

Blättchen vom Smp. 82–83°, in Methanol und Äthanol gut, in Aceton und Chloroform ziemlich gut löslich.

$C_{11}H_{11}N_2BrS$ Ber. C 46,65 H 3,92 N 9,89% Gef. C 46,92 H 3,77 N 9,53%

2-Methylaminomethyl-4-p-methoxyphenyl-thiazol (XId). 1 g Xd wird mit 15 ml Äthanol und 0,5 ml konz. HCl 2 Std. unter Rückfluss gehalten. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Äthanol erhält man 700 mg XId-Hydrochlorid vom Smp. 207–211°. Die Mutterlauge wird auf die Hälfte eingedampft und ergibt noch weitere 200 mg. Gesamtausbeute 91,3%.

$C_{12}H_{15}ON_2ClS$ Ber. Cl 13,09 S 11,84% Gef. Cl 13,10 S 11,64%

300 mg des Hydrochlorids werden mit 1 ml 2N NaOH bei 60° digeriert. Nach 48-stdg. Stehen bei 0° kristallisiert die freie Base (210 mg = 80,5%) aus. Aus Methanol-Wasser (1:1) Smp. 40–41°, gut löslich in Methanol, Äthanol und Aceton, heissem Dioxan und Wasser.

$C_{12}H_{14}ON_2S$ Ber. N 11,96 S 13,68% Gef. N 11,96 S 13,60%

Die Mikroanalysen verdanken wir z. T. dem mikroanalytischen Laboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT (DRS. H. GYSEL und W. PADOWETZ), z. T. dem Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt (E. THOMMEN).

SUMMARY

For comparison with bipyridyl, a series of compounds with potential metal-chelating properties, *i.e.* having two or four basic groups of partly aromatic, partly aliphatic character, have been synthesized.

Anstalt für Anorganische Chemie der Universität Basel

90. Die digitaloiden Inhaltsstoffe von *Pentopetia androsaemifolia* DECNE¹⁾

Glykoside und Aglykone, 214. Mitteilung²⁾

von E. Wyss, Herb. Jäger und O. Schindler

(17. II. 60)

Pentopetia androsaemifolia DECNE. (*Asclepiadaceae*) ist eine in Madagaskar heimische Liane, die unter dem Namen *Tandrokoso* von den Einheimischen in mancherlei Zubereitungen für verschiedene Affektionen, unter anderem auch als Diureticum, verwendet wird. Die Anwesenheit von Glykosiden des Cardenolid-Typus in der Zweigrinde ist von PERNET und Mitarb.³⁾ nachgewiesen worden, nachdem schon 1943 BOITEAU die Herzwirksamkeit von Extrakten der Droge erkannt hatte⁴⁾. Herr PERNET⁵⁾ sandte uns Proben der von ihm erhaltenen Äther-, Chloroform- und Chloroform-Äthanol-(2:1)-Extrakte. Sie zeigten in Papierchromatogrammen dieselbe Zusammensetzung wie unsere entsprechenden Auszüge. Eine genauere Untersuchung der Wurzeln der Pflanze hatte FRÈREJACQUE durchgeführt. Es ist ihm dabei gelungen,

¹⁾ Auszug aus der Diss. E. WYSS, Basel 1960.

²⁾ 213. Mitteilung: R. BLOCH, S. RANGASWAMI & O. SCHINDLER, *Helv.* 43, 652 (1960).

³⁾ R. PERNET, G. MEYER & C. ANJARD, *Journal médical de Madagascar* 5, 111 (1956).

⁴⁾ P. BOITEAU, zitiert nach R. PERNET³⁾.

⁵⁾ Wir danken Herrn R. PERNET bestens für die Überlassung der Extrakte und alle seine Angaben.

zwei krist. Cardenolid-Glykoside zu fassen, die bei der sauren Hydrolyse das gleiche krist. Genin lieferten. Von allen drei Stoffen sandte er uns Proben⁶⁾. Auf Grund von Smp. und Drehung sowie dem Vergleich im Papierchromatogramm handelte es sich beim Genin um Periplogenin und bei den zwei Glykosiden um Periplocynarin⁷⁾ und vermutlich Periplocin⁷⁾⁸⁾. In Übereinstimmung damit erwies sich der gemeinsame Geninteil als Periplogenin.

Für die folgenden eigenen Untersuchungen standen uns ca. 4 kg Material, bestehend aus Zweigrinde, Blättern und Ästen, zur Verfügung⁹⁾. Von diesen schmeckten die Blätter schwach und die Rinde stark bitter, während die dünnen Zweigstücke beim Kauen kaum einen bitteren Geschmack hinterliessen. Ausserdem erhielten wir von Herrn Dr. PAULIAN aus Madagaskar¹⁰⁾ 6,6 kg Rindenstücke sowie zugehörige Herbarmuster. Die letzteren sandten wir zur Kontrolle der botanischen Bestimmung an die Royal Botanic Gardens, Kew. Herr BULLOCK hatte die Freundlichkeit, die Kontrolle durchzuführen. Er hat die Richtigkeit der Bestimmung der Pflanze als *Pentopetia androsaemifolia* DECNE¹¹⁾ bestätigt.

Für die chemische Untersuchung wählten wir die Zweigrinde, weil sie auf Grund des stark bitteren Geschmacks den grössten Gehalt an Glykosiden erwarten liess.

Zur Extraktion der Droge wurde die Methode angewandt, die sich schon zur Isolierung herzwirksamer Glykoside aus dem Holz von *Acokanthera*-Arten bewährt hat¹²⁾. Dabei wurde die zerkleinerte Rinde zuerst mit Wasser gleichmässig durchfeuchtet und quellen gelassen. Anschliessend wurde mit Alkohol steigender Konzentration bei 60° extrahiert und die eingeeengten Extrakte durch Schütteln mit Pb(OH)₂ in 50-proz. Äthanol nach früher gegebener Vorschrift¹³⁾ von Säuren, Gerbstoffen und anderen phenolartigen Substanzen befreit. Aus den gereinigten, wässrig-alkoholischen Auszügen wurde bei pH 6 der Alkohol im Vakuum abdestilliert und die konzentrierte wässrige Lösung fraktioniert mit Äther, Chloroform, Chloroform-Alkohol-(2:1) und, nach Halbsättigung mit Na₂SO₄, mit Chloroform-Alkohol-(3:2) ausgeschüttelt¹³⁾. Dabei wurden die in Tab. 1 angegebenen Ausbeuten an Extrakten erhalten. In Papierchromatogrammen (vgl. Fig. 1 und Nr. 11 in Fig. 6) liessen sich darin insgesamt 6 KEDDE-positive¹⁴⁾ Stoffe nachweisen. Sie wurden (ebenso wie die erhaltenen Flecke) zunächst mit den Buchstaben A₁, A₂, B¹⁵⁾, C, D und E bezeichnet.

