–240° ohne merkliche Zersetzung sublimieren. Farbreaktionen vgl. Tab. 8 und 9, UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 14 und 19.

Oxim (EA 33) von Subst. G. 30 mg Subst. G wurden mit 75 mg Hydroxylamin-hydrochlorid und 105 mg Na-Acetat-trihydrat in 1,5 ml Me 3 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum und Zugabe von W wurde das ausgefallene Produkt abgenutscht und mit W gewaschen. Umkristallisieren aus Me-Ac-Pn und Me-W gab leicht gelbliche Kristalle, Smp. 208–218° (aus Me-W) bzw. 225–254° (aus Me-Ae-Pn),  $[\alpha]_D^{25} = -15,4^\circ \pm 4^\circ$  (c = 0,57 in Me). Das Oxim war in Py relativ schwer löslich. Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$ : hellgrün (1–10'), olive (15'), blass olive (30'), blass graugrün (45'), blass graurosa (1 Std.), rosa (2 Std.), grauviolett (5 Std.).

$C_{28}H_{37}O_6N$  (483,59) Ber. N 2,89% Gef. N 3,05% (OAB)

Semicarbazon (EA 34) von Subst. G. 400 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 640 mg Na-Acetat-trihydrat wurden gut verrieben und die verflüssigte Masse mit 8 ml Me aufgenommen und filtriert. 1 ml des Filtrats wurde mit 30 mg Subst. G versetzt und 40 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit 5 ml W versetzt und mit 25 ml Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt. Der mit W gewaschene und über  $Na_2SO_4$  getrocknete Auszug hinterliess 36 mg amorphes Rohprodukt. Umfällen aus Chf-Ae gab 19,8 mg leicht gelbliches, amorphes Pulver, Smp. 270–275° (Zers.),  $[\alpha]_D^{25} = -64,6^\circ \pm 3^\circ$  (c = 0,875 in Me).

$C_{28}H_{39}O_6N_3$  (513,61) Ber. N 8,20% Gef. N 8,30% (OAB)

Mono-O-acetyl-Subst. G (EA 41). 41 mg Subst. G wurden mit 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml  $(Ac)_2O$  42 Std. auf 37° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab 46 mg neutrales Rohprodukt als farblosen Schaum. Aus An-Ae 27,8 mg zu Drusen vereinigte Stäbchen. Smp. 221–225°,  $[\alpha]_D^{25} = -49,2^\circ \pm 3^\circ$  (c = 0,75 in An). Leicht löslich in An, schwer in Me. Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tab. 9.

$C_{29}H_{38}O_7$  (498,59) Ber. C 69,86 H 7,68%  $C_{30}H_{38}O_7$  (510,60) Ber. „ 70,55 „ 7,51% Gef. C 70,07 H 7,51% (OAB)

Di-O-benzoyl-lineolon, Präp. EA 17 aus Subst. G. 20 mg Subst. G wurden in 0,4 ml abs. Py gelöst, bei 0° mit Benzoylchlorid versetzt und 2 Std. bei 0°, dann noch 17 Std. bei 22° unter  $H_2O$ -Ausschluss stehengelassen. Die rot gefärbte Lösung wurde mit 0,2 ml Me versetzt und nochmals 4 Std. stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurde an 3,6 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Be-Chf-(4:1) eluierten Anteile (20 mg) gaben aus Ae 12,8 mg farblose Kristalle. Um-

<sup>98)</sup> Berechnet auf zwei Mol. flüchtige Säure, wenn es sich nur um Essigsäure handeln würde.



kristallisieren aus Ac-Pe gab 10,8 mg Nadeln, Smp. 218–221°,  $[\alpha]_D^{25} = -27,2 \pm 2^\circ$  ( $c = 0,93$  in Me). IR.-Spektren vgl. Fig. 20, Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tab. 9.

$C_{34}H_{40}O_7$  (560,66) Ber. C 72,83 H 7,19% Gef. C 72,78 H 6,95% (A.P.)  
 $C_{35}H_{40}O_7$  (572,67) Ber. „ 73,40 „ 7,04%

*Alkalische Verseifung von Substanz G.* 60,5 mg Subst. G wurden mit 50 mg KOH in 1 ml Me 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Die Aufarbeitung wie bei A5d gab 46,2 mg neutrale Anteile und 14,7 mg ätherlösl. Säure. Prüfung auf Lactone sowie auf Essigsäure (wie bei A5d): negativ.

Ein weiterer Ansatz mit 500 mg Subst. G gab 355 mg neutrale Anteile und 112 mg ätherlösl. Säure.

*Identifizierung der ätherlösl. Säure aus Subst. G.* 14,5 mg der oben genannten Säure aus Subst. G wurden bei 60–70° und 60–70 Torr sublimiert. Das Sublimat (14,1 mg) gab aus Ac-Pn und reinem Pn 9,4 mg farblose Blättchen, Smp. 123–124°, Misch-Smp. mit authentischer Benzoesäure ebenso. Das UV.-Absorptionsspektrum in Alk zeigte Maxima bei 228  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,06$ , und bei 272  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,13$ . Zur Analyse Trocknung ohne Vakuum.

