

257. Die Glykoside der Wurzeln von *Asclepias swynnertonii* S. MOORE¹⁾Glykoside und Aglykone, 303. Mitteilung²⁾von **Kurt Jäggi, H. Kaufmann, W. Stöcklin** und **T. Reichstein**

(16. X. 67)

1. Einleitung. – *Asclepias swynnertonii* S. MOORE ist eine seltene Asclepiadacee, die unseres Wissens bisher nur vom Autor (S. MOORE) im Gazaland (Bergland in der Nähe von Melsetter, Süd-Rhodesien) gefunden wurde³⁾. Im Jahre 1959 konnte Dr. POLE-EVANS ein Exemplar in der Nähe des *locus classicus* auffinden und sandte uns eine Probe. Die Wurzel erwies sich als ausserordentlich glykosidreich [3], so dass eine weitere Suche angezeigt schien. Im Dezember 1960 und Januar 1961 besuchte Herr Dr. POLE-EVANS die Gegend nochmals und konnte schliesslich eine gewisse Anzahl Pflanzen finden, von denen er das unten erwähnte Material und das Herbarmuster (Fig. 1) sandte. Weitere Muster wurden im Herbarium der Royal Botanical Gardens Kew deponiert. *Asclepias swynnertonii* ist nahe verwandt mit *A. glaucophylla* SCHLTR. und *A. lilacina* WEIMARCK. Nach Ansicht von Dr. POLE-EVANS ist sie aber eindeutig von beiden verschieden und kann auch im Feld leicht von ihnen unterschieden wer-

Fig. 1. *Asclepias swynnertonii* S. MOORE

Herbarmuster Nr. 5864. On lower slopes of Mount Peni, Melsetter distr., S. Rhodesia. Alt. 5500 ft. 15. Dez. 1960. Legit I. B. POLE-EVANS.

den⁴⁾. Ausser der genannten orientierenden Prüfung [3] ist uns nichts über chemische Arbeiten mit dieser Pflanze bekannt geworden. Wir beschreiben im Folgenden eine Analyse der Wurzeln.

¹⁾ Auszug aus Diss. KURT JÄGGI, Basel 1966.

²⁾ 302. Mitt. vgl. P. HAUSCHILD-ROGAT *et al.* [1].

³⁾ Nach BULLOCK [2] ist die Gattung *Asclepias* auf die neue Welt beschränkt. *Asclepias swynnertonii* wird von ihm daher bei einer zukünftigen Revision in eine andere Gattung gestellt werden.

⁴⁾ Wir danken Herrn Dr. POLE-EVANS, Umtali, Süd-Rhodesien, auch hier bestens für das genannte Material und die zusätzlichen Angaben.

2. Beschaffung des Pflanzenmaterials. – Zur Verfügung standen:

Probe a). 800 g getrocknete Wurzeln, gesammelt im Dez. 1959 am angegebenen Ort. In Scheiben geschnitten und getrocknet von Dr. POLE-EVANS. Erhalten 2. 3. 1961.

Probe b). 3,6 kg gleiche Wurzeln, gesammelt Jan. 1961 in gleicher Gegend und ebenso präpariert. Erhalten 29. 3. 1961.

Probe c). 1,6 kg getrocknete Blätter, gesammelt Jan. 1961 an demselben Ort. Erhalten 29. 3. 1961.

Alle drei Proben erreichten uns in ausgezeichnetem Zustand. Bisher wurde nur ein Teil von Probe b) untersucht.

3. Extraktion der Wurzeln und Vortrennung der Extrakte. – 545 g trockene Wurzeln wurden gemahlen, in Wasser unter CO₂ geweicht und nach früherer Vorschrift [4] [5] mit Alkohol-Wasser-Gemischen von steigendem Alkoholgehalt, aber

Tabelle 1. Ausbeute an Rohextrakten aus 545 g trockenen Wurzeln von *Asclepias swynertonii*, Gruppenreaktionen und Nachweis von Cardenoliden⁵⁾

Art des Extraktes	Menge in		KEDDE-Reaktion [6] ⁶⁾	Xanthhydrol-Reagens [7] ⁷⁾	K ₃ Fe(CN) ₆ -FeCl ₃ [8] ⁸⁾	Cardenolide (= KEDDE-positive Flecke) nach Papierchromatogramm		Chromatographisch nachweisbare Spaltstücke nach saurer Hydrolyse (Zucker) und anschließender alkalischer Hydrolyse (Genine und Säuren) ⁹⁾ 10), teilweise erst nach präparativer Vortrennung
	g	%				direkt	nach Abbau mit Glucosidasen	
Pe-	7,5	1,4	–	–	–	–	nicht geprüft	nicht untersucht
Ae-	55	10,1	+	+	+	K 1, K 2, K 3, K 5	nicht geprüft	Sar, Ben, Zim, Cym, Dtox, Ole, Z 1, Z 6, The, Glu
Chf-	15	2,8	+	+	+	K 2, K 3, K 4	nicht geprüft	Sar, (DHS), Lin, DMG, Ben, Zim, Cym, Dtox, Ole, Z 1, The, Dtal, Glu
Chf-Alk- (2:1)-	13,5	2,5	+	+	+	K 6	K 1, K 2, K 3, K 4	Sar, Lin, DMG, Ben, Zim, Z 4, Z 5, Deal, Z 2, Glu
Chf-Alk- (3:2)-	5,3	1,0	+	+	+	nicht geprüft	K 2, K 3, K 4	Sar, (Lin), DMG, Ben, Zim, Z 3, Z 4, Glu, Z 2

⁵⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

⁶⁾ Dieses Reagens gibt mit allen Butenoliden violette Flecke.

⁷⁾ Dieses Reagens (im Glas, nicht auf Papier) gibt mit allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden eine rote Färbung.

⁸⁾ Dieses Reagens gibt mit fast allen Phenolen tiefblaue Flecke auf Papier.

⁹⁾ Die Säuren wurden nach Methylierung mit Diazomethan gas-chromatographisch bestimmt (vgl. Exper. Teil).

¹⁰⁾ Chromatographie der 2-Desoxyzucker nach RENKONEN und SCHINDLER [9], der normalen Zucker nach KAUFMANN *et al.* [10]. Sichtbarmachung der Flecke bei 2-Desoxyzuckern und ihren Derivaten mit Vanillin-HClO₄ [11], bei normalen Zuckern mit Anilinium-hydrogenphthalat [12].

In Tabelle 1 bedeuten die Buchstaben und Abkürzungen Flecke mit Laufstrecken und Färbungen entspr. den folgenden Stoffen (in Klammern Färbungen mit $SbCl_3$ [13]): K 1 = Uzarigenin (1) [14]; K 2 = Ascleposid (2) [15]; K 3 = Coroglaucigenin (5) [16] [17]; K 4 = Frugosid (6) [17]; K 5 = Corotoxigenin (4) [16]; K 6 = Uzarin (3) [18]; Sar = Sarcostin (grauschwarz) (8) [19] [20]; DHS = 5 α -Dihydrosarcostin (hellbraun, UV.-Fluoreszenz weissgelb) (11) [19] [20]; Lin = Lineolon (blau, später rosa) (9) [21] [20]; DMG = Desacetylmataplexigenin (grüngelb, UV.-Fluoreszenz stark gelb) (10) [22]; Ben = Benzoesäure; Zim = Zimtsäure; Cym = Cymarose [23]; Dtox = Digitoxose [23]; Ole = Oleandrose [23]; The = Thevetose [23]; Dtal = Digitalose [23]; Deal = 6-Desoxyallose [23]; Glu = Glucose; Asc = Asclepobiose [24] [25] [26]; Z 1, Z 3, Z 4, Z 5 und Z 6 sind nicht identifizierte 2-Desoxyzucker, erhalten nach milder saurer Hydrolyse; Z 2 ist ein nicht identifizierter gewöhnlicher Zucker, erhalten nach energischer saurer Hydrolyse.

ohne anschliessende Reinigung mit $Pb(OH)_2$, extrahiert. Nach Abtrennung petroläther-löslicher Anteile wurde der Alkohol im Vakuum entfernt und die wässrige Phase fraktioniert mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen ausgeschüttelt. Nach Waschen mit Sodalösung und Wasser usw. wurden die in Tabelle 1

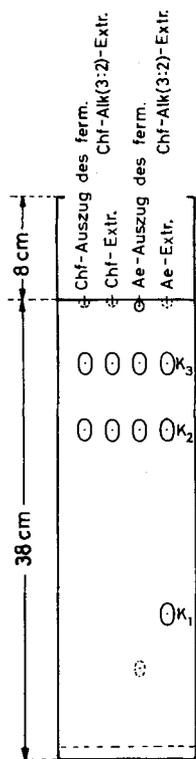


Fig. 2
Chf/Fmd⁵⁾ 11)
2,5 Std.



Fig. 3
Be-Chf-
(7:5)/Fmd⁵⁾
3 Std.

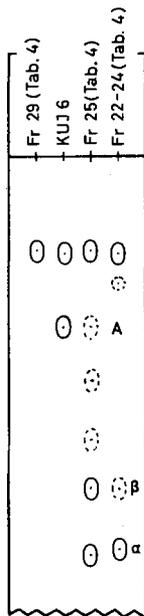


Fig. 4
Thf-Be-Cy-
(2:4:5)/Mmf
⁵⁾ 12)
12 Std.

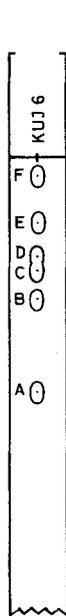


Fig. 5
Thf-Be-Cy-
(1:3:6)/Mmf
⁵⁾ 12)
24,5 Std.



Fig. 6
Thf-Be-Cy-
(1:2:7)/Mmf
⁵⁾ 12)
11 Std.

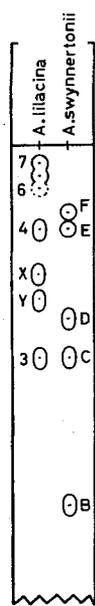


Fig. 7
Thf-Be-Cy-
(1:2:7)/Mmf
⁵⁾ 12)
40 Std.