⁶⁾ Nicht publiziert. Wir möchten Herrn Prof. M. FRÈREJACQUE auch hier für diese Proben bestens danken, vor allem aber auch dafür, dass er uns die weitere Bearbeitung der Pflanze überlassen hat.

⁷⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, J. biol. Chemistry 79, 519 (1928); A. STOLL & J. RENZ, Helv. 22, 1193 (1939).

⁸⁾ Das vermutliche Periplocin zeigte jedoch eine zu tiefe spez. Drehung (+10,0° statt 22,9°⁷⁾), der Grund ist unsicher.

⁹⁾ Bezogen Ende 1950 von der Fa. MOULINIÉ & CIE., Bordeaux.

¹⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. R. PAULIAN, Institut Scientifique de Madagascar, Tsimbazaza, Tananarive, auch an dieser Stelle bestens für seine Hilfe.

¹¹⁾ Wir möchten der Direktion der Royal Botanic Gardens, Kew, und Herrn A. A. BULLOCK für ihre erneute Hilfe bestens danken.

¹²⁾ P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 45 (1952).

¹³⁾ J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1821 (1951).

¹⁴⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leyden, 1946. Ausführungsform nach J. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952). Diese Farbreaktion ist für digitaloide Lactone weitgehend charakteristisch.

Für die präparative Trennung des Äther-Extraktes A wurde dieser in 2 Portionen an Al_2O_3 chromatographiert und dabei geringe Mengen der Subst. A_1 und C in krist. einheitlicher Form gefasst. Das Material, das zunächst nur einen B-Fleck gegeben hatte, trennte sich bei der Chromatographie an Al_2O_3 in zwei verschiedene Substanzen auf. Der leichter eluierbare Teil wurde als B_1 , der schwerer eluierbare als B_2

Tabelle 1. Ausbeuten und papierchromatographisch ermittelte Zusammensetzung der rohen Extrakte aus 1,7 kg Rinde von *Pentopetia androsaemifolia* DECNE

Extrakt	Ausbeuten aus 1,8 kg Rinde		KEDDE-Reaktion ¹⁵⁾	Flecke im Papierchromatogramm
	in g	in %		
Äther-A (roh)	3,37	0,198	schwach +	
Äther (gereinigt) ¹⁶⁾	2,31	0,136	+	A_1 , A_2 , B, C
Chloroform-A	5,1	0,300	±	Spuren von B u. C
Chloroform-Alkohol-(2:1)-A	16,2	0,953	+	D, E
Chloroform-Alkohol-(3:2)	0,8	0,0473	—	

Tabelle 2. Ausbeuten an Eluaten bei der präp. Papierchromatographie des Äther-Extrakts A

Ausgangsmaterial	Eluate in mg							
	A_1		A_2		B_2		B_1	
	roh	an Al_2O_3 gereinigt	roh	an Al_2O_3 gereinigt	roh	an Al_2O_3 gereinigt	roh	an Al_2O_3 gereinigt
A_1 A_2 B_2 C 93 mg	21,2	10,3	25,5	9,1	26,2	8,0	—	—
A_1 B_1 C 80 mg	nicht eluiert						35,5	7,0

bezeichnet. Beide waren aber noch von anderen Stoffen begleitet. Die Gemische liessen sich auch durch Chromatographie an Silicagel nicht trennen; sie wurden deshalb durch präparative Papierchromatographie zerlegt¹⁸⁾. Dabei wurden die in Tab. 2 angegebenen Ausbeuten erhalten.

Die nach Reinigung an Al_2O_3 erhaltenen KEDDE-positiven Fraktionen waren papierchromatographisch einheitlich, liessen sich jedoch nicht kristallisieren.

Die gleichen Flecke A_1 , A_2 , B und C (vgl. Fig. 1) wurden erhalten, wenn der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt A mit einer Glucosidase (Strophanthobiase¹⁹⁾²⁰⁾ behandelt wurde. Die Fermentierung wurde während 10 Tagen bei 34° durchgeführt und die wässrige Lösung (nach Ausfällung des Ferments mit Alkohol und Entfernung des letzteren) fraktioniert mit Chloroform (Chloroform-Extrakt B) und Chloroform-Alkohol-(2:1) (Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt B) ausgeschüttelt. Der

¹⁵⁾ Bei der Chromatographie an Al_2O_3 zeigte es sich, dass dieser Fleck von zwei verschiedenen Substanzen hervorgerufen wird.

¹⁶⁾ Gereinigt durch Verteilung zwischen 80-proz. Methanol und Petroläther¹⁷⁾.

¹⁷⁾ O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 673 (1952).

¹⁸⁾ In der Ausführungsform von E. VON ARX & R. NEHER, Helv. 39, 1664 (1956).

¹⁹⁾ A. STOLL & J. RENZ, Enzymologia 7, 362 (1939).

²⁰⁾ J. SCHMUTZ, Pharm. Acta Helv. 22, 373 (1947).

letztere Extrakt wurde noch einmal gleich mit Strophanthobiase behandelt und analog aufgearbeitet. Die dabei erhaltenen Extrakte wurden als C-Extrakte bezeichnet. Über die erhaltenen Ausbeuten orientiert Tab. 3.

Tabelle 3. Ausbeuten bei der Fermentierung von 8 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt mit Strophanthobiase²¹⁾

Ansatz	Chloroform-löslicher Teil	KEDDE-Reaktion	Chloroform-Alkohol-(2:1)-löslicher Teil	KEDDE-Reaktion
8,0 Chf-Alk-(2:1)-Extr. A	1,75 g (21,9%) Chf-Extr. B	+	3,8 g (47,5%) Chf-Alk-(2:1)-Extr. B	±
3,8 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. B	1,29 g (34,0%) Chf-Extr. C	±	1,88 g (49,5%) Chf-Alk-(2:1)-Extr. C	-

Von den erhaltenen Extrakten wurde nur der Chloroform-Extrakt-B weiter untersucht, weil er der einzige war, der deutlich positive KEDDE-Reaktion gab. Durch wiederholte Chromatographie an Al_2O_3 konnte ein Teil der Subst. A_1 und A_2 in reiner, krist. Form abgetrennt werden.