$C_7H_6O_2$  (122,12) Ber. C 68,84 H 4,95% Gef. C 68,94 H 5,14% (OAB)

*Reduktion von Subst. G mit  $LiAlH_4$ : Subst. B 1 (= Präp. EA 30).* 100 mg Subst. G in 4 ml abs. Ae-Tetrahydrofuran-(1:1) wurden unter Rühren in die siedende Lösung von 100 mg  $LiAlH_4$  in 5 ml Ae-Tetrahydrofuran-(1:1) getropft und anschliessend noch  $3\frac{1}{2}$  Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit Eis und mit 2-n.  $H_2SO_4$  bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig W und Sodalösung gewaschenen und über  $Na_2SO_4$  getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 84 mg amorphes Rohprodukt, das an 2 g  $Al_2O_3$  chromatographiert wurde. Die mit Chf eluierten Anteile (48,9 mg) gaben aus An-Ae 30,5 mg Kristalle, Smp. 248,5–255°. Diese enthielten nach Pchr. (Nr. 9 in Fig. 4) ausser B1 (= EA 30) noch zwei weitere Stoffe. 30 mg dieser Kristalle wurden im System To-Bu-(9:1)/W durch präp. Pchr. getrennt. Die B1-Zonen gaben 16,6 mg rohes Eluat, das aus Mc-Ae 9,6 mg Subst. B1 in gelblichen Kristallen von Smp. 251–255° (Zers.) lieferte,  $[\alpha]_D^{27} = +52,1 \pm 3^\circ$  ( $c = 0,875$  in Me). Das Präparat gab im Pchr. (Nr. 10 in Fig. 4) nur einen Fleck, UV.-Spektrum vgl. Fig. 15. Ein vorher mit 100 mg Subst. G analog, aber in Dioxan-Ae-(1:10) ausgeführter Versuch gab ca. 25 mg Ausgangsmaterial und 45 mg amorphes Gemisch, bestehend aus Subst. G, einer unbekanntem Subst. E1 (Nr. 2 in Fig. 3) (n.u.) und ca. 6 mg fast reiner Subst. B1 vom Smp. 251–257°.

2. *Lineolon = Subst. B (EA 12).* Die 46,2 mg krist. Neutralteil aus Verseifung von Subst. G wurden an 1,4 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Chf eluierten Anteile (34 mg) gaben aus An-Ae 23,1 mg krist. Subst. B. Die weiteren 355 mg roher Neutralteile aus Verseifung gaben in gleicher Weise noch 245 mg krist. Subst. B.

Nach wiederholtem Umkristallisieren an An-Ae kurze farblose Stäbchen, Smp. 233–239°,  $[\alpha]_D^{24} = +13,0^\circ \pm 2,5^\circ$  ( $c = 0,89$  in Me). Der Stoff war leicht löslich in Me, schwer in Chf und Ae. Bei der LEGAL-Reaktion blieb die Farbe ca. 10' bestehen und befand sich in der unteren Phase (beides im Gegensatz zu Cymarlin). Weitere Farbreaktionen vgl. Tab. 8 und 9, UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 18 und 21. Kein Gewichtsverlust bei der Trocknung.

$C_{20}H_{32}O_5$  (352,45) Ber. C 68,15 H 9,15 C-Methyl 4,26%  
 $C_{21}H_{32}O_5$  (364,47) Ber. „ 69,20 „ 8,85 „ 4,12%  
 Gef. C 68,37 H 8,95 C-Methyl 4,66%<sup>99)</sup> (OAB)

*Di-O-acetyl-lineolon.* 100 mg Lineolon wurden mit 1,5 ml abs. Py und 1 ml  $(Ac)_2O$  36 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 116 mg neutrales Rohprodukt, aus dem sich durch Kristallisation allein kein völlig einheitliches Acetat isolieren liess. Es wurde daher an 3 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Die mit Be eluierten Fr. 4–6 (20,7 mg) gaben aus Ae-Pn 18,5 mg krist. Nebenprodukt (Subst. EA 31). Nach Umkristallisieren 9,7 mg farblose Blättchen, Smp. 154–156°,  $[\alpha]_D^{25} = +55,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,92$  in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 23.

<sup>99)</sup> Ausgeführt nach W. SCHÖNIGER, H. LIEB & M. G. EL DIN IBRAHIM, Mikrochemie 1954, 96, und E. WIESENBERGER, *ibid.* 1954, 127. Substanz 16 Std. bei 140° im Bombenrohr mit 4-n. Chrom-Schwefelsäure oxydiert.