¹¹⁾ Entwickelt mit KEDDE-Reagens [6].

¹²⁾ Entwickelt mit $SbCl_3$ (20% in Chf) und Erwärmen auf 110° [13].

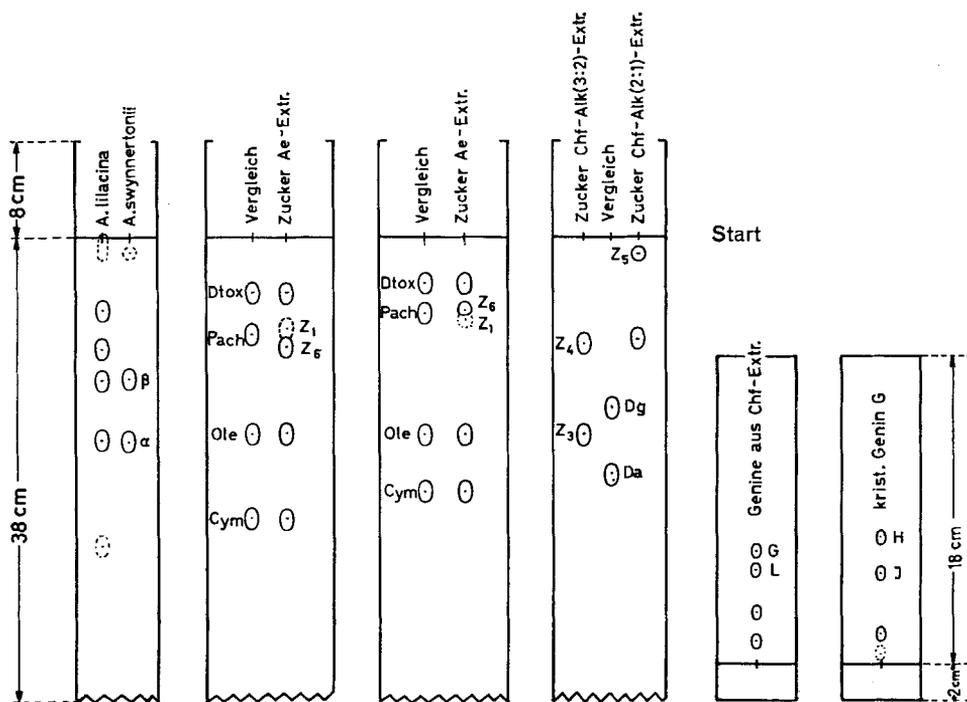


Fig. 8
Thf-Be-Cy-
(1:3:6)/Mmf
5) 12)
14 Std.

Fig. 9
To-Bu-(4:1)/
W^{5) 13)}
16 Std.

Fig. 10
To-Mek-(1:1)/
W^{5) 13)}
16 Std.

Fig. 11
Bu/W
5) 13)
14 Std.

Fig. 12
Eg^{5) 14)}
SiO₂
45 Min.

Fig. 13
Chf-iPr-(95:5)
5) 14)
SiO₂ + AgNO₃
45 Min.

Die Fig. 2–11 sind Beispiele für Papierchromatogramme, Fig. 12 und 13 solche für Dünnschichtchromatogramme, alle schematisiert aber massgetreu. Ausführung siehe Einleitung zum Exper. Teil.

Vergleichsstoffe: Zusätzlich zu den Abkürzungen unter Tabelle 1 wurden noch die folgenden verwendet: α , β , 1, 2, 3, 4, 6, 7, X und Y, entsprechen den Lilacinosiden α , β , 1, 2, 3, 4, 6, 7, X und Y [24] [25]; Pach = Pachybiose [26]; Dg = 2-Desoxy-D-glucose = 2-Desoxy-D-arabino-hexose [23]; Da = 2-Desoxy-D-allose = 2-Desoxy-D-ribohexose [27]. Dort wo keine Front (gestrichelt) eingesetzt ist, wurde das Fließmittel abtropfen gelassen.

genannten Ausbeuten erhalten. Darin sind auch die Ergebnisse von Gruppenreaktionen, papierchromatographischer Prüfung vor und nach fermentativem Abbau bzw. saurer und alkalischer Hydrolyse (siehe unten) eingesetzt.

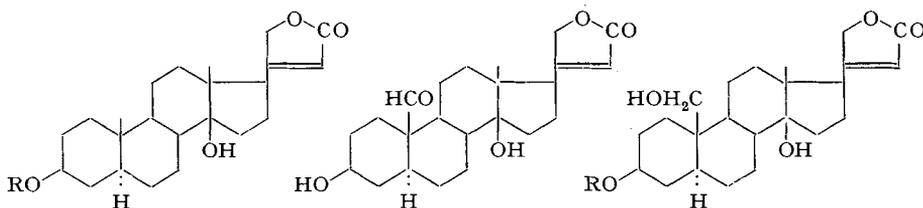
4. Orientierende Vorprüfungen. – Der Petroläther-Extrakt (vermutl. Kohlenwasserstoffe, Fette, Sterine, Triterpene usw. enthaltend) wurde nicht untersucht. Die orientierende Prüfung der vier anderen Extrakte zeigte, dass sie neben Cardenoliden vor allem KEDDE-negative⁶⁾ Glykoside mit stark positiver Xanthhydrol-Reaktion⁷⁾ enthielten, daneben waren phenolische Stoffe anwesend, die sich aber grösstenteils

¹³⁾ Entwickelt mit Vanillin-HClO₄ [11].

¹⁴⁾ Entwickelt mit *p*-Toluolsulfonsäure (20% in Alk) und Erwärmen auf 110°.

durch wiederholtes Waschen mit Na_2CO_3 -Lösung entfernen liessen. Von den letzteren wurde nur *p*-Hydroxyacetophenon (aus dem Ae-Extr.) in Kristallen isoliert.

Von Cardenoliden liessen sich im Äther- und Chloroform-Extrakt Uzarigenin (1), Ascleposid (2), Coroglaucigenin (5), Frugosid (6) und Corotoxigenin (4) papierchromatographisch nachweisen, 2 und 5 auch präparativ isolieren (vgl. weiter unten). Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt enthielt stärker polare Stoffe, unter denen



1 (R = H) Uzarigenin

F. 230–246°

[+ 14,0 Alk] [14]

2 (R = 6-Desoxy-D-allopyranosyl-Rest)

Ascleposid F. 248–251°

[– 27,2 Me] [15]

3 (R = β -D-Gentiobiosyl-Rest) Uzarin

F. 268–270°

[– 27 Py] [18] [28]

4 Corotoxigenin

F. 221° [+ 42,3 Me] [16]

5 (R = H) Coroglaucigenin

F. 249–250° [+ 23,0 Me]

[16] [17]

6 (R = 6-Desoxy-D-allopyranosyl-Rest) Frugosid

F. 160–170/237–242°

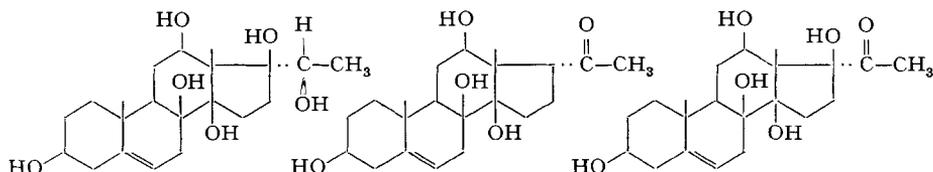
[– 17,4 80-proz. Me] [17]

7 (R = β -D-Glucopyranosyl-6-desoxy-D-allopyranosyl-Rest)

Glucofrugosid

F. 187–190/265–285°

[– 7,2 Me] [29]



8 Sarcostin

F. 170/266–267° [19]

[– 67,0 Me] [21] [20]

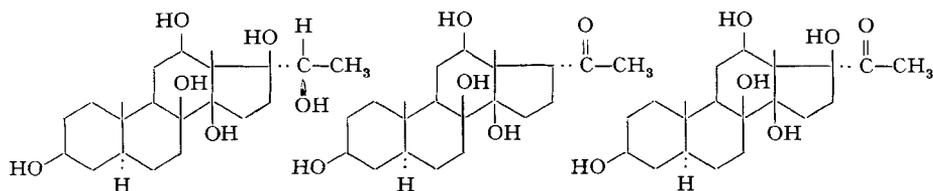
9 Lineolon F. 233–239°

[+ 13,0 Me] [21] [20]

10 Desacetylmataplexigenin

F. 218–223° [22]

[+ 43,5 Me] [30]



11 5 α -Dihydrosarcostin

F. 245–246° [19]

[+ 51,7 Me] [15] [20]

12 5 α -Dihydrolineolon

noch nicht beschrieben

13 Tayloron F. 195–200°

[+ 40,6 Me] [20a] [31]

Die Zahlen in langen eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln⁵⁾ an. Die Formeln 8–13 sind nicht streng bewiesen, dürften aber trotzdem richtig sein.

einer eine Laufstrecke entspr. Uzarin (**3**) zeigte. Nach fermentativem Abbau mit Glucosidasen wurde neben Glucose schwächer polares Material erhalten, in dem sich in Papierchromatogrammen wieder **1**, **2**, **5** und **6** nachweisen liessen. Ähnlich verhielt sich das stärkst polare Material, der Chf-Alk-(3:2)-Extrakt, aus dem nach fermentativem Abbau ein Gemisch erhalten wurde, in dem sich **2**, **5** und **6** fanden. Vermutlich liegen die nach fermentativem Abbau aufgefundenen Stoffe ursprünglich als β -D-Glucoside vor. Es ist daher wahrscheinlich, dass das aus *Asclepias tuberosa* [29] isolierte Glucosid (**7**) auch in *Asclepias swynnertonii* enthalten ist.

