

28. Die Glykoside von *Marsdenia erecta* R. Br. 1. Mitteilung: Isolierungen

Glykoside und Aglykone, 325. Mitteilung¹⁾

von A. Saner, C. Zerlentis, W. Stöcklin und T. Reichstein

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(17. XII. 69)

Summary. Dried leaves of *Marsdenia erecta* R. Br. gave over 6% of a crude glycoside mixture, the main portion of which consisted of weakly polar material, soluble in ether or chloroform. By mild acid hydrolysis it yielded crude sugars and aglycones. The following four crist. sugars were isolated: D-cymarose, D-oleandrose and two bioses: pachybiose and marssectobiose (C₁₄H₂₄O₈, new). By PC. and TLC. the presence of digitoxose, canarose, thevetose and 3-O-methyl-6-deoxyallose could be demonstrated. The crude acyl-genin mixture contained β -sitosteryl- β -D-glucopyranoside and three highly hydroxylated pregnane derivatives: drevogenin-P, 17 β -marsdenin (C₂₁H₃₂O₆, new) and marssectohexol (C₂₁H₃₄O₆, new), all partly esterified with acetic, tiglic and benzoic acid. Five crist. acyl-genins (A1–A5) were isolated by chromatography, but most of them still were mixtures. After alkaline hydrolysis of the crude acyl-genins 6 acyl-free compounds were obtained. 4 of them were identical with the above mentioned substances, the other two: 17-*iso*-drevogenin-P and marsdenin (17 α -marsdenin) are formed from drevogenin-P and 17 β -marsdenin by isomerisation.

1. Bisherige Befunde. – *Marsdenia erecta* R. Br. = *Cionura erecta* (L.) Griesebach [2] (*Asclepiadaceae*) ist ein im Balkan und Vorderen Orient heimischer Strauch (vgl. Fig. 1 und 2). *Browicz* [2] gibt die Verbreitung an und zählt auch gute Gründe dafür auf, die Pflanze in die monotypische Gattung *Cionura* zu stellen. Wir verwenden hier trotzdem den älteren