Die mit Be und Be-Chf-(9:1) eluierten Anteile (76,4 mg) gaben aus An-Pe 51,5 mg Di-O-acetyl-B (EA 22), Smp. 243–245°,  $[\alpha]_D^{26} = -47,0^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 22. Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  vgl. Tab. 9.

$C_{24}H_{36}O_7$ (436,53)	Ber. C 66,03	H 8,31	O 25,66%
$C_{25}H_{36}O_7$ (448,54)	Ber. „ 66,95	„ 8,09	„ 24,96%
	Gef. C 66,52	H 8,07	O 24,56% (OAB)

10,259 mg verbr. bei der Hydrierung 1,07 ml  $H_2$  (0°, 760 Torr), entspr. 2,09 Mol.  $H_2$  ber. auf 448,54.

*Di-O-benzoyl-lineolon*, Präp. EA 17a aus Lineolon. 53 mg Lineolon wurden bei 0° mit 1 ml abs. Py und 0,35 ml Benzoylchlorid versetzt und 4 Std. bei 0°, dann noch 17 Std. bei 20° stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Mono-O-benzoyl-Subst. G. Das neutrale Rohprodukt wurde an 3 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Be-Chf-(4:1) eluierten Anteile (75 mg) gaben aus Ac-Pe 53 mg farblose Nadeln, Smp. 219–223°,  $[\alpha]_D^{23} = -24,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Me).

$C_{34}H_{40}O_7$ (560,66)	Ber. C 72,83	H 7,19%	
$C_{35}H_{40}O_7$ (572,67)	Ber. „ 73,40	„ 7,04%	Gef. C 72,65 H 7,48% (OAB)

Nach Mischprobe, Farbreaktionen und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 20) identisch mit Benzoylierungsprodukt von Subst. G (EA 17).

3. *Utendin* = Subst. C (EA 19). Aus Me-Ac farblose Nadeln, Smp. 247–251°,  $[\alpha]_D^{26} = +9,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,10$  in Me). Kein Gew.-Verlust bei Trocknung. UV.- und IR.-Spektren vgl. Fig. 16 und 24. Farbreaktionen Tab. 8 und 9.

$C_{21}H_{34}O_5$ Ber. C 68,82	H 9,35	O 21,83	2 C-CH <sub>3</sub> 8,20%
(366,48) Gef. „ 69,19; 69,27, „ 9,66; 9,57	„ 21,57	-OCH <sub>3</sub> 2,60; 3,37 <sup>40</sup>	„ 8,12% <sup>99</sup> (OAB)
		Mol.-Gew. (Rast) 363 (A. P.)	

11,388 mg verbr. bei Hydrierung mit Pt in Eisessig 0,681 ml  $H_2$  (0°, 760 Torr) entspr. 1,02 Mol., ber. auf 366,48.

*Tri-O-acetyl-utendin* (EA 21). 150 mg Subst. C wurden mit 23 ml abs. Py und 1,5 ml  $(Ac)_2O$  60 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 204 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 110 mg farblose Körner, Smp. 259–261°. Aus Me-Ae farblose Körner, Smp. 260–262°,  $[\alpha]_D^{26} = -15,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,03$  in Me).

$C_{27}H_{40}O_8$ Ber. C 65,83	H 8,19	O 25,98	Acetyl 25,72%
(492,59) Gef. „ 65,64	„ 8,58	„ 25,78	„ 26,10% <sup>100</sup> (OAB)

Die ML gab noch 34 mg Kristalle, Smp. 243–256°, die aber nach Pchr. neben EA 21 noch eine Spur stärker polares Material enthielten.

*Versuch zur Dehydrierung von EA 21 mit  $CrO_3$* . 30 mg Tri-O-acetyl-utendin (EA 21) in 1 ml AcOH wurden mit 0,2 ml 2-proz.  $CrO_3$ -AcOH-Lösung (= 4 mg  $CrO_3$  entspr. 1 Sauerstoff-Äquiv.) versetzt und  $3\frac{1}{4}$  Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch  $CrO_3$  nachweisbar war. Nach Zusatz von 2 Tropfen Me wurde noch 5 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 31 mg neutrales Rohprodukt. Aus Me-Ae 21 mg Kristalle, Smp. 250–254°. Nach Pchr. (Be-Pe-(1:1)/Pgl-W-(4:1)) lag ein Gemisch von viel EA 21 mit wenig einer stärker polaren Substanz vor. Kristalle und ML wurden wieder vereinigt und an  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Be-Chf-(4:1) eluierten Anteile (16 mg) gaben aus An-Ae wieder Kristalle vom Smp. 251–258°, die nach Pchr. immer noch ein wenig der höher polaren Substanz enthielten. Misch-Smp. mit EA 21 ohne Depression. Das Material blieb auch nach Sublimation bei 0,02 Torr und 195–205° unverändert.