Die Hauptmenge der Extrakte bestand aus KEDDE-negativen Esterglykosiden, wie sie auch in anderen Asclepiadaceen aufgefunden worden waren. Um einen ersten Einblick in die Zusammensetzung dieser Stoffe zu erhalten, wurden Proben der vier Extrakte zunächst einer milden sauren Hydrolyse unterworfen [14]. Dabei wurden die Zucker weitgehend, teilweise sogar vollständig, abgespalten. Papierchromatographisch liessen sich hierauf Cymarose, Digitoxose, Oleandrose, sowie 5 weitere nicht identifizierte Zucker (Z 1, Z 3, Z 4, Z 5 und Z 6) nachweisen. Z 1, Z 4, Z 5 und Z 6 enthalten auf Grund ihrer starken blaugrauen Färbung mit Vanillin-Perchlorsäure vermutlich noch 2-Desoxyzucker; es könnte sich um Disaccharide handeln. Z 1 lief praktisch gleich wie die bekannte Pachybiose [26] (vgl. Fig. 9 und 10); die anderen wurden nicht identifiziert. Um einen Einblick über die Bausteine solcher vermutlichen Disaccharide zu erhalten, wurde von jedem Rohextrakt eine Probe mit KILIANI-Mischung [32] energisch hydrolysiert, wobei die «normalen» Zucker freigesetzt und die 2-Desoxyzucker praktisch vollständig zerstört wurden. Hierauf liessen sich in den verschiedenen Extrakten (vgl. Tabelle 1) noch die folgenden Zucker nachweisen: Thevetose¹⁵), Digitalose, 6-Desoxyallose, Glucose, sowie ein nicht identifizierter Zucker Z 2 (vgl. Exper. Teil).

Die bei der milden sauren Hydrolyse erhaltenen rohen Genine waren immer noch Gemische von Cardenoliden mit KEDDE-negativem, teilweise verestertem Material. Es wurden Proben davon durch Kochen mit KOH in Methanol verseift, wobei die Cardenolide entfernt und zerstört werden. Die erhaltenen Neutralteile sowie die rohen Säuren wurden papierchromatographisch geprüft, die letzteren auch gas-chromatographisch [33] nach Veresterung mit CH_2N_2 . Die Säuren bestanden zur Hauptsache aus Benzoesäure und etwas Zimtsäure. Bei den verseiften Geninen liessen sich Sarcostin (**8**) 5α -Dihydrosarcostin (**11**), Lineolon (**9**) und Desacetylmataplexigenin (**10**) nachweisen (vgl. Tabelle 1). Die Menge an **8** war erheblich grösser als diejenige an 5α -Dihydrosarcostin. Es ist durchaus möglich und sogar wahrscheinlich, dass auch **9** und **10** von kleinen Mengen der entsprechenden 5α -Dihydroderivate **12** und **13** begleitet waren, doch konnte dies nicht mehr genau nachgeprüft werden. Lineolon dürfte auch hier ein Kunstprodukt sein und bei der Alkalibehandlung aus dem entsprechenden 17β -Derivat, Isodesacylcynanchogenin [20b] [34], entstanden sein, das mit Alkali weitgehend in **9** übergeht [35].

5. Präparative Trennungen. – Mit dem Äther-Extrakt wurden auch verschiedene Versuche unternommen, um einige der darin indirekt nachgewiesenen Stoffe durch präparative Chromatographie direkt zu fassen. Trotz relativ grossem Aufwand

¹⁵) Die sichere Differenzierung der Thevetose von 3-O-Methyl-6-desoxyallose [10] durch Dünnschichtchromatographie wurde nur mit einer Probe des Ae-Extr. durchgeführt.

konnten dabei aber nur relativ geringe Mengen an meist nicht ganz einheitlichen Kristallisaten gewonnen werden. Beim Chloroform-Extrakt haben wir daher zunächst eine milde saure Hydrolyse [14] durchgeführt und versuchten anschliessend, die dabei erhaltenen Genine zu trennen. Auch hier wurden keine völlig einheitlichen Kristallisate erhalten, doch war die Trennung leichter und die Ausbeuten waren besser. Bei den zwei Chf-Alk-Extrakten wurden keine Versuche zu einer direkten Trennung unternommen. Im Folgenden werden die Ergebnisse mit dem Ae- und dem Chf-Extrakt beschrieben.

5.1. Trennung des Ätherextraktes. 20 g Ae-Extrakt wurden zunächst an SiO_2 chromatographiert (Exper. Teil, Tabelle 4). Aus den leicht eluierbaren Anteilen konnte hierauf etwas *p*-Hydroxyacetophenon in Kristallen isoliert werden¹⁶⁾. Aus weiteren schwach polaren Anteilen konnten nach wiederholter Chromatographie 32 mg krist. Subst. α isoliert werden, und aus den β -Konzentraten nach anschliessender präparativer Papierchromatographie 26 mg krist. Subst. β . Die Hauptmenge der Glykoside befand sich in den Fraktionen mittlerer Polarität (Exper. Teil, Tabelle 4). Aus 8,04 g von solchem Material konnten durch direkte Kristallisation 400 mg eines Präparates K U J 6 isoliert werden, das trotz seines relativ scharfen Schmelzpunktes ein Gemisch von mindestens 6 Stoffen (A, B, C, D, E und F) darstellte. Aus diesem Kristallisat konnten durch Chromatographie an viel feinem SiO_2 nach DUNCAN [36] 2 mg A (amorph), 33,5 mg B und 26 mg E in Kristallen abgetrennt werden. Das verbleibende Gemisch von C, D und E wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie an SiO_2 unter Zusatz von Fluoreszenzindikator¹⁷⁾ getrennt; dabei liess sich noch eine kleine Menge (7 mg) E in Kristallen gewinnen. Das Gemisch der Glykoside C, D wurde als relativ scharf schmelzendes Mischkristallisat erhalten, das sich bisher weder durch Chromatographie an SiO_2 - AgNO_3 [38] noch durch präparative Papierchromatographie im System Thf-Be-Cy-(1:3:6)/Mmf trennen liess. Die stärksten polaren Anteile der ersten Chromatographie (Tabelle 4) lieferten bei nochmaliger Trennung krist. Ascleposid (2) und krist. Coroglaucigenin (5).

5.2. Trennung der Genine des Chloroformextraktes. Eine Probe (4,424 g) Chf-Extr. wurde einer milden sauren Hydrolyse [14] unterworfen. Die Zucker dieses Versuches wurden nicht isoliert. In einer Vorprobe wurden bei Prüfung durch Papierchromatographie 5 Desoxyzucker (vgl. Tabelle 1) nachgewiesen. Die rohen Genine (2,664 g) wurden von phenolischen Anteilen durch Ausschütteln mit Sodalösung weitgehend befreit und anschliessend an SiO_2 nach DUNCAN [36] chromatographiert. Dabei wurde ein krist. Präparat G (205 mg) sowie ein amorphes Präparat L erhalten. Die stärksten polaren Anteile enthielten reichlich Cardenolide (K 2 und K 3); sie wurden nicht getrennt. Das Kristallisat G war ein Gemisch, das bei der Dünnschichtchromatographie an SiO_2 nur einen Fleck, an SiO_2 - AgNO_3 aber zwei Flecke (H und I) zeigte. Es wurde präparativ an SiO_2 - AgNO_3 getrennt, wobei die Genine H und I in relativ scharf schmelzenden Kristallen isoliert werden konnten. Auf Grund der Spektren und der Versäufungsergebnisse waren aber beide immer noch Gemische.

¹⁶⁾ Dieser Stoff lässt sich auf Grund seiner merklich sauren Eigenschaften leicht durch wiederholtes Ausschütteln mit Sodalösung von den neutralen Glykosiden abtrennen.

¹⁷⁾ Wir verwendeten das von TSCHESCHE und Mitarb. [37] empfohlene 3,5-Dihydroxypyren-8,10-disulfonsaure Natrium (P_2) und danken Herrn Prof. Dr. S. PETERSEN, FA. BAYER, Leverkusen, auch hier bestens für die Überlassung dieses Präparates.

Tabelle 2. Die aus den Wurzeln von *Asclepias swynnertonii* isolierten Stoffe

Bezeichnung oder Identifizierung	Smp. [α] _D Gefundene Werte	Bewiesene oder (in Klammern) vermutliche Bruttoformel	Isolierte Menge in mg	Schätzung der in 545 g Wurzeln vorhandenen Menge ¹⁸⁾		Maxima im UV. in nm (log ϵ , ber. auf angegebene Formel; S = Schulter)
				in mg	in %	
K 2 = Ascleposid (2)	233–239°	C ₂₆ H ₄₄ O ₅ (520,5)	24	1200	0,22 ¹⁹⁾	216; 277 (4,15) (2,67)
K 3 = Coro- glaucigenin (5)	201–206°	C ₂₃ H ₃₄ O ₅ (390,5)	12	1200	0,22 ¹⁹⁾	217; 276 (4,16) (2,56)
α = verm. Lilacinosid- α	141–149° [+ 88,5 Me]	(C ₄₂ H ₅₄ O ₁₁ ?) (735,1)	32	500	0,09 ¹⁹⁾	230; 275; 281 S (4,18) (3,50) (3,47)
β = verm. Lilacinosid- β	138–145° [+ 89,7 Me]	(C ₄₂ H ₅₄ O ₁₁ ?) (735,1)	26	2200	0,40 ¹⁹⁾	229; 275; 281 S (4,33) (3,65) (3,64)
A	amorph		2	500	0,09 ¹⁹⁾	
B = Glykosid B	209–212° [+ 82,1 Me]	(C ₆₂ H ₈₈ O ₁₂ ?) (1179,3)	34	7000	1,30 ¹⁹⁾	230; 275; 281 S (4,32) (3,68) (3,66)
C/D	240–242° [+ 24,8 Chf]	(C ₅₁ H ₇₆ O ₁₈ + H ₂ O ?) (995,1)	61	30000	5,50 ¹⁹⁾	231; 274; 282 S (4,01) (3,27) (3,23)
E = ev. Lilacinosid-4	249–254° [+ 34,8 Me]		33	6000	1,10 ¹⁹⁾	
P = <i>p</i> -Hydroxy- acetophenon	106–109°	C ₈ H ₈ O ₂ (136,1)	718	2500	0,46 ¹⁹⁾	219; 278 (4,01) (4,15)
Genin H	143–148° [+ 146,1 Me]	(C ₃₅ H ₄₂ O ₈ ?) (590,7)	16	300	0,06 ²⁰⁾	225; 275 (4,27) (4,03)
Genin J	157–158° [+ 116,5 Me]	(C ₃₅ H ₄₂ O ₈ ?) (590,7)	78	1500	0,27 ²⁰⁾	228; 274,5; 281 S (4,40) (3,84) (3,84)
Genin L	amorph	(C ₃₀ H ₄₀ O ₈ ?) (528,6)	68	800	0,15 ²⁰⁾	230; 274,5; 281 S (4,04) (3,41) (3,39)
Sarcostin (8)	145–149°/ 259–263°	C ₂₁ H ₃₄ O ₆ (382,5)	16	–	–	

6. Besprechung der isolierten Stoffe. – Smp., Drehung, UV.-Maxima und Bruttoformel vgl. Tabelle 2. *p*-Hydroxyacetophenon, *Ascleposid* (2) und *Coroglaucigenin* (5) wurden nach Misch-Smp., Farbreaktionen und Papierchromatogramm mit authentischem Material identifiziert. Die weiteren Stoffe werden kurz besprochen.