Aus den verbliebenen Gemischen liessen sich die Subst. A_1 , B_2 und C durch präparative Papierchromatographie trennen und nach Reinigung an Al_2O_3 kristallisieren. Die Kristalle aus der B-Zone erwiesen sich dabei als identisch mit Subst. B_2 aus dem Äther-Extrakt A. Subst. B_1 war nicht nachweisbar, obwohl speziell danach gesucht wurde.

Zur Identifizierung der isolierten Substanzen wurden Smp., spez. Drehung, die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 und die Laufstrecken im Papierchromatogramm

Tabelle 4. Daten der aus 1,7 kg Zweigrinde isolierten Stoffe

Bezeichnung	gefundener Smp. °C	gefundene spez. Drehung in Me	Weitere Identifizierung ²²⁾	Isolierte Menge ²³⁾		Schätzungsweise wirklich enthaltene Menge ²⁴⁾	
				in mg	in %	in mg	in %
A_1 Periplocyarin ⁷⁾	138–145	+ 24,9°	–	650	0,038	1200	0,071
A_2 Digitoxigenin ²⁵⁾	249–255	+ 14,6°	IR.-Spektrum	25	0,0015	320	0,019
B_1 nicht identif.	amorph	–	Mikrospaltung	7	0,00041	50	0,0029
B_2 Cymarin ²⁶⁾	138–144	+ 39,2°	Mikrospaltung	60	0,0035	180	0,011
C Periplogenin ⁷⁾²⁷⁾	235–237	+ 27,6°	–	39	0,0023	215	0,013

²¹⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

²²⁾ Vgl. Exper. Teil dieser Arbeit.

²³⁾ Da nur die Hälfte des Chf-Alk-(2:1)-Extr. A verarbeitet wurde, sind die Mengen auf den ganzen Extrakt umgerechnet.

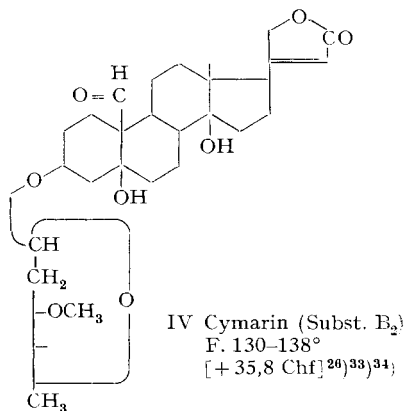
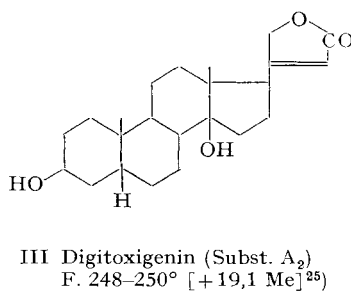
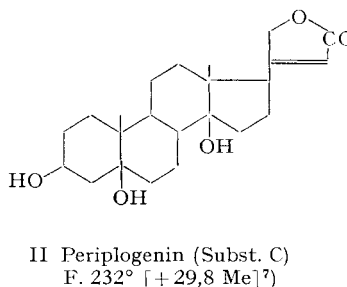
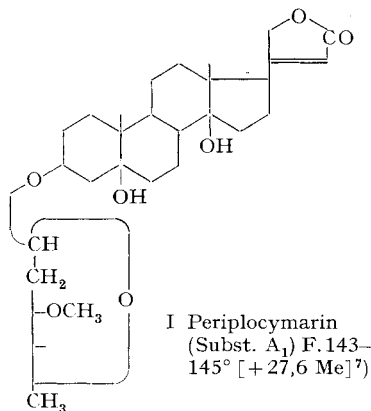
²⁴⁾ Schätzung auf Grund der präparativen Ausbeuten sowie der Stärke der Flecke im Papierchromatogramm. Berücksichtigt wurden nur die deutlich KEDDE-positiven Extrakte, nämlich der Ae-Extr. A und der Chf-Extr. B.

²⁵⁾ A. WINDAUS & G. STEIN, Ber. deutsch. chem. Ges. 67, 2436 (1928).

²⁶⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, J. biol. Chemistry 67, 609 (1926); J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 883 (1948).

²⁷⁾ P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 622 (1948).

mit authentischem Material im Parallelversuch verglichen. Ferner wurden stets die Mischschmelzpunkte bestimmt. Tab. 4 gibt eine Übersicht über die wichtigsten Daten. Sie enthält ferner die Mengen der aus 1,7 kg Rinde isolierten Substanzen sowie eine rohe Schätzung der darin wirklich enthaltenen Mengen.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehungen für Na-Licht an; Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

Von der Subst. B₁ standen uns nur 7 mg eines amorphen, papierchromatographisch einheitlichen Konzentrates zur Verfügung. Es zeigte positive KELLER-KILIANI-Reaktion²⁸⁾ und positive Xanthhydrol-Probe²⁹⁾. Dementsprechend liess sich eine Probe mit 0,05N H₂SO₄ hydrolysieren³⁰⁾. Die chloroformlöslichen Teile des Hydrolysates zeigten im Papierchromatogramm eine Laufstrecke wie Anhydrodigitoxigenin³¹⁾ (vgl. Nr. 6 in Fig. 3). Beim Zucker muss es sich auf Grund der positiven

²⁸⁾ Ausführung nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 883 (1948).

²⁹⁾ V. ARREQUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. nac. Cordoba* 32, 439 (1945).

³⁰⁾ Ausführung nach S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 32, 939 (1949).

³¹⁾ Es handelt sich dabei um ein krist. Rohprodukt aus der MANNICH-Hydrolyse von Odorosid-H-Monoacetat³²⁾, das neben β -Anhydrodigitoxigenin auch noch geringere Mengen des α -Isomeren enthält.

³²⁾ A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 687 (1952).

³³⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, *J. biol. Chemistry* 67, 609 (1926).

³⁴⁾ A. WINDAUS & L. HERMANN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 48, 979 (1915).