*Di-O-benzoyl-utendin* (EA 42). 36,9 mg Utendin wurden in 0,8 ml abs. Py gelöst, bei 0° mit 0,35 ml Benzoylchlorid versetzt und 2,5 Std. bei 0°, dann noch 16 Std. bei 20° unter  $H_2O$ -Ausschluss stehengelassen. Aufarbeitung wie bei Benzoyl-Subst. G gab ein orangefarbiges Rohprodukt, das an 3 g  $Al_2O_3$  chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(4:1) eluierten Anteile (57,5 mg) gaben aus Essigester 20 mg farblose Nadeln. Nach Umkristallisieren Smp. 275–278°,  $[\alpha]_D^{26} = +70,2^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,786$  in Py). Sehr schwer löslich in Me, Ae und An, mässig löslich in Chf. Farbreaktionen vgl. Tab. 9.

$C_{35}H_{42}O_7$ (574,69)	Ber. C 73,15	H 7,36%	Gef. C 73,07 H 7,58% (OAB)
----------------------------	--------------	---------	----------------------------

<sup>100</sup>) 5 Std. mit 2-n. NaOH in Me gekocht. Nach  $1\frac{1}{2}$  Std. waren erst 2 Mol. Säure gebildet.

*Dehydro-di-O-benzoyl-utendin* (EA 46). 40 mg Di-O-benzoyl-Subst. C vom Smp. 275–278° in 4,5 ml AcOH (schwer löslich) wurden mit 0,23 ml 2-proz. CrO<sub>3</sub>-AcOH-Lösung (4,6 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt. Nach 1 Std. bei 20° war das CrO<sub>3</sub> verbraucht. Es wurden nochmals 0,23 ml 2-proz. CrO<sub>3</sub>-AcOH-Lösung (4,6 mg, total 9,2 mg CrO<sub>3</sub> entspr. 2 Sauerstoff-Äquiv.) zugesetzt, nochmals 4 Std. stehengelassen, worauf noch CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Nach Zugabe von 2 Tropfen Me wurde noch 16 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 38,5 mg neutrales Rohprodukt. Aus Äthylacetat-Ae 26,1 mg Subst. EA 46 in farblosen Blättchen, Smp. 231–232°. Nach Umkristallisieren Smp. 234–235°,  $[\alpha]_D^{25} = +85,1 \pm 2,5^\circ$  ( $c = 0,839$  in Py). Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: orange (1'), braun (10'), tief braun mit leicht violetterm Rand (4 Std.).

*Verseifungsversuch von EA 46*. 25 mg Präp. EA 46 mit 1 ml 5-proz. KOH in Me 5 Std. gekocht. Die Lösung färbte sich tief orange, dann braun. Die übliche Aufarbeitung gab nur 9 mg braunes Neutralprodukt, das keine Kristalle lieferte (n.u.).

4. Subst. A (EA 20) = *Sarcostin* aus *Pachycarpus lineolatus*. Aus Me-Ae farblose Nadeln mit Doppel-Smp. 150°/260–263°,  $[\alpha]_D^{25} = +67,0 \pm 2^\circ$  ( $c = 1,056$  in Me). Trocknung (Schweinchen) gab 3,0; 5,2% (OAB), bzw. 7,3% (A.P.) Gewichtsverlust. C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub> + H<sub>2</sub>O (400,50) H<sub>2</sub>O ber. 4,50%

C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub> (370,47)	Ber. C 64,84	H 9,25	O 25,91	C-Methyl 4,06%
C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub> (382,48)	Ber. „ 65,94	„ 8,96	„ 25,10	„ „ 3,92%
Gef. C 64,64; 64,72;	H 9,15; 9,20		„ 25,80	C-Methyl 3,58% <sup>99)</sup> (OAB)
„ „ 66,09	„ 9,05%			Mol.-Gew. (RAST) 359 (A.P.)

Der Stoff war methoxylfrei (OAB), leicht löslich in Me, schwer in Ae. UV.-Spektrum vgl. Fig. 17. Farbreaktionen vgl. Tab. 8 und 9. Charakteristisch war auch die von CORNFORTH & EARL<sup>25)</sup> erwähnte Violettfärbung mit konz. HCl<sup>101)</sup>.

Nach Mischprobe und Pchr. identisch mit authentischem *Sarcostin*<sup>102)</sup>.

*O-Benzoyl-sarcostin* (EA 43). 37,5 mg Subst. A (EA 20) wurden genau wie bei Di-O-benzoyl-Subst. C beschrieben behandelt. Das dunkle Rohprodukt wurde an 3 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Von den mit Be-Chf-(4:1) eluierbaren Anteilen (64,4 mg) gaben nur 2 Fraktionen (15,4 mg) aus Äthylacetat-Ae 5,4 mg Präp. EA 43 in farblosen Nadeln, Smp. 258–260°. Die Mischprobe mit Di-O-benzoyl-Subst. C (= EA 42) gab keine Depression, aber die Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> war deutlich verschieden, vgl. Tab. 9.