Glykosid α war nach Papierchromatogramm vermutlich identisch mit *Lilacinosid* α [24] [25], das bisher nur in sehr kleiner Menge und in amorpher Form isoliert worden ist. Auf Grund des UV.-Spektrums liegt in unseren Kristallen ein Gemisch vor, das ca. 91% eines Benzoyl- und ca. 9% eines Cinnamoyl-Derivats enthielt.

¹⁸⁾ Rohe Schätzung auf Grund der isolierten Mengen und der Intensität der Flecke im PC und DC. Liegen neben den isolierten Stoffen diese teilweise auch noch in Form von Glykosiden vor, so ist in der Schätzung nur der native Anteil berücksichtigt.

¹⁹⁾ Bezieht sich nur auf den Ae-Extrakt.

²⁰⁾ Bezieht sich nur auf den Chf-Extrakt. Diese Stoffe wurden daraus durch milde saure Hydrolyse erhalten. Grössere Mengen dürften im Ae-Extrakt vorhanden sein.

Glykosid β war nach Papierchromatogramm identisch mit Lilacinosid β [24] [25], das früher ebenfalls nur in amorpher Form erhalten worden war. Auf Grund des UV.-Spektrums und IR.-Spektrums liegt ein Di-O-benzoylderivat eines Sarcostinglykosids vor, das noch ca. 9% eines Cinnamoylderivats enthält. Möglicherweise sind noch kleine Mengen analoger Derivate des 5 α -Dihydrosarcostins darin enthalten.

Glykosid B. Dieser Stoff war mit keinem der bisher isolierten Lilacinoside identisch. Auf Grund des UV.-Spektrums bestand das Präparat aus ca. 90% eines Di-O-benzoylsarcostin-glykosids mit ca. 10% eines entsprechenden Cinnamoylsarcostin-glykosids. Dasselbe Resultat lieferte die gas-chromatographische Analyse der mittels CH_2N_2 veresterten Säuren, die nach saurer und anschliessender alkalischer Hydrolyse erhalten worden waren. Milde saure Hydrolyse lieferte ein rohes Genin, das nach alkalischer Verseifung im Papierchromatogramm den Fleck von Sarcostin zeigte, sowie ein Zuckergemisch, das auf Grund von Papierchromatogrammen Cymarose sowie einen nicht identifizierten Zucker Z 6 (vgl. Fig. 9 und 10) enthielt. Dieser zeigte im System To-Bu-(4:1)/W einen R_{Cymarose} -Wert = 0,383 und gab mit Vanillin-Perchlorsäure eine starke blaugraue Färbung. Nach energischer saurer Hydrolyse wurde ein Zucker erhalten, der in Papierchromatogramm und Elektrophorese gleich wie Thevetose lief¹⁵⁾.

Glykosid C/D. Die eine Spur rascher wandernde Komponente C zeigte in Papierchromatogrammen eine gleiche Laufstrecke wie Lilaconosid-3. Bei D scheint es sich um ein neues Glykosid zu handeln. Hydrolyseversuche im Mikromaßstab sowie das UV.-Spektrum zeigten, dass Glykoside von Mono-O-benzoylsarcostin vorliegen, die sehr wenig Zimtsäurederivate enthalten. Dasselbe zeigte die gas-chromatographische Prüfung. Milde saure Hydrolyse lieferte drei Desoxyzucker (Blaufärbung mit Vanillin-Perchlorsäure), die im Papierchromatogramm noch rascher liefen als Cymarose und die nicht identifiziert werden konnten. Nach energischer saurer Hydrolyse wurde ein Zucker erhalten, der im Papierchromatogramm und im Dünnschichtchromatogramm gleich lief wie 3-O-Methyl-6-desoxyallose [10].

Glykosid E. Dieses Präparat konnte nicht weiter untersucht werden.

Genin H. Das Präparat lief im Dünnschichtchromatogramm an SiO_2 praktisch gleich wie Di-O-benzoylsarcostin [25] aus *Asclepias lilacina*. Nach alkalischer Hydrolyse wurde aber ein Gemisch von Sarcostin mit ca. gleichviel 5 α -Dihydrosarcostin sowie Benzoesäure mit viel Zimtsäure erhalten. Trotzdem gab das Präparat auf der SiO_2 - AgNO_3 -Platte nur *einen* Fleck.

Genin I. Auch dieses Präparat lief im Dünnschichtchromatogramm an SiO_2 praktisch gleich wie Di-O-benzoylsarcostin. Alkalische Hydrolyse gab hier reines Sarcostin, dafür aber ein Gemisch von viel Benzoesäure mit relativ wenig Zimtsäure. Auch auf der SiO_2 - AgNO_3 -Platte gab es nur *einen* Fleck.

Genin L. Dieses amorphe Präparat lief im Dünnschichtchromatogramm an SiO_2 gleich wie Genin C (= Mono-O-acetyl-mono-O-benzoyl-sarcostin) aus *Asclepias lilacina*. Auf Grund des UV.-Spektrums enthielt es nur wenig Cinnamoylderivat beigemischt, und die Höhe der Extinktion bei 230 nm würde gut auf ein Molgewicht von $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_8$ (528,6) eines Mono-O-acetyl-mono-O-benzoyl-sarcostins passen. Weitere Reaktionen erfolgten aber nicht.

7. Schlussfolgerungen. – *Asclepias swynnertonii* gehört zu den Asclepiadaceen, die sowohl Cardenolid- wie Pregnan-Glykoside enthalten. Chemisch zeigen die daraus erhaltenen Produkte die grösste Ähnlichkeit mit den Inhaltsstoffen der zwei auch botanisch nahe verwandten Arten *A. glaucophylla* [15] und *A. lilacina* [24]. Da in allen drei Fällen sehr komplizierte Gemische vorliegen und jedesmal etwas verschiedene Wege für die Trennung eingeschlagen wurden, ist ein genauer Vergleich der Ausbeuten an isolierten Stoffen nicht möglich. Es ist aber leicht ersichtlich (vgl. Tabelle 3), dass

Tabelle 3. Vergleich der in *Asclepias swynnertonii*, *Asclepias lilacina* und in *Asclepias glaucophylla* nachgewiesenen Stoffe

	<i>A.</i> <i>swynnertonii</i>	<i>A.</i> <i>lilacina</i>	<i>A.</i> <i>glaucophylla</i>	<i>A.</i> <i>swynnertonii</i>	<i>A.</i> <i>lilacina</i>	<i>A.</i> <i>glaucophylla</i>
<i>Cardenolide</i>				<i>Spaltstücke</i>		
Uzarigenin	+	+	+	<i>von Ester-</i>		
Ascleposid	+	+	+	<i>glykosiden</i>		
Corotoxigenin	+	?	?	<i>(Schluss)</i>		
Coroglaucigenin	+	+	+	Oleandrose	+	?
Frugosid	+	+	?	Cymarose	+	?
				Digitoxose	+	+
<i>Spaltstücke</i>				Digitalose	+	+
<i>von</i>				Thevetose	+	+
<i>Esterglykosiden</i>				3-O-Methyl-6-		
Sarcostin	+	+	+	desoxyallose	?	? ¹⁾
Dihydrosarcostin	+	+	+	Glucose	+	+
Desacetylmetaplexigenin	+	+	?	Benzoesäure	+	+
Lineolon	+	+	+	Zimtsäure	+	+
				Essigsäure	?	?

in allen drei Fällen sehr ähnliche Bausteine aufgefunden wurden, und es ist sehr gut möglich, dass bei einer Kontrolle sich noch weitere Übereinstimmung ergeben wird. Die erstmals aus *A. lilacina* isolierte 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose ist höchst wahrscheinlich auch in *A. swynnertonii* enthalten. Ob sie auch in *A. glaucophylla* vorkommt, kann nur eine Nachprüfung zeigen¹⁾. Die bisher gegenüber den zwei anderen Pflanzen bestehenden geringen Unterschiede in den isolierten Stoffen sind daher vielleicht nur durch die Unsicherheiten der verwendeten analytischen Methoden bedingt. Vergleicht man nur die Cardenolide, so sind gleiche Stoffe in verschiedenen anderen Asclepiadaceen gefunden worden, so in *Gomphocarpus fruticosus* [39], *Trachycalymma fimbriatum* [40], *Margaretta rosea* [41] und *Asclepias tuberosa* [29].

Der eine von uns (K. J.) dankt der STIPENDIENKOMMISSION BASEL-STADT für einen Ausbildungsbeitrag. Ferner danken wir dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit, sowie dem BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT in Bern für einen Beitrag zur Beschaffung des Pflanzenmaterials.

¹⁾ Zur Zeit als *A. glaucophylla* untersucht wurde, war der Zucker noch nicht bekannt. Nach energischer saurer Hydrolyse wurden dort aber drei Zucker erhalten mit Laufstrecken wie Thevetose, Digitalose und Glucose. Beim erstgenannten könnte es sich um 3-O-Methyl-6-desoxyallose gehandelt haben.