KELLER-KILIANI-Reaktion des Glykosides und wegen der leichten Hydrolysierbarkeit um einen 2-Desoxyzucker handeln. Im Papierchromatogramm (System n-Butanol/Wasser; Dauer 17 Std., vgl. Fig. 5) zeigte er einen annähernd gleichen Rf-Wert wie 2-Desoxy-L-fucose³⁵). Alle Raumisomeren dieses Zuckers laufen rascher³⁶). Für eine

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie²¹⁾
(Punktiert bedeutet schwacher Fleck)

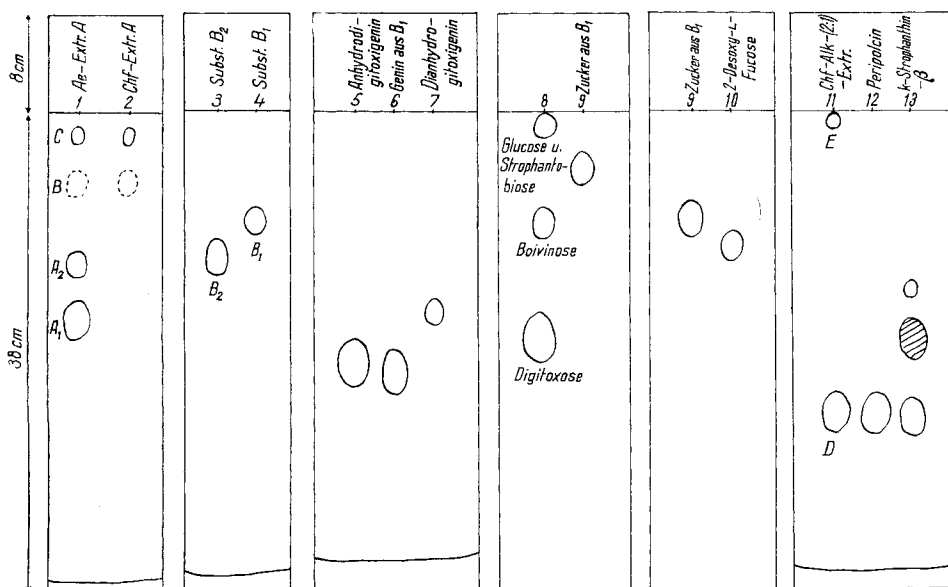


Fig. 1. Be-Chf-(9:1)/Fmd, 3 Std.

Fig. 2. Be-Chf-(7:5)/Fmd, 3 Std.

Fig. 3. Be-Cyclohexan-(1:1)/Fmd, 4 Std.

Fig. 4. To-Methyläthylketon-(1:2)/W 20 Std.

Fig. 5. Bu/W, 17 Std.

Fig. 6. To-Bu-(1:1)/W, 7 Std. (Whatman Nr. 7)

1. ca. 0,10 mg gereinigter Ae-Extr. A (Chf-Extr. B gleiches Bild)
2. ca. 0,10 mg Chf-Extr. A
3. ca. 0,03 mg krist. Subst. B₂ (Cymarín) aus Chf-Extr. B
4. ca. 0,03 mg amorphe Subst. B₁ aus Ae-Extr. A
5. ca. 0,03 mg Gemisch von α - und β -Anhydrodigitoxigenin³¹⁾
6. ca. 0,05 mg Chloform-löslicher Teil aus der Hydrolyse von Subst. B₁
7. ca. 0,03 mg Dianhydrodigitoxigenin
8. je ca. 0,05 mg authentische Proben von D-Boivinose, D-Digitoxose, D-Glucose und Strophanthobiose
9. ca. 0,2 mg wasserlöslicher Teil aus der Hydrolyse von Subst. B₁
10. ca. 0,1 mg synthetische 2-Desoxy-L-fucose³⁵⁾
11. ca. 0,15 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. A
12. ca. 0,05 mg Periplocin aus *Periploca graeca*³⁷⁾
13. ca. 0,05 mg k-Strophanthin- β ³⁸⁾

³⁵⁾ B. ISELIN & T. REICHSTEIN, *Helv.* 27, 1200 (1944).

³⁶⁾ O. RENKONEN & O. SCHINDLER, *Helv.* 39, 1490 (1956).

³⁷⁾ Vgl. Diss. M. T. KRAUSS, Basel 1959.

³⁸⁾ W. A. JACOBS & A. HOFFMANN, *J. biol. Chemistry* 69, 153 (1926).

sichere Zuordnung wäre jedoch die zusätzliche Prüfung in einem anderen System notwendig gewesen, wozu nicht mehr genügend Material vorhanden war. Substanz B₁ lässt sich, wenn diese in einheitlicher Form vorliegt, im Papierchromatogramm von Cymarin (Subst. B₂) unterscheiden (vgl. Fig. 2), die Unterschiede im Rf-Wert sind jedoch so gering, dass die beiden Substanzen im Gemisch bisher nicht unterschieden werden konnten.

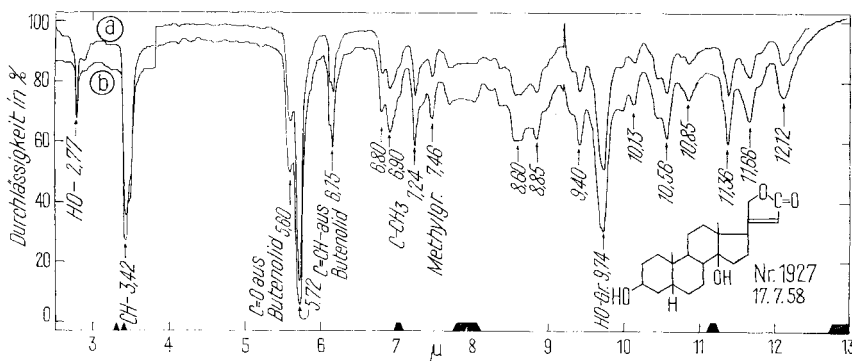


Fig. 7. IR.-Abs.-Spektrum in CH_2Cl_2 von Digitoxigenin³⁹⁾
 Kurve a: Präparat aus *Pentopetia androsaemifolia*, $c = 0,0645 \text{ M}$
 Kurve b: authentische Probe, $c = 0,058 \text{ M}$