*Tri-O-acetyl-sarcostin* (aus *Pachycarpus lineolatus*). 100 mg Subst. A (EA 20) wurden mit 1,5 ml abs. Py und 1 ml (Ac)<sub>2</sub>O 40 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 125,2 mg neutrales Rohprodukt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An-Pn 42 mg farblose Körner; Smp. 207–210°,  $[\alpha]_D^{25} = +19,8 \pm 2^\circ$  ( $c = 1,093$  in Me). Die ML lieferte noch 53 mg Kristalle, Smp. 200–207°. Trocknung des reinsten Präparates zur Analyse (3 Std./100°) gab keinen Gewichtsverlust.

C <sub>27</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub>	Ber. C 63,76	H 7,95	O 28,31%
(508,54)	Gef. „ 63,79	„ 8,18	„ 27,97% (OAB)

Weitere Daten Tab. 8 und 9. Misch-Smp. mit authentischem Material ohne Erniedrigung<sup>103)</sup>, auch die Farbreaktionen mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren gleich.

*Tri-O-acetyl-dihydro-sarcostin* (aus *Pachycarpus lineolatus*). 19,520 mg Tri-O-acetyl-sarcostin (aus *Pachycarpus lineolatus*) wurden in AcOH mit dem durch Vorhydrierung aus 15 mg PtO<sub>2</sub> bereiteten Platin bei 20,9° im Apparat von CLAUSON-KAAS<sup>104)</sup> in H<sub>2</sub>-Atmosphäre geschüttelt. Die Gasaufnahme war nach 20 Min. beendet; sie betrug 0,902 ml (0°, 760 Torr) entspr. 1,05 Mol. (ber. auf C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>9</sub> = 508,54). Filtration und übliche Aufarbeitung gab 18,4 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Pn 13,5 mg farblose kurze Säulen, Smp. 226–237°,  $[\alpha]_D^{25} = +19,3 \pm 3^\circ$  ( $c = 0,8$  in Me). Trocknung zur Analyse (3 Std./100°) gab keinen Gewichtsverlust.

C <sub>27</sub> H <sub>42</sub> O <sub>9</sub> (510,61)	Ber. C 63,51	H 8,30%	Gef. C 63,73	H 8,38% (OAB)
---	--------------	---------	--------------	---------------

Tetranitromethan gab keine Färbung. Im UV. keine merkliche Absorption.

<sup>101)</sup> Diese Reaktion und die Identifizierung mit authentischem *Sarcostin* wurde erst nach Abschluss dieser Arbeit von HERRN J. M. NASCIMENTO ausgeführt (vgl. spätere Mitt.)

<sup>102)</sup> Wir danken HERRN Prof. O. JEGGER, Zürich, auch hier bestens für dieses Material.

<sup>103)</sup> Wir danken HERRN Dr. J. W. CORNFORTH, London, auch hier bestens für dieses Material.

<sup>104)</sup> N. CLAUSON-KAAS & F. LINBORG, Acta chem. scand. 1, 884 (1947).

Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$ : blassorange (1'), rosa (2'), violett (5'–1 Std.), blassviolett mit grünlichem Rand (2 Std.), graugrün (5–9 Std.), verblasst (24 Std.). Misch-Smp. mit Tri-O-acetyl-sarcostin (vom Smp. 207–210°) bei 203–230°, also ohne deutliche Depression.

*Dehydro-tri-O-acetyl-sarcostin.* 30,2 mg Tri-O-acetyl-sarcostin (EA 23) in 1 ml AcOH wurden bei 20° innerhalb 8 Std. portionsweise mit total 0,92 ml 2-proz.  $CrO_3$ -Eisessig-Lösung (18,4 mg  $CrO_3$  entspr. ca. 5 O-Äquiv.) versetzt und zum Schluss noch  $2\frac{1}{2}$  Std. stehengelassen, worauf noch  $CrO_3$  nachweisbar war. Dann wurde mit 3 Tropfen Me versetzt und noch 16 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 25,2 mg neutrales Rohprodukt und 2,5 mg saure Anteile (verworfen). Der Neutralteil liess sich zunächst nicht kristallisieren und wurde an 0,75 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Be-Chf eluierten Anteile (6,9 mg) gaben aus An-Ac-Pn 5,5 mg krist. Präp. EA 29, Smp. 95–108°. Es diente zur Aufnahme der UV.- und IR.-Spektren (IR.-Spektrum vgl. Fig. 25). Analyse und weitere Untersuchung unterblieben wegen der geringen Ausbeute.