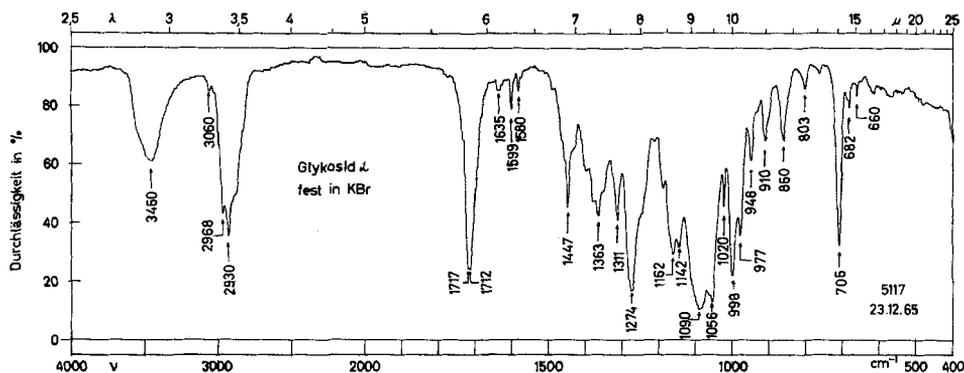


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum von Glykosid α (Präp. KUJ 14), vermutlich identisch mit Lilacinosid-α. Smp. 141–149°, 1,06 mg fest in KBr²²⁾.

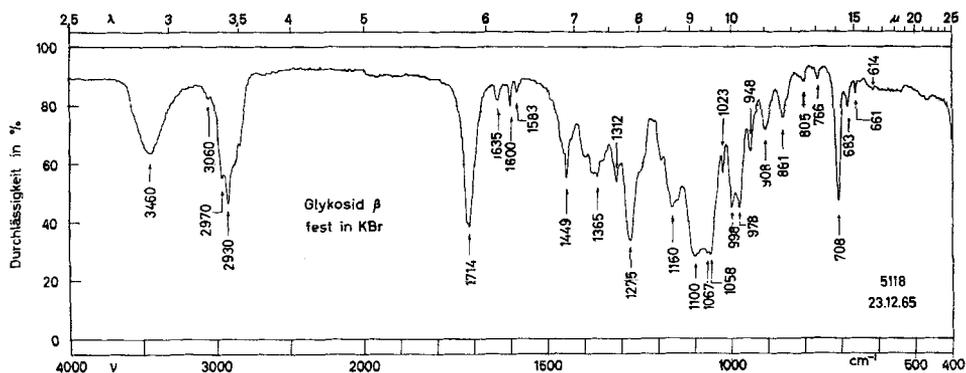


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum von Glykosid β (Präp. KUJ 15), vermutlich identisch mit Lilacinosid-β. Smp. 138–145°, 0,86 mg fest in KBr²²⁾.

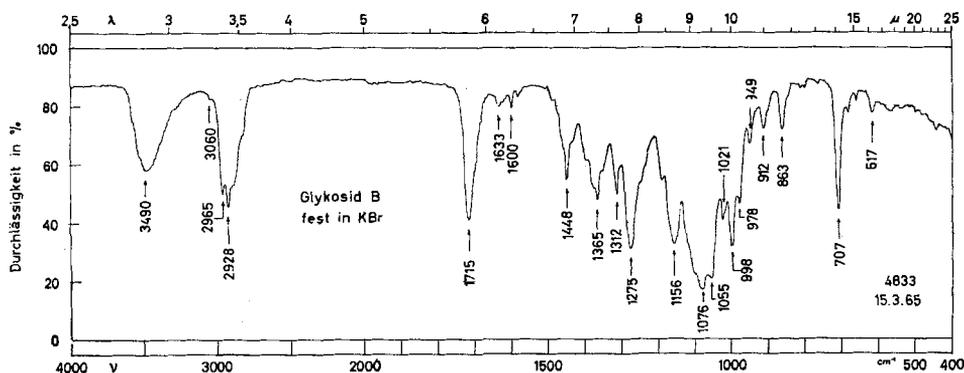


Fig. 16. IR.-Absorptionsspektrum von Glykosid B (Präp. KUJ 7), Smp. 209–212°, 0,7 mg fest in KBr²²⁾.

²²⁾ Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Gitterspektrophotometer, Modell 125.

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Angaben. – *Abkürzungen:* Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC = Dünnschichtchromatographie bzw. -chromatogramm, Eg = Essigester, Fmd = Formamid, Fr = Fraktion(en), GC = Gas-Chromatographie, Me = Methanol, Mek = Butanon, ML = eingedampfte Mutterlauge, Mmf = *N*-Methylformamid, n. u. = nicht untersucht, PC = Papierchromatographie bzw. -chromatogramm, PE = Papierelektrophorese, Pe = Petroläther, Pn = Pentan, iPr = Isopropanol, Py = Pyridin, Smp. = Schmelzpunkt, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser. Bei Gemischen beziehen sich die Verhältniszahlen immer auf Volumenteile.

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenzen in benützter Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$. – *Substanzproben* zur Drehungsbestimmung und zur Aufnahme von Spektren wurden 1 Std. bei 60° und 0,01 Torr getrocknet. – Die *Adsorptionschromatographie* wurde nach dem Durchlaufverfahren [42] an SiO₂ MERCK, Korngrösse 0,05–0,20 mm, durchgeführt. – Zur *Papierchromatographie* wurde WHATMAN-Papier Nr. 1 verwendet. Zum Imprägnieren mit stationärer Phase wurde das Papier durch eine Lösung von An-Fmd-(3:1), An-Mmf-(3:1) oder An-W-(3:1) gezogen und das PC in den Trog eingehängt, wenn es mit 35% des Papiertrockengewichtes mit stationärer Phase beladen war. Zur *Dünnschichtchromatographie* wurde Kieselgel G MERCK oder Kieselgel G MERCK + 30% AgNO₃ [38] verwendet. Präp. DC wurde nach TSCHESCHE *et al.* [37] an Kieselgel G mit Zusatz von Fluoreszenzindikator ausgeführt, wobei die Zonen nach RITTER und MEYER [43] abgekratzt wurden.

Nach früheren Angaben wurden ausgeführt: KEDDE-Reaktion [6], Xanthhydrol-Reaktion [7], Prüfung auf gebundene normale Zucker [5] [43] und auf Phenole [8], saure Hydrolyse [14] und alkalische Hydrolyse [15] [24]. – Die *Identifizierung der 2-Desoxyzucker* erfolgte nach RENKONEN und SCHINDLER [9], *der normalen Zucker* nach KAUFMANN *et al.* [10].

Zur *Gas-Chromatographie* der Pn-löslichen Säuren wurden diese bei 40–60° sublimiert, das Sublimat in Ae gelöst und bis zur bleibenden Gelbfärbung mit CH₂N₂ in Ae versetzt. Nach 5 Min. wurde zur Trockne eingedampft und erneut in Ae so aufgenommen, dass eine ca. 2-proz. Lösung der Methylester entstand. Aufnahmebedingungen: Apparat: AEROGRAPH Hy-FI Modell 600 B; Säule: 5' \times 1/8", 10% NPGS + 2% H₃PO₄ auf Firebrick 60/80 mesh [33]. Bei 140° und 180° lassen sich die Methylester von Benzoessäure, Phenyllessigsäure, *p*-Toluylsäure und Zimtsäure bequem unterscheiden.

2. Extraktion und Vortrennung. – 545 g Wurzeln wurden in einer Schlagmühle fein gemahlen und zur Fermentierung in ca. 3 l CO₂-gesättigtem W 16 Std. stengelassen. Nach Zugabe von 1 l Alk wurde durch Kieselgur filtriert. Der Rückstand wurde weiter 1mal mit 3 l 66-proz., 1mal mit 75-proz. und schliesslich 5mal mit je 1 l 96-proz. Alk extrahiert. Der letzte Extrakt war praktisch frei von KEDDE-positivem Material. Nach sorgfältigem Einengen der vereinigten Extrakte im Umlaufverdampfer betrug das Volumen des wässrigen Rohextraktes noch ca. 300 ml. Durch Zugabe von ca. 600 ml Alk wurde ausgefallenes, gummiartiges Material z. T. wieder in Lösung gebracht. Diese ca. 70-proz. alkoholische Lösung wurde zur Entfettung 4mal mit je 100 ml Pe ausgeschüttelt, wobei sich ein unlöslicher Schleim bildete. Die Pe-Extrakte wurden 3mal mit 70-proz. Alk gewaschen, vereinigt und lieferten nach Trocknung über Na₂SO₄ und Eindampfen 7,5 g dickflüssiges Öl, das nicht weiter untersucht wurde. Die alkoholischen Washwässer wurden mit dem Rohextrakt vereinigt. Der darin enthaltene Schleim wurde durch Filtrieren über Kieselgur abgetrennt. Der Rückstand, 5,6 g grauweisses Pulver, war KEDDE- und Xanthhydrol-negativ und wurde ebenfalls nicht weiter untersucht. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 50° auf ca. 300 ml eingengt. Diese wässrige Stammlösung wurde 12mal mit je 1 l Ae, 5mal mit je 1 l Chf, 9mal mit je 1 l Chf-Alk-(2:1) und 8mal mit je 1 l Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die Extrakte wurden über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Die erhaltenen Mengen sind aus Tab. 1 ersichtlich. Der übriggebliebene, wässrige Rohextrakt war KEDDE-negativ.

3. Untersuchung des Ae-Extraktes. – 3.1. *Orientierende Hydrolysen.* 1 g Ae-Extrakt wurde einer milden sauren und anschliessend einer alkalischen Hydrolyse unterworfen. Als Genine konnten durch PC (To-Bu-(4:1)/W) und DC (Eg und Eg-iPr-Me-(85:10:5)) Sarcostin und ein weiterer langgestreckter Fleck, als Zucker im PC Cymarose, Digitoxose und Oleandrose, und als Säuren im

GC Benzoe- und Zimtsäure nachgewiesen werden. Nach energischer saurer Hydrolyse liessen sich nur Glucose und Thevetose nachweisen.