Wir danken Herrn Prof. T. REICHSTEIN, unter dessen Leitung die Arbeit ausgeführt wurde, für die Problemstellung und die gewährten Unterstützungen. Der eine von uns (E. W.) dankt dem SCHWEIZ. NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Einleitung. Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Bestimmung der opt. Drehung und zur Aufnahme der IR.-Spektren wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und $60\text{--}70^\circ$ getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 0,01 Torr und 110° über P_2O_5 mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform-Äther-(1:3), Waschen mit 2N HCl, 2N Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Die Ausführung der Adsorptionschromatographie erfolgte nach der Durchlaufmethode⁴⁰⁾ an Al_2O_3 , das ohne Anwendung von Säure von Alkali befreit⁴¹⁾ und bei 180° reaktiviert wurde, oder an Silicagel (Korngrösse 0,15–0,30 mm). Die Papierchromatographie mit Formamid⁴²⁾ oder Wasser als stationären Phasen⁴⁵⁾, die Farbreaktionen mit KEDDE-

³⁹⁾ Aufgenommen von Herrn G. ROTZLER auf einem PERKIN-ELMER double beam IR.-Spectrographen mit NaCl-Prismen.

⁴⁰⁾ T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Discuss. Faraday Soc. No. 7, 305 (1949).

⁴¹⁾ J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1292, Fussnote 2 (1944), aber reaktiviert bei 180° .

⁴²⁾ O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951).

⁴³⁾ Die Imprägnierung des Papiers erfolgte mit An-Fmd⁴⁴⁾-(4:1).

⁴⁴⁾ H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953).

⁴⁵⁾ E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954).

Reagens¹⁴⁾, die Ausführung der KELLER-KILIANI-Reaktion⁴⁶⁾, der Xanthhydroprobe²⁹⁾⁴⁷⁾, sowie der Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ erfolgten nach früheren Angaben.

Für Lösungsmittel wurden die folgenden Abkürzungen benutzt: Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. Ferner bedeuten Pchr = Papierchromatographie und Papierchromatogramm, ML = eingedampfte Mutterlauge und «Gemisch» = Chf-Me-Essigester-(1:1:1).

Extraktion der Zweigrinde¹²⁾⁴⁸⁾. – 1,8 kg trockene Rindenstücke wurden in einer elektrischen Schlagmühle fein gemahlen, mit 2,8 l W gleichmässig durchfeuchtet, 1 Std. quellen gelassen und dann mit 2,8 l 95-proz. Alk versetzt. Dann wurde 2 Std. auf 60° erwärmt und anschliessend scharf abgenutscht. Der Filtrerrückstand wurde analog noch 10mal mit je 3 l wässrigem Alk steigender Alk-Konzentration (zuletzt 95-proz. Alk) bei 60° extrahiert. Danach war das

Tabelle 5. *Chromatographie von 1,15 g (1. Portion) Äther-Extrakt A an 30 g Al₂O₃*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel, je 100 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		mg	Flecke im Pchr ⁴⁹⁾⁵⁰⁾	Habitus und Bemerkungen
1–3	Be-Chf-(80:20)	139	A ₂ (A ₁)	braunes Öl
4	Be-Chf-(60:40)	50	A ₂ (A ₁)	braunes Öl
5–6	Be-Chf-(60:40)	37	A ₁ (B)	12 mg Krist., Smp. 133–138°
7–8	Be-Chf-(40:60)	99	A ₁ (B)	20 mg Krist., Smp. 129–132°
9–10	Be-Chf-(40:60)	30	A ₁ (B)	amorph
11–12	Be-Chf-(20:80)	35	A ₁ , B, C	amorph
13–17	Be-Chf-(20:80)	60	(A ₁) C	amorph
18–21	Chf	34	pos.	amorph
22–23	Chf-Me-(99:1)	56	B, C	amorph
24–31	Chf-Me-(99:1) bis Chf-Me-(85:15)	216	neg., gelbes Öl	amorph
32–35	«Gemisch» + 3% AcOH	302	neg., gelbes Öl	amorph

Rindenpulver nicht mehr bitter und gab mit KEDDE-Reagens keine Färbung mehr; es wurde verworfen. Die vereinigten Extrakte wurden im Vakuum auf 2,5 l konzentriert (im Umlauf-erhitzer), mit 2,5 l Alk versetzt und wie früher¹³⁾ beschrieben mit frisch aus 1,5 kg Pb(CH₃COO)₂ · 3H₂O bereitetem Pb(OH)₂ gereinigt. Das Filtrat wurde bei pH = 6 im Vakuum auf 300 ml eingengt und wie üblich¹³⁾ mit Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt. Die verbliebene wässrige Phase gab nach 9maligem Ausschütteln mit Chf-Alk-(2:1) noch immer positive KEDDE-Reaktion. Sie wurde daher, zusammen mit dem ersten Washwasser, auf 200 ml konzentriert, mit Na₂SO₄ halb gesättigt und noch fünfmal mit je 300 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt¹³⁾. Danach war die wässrige Lösung nicht mehr bitter und wurde verworfen. Ausbeuten an Rohextrakten vgl. Tab. 1.

Untersuchung des Äther-Extraktes A. – *Reinigung.* 3,37 g roher Ae-Extr. A (KEDDE-R. nur schwach positiv) wurde in 30 ml Me-W-(4:1) gelöst und 4mal mit je 100 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Lösungen wurden 4mal mit je 40 ml Me-W-(4:1) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Rückstand 0,7 g fettes Öl (KEDDE-R. neg., verworfen). Die vereinigten wässrig-methanolischen Phasen wurden im Vakuum vom Me befreit und mit Chf er-

⁴⁶⁾ Ausführungsform nach J. v. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 31, 883 (1948).

⁴⁷⁾ M. PESEZ, *Ann. pharmac. franç.* 10, 164 (1952).

⁴⁸⁾ Vgl. dazu die detaillierte Vorschrift bei J. v. EUW u. Mitarb.¹³⁾.

⁴⁹⁾ In Klammern bedeutet schwacher Fleck. «pos.» («neg.») bedeutet, dass die betr. Fraktion mit KEDDE-R. (keine) Violettfärbung gab.

⁵⁰⁾ Der B-Fleck tritt im Al₂O₃-Chromatogramm an 2 getrennten Stellen auf. Es zeigte sich im Laufe der Trennung, dass er 2 Substanzen entspricht. Der leichter eluierbare Anteil wird als B₁, der schwerer eluierbare als B₂ bezeichnet.

schöpfend ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Lösungen gaben beim Eindampfen 2,31 g gereinigten Ae-Extr. A als gelbes Glas, KEDDE-R. positiv.