*Dehydrierung von Sarcostin (aus Pachycarpus lineolatus) mit Selen bei 350°.* 1 g Sarcostin (EA 20) wurde, mit 2,6 g schwarzem Selen gut verrieben, im evakuierten Bombenrohr (mit verschraubbarem Stahlmantel, der zum Druckausgleich mit etwas Naphtalin gefüllt war) 36 Std. auf 350° erhitzt. Nach Abkühlen wurde geöffnet und 15 Min. bei 12 Torr auf 45–50° erwärmt, wobei die flüchtigen Teile bei –80° ausgefroren wurden, sie bestanden jedoch vorwiegend aus Wasser und wurden nicht untersucht. Der Rohrinhalt wurde gut verrieben und viermal mit je 250 ml Ae unter Rückfluss ausgekocht. Die unlöslichen Anteile (hauptsächlich Se) wurden n.u.

Die Ae-Auszüge wurden mehrmals mit 2-n. HCl, 10-proz. KOH und Wasser gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und eingedampft. Erhalten wurden 241 mg neutrales Rohprodukt (dunkelbraunes Öl). Die HCl-Auszüge wurden verworfen. Die KOH-Auszüge wurden angesäuert, mit Ae ausgeschüttelt und dieser Auszug nochmals mit verd.  $Na_2CO_3$  ausgeschüttelt. Erhalten wurden 21 mg rohe Säuren (aus  $Na_2CO_3$ -Auszug) als stechend riechende Flüssigkeit, sowie 121 mg rohe Phenole (aus KOH-Auszug), von denen sich die Hauptmenge (105 mg) bei 12 Torr von 45–80° destillieren liess (nicht weiter untersucht).

Die 241 mg Neutralteile wurden zunächst im Vakuum destilliert, wobei 4 Fraktionen aufgefangen wurden: I bei 12 Torr, Badtemp. bis 125°: 33,5 mg hellbraunes Öl; II bei 12 Torr, Badtemp. 125–140°: 66,9 mg rotbraunes Öl; III bei 0,04 Torr, Badtemp. bis 200°: 95,5 mg, dunkelbraun, teilweise krist.; IV bei 0,05 Torr, Badtemp. 200–240°: dunkelbraunes Glas; total 219,3 mg.

Die Fr. I und II wurden vereinigt (100,4 mg) und an 5 g  $Al_2O_3$  (nach BROCKMANN, nicht alkalifrei) chromatographiert. Zum Eluieren dienten je 10 ml der in Tab. 15 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 15. *Chromatographie von 100,4 mg Neutralteil (vereinigte Fr. I und II)*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand			
		roh		Daraus erhaltene Kristalle	
		Menge in mg	Habitus	Menge in mg	Smp.
1	Pn	30,8	farbloses Öl	—	—
2	Pn	19,8	„ „	—	—
3–5	Pn	7,4	„ „ (teilw. krist.)	0,24 (Alk)	72–95°
6	Pn-Ae-(9:1)	3,8	gelbl. „ „ „	0,35 (Me)	115–135°
7	„ „ -(9:1)	2,5	gelbes Harz	—	—
8	„ „ -(4:1)	0,9	„ „	—	—
9–10	Ae	6,4	„ „	—	—
11–12	Chf	4,3	„ „	—	—
13	Chf	Spur	dunkelgelbes Harz	—	—

Fr. 1 (Präp. EA 25) bestand nach UV.-Spektrum (Maxima in Cyclohexan bei 228  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 4,4$ ; 276  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 3,3$ ; 324  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 2,44$  und 330,5  $m\mu$ ,  $\log \epsilon = 2,3$ , ber. auf ein Molekulargewicht von 160) aus einem oder mehreren einfachen Naphtalinderivaten.

Fr. 2 (Präp. EA 24a) bestand nach UV.-Spektrum (Maxima in Cyclohexan bei 215, 225, 253,5, 277,5, 294,5, 300,2, 351,5 und 378,5  $m\mu$ ) aus einem Gemisch, das substit. Naphtalin und ein substit. Phenanthren enthält.

Die folgenden Fr. 3–13 wurden n.u.

Die Fr. III und IV des Neutralteil-Destillates wurden vereinigt (118,9 mg) und an 4 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fr. dienten je 12 ml der in Tab. 16 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 16. *Chromatographie von 118,9 mg Fr. III + IV des Neutralteil-Destillates an  $Al_2O_3$*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		Menge in mg	Habitus
1	Pe-Be-(3:2)	32,6	Farbl. Öl, teilw. krist.
2	Pe	7,3	" " " "
3-5	Pe	5,9	amorph farbl.
6-7	Pe-Be-(9:1)	2	" gelbl.
8	" " -(8:2)	0,6	" "
9	" " -(8:2)	0,5	" gelb
10-13	" " -(1:1)	4,2	" "
14-15	Be	0,9	" "
16	Be-Ae-(9:1)	0,6	" braungelb
17	" " -(8:2)	0,9	" "
18-19	" " -(1:1)	5,5	" braun
20-21	Ae	1,4	" "
22-23	Chf	4,1	" "
24	Chf-Me-(1:1)	3,6	" "
25	An	0,2	" "
26	An-Me-(1:1)	0,8	" "
27	Be-Me-(1:1)	1,5	" "
28-29	Chf-Me-(1:1)	1,8	" "

Die Fr. 9–29 gaben bisher keine Kristalle (n.u.). Die Fr. 1–8 wurden vereinigt (48,4 mg) und nochmals an 1,5 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Zum Eluieren dienten je 5 ml der in Tab. 17 genannten Lösungsmittel.