3.2. *Präparative Trennungen.* – 3.2.1. *Vortrennung des Ae-Extrakts.* 20,0 g Ae-Extrakt wurden an 600 g SiO₂ mit Lösungsmitteln steigender Polarität chromatographiert.

Tabelle 4. *Chromatographie von 20,0 g Ae-Extrakt an 600 g SiO₂*

Fr-Nr. l/ Fr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand			Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	KEDDE- Reak- tion	Flecke im PC	
1–18	Be Be-Chf Chf	592	–		n. u.
19–20	Chf	881	–	P	637 mg krist. <i>p</i> -Hydroxyacetophenon (Endprodukt)
21	Chf	104	–	P, u. a.	nicht getrennt
22–24	Chf Chf-Me-(99:1)	251	(+)		davon 203 mg chromatographiert (Tab. 5, 6 und 7), gab α , β und γ
25	Chf-Me-(98:2)	1205	(+)		davon 882 mg an SiO ₂ chromatographiert (Tabelle 6 und 7), gab viel β , daneben α und γ
26	Chf-Me-(98:2)	3952	+	K 1	nicht weiter getrennt
27–28	Chf-Me-(98:2)	9702	+	A, B, C, D, E, F, K 1, K 3	aus Ae 400 mg KUJ 6, Trennung (vgl. Tab. 8) ergab A, B, C, D, E und F, ML nicht getrennt
29	Chf-Me-(98:2)	1367	(+)		nicht getrennt
30–31	Chf-Me-(95:5)	2510	+		nicht getrennt
32–33	Chf-Me-(95:5)	393	+		nicht getrennt
34–41	Chf-Me-(10–50%)	712	+	K 2, K 3	davon die Fr 35 (230 mg) durch Chromatographie an SiO ₂ nach DUNCAN (vgl. Tab. 9) getrennt; enthielt K 2 und K 3
total eluiert		21 669			

Fr 19–20 (881 mg) gab aus Ae 718 mg farblose Kristalle, die zur Analyse bei 0,01 Torr und 85–90° Badtemperatur sublimiert wurden. Ausbeute: 637 mg *p*-Hydroxyacetophenon (P) vom Smp. 106–109°.

8,040 g aus Fr 27–28 wurden in viel Ae gelöst, die trübe Lösung abkühlen und 16 Std. bei 0° stehengelassen. Der feine, weissliche Niederschlag wurde abgenutscht, mit wenig Ae gewaschen, und die Kristallisation mit der ML noch 2mal wiederholt. Es wurden total 400 mg im Vakuum getrocknete Drusen (KUJ 6) vom Smp. 260–263,5° erhalten.

Tabelle 5. *Chromatographie von 203 mg Material der Fr 22–24 aus Tabelle 4 an 6 g SiO₂*

Fr-Nr. 30 ml/Fr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	Flecke im PC	
1–22	Be Be-Chf	21		n. u.
23–30	Chf	139	viel α ; β , γ	vereinigt mit Fr 10–16 von Tabelle 6 und an SiO ₂ nach DUNCAN getrennt (vgl. Tab. 7)
31	Chf-Me-(99:1)	15		n. u.
32–35	Chf-Me-(99:1) Chf-Me-(80:20)	16	}	mit Fr 24 von Tabelle 7 vereinigt
36–37	Chf-Me-(80:20)	1,5		
38–39	Chf-Me-(50:50)	1		n. u.
total eluiert		193,5		

Tabelle 6. *Chromatographie von 882 mg Material der Fr 25 aus Tabelle 4 an 27 g SiO₂*

Fr-Nr. 90 ml/Fr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	Flecke im PC	
1– 6	Be Be-Chf	7		n. u.
7– 8	Chf	7		n. u.
9	Chf	84		n. u.
10–16	Chf	498	viel β ; α , γ	vereinigt mit Fr 23–30 aus Tabelle 5 und an SiO ₂ nach DUNCAN getrennt (vgl. Tabelle 7)
17–20	Chf Chf-Me-(99:1)	235		nicht getrennt
21	Chf-Me-(99:1)	59		n. u.
22–23	Chf-Me-(99:1)	28		n. u.
24	Chf-Me-(80:20)	37		mit Fr 32–35 und 36–37 aus Tabelle 5 vereinigt
25–27	Chf-Me-(80:20) Chf-Me-(50:50)	5		n. u.
total eluiert		953		

Tabelle 7. *Trennung der vereinigten Fr 23–30 von Tabelle 5 und Fr 10–16 von Tabelle 6 an 600 g SiO₂ nach DUNCAN. Elutionsmittel Be-An-(3:1)*

Fr-Nr. 30 ml/Fr	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
	Menge in mg	Flecke im PC	
1– 41	32		n. u.
42– 45	38	α	Krist. aus Ae-Cy \rightarrow 32 mg α (Endprodukt), Smp. 141–149°
46– 52	45	α , (β) u. a. ²³⁾	nicht getrennt
53– 54	32	α , β , γ	nicht getrennt
55– 60	199	viel β ; α , γ	zur präp. PC
61– 74	165	α , β u. a.	nicht getrennt
75– 93	69	viel γ ; α , β u. a.	
94–107	12		n. u.
108–121	5		n. u.
total eluiert	597 mg		

Fr 42–45 aus Tabelle 7 gaben aus Ae-Cy 32 mg krist. Substanz α , Smp. 141–149°. Versuche, die Fr 46–52, sowie 75–93 durch präparative PC weiter aufzutrennen, misslangen.

Tabelle 8. *Chromatographie von 387 mg kristallinem Präp. KUJ 6 (s. Tabelle 4) an 300 g SiO₂ nach DUNCAN. Elutionsmittel Be-An-(5:2). Die Substanz wurde nach HEGEDÜS *et al.* [45] mit Chf an 2 g SiO₂ aufgezogen.*

Fr-Nr. 40 ml/Fr	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
	Menge in mg	Flecke im PC	
1– 46	22		n. u.
47– 49	2	A	Endprodukt (amorph)
50– 60	49	B	aus Ae 35,5 mg krist. reines B, Smp. 209–212°
61– 64	13	B, b, C	aus Ae krist. Gemisch
65– 79	161	C, D	} Kristallgemisch, diente zur Trennung durch präp. DC
80–123	140	C, D, E	
124–135	10	C, D, E	
136–229	26	E, Verunreinigung	aus Ae 26 mg krist. E, Smp. 223–226°
230–266	23	E, F, u. a.	Krist. Gemisch (23 mg), nicht weiter unter- sucht
total eluiert	446 mg		

3.2.2. *Präparative PC von 180 mg der Fr 55–60 aus Tabelle 7.* Zur Isolierung von Substanz β wurden 180 mg Fr 55–60 von Tabelle 7 auf 19 Papierblättern (WHATMAN Nr. 1, 19×46 cm) im System Thf-Be-Cy-(1:3:6)/Mmf absteigend chromatographiert. Die Laufzeit betrug 6 Std., was der doppelten Zeit entspricht, welche die Front zur Erreichung des unteren Papierendes benötigte.

²³⁾ Äusserst schwache Flecke.

Schmale Leitstreifen (an den Rändern und in der Mitte) wurden mit SbCl_3 entwickelt. Die ausgeschnittenen β -Zonen wurden zerkleinert und in Me kurze Zeit stehengelassen. Das Me wurde abdekantiert und die feuchten Papierschnitzel mit 170 Atm. ausgepresst. Dasselbe wurde noch 2mal mit Me-Chf-Gemischen wiederholt. Die durch Filtration von Papierfasern befreiten, vereinigten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft und lieferten 576 mg hellbraunes Öl, das noch viel Mmf enthielt. Es wurde zur Vorreinigung in Ae aufgenommen und mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der erhaltene gelbliche Schaum (69 mg) wurde an 1,6 g SiO_2 chromatographiert. Es wurden 62 mg rohe Substanz β als farbloser Schaum erhalten. Kristallisation und Umkristallisation aus Ae-Cy lieferte 26 mg Substanz β in kleinen Kristallen vom Smp. 138–145°.

3.3.3. *Trennung der Substanz E von C und D durch präp. DC.* 220 mg Material, nämlich Fr 65–79, Fr 80–123 und Fr 124–135 von Tabelle 8 (Kristalle und ML), wurden an 8 präparativen Dünnschichtplatten im System Chf-iPr-(9:1) in die Substanz E und das Gemisch CD getrennt. Die langsamer laufende Zone E lieferte 23 mg gelblichen Schaum, der aus Ae kristallisiert wurde. Die 20 mg gelblichen Kristalle wurden umkristallisiert und lieferten 7 mg Substanz E in weissen Kristallen vom Smp. 249–254° und 12,5 mg ML. Die schneller laufende Zone lieferte 190 mg CD-Gemisch. Es wurde versucht, 120 mg dieses Gemisches auf 17 präparativen PC im System Thf-Bc-Cy-(1:3:6)/Mmf aufzutrennen. Die Laufzeit betrug 16 Std. C und D wurden nicht getrennt, aber es konnte eine schwache, langsamer wandernde Zone abgetrennt werden, bei der es sich wahrscheinlich um Substanz F gehandelt hatte. Die nach Eluieren erhaltenen 109 mg Gemisch CD wurden aus Ae kristallisiert. Es wurden 61 mg Kristalle CD 1. Qualität vom Smp. 240–242°, 2 mg Kristalle 2. Qualität und 32 mg ML erhalten. Auch durch präparative DC an SiO_2 - AgNO_3 konnten C und D nicht aufgetrennt werden.