Chromatographie an Al_2O_3 . Der gereinigte Ae-Extr. A (enthielt nach Pchr A_1 , A_2 , B, C, vgl. Fig. 1) wurde in 2 Portionen an Al_2O_3 chromatographiert. Als 1. Portion wurde 1,15 g verwendet, vgl. Tab. 5.

Die Fr. 1–4 dienten, zusammen mit entsprechendem Material der folgenden Chromatographie, zur Isolierung der Subst. A_2 (vgl. unten).

Aus den Fr. 5–8 kristallisierten zusammen 32 mg Periplocyamarin (A_1) in farblosen Nadeln, Smp. nach Umkristallisieren aus An-Ae 138–145°⁵¹).

Die amorphen Fr. 9–12 und Fr. 13 von Tab. 6 wurden durch präp. Pchr getrennt.

Die Fr. 13–21 sowie die KEDDE-negativen Fr. 24–35 wurden nicht weiter untersucht.

Die Fr. 22–23 wurden zusammen mit den Fr. 19–20, Tab. 6, nochmals an SiO_2 chromatographiert. Da keine Trennung erfolgte, diente das gesamte KEDDE-positive Material für eine präp. Pchr (vgl. unten).

Der 2. Teil des Ae-Extr. A wurde analog chromatographiert.

Tabelle 6. Chromatographie von 1,10 g (2. Portion) Äther-Extrakt A an 30 g Al_2O_3

Fr.-Nr.	Lösungsmittel, je 100 ml pro Fr.	Eindampfrückstand		
		mg	Flecke im Pchr ⁴⁹⁾ 50)	Habitus und Bemerkungen
1–5	Be-Chf-(80:20)	173	A_2 (A_1)	amorph
6–9	Be-Chf-(60:40)	181	A_1 (A_2)	amorph
10–12	Be-Chf-(40:60)	80	A_1 (A_2) (B_1)	amorph
13	Be-Chf-(40:60)	15	B_1 (C) (A_1) (A_2)	amorph
14	Be-Chf-(20:80)	23	C (A_1) (A_2)	
15–16	Be-Chf-(20:80)	44	C (A_1) (A_2)	9 mg Krist., Smp. 226–230°
17–18	Chf	34	C (A_1) (A_2)	amorph
19	Chf	19	pos.	amorph
20	Chf-Me-(99:1)	45	B_2 , C (A_1) (A_2)	amorph
21–26	Chf-Me-(99:1) bis Chf-Me-(85:15)	200	neg.	amorph
27–30	«Gemisch» + 1% AcOH	226	neg.	amorph

Die Fr. 1–5 wurden zusammen mit den Fr. 1–4 von Tab. 5 (310 mg nach Trocknung) an 9 g Al_2O_3 chromatographiert. Das mit Be-Chf-(90:10) und -(80:20) eluierte Material (81,7 mg) gab aus An-Ae ca. 3 mg fast farblose Nadeln, nach Umkrist. aus An-Ae Smp. 170–195° (ca. 1,5 mg). Im Pchr waren neben dem violetten Fleck der Subst. A_2 (Laufstrecke im Pchr wie Digitoxigenin) noch zwei weitere, mit KEDDE-Reagens sich gelb färbende Flecke sichtbar.

Die Fr. 6–12 und 14 wurden nicht weiter untersucht.

Die Fr. 13 wurde mit entsprechenden Gemischen von Tab. 5 (Fr. 9–12) vereinigt (80 mg) und durch präp. Pchr zerlegt. Dazu wurde das Material auf 20 Papiere (WHATMAN Nr. 1, 19 × 46 cm, mit Fmd⁴⁸) imprägniert) aufgetragen und im System Be-Chf-(7:5)/Fmd 2 Std. entwickelt. Die Lokalisierung der Substanz-Zonen mit KEDDE-Reagens und die Extraktion der Streifen nach üblicher Methode⁵²) gaben aus der B-Zone 35,5 mg Rohextrakt. Chromatographie an 1,0 g Al_2O_3 gab nur 7,0 mg KEDDE-positives Eluat, das bis jetzt amorph blieb (= Subst. B_1 ⁵⁰). Die anderen Substanzen wurden nicht ausgeschnitten, ihre Isolierung erfolgte in einem weiteren präp. Pchr.

Die Fr. 15–16 gaben aus An-Ae 9 mg Periplogenin (Subst. C) in farblosen Nadeln, Smp. 226–230°. Nach Pchr einheitlich.

Die Fr. 17–18 und 21–30 wurden nicht weiter untersucht.

⁵¹) Der Smp. von Periplocyamarin hängt stark von den Kristallisationsbedingungen ab.

⁵²) O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 160 (1959).

Die *Fr. 19–20* wurden zusammen mit den *Fr. 22–23* von Tab. 5 (120 mg) an 5 g SiO₂ chromatographiert. Da keine Trennung erfolgte, wurden alle KEDDE-positiven Fraktionen (93 mg) vereinigt und auf 20 Papieren im System Be-Chf-(7:5)/Fmd wie oben beschrieben getrennt. Ausgeschnitten wurden die den Subst. A₁, A₂ und B₂⁶⁰) entsprechenden Zonen.

Die A₁-Zone gab 21,2 mg rohes Eluat. Durch Chromatographie an 1 g Al₂O₃ liessen sich mit Be-Chf-(50:50) und -(40:60) 10,3 mg KEDDE-positive Substanz eluieren, die aber nicht kristallisierte, obwohl sie im Pchr (System von Fig. 1) nur den A₁-Fleck (Laufstrecke wie Perilpocymarin) zeigte.

Das Eluat der A₂-Zone (25,5 mg roh) wurde an 1,0 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Be-Chf-(50:50) eluierten Fraktionen (9,1 mg) waren KEDDE-positiv und gaben im Pchr nur den A₂-Fleck (mit Laufstrecke wie Digitoxigenin), kristallisierten aber nicht. 4,0 mg davon wurden in 0,1 ml Py und 0,1 ml (Ac)₂O gelöst und 2 Tage bei 23° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 3,4 mg amorphes Rohprodukt, dessen Laufstrecke im Pchr (System von Fig. 3) gleich war wie diejenige von O-Acetyldigitoxigenin.