Tabelle 17. *Chromatographie von 48,4 mg Fr. 1–8 von Tabelle 16 an  $Al_2O_3$*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		roh Menge in mg	Kristalle aus Ae-Me	
			Menge in mg	Smp.
1	Pu	1,9	—	—
2	Pu	27,8	—	—
3-7	Pu	17,8	6,5	ca. 130–220°
8	Pe-Ae	3,0	0,7	173–218°
9	Pe-Ae	0,2	amorph	gelblich

Die Kristalle aus Fr. 3–8 (7,2 mg) wurden zusammen aus Pn durch Einengen und Stehen bei  $-80^{\circ}$  umkristallisiert und mit Pn bei  $-80^{\circ}$  gewaschen. Erhalten wurden 2,9 mg Präp. EA 26 in farblosen Blättchen, Smp. 172–208 $^{\circ}$ . Es gab in Cyclohexan im UV. die folgenden Maxima: ( $\log \epsilon$  in Klammern ber. auf  $C_{20}H_{16} = 256,33$ ); 223 (4,49); 261 (4,82); 271 (5,02); 295,5 (4,17); 307 (4,13); 320 (4,09); 344 (2,81); 362 (2,54); 380 (1,66); 385 (1,73). Die zwei letztgenannten schwachen Banden können nicht zugeordnet werden. Die zwei Banden bei 344 und 362, besonders die letztere, spricht für das Vorliegen eines Chrysens. Die anderen Maxima sind zur Unterscheidung von Chrysen und 1,2-Benzfluoren weniger geeignet.

Die ML (13,6 mg) der Kristalle von Fr. 3–8 (Tab. 17) sowie die zwei amorphen Fr. 1–2 (29,7 mg) wurden vereinigt und das Ganze, 43,3 mg, nochmals an 1,9 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Pe zuerst eluierten Anteile (Fr. 2, 19,3 mg farbloses Öl) wurden als Präp. EA 24 bezeichnet. Es zeigte im UV. (in Cyclohexan) eine Absorption, die grösste Ähnlichkeit mit dem öligen Kohlenwasserstoff REW 26 aus *Dregea volubilis*<sup>69</sup>) (vgl. Kurve XXVII der dortigen Arbeit) aufwies, und die einem Phenanthren-Kohlenwasserstoff entspricht. Insbesondere enthielt sie auch bei 351,5  $\mu$  eine scharfe Bande von gleicher Intensität, die bei Fluorenderivaten nicht vorkommt<sup>105</sup>).

5. *Identifizierung der Benzoessäure aus Versuch C 3a.* Die Säure war nach Smp., Papierchromatogramm, Mischprobe und UV.-Spektrum identisch mit authentischem Material.

*Anilid.* 20 mg Säure (ML obiger Kristalle) wurden ins Chlorid und Anilid übergeführt. Das neutrale Rohprodukt gab aus An-Ac (nach Filtration mit etwas Kohle) 14 mg farblose Blättchen, Smp. 163–165 $^{\circ}$ , Misch-Smp. mit Benzanilid ebenso. Trocknung bei 20 $^{\circ}$ .

$C_{13}H_{11}ON$  (197,23) Ber. C 79,16 H 5,62 N 7,10% Gef. C 79,07 H 5,63 N 7,19% (OAB)

6. *Identifizierung der D-Cymarose aus Versuch A 6b.* Aus An-Pn farblose Nadeln, Smp. 76–78 $^{\circ}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +49,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$  ( $c = 1$  in W). Trocknung zur Analyse 14 Std. bei 12 Torr und 20 $^{\circ}$  über  $P_2O_5$ .

$C_7H_{14}O_4$  Ber. C 51,84 H 8,70  $-OCH_3$  19,13%  
(162,18) Gef. „ 52,21 „ 8,92 „ 19,36% (OAB)

Nach Mischprobe und Pchr. identisch mit authentischem Material.

7. *Identifizierung von D-Cymaronsäure-phenylhydrazid aus Versuch A 6c.* Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 156–157 $^{\circ}$ , Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso,  $[\alpha]_D^{25} = +3,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,96$  in Me).

$C_{13}H_{20}O_4N_2$  Ber. C 58,19 H 7,51 N 10,44%  
(268,31) Gef. „ 58,01 „ 7,63 „ 10,65% (OAB)

8. *Thevetosido-cymaronsäure-lacton (Präp. EA 10).* Aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 186,5 $^{\circ}$  bis 187,5 $^{\circ}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +57,8^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,97$  in Chf), resp.  $[\alpha]_D^{28} = +44,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,0$  in W). Trocknung zur Analyse 2 Tage bei 0,02 Torr und 20 $^{\circ}$  über  $P_2O_5$  (kein Gewichtsverlust).