Tabelle 9. *Trennung von 230 mg Material der Fr 35 von Tabelle 4 an 230 g SiO_2 nach DUNCAN*

Fr-Nr. 30 ml/Fr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		Flecke im PC	Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	KEDDE- Reak- tion		
1– 19	Chf-iPr-(90:10)	23	–		n. u.
20– 43	Chf-iPr-(90:10)	31	–		n. u.
44– 75	Chf-iPr-(90:10)	45	++	K 2	aus Me-Ae 24 mg krist. K 2 (Endprodukt) Smp. 233–239°
76– 99	Chf-iPr-(90:10)	17	++	K 2, K 3	nicht getrennt
100–153	Chf-iPr-(90:10)	71	++	K 3	Reinigung durch Chromato- graphie an SiO_2 gab aus Me 12 mg krist. K 3, Smp. 201–206°
154–173	Chf-iPr-(85:15)				
174–200	Chf-iPr-(80:20)				
201–205	Chf-Me-(80:20)				
206–222	Chf-Me-(50:50)				
total eluiert		187			

4. Untersuchung des Chf-Extraktes. – 4.1. *Orientierende Hydrolysen.* Nach milder saurer und anschliessender alkalischer Hydrolyse von 712 mg Chf-Extrakt zeigte der Geninteil im PC (To-Bu-(4:1)/W und To-Bu-(9:1)/W) 3 Flecke mit gleichen Laufstrecken und Färbungen (siehe Tabelle 1) wie Sarcostin, Desacetylmetaplexigenin bzw. Lineolon. Als 2-Desoxyzucker konnten Cymarose, Oleandrose und Digitoxose, als Säuren Benzoesäure und Zimtsäure nachgewiesen werden. Energetische saure Hydrolyse lieferte nach DC, PC und PE Glucose, Digitalose und Thevetose.

4.2. *Präparative milde saure Hydrolyse.* 4.424 g Chf-Extrakt wurden nach Vorschrift [14] mild sauer hydrolysiert und gaben 2,120 g Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile. Die Zucker wurden in diesem Versuch nicht aufgearbeitet. Die oben erhaltenen 2,120 g Chf-Alk-(2:1)-Auszug wurden nach früherer Vorschrift [45] mit Chf-Me-An auf wenig SiO_2 aufgezogen und an 1 kg SiO_2 chromatographiert.

Tabelle 10. *Trennung von 2,120 g Geningemisch aus mild sauer hydrolysiertem Chf-Extrakt an 1 kg SiO₂ nach DUNCAN*

Fr-Nr. 45 ml/Fr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	KEBDE- Reak. Flecke im DC System: Eg	
1– 40	Eg	76	–	n. u.
41– 44	Eg	7	–	n. u.
45– 52	Eg	243	–	Genin G Krist. aus Ae-Pe, weitere Trennung. (Tabelle 11)
53– 64	Eg	407	–	nicht getrennt
65– 69	Eg	68	–	Genin L kristallisiert nicht
70– 77	Eg	58	–	nicht getrennt
78–115	Eg	79	–	nicht getrennt
116–153	Eg	100	–	nicht getrennt
154–225	Eg-An-(1:1)	71	(+)	n. u.
226–245	An	135	+	n. u.
246–268	An	78	++	n. u.
269–300	An-Me-(98:2)	178	++	n. u.
total eluiert		1500		

Fr 45–52 bestand aus Substanz G und wurde aus Ae-Pe kristallisiert. Es wurden erhalten: 150 mg Kristalle vom Smp. 158–161°; 55 mg Kristalle vom Smp. 149–154°; 40 mg ML.

Tabelle 11. *Trennung von 240 mg Substanz G (Kristalle + ML) an 150 g SiO₂ + 15 g AgNO₃ nach DUNCAN*

Fr-Nr. 30 ml/Fr	Elutionsmittel	Eindampfrückstand		Bemerkungen
		Menge in mg	Flecke im DC	
1–14	Chf-iPr-(95:5)	13		n. u.
15–25	Chf-iPr-(95:5)	26	Genin H	aus Ae-Pe krist.
26–36	Chf-iPr-(95:5)	26		Mischfraktion, nicht getrennt
37–80	Chf-iPr-(5–10%)	138	Genin J	aus Ae-Pe krist.
total eluiert		203		

Die Fraktionen wurden durch Verteilen zwischen Chf und W von anhaftendem AgNO₃ befreit.

Fr 15–25 wurden aus Ae-Pe kristallisiert und lieferten: 16 mg Genin H vom Smp. 143–148°, 10 mg ML.

Fr 37–80 wurden aus Ae-Pe kristallisiert und lieferten: 78 mg Genin J vom Smp. 157–158°; 16 mg Genin J vom Smp. 153–155°; 27 mg Genin J vom Smp. 125° und 151–156°; 17 mg ML.

5. Untersuchung der Chf-Alk-Extrakte. – 5.1. *Fermentierung.* 70 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurden mit 70 mg Cellulase in 3 ml einer Mischung, die auf 100 ml W 3 Tropfen AcOH enthielt, unter CO₂-Verschluss 48 Std. lang bei 34° im Dunkeln stehengelassen [46]. Zur Aufarbeitung wurde mit abs. Alk versetzt, aufgekocht und über Kieselgur abgenutscht. Das stark eingeeengte Filtrat wurde nacheinander mit Ae, Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit 2N Sodalösung und W gewaschenen, über Na₂SO₄ getrockneten und eingedampften Extrakte lieferten 9 mg Ae-Auszug, 9 mg Chf-Auszug, 20 mg Chf-Alk-(2:1)-Auszug.

50 mg *Chf-Alk-(3:2)-Extrakt* wurden in analoger Weise fermentiert und lieferten 4 mg Ae-Auszug, 2 mg Chf-Auszug und 4 mg Chf-Alk-(3:2)-Auszug.

Diese Auszüge wurden im PC auf Cardenolide geprüft. Über die Ergebnisse orientiert Tabelle 1 und Figur 2.

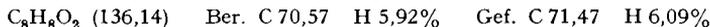
5.2. *Orientierende Hydrolysen des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes*. 512 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurden einer milden sauren und anschliessend einer alkalischen Hydrolyse unterworfen. Unter den Spaltstücken konnten Sarcostin, Desacetylmetaplexigenin, Lineolon, Benzoesäure, Zimtsäure und zwei nicht identifizierte 2-Desoxyzucker Z 4 und Z 5 nachgewiesen werden. Diese beiden Zucker zeigten im PC (Bu/W, 14 Std.) kleinere Laufstrecken als 2-Desoxy-D-glucose (Relative Rf-Werte zu 2-Desoxy-D-glucose: Z 4 = 0,62, Z 5 = 0,098, vgl. Fig. 11).

Nach energischer saurer Hydrolyse von 22 mg Extrakt konnten Glucose, 6-Desoxyallose (vermutlich aus Gluco-frugosid) und ein weiterer nicht identifizierter Zucker Z 2 nachgewiesen werden [10]. Dieser Zucker zeigte in der PE $R_{\text{Rham}} = 1,215$.

5.3. *Orientierende Hydrolysen des Chf-Alk-(3:2)-Extraktes*. 535 mg Chf-Alk-(3:2)-Extrakt wurden mild sauer und anschliessend alkalisch hydrolysiert. Unter den Spaltstücken konnten Sarcostin, Spuren von Desacetylmetaplexigenin und Lineolon, Benzoesäure, Zimtsäure und zwei nicht identifizierte Zucker Z 3 und Z 4 (wie oben) nachgewiesen werden. Z 3 zeigte im PC (Bu/W, 14 Std.) $R_{2\text{-Desoxyglucose}} = 1,155$, doch gab er im Gegensatz zu Z 4 und Z 5 mit Vanillin-HClO₄ keine grauschwarze sondern eine braune Färbung.

6. Beschreibung der isolierten Stoffe. – (UV.-Maxima in Alk siehe Tabelle 2.)

Substanz P = *p-Hydroxyacetophenon* (Präp. K U J 3). Nach Sublimation bei 0,01 Torr und 80–90° aus Ae farblose Kristalle, Smp. 106–109°.



Tüpfelprobe auf Papier mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Lösung [47] ergab orangefarbenen Fleck, Tüpfelprobe mit FeCl₃ gab grünblaue Färbung; K₃Fe(CN)₆-FeCl₃ positiv. – Identisch mit authentischem Material nach Misch-Smp., UV.-Spektrum, IR.-Spektrum und Laufstrecke im PC (Be-Chf-(7:5)/Fmd).

Substanz K 2 = *Ascleposid* (Präp. K U J 4). Aus Ae-Me farblose Kristalle, Smp. 233–239°. Das Präparat enthielt nach UV.-Spektrum noch kleine Mengen von Verunreinigungen (vermutlich Benzoylderivate). Identisch mit authentischem Material nach IR.-Spektrum [14] und Laufstrecke im PC (Figur 2).

Substanz K 3 = *Coroglaucigenin* (Präp. K U J 5). Aus Me farblose Kristalle, Smp. 201–206°. Nach UV.-Spektrum noch kleine Mengen Verunreinigungen vorhanden, die vermutlich für tiefen Smp. verantwortlich sind. Identifiziert nach IR.-Spektrum und Laufstrecke im PC.

Glykosid α = *vermutlich Lilacinosid α* (Präp. K U J 14). Aus Ae-Cy farblose Kristalle, Smp. 141–149°. Xanthhydrol-Reaktion positiv. Enthält nach UV. ca. 92% Dibenzoylderivate und 8% Cinnamoylderivate. Spez. Drehung²⁴⁾: $[\alpha]_{364}^{20} = +373,8^\circ$; $[\alpha]_{405}^{20} = +259,8^\circ$; $[\alpha]_{436}^{20} = +204,3^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +108,0^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +93,4^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +88,5^\circ$ ($c = 0,17$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 14.

Glykosid β = *vermutlich Lilacinosid β* (Präp. K U J 15). Aus Ae-Cy farblose Kristalle, Smp. 138–145°. Xanthhydrol-Reaktion negativ. Enthält nach UV.-Spektrum ein Di-O-benzoylderivat mit ca. 9% Cinnamoylderivat. Spez. Drehung²⁴⁾: $[\alpha]_{436}^{20} = +200,2^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +104,8^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +93,5^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +89,7^\circ$ ($c = 0,53$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 15.

Glykosid B (Präp. K U J 7). Aus Ae farblose Kristalle, Smp. 209–212°. Nach UV.-Spektrum liegt ein Di-O-benzoylderivat mit ca. 9% Cinnamoylderivat vor. Spez. Drehung²⁴⁾: $[\alpha]_{364}^{20} = +365,5^\circ$; $[\alpha]_{405}^{20} = +250,4^\circ$; $[\alpha]_{436}^{20} = +193,6^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +102,4^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +87,2^\circ$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +82,1^\circ$ ($c = 0,13$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 16. Nach Hydrolysen konnten Sarcostin, Cymarose, Z 6 (vgl. Fig. 9 und 10), Thevetose, Benzoesäure und Zimtsäure nachgewiesen werden.