Tabelle 7. Chromatographie von 360 mg Gemisch der Subst. A₁ und A₂ aus dem Chloroform-Extrakt B an 120 g Al₂O₃

Fr.-Nr.	Lösungsmittel, je 360 ml	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		
		mg	Flecke im Pchr ⁴⁹)	mg	Smp.	Flecke im Pchr
1–6	Be-Chf-(90:10) bis Be-Chf-(60:40)	54,1	neg.	–	–	–
7–8	Be-Chf-(50:50)	10,9	pos.	–	–	–
9–10	Be-Chf-(50:50)	25,3	pos.	10,7	246–252°	A ₂
11–14	Be-Chf-(50:50)	15,2	A ₂	–	–	–
15–22	Be-Chf-(40:60) bis Be-Chf-(20:80)	280,9	A ₁	207	207–210°	A ₁
23–24	Chf	3	pos.	–	–	–

26,2 mg rohes B₂-Eluat wurden an 1,0 g Al₂O₃ chromatographiert. Dabei wurde 8,0 mg KEDDE-positives Material erhalten, das jedoch keine Kristalle gab (Subst. B₂), im Pchr aber nur den B₂-Fleck (Laufstrecke wie Cymarin) zeigte.

Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts A. – *Fermentierung.* 8,0 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. A (enthielt nach Pchr die beiden KEDDE-positiven Stoffe D und E) wurden in 90 ml W gelöst und mit 8,9 g Strophanthobiase, die in 70 ml W suspendiert war, 10 Tage bei 34° fermentiert. Dann wurde das Enzym durch Zusatz von 800 ml Alk bei 60° ausgefällt und durch Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum vom Alk befreit (ca. 100 ml wässriges Konzentrat) und 7mal mit je 200 ml Chf und 6mal mit je 180 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Extrakte gaben nach Waschen mit je 20 ml W, 2N Na₂CO₃ und 2mal W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum, 1,75 g Chf-Extr. B und 3,8 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. B. Letzterer wurde nochmals in 51 ml W gelöst und mit 1,0 g Strophanthobiase während 10 Tagen analog fermentiert und aufgearbeitet. Er gab dabei 1,29 g Chf-Extr. C und 1,88 g Chf-Alk-(2:1)-Extr. C.

Trennung des Chloroform-Extrakts B. 1,75 g Chf-Extr. B (enthielt nach Pchr, vgl. Nr. 1 in Fig. 1, die Subst. A₁, (A₂), B, C) wurde an 53 g Al₂O₃ chromatographiert. Die *Fr. 1–4*, eluiert mit 720 ml Be-Chf-(80:20), bestanden aus 360 mg teilweise öligem Material, das nach Pchr vorwiegend Subst. A₁ neben wenig A₂ enthielt. Es wurde zur Isolierung dieser beiden Stoffe nochmals an Al₂O₃ chromatographiert (vgl. Tab. 7). Die *Fr. 5–19* (504 mg), eluiert mit Be-Chf, Chf und Chf-Me-Gemischen (max. 2% Me), zeigten im Pchr die 3 Flecke A₁, B und C. Die weitere Trennung erfolgte durch präp. Pchr (vgl. unten). Die *Fr. 20–26*, die mit Chf-Me-(90:10), -(50:50)

und «Gemisch» eluiert wurden, zeigten im Pchr, System von Fig. 2, nur stationäres Material und wurden nicht weiter untersucht.

Die *Fr. 9–10* gaben aus An-Ae 10,7 mg Digitoxigenin (Subst. A_2) in farblosen Blättchen, Smp. nach Umkrist. aus An-Ae 249–250°.

Die *Fr. 15–22* gaben aus An-Ae 207 mg reines Periplocyamarin (Subst. A_1) in farblosen Nadeln, Smp. 207–210°⁵¹). Alle anderen Fraktionen wurden nicht weiter untersucht.

Präparative Papierchromatographie. Die oben aus dem Chf-Extr. B erhaltenen Gemische der Subst. A_1 , B und C (487 mg) wurden auf 81 imprägnierte Papiere verteilt und im System Be-Chf-(7:5)/Fmd chromatographiert (Laufzeit 3 Std.). Die wie üblich⁵²) lokalisierten Substanzzonen gaben die folgenden Extrakte:

Zone A_1 : 170 mg Rohextrakt, aus An-Ae 99,5 mg reines Periplocyamarin in farblosen Nadeln, Smp. 203–208°⁵¹).

Zone B: 115 mg Rohextrakt. Er wurde an 4,0 g SiO_2 chromatographiert. Die mit Chf-Me-(98:2) eluierten Anteile (41,5 mg) gaben aus Me-Ae 30 mg reines Cymarin (Subst. B_2) in farblosen Nadeln, Smp. 138–144°. Um die Anwesenheit von B_1 auszuschliessen, wurden 2,9 mg der zuerst (mit Chf) eluierten (amorphen) KEDDE-positiven Fraktionen (nach Pchr nur B-Fleck) mit 0,05N wässrig-methanolischer H_2SO_4 hydrolysiert. Im Hydrolysat waren im Pchr jedoch nur Strophanthidin und Cymarose nachweisbar.

Zone C: 75 mg rohes Eluat wurden an 2,25 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Be-Chf-(20:80) und reinem Chf eluierten Fraktionen (49 mg) gaben aus An-Ae 15 mg reines Periplogenin in farblosen Prismen, Smp. 234–237°.

Identifizierung der isolierten Substanzen. – *Subst. A_1 = Periplocyamarin.* Aus An-Ae, dann aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 138–145°⁵¹), $[\alpha]_D^{26} = +24,9^\circ \pm 1,5^\circ$ ($c = 1,4$ in Me). KELLER-KILIANI-Reaktion und Xanthhydrol-Test positiv. Die Mischprobe mit authentischem Periplocyamarin schmolz ohne Depression. Die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 waren genau gleich, ebenso die Laufstrecken im Pchr (System Be-Chf-(7:5)/Fmd).