$C_{14}H_{24}O_8$  Ber. C 52,49 H 7,55 O 39,96  $-OCH_3$  19,37 C-Methyl 9,39%  
(320,34) Gef. „ 52,55 „ 7,75 „ 40,21 „ 19,23 (OAB) „ 9,69% (A.P.)

Molgewichtsbestimmung (RAST) Gef. 289; 299 (A.P.)

Die Substanz reduzierte FEHLING'sche Lösung nicht, sie liess sich bei 0,02 Torr und 120–160 $^{\circ}$  unzersetzt sublimieren.

*Saure Hydrolyse.* 5 mg Thevetosido-cymaronsäure-lacton (Präp. EA 10) wurden mit 0,25 ml KILIANI-Mischung<sup>31</sup>) (3,5 ml AcOH, 5,5 ml W und 1 ml konz. HCl) 1 Std. auf 100 $^{\circ}$  erhitzt. Dann wurde bei 12 Torr eingedampft. Der Rückstand zeigte deutliches Reduktionsvermögen. Die Pchr. (vgl. Nr. 33 in Fig. 7, sowie Nr. 35, 37 und 41 in Fig. 9–13) zeigten die Flecke von Thevetose sowie von Cymaronsäure-lacton. Der Fleck des Ausgangsmaterials war verschwunden.

Die Mikroanalysen wurden teilweise unter der Leitung von Herrn F. THOMMEN im Mikrolabor der Organ.-chem. Anstalt Basel (OAB), teilweise bei Herrn A. PEISKER, Brugg (A.P.), ausgeführt.

<sup>105</sup>) R. A. FRIEDEL & M. ORCHIN, UV.-Spectra of aromatic compounds, J. Wiley & Sons, New York 1951.

*Zusammenfassung*

Die Wurzeln von *Pachycarpus lineolatus* (DECNE.) BULLOCK enthielten ein kompliziertes Gemisch von Esterglykosiden, das sich durch milde saure Hydrolyse weitgehend in Zucker und Genin-Glykosid-Gemische spalten liess. Die Zucker bestanden vorwiegend aus D-Cymarose sowie einer neuen Biose, die als Thevetosido-cymarose erkannt werden konnte.

Das zuckerarme Genin-Glykosid-Gemisch lieferte nach Chromatographie (teilweise direkt und teilweise erst nach alkalischer Verseifung, wobei vorwiegend Benzoesäure abgespalten wurde) vier kristallisierte Stoffe, von denen einer als Sarcostin identifiziert werden konnte. Die drei anderen wurden als Lineolon, Utendin und Subst. G bezeichnet. Letztere erwies sich als ein Mono-O-benzoyl-lineolon. Die analytischen Daten wären mit der Annahme verträglich, dass Lineolon und Utendin nahe mit Sarcostin verwandt sind.

Es werden die Gründe mitgeteilt, die dafür sprechen, dass auch verschiedene andere Asclepiadaceen Stoffe von gleichem oder ähnlichem Typus produzieren.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

---

**107. Teilsynthese von Hellebrigenin- $\beta$ -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$  und Hellebrigenol- $\beta$ -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ , sowie Nachweis dieser zwei Glykoside in den Zwiebeln von *Urginea depressa* BAKER<sup>1)</sup>**

Glykoside und Aglykone, 202. Mitteilung<sup>2)</sup>

von **R. Rees, O. Schindler** und **T. Reichstein**

(14. III. 59)

Aus dem Glykosidgemisch der Zwiebeln von *Urginea depressa* BAKER (Liliaceae) erhielt BERNASCONI<sup>3)</sup> nach Einwirkung von Strophanthobiase unter anderem krist. Hellebrigenin (II) und krist. Hellebrigenol<sup>4)</sup> (Genin von VI) (im Verhältnis von ungefähr 5:1). Es wurde angenommen, dass die Zwiebeln Hellebrigenin- $\beta$ -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$  (III) sowie Hellebrigenol- $\beta$ -D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$  (VI) enthalten haben, doch gelang es nicht, diese Glykoside daraus in reiner Form zu gewinnen. Um die Isolierung zu erleichtern und vor allem, um eine sichere papierchromatographische Kontrolle zu ermöglichen, haben wir die zwei zuletzt erwähnten Stoffe und einige ihrer Derivate zunächst durch Teilsynthese hergestellt.

---

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. R. REES, Basel 1959.

<sup>2)</sup> 201. Mitt.: EVA ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **42**, 1014 (1959).

<sup>3)</sup> R. BERNASCONI, Diss. Basel 1957, sowie R. BERNASCONI *et al.*, siehe spätere Mitteilung.

<sup>4)</sup> A. KATZ, Helv. **40**, 831 (1957).