²⁴⁾ Wir danken Frl. Dr. R. REUBKE und Herrn P. BADER, Analyt. Labor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier bestens für die Bestimmung dieser Drehung. Dazu diente ein CARL ZEISS lichtelektrisches Präzisionspolarimeter 0,005°.

Glykosidgemisch CD (Präp. K U J 12). Aus Ae farblose Kristalle, Smp. 240–242°. Nach UV.-Spektrum liegt ein mit ca. 7% Cinnamoylderivat verunreinigtes Mono-O-benzoylglykosid vor. Spez. Drehung in Chf²⁴): $[\alpha]_{384}^{20} = +101,0^\circ$; $[\alpha]_{405}^{20} = +79,7^\circ$; $[\alpha]_{436}^{20} = +66,5^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +31,9^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +26,6^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +24,8^\circ$. Nach milder saurer und alkalischer Hydrolyse konnten Sarcostin, Benzoesäure und Zimtsäure nachgewiesen werden. Die erhaltenen 2-Desoxyzucker zeigten alle eine grössere Laufstrecke als Cymarose; vermutlich handelt es sich hierbei um Methylglykoside. Energische saure Hydrolyse liefert nur 3-O-Methyl-6-desoxyallose (PC und DC). C ist möglicherweise identisch mit Lilacinosid 3 nach Laufstrecke im PC (vgl. Fig. 7).

Glykosid E (Präp. K U J 16). Aus Ae farblose Kristalle, Smp. 249–254°. Spez. Drehung²⁴): $[\alpha]_{384}^{20} = +130,4^\circ$; $[\alpha]_{405}^{20} = +95,6^\circ$; $[\alpha]_{436}^{20} = +78,3^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +41,7^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +36,5^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +34,8^\circ$ ($c = 0,29$ in Me). Möglicherweise identisch mit Lilacinosid 4 [24] [25] nach Laufstrecke im PC (vgl. Fig. 7) und Drehung.

Genin H (Präp. K U J 11). Aus Ae-Pe farblose Kristalle, Smp. 143–148°. Nach UV.-Spektrum liegt ein mit ca. 25% Cinnamoylderivat verunreinigtes Di-O-benzoylderivat vor. Spez. Drehung²⁴): $[\alpha]_{384}^{20} = +735,4^\circ$; $[\alpha]_{405}^{20} = +472,4^\circ$; $[\alpha]_{436}^{20} = +357,5^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +182,1^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +155,2^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +146,1^\circ$ ($c = 0,07$ in Me). Nach alkalischer Hydrolyse lassen sich Sarcostin, 5 α -Dihydrosarcostin, Benzoesäure und Zimtsäure nachweisen. Energische saure Hydrolyse lieferte keinen Zucker.

Genin I (Präp. K U J 10). Aus Ae-Pe farblose Kristalle, Smp. 157–158°. Nach UV.-Spektrum liegt ein mit ca. 12% Cinnamoylderivat verunreinigtes Dibenzolat vor. Spez. Drehung²⁴): $[\alpha]_{384}^{20} = +575,5^\circ$; $[\alpha]_{405}^{20} = +373,5^\circ$; $[\alpha]_{436}^{20} = +286,7^\circ$; $[\alpha]_{546}^{20} = +143,4^\circ$; $[\alpha]_{578}^{20} = +123,2^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +116,5^\circ$ ($c = 0,25$ in Me). Nach alkalischer Hydrolyse liessen sich Benzoe- und Zimtsäure nachweisen. Energische saure Hydrolyse lieferte keinen Zucker.

Sarcostin aus Genin I. 43 mg Genin I wurden alkalisch hydrolysiert und lieferten 25 mg rohes Genin, aus Me 14 mg feine Nadeln, Smp. 145–149°/259–263°. Identisch mit authentischem Sarcostin nach Mischprobe und Laufstrecke im PC (To-Bu-(4:1) und -(9:1)/W) und DC (Eg und Eg-Pr-Me-(85:10:5)).

Genin L (Präp. K U J 13). Konnte nur in amorpher Form erhalten werden. Zeigt im DC gleiche Laufstrecke wie Genin C (Mono-O-acetyl-mono-O-benzoyl-sarcostin) aus *Asclepias lilacina*. Nach UV.-Spektrum aber mit ca. 9% Cinnamoylderivat verunreinigt.

Die Mikroanalyse wurde im Mikrolabor unseres Instituts von Herrn E. THOMMEN ausgeführt.

SUMMARY

The roots of *Asclepias swynnertonii* S. MOORE are very rich in glycosides, the major portion being pregnane glycosides besides small amounts of cardenolides. Six cardenolides could be identified by means of chromatography: coroglaucigenin, ascleposide, uzarigenin, uzarin, corotoxigenin and frugoside, of which the first two mentioned substances could be preparatively isolated.

The pregnane glycosides yielded after mild acidic hydrolysis a mixture of aglycones, and one of sugars. The aglycone mixture yielded on alkaline hydrolysis: sarcostin, 5 α -dihydrosarcostin, lineolon and deacetylmetaplexigenin as well as benzoic and cinnamic acid; only sarcostin has been isolated preparatively. The crude sugar mixture was composed of cymarose, oleandrose, digitoxose and 3 unidentified substances, probably disaccharides. After energetic acid hydrolysis thevetose, digitalose and glucose could be identified. The main components of the original mixture of glycosides are sarcostin derivatives.

Institut für organische Chemie
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] P. HAUSCHILD-ROGAT, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 2322 (1967).
- [2] A. A. BULLOCK, Notes on African Asclepiadaceae VIII, *Kew Bulletin* 1956 (Jetzt als Vol. 11 bezeichnet) 502 (1957).
- [3] E. ABISCH & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 2090 (1962).
- [4] J. V. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1821 (1951).
- [5] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1740 (1951).
- [6] D. L. KEDDE, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).
- [7] P. BELLET, *Ann. pharmaceut. franc.* 8, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* 10, 104 (1952).
- [8] G. M. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARDNER, *Nature* 170, 249 (1952).
- [9] O. RENKONEN & O. SCHINDLER, *Helv.* 39, 1490 (1956).
- [10] H. KAUFMANN, P. MÜHLRADT & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 2287 (1967).
- [11] A. P. MACLENNAN, H. M. RANDALL & D. W. SMITH, *Analyt. Chemistry* 37, 2020 (1959).
- [12] S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 443 (1949).
- [13] R. NEHER & A. WETTSTEIN, *Helv.* 34, 2278 (1951).
- [14] S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 32, 939 (1949).
- [15] J. M. DO NASCIMENTO JR., CH. TAMM, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 47, 1775 (1964).
- [16] A. STOLL, A. PEREIRA & J. RENZ, *Helv.* 32, 293 (1949).
- [17] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 1073 (1952).
- [18] A. WINDAUS & E. HAACK, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 63, 1377 (1930).
- [19] J. W. CORNFORTH & J. C. EARL, *J. chem. Soc.* 1939, 738; 1940, 1443.
- [20] a) K. A. JAEGGI, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 46, 694 (1963); b) H. MITSUHASHI & Y. SHIMIZU, *Steroids* 2, 373 (1963); frühere Lit. daselbst.
- [21] E. ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1014 (1959).
- [22] H. MITSUHASHI & T. NOMURA, *Chem. Pharmaceut. Bull. (Japan)* 77, 1333 (1963).
- [23] EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Adv. Carbohydrate Chemistry* 77, 65 (1962); frühere Lit. daselbst.
- [24] L. SAWLEWICZ, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 504 (1967).
- [25] L. SAWLEWICZ, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 530 (1967).
- [26] H. ALLGEIER, *Helv.* 57 (1968), in Vorbereitung.
- [27] R. JEANLOZ, D. A. PRINS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 29, 371 (1946); M. GUT & D. A. PRINS, *Helv.* 30, 1223 (1947).
- [28] H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 46 (1951).
- [29] J. PETRIČIĆ, *Arch. Pharm.* 299, 1007 (1966).
- [30] F. SCHAUB, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, *Helv.*, in Vorbereitung.
- [31] K. A. JAEGGI, EK. WEISS, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 50, 1201 (1967).
- [32] H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 63, 2866 (1930).
- [33] L. D. METCALFE, *Nature* 788, 142 (1960); B. R. BAUMGARDT, *Dep. Bull. Nr. 1, Dep. of Dairy Science, Univ. of Wisconsin, Madison, June 1964.*
- [34] H. MITSUHASHI, Y. SHIMIZU, I. TAKEMORI & E. YAMADA, *Chem. & pharmaceut. Bull. (Japan)* 77, 1198 (1963).
- [35] H. MITSUHASHI, T. NOMURA & M. FUKUOKA, *Steroids* 4, 483 (1964).
- [36] G. R. DUNCAN, *J. Chromatogr.* 8, 37 (1962).
- [37] R. TSCHESCHE, G. BIERNOTH & G. WULFF, *J. Chromatogr.* 72, 342 (1963).
- [38] B. DE VRIES, *Chem. Ind.* 1962, 1079; vgl. auch Übersichtsartikel G. JURRIENS, *La Rivista Italiana delle Sostanze grasse* 1965, 116.
- [39] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 429 (1952).
- [40] Dissertation R. K. ELBER, Basel 1965.
- [41] Dissertation D. SIERP, Basel 1967, und spätere Publikation.
- [42] T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, *Discuss. Farad. Soc.* 7, 305 (1949).
- [43] F. J. RITTER & G. M. MEYER, *Nature* 193, 941 (1962).
- [44] G. R. DUNCAN, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* 48, 649 (1965).
- [45] H. HEGEDŰS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 36, 357 (1953).
- [46] T. GOLAB, H. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 2035 (1960).
- [47] C. D. KOCHAKIAN & G. STIDWORTHY, *J. biol. Chemistry* 199, 607 (1952).