Subst. A_2 = Digitoxigenin. Aus An-Ae farblose Blättchen, Smp. 249–255°, $[\alpha]_D^{26} = +14,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me). Die Mischprobe mit authentischem Digitoxigenin (Smp. 249–255°) schmolz ohne Depression. Die Farbfolgen mit 84-proz. H_2SO_4 , die Laufstrecken im Pchr (System von Fig. 2) sowie die IR.-Absorptionsspektren in CH_2Cl_2 (vgl. Fig. 7) waren bei beiden Präparaten genau gleich.

Subst. B_1 (amorph) erhalten durch präp. Pchr aus dem Ae-Extr. A. Das farblose Glas gab positive KELLER-KILIANI- und Xanthhydrol-Reaktion. – *Milde saure Hydrolyse.* 1,8 mg Subst. wurden in 1 ml Me gelöst, mit 1 ml 0,1N H_2SO_4 versetzt und 30 Min. unter Rückfluss erhitzt. Dann wurde mit 1 ml W versetzt und das Me im Vakuum abdestilliert. Die saure wässrige Lösung wurde 30 Min. auf 60° erwärmt, abgekühlt und 4mal mit je 0,6 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Extrakte wurden einmal mit 0,2 ml W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (1,2 mg) wurde im Pchr (vgl. Fig. 3) mit Anhydrodigitoxigenin⁵¹) und Dianhydrogitoxigenin verglichen. Die saure wässrige Lösung und das Waschwasser wurden zusammen im Vakuum von Chf-Resten befreit, mit frisch bereitetem, neutralem $BaCO_3$ neutralisiert und filtriert. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft (ca. 1,0 mg) und im Pchr mit 2-Desoxy-L-fucose, Boiviose, Digitoxose, Glucose und Strophanthantobios everglichen (vgl. Fig. 4 und 5).

Subst. B_2 = Cymarin. Aus An-Ae, dann aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 138–144°, $[\alpha]_D^{24} = +39,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in Me), $[\alpha]_D^{25} = +38,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf). Die Mischprobe mit authentischem Cymarin, Smp. 140–142°, schmolz ohne Depression. Die Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 und die Laufstrecken im Pchr (System von Fig. 1) waren bei beiden Präparaten gleich. – *Milde saure Hydrolyse.* 2,5 mg krist. Subst. B_2 aus dem fermentierten Chf-Alk-(2:1)-Extr. A wurden wie oben hydrolysiert und gaben 1,5 mg Genin mit Laufstrecke im Pchr wie Strophanthidin (System von Fig. 2) und 0,5 mg Zucker mit Laufstrecke im Pchr wie Cymarose (System: To-Methyläthylketon-(1:1)/W).

Analoge Hydrolysen wurden durchgeführt mit 1,9 mg amorphem Eluat der B_2 -Zone aus der präp. Pchr des Ae-Extr. A (Tab. 2), und 2,9 mg amorphem Produkt aus der B-Zone der präp. Pchr des Chf-Extr. B. In beiden Fällen wurden als einzige Bruchstücke Strophanthidin und Cymarose im Pchr nachgewiesen.

Subst. C = Periplogenin. Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 235–237°, $[\alpha]_D^{25} = +27,6^\circ \pm 2,5^\circ$ ($c = 0,9$ in Me). Mischprobe mit authentischem Periplogenin (Smp. 232–236°) ohne Depression. Die Laufstrecken im Pchr (System Be-Chf-(7:5)/Fmd) und die Farbreaktionen mit 84-proz. H₂SO₄ waren identisch.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus der Zweigrinde von *Pentopetia androsaemifolia* DECNE. (*Asclepiadaceae*) wurden, z. T. nach fermentativem Abbau der enthaltenen Polyglucoside, durch Anwendung chromatographischer Methoden die beiden Cardenolid-Glykoside Periplocymarin und Cymarin, sowie die zwei Genine Digitoxigenin und Periplogenin in krist. Form isoliert. Ein weiteres, in geringer Menge als amorphes Konzentrat isoliertes Glykosid enthält vermutlich 2-Desoxy-L-fucose an Digitoxigenin gebunden.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

91. Macro- et microdosage de traces de cobalt

V¹). Analyse d'un acier 18/8 par activation aux neutrons thermiques

par D. Monnier, W. Haerdi et J. Vogel

(17 II 60)

L'analyse par activation aux neutrons a pris un rapide développement depuis quelques années, particulièrement dans les centres possédant une pile atomique ou dans les laboratoires en relation avec eux. Elle présente l'avantage, pour plusieurs éléments, d'une grande sensibilité, d'une bonne précision lorsqu'il s'agit de traces, et souvent d'une grande rapidité lorsqu'il est possible de réduire le nombre de séparations nécessaires. La détermination s'effectue parfois sans recours à d'autres opérations que la mise en solution, et dans certains cas celle-ci n'est même plus nécessaire.

Lorsque c'est possible, on effectue de préférence la mesure des radiations γ , plus pénétrantes et monochromatiques, au moyen du spectromètre γ . On obtient des spectres sur lesquels on peut mesurer une radiation d'énergie déterminée, ce qui a pour effet d'augmenter considérablement la spécificité de la méthode. Parmi les très nombreux travaux publiés à ce sujet, nous n'en signalerons qu'un petit nombre à titre documentaire²).

Le cobalt, étant donné la longue période de son isotope 60, n'est pas un élément qui se prête particulièrement bien à une telle détermination. Pourtant, il nous a

¹) Helv. 42, 1672, 1846, 2334 (1959); 43, 217 (1960).

²) R. E. CONNALLY & M. B. LEBOEUF, Anal. Chemistry 25, 1095 (1953). – M. BERGER & J. DOGGETT, J. Research. Bur. Standards 56, 355 (1956). – R. L. HAETH & F. SCHROEDER, Quantitative Techniques of Scintillation Spectrometry as Applied to Calibration of Standard Source, Idaho Operations Office IDO-16149, 1st Revision (1957). – R. L. HEATH, Scintillation spectrometry gamma rays spectrum catalogue, Idaho Operations Office IDO 16408 (1957). – L. D. McISAAC, Naval radiological Defense laboratory, Tech. rept. USNRDL-72 (1956). – D. F. COVELL, Analyt. Chemistry 31, 1785 (1959). – J. H. YOE & H. J. KOCH, Trace Analysis, p. 413 (1957). – O. B. COOK & S. K. HAYNES, Physic. Review 86, 190 (1952). – W. H. JORDAN, Annual Review of Nuclear science, Vol. I, Stanford, Calif., Annual Inc. (1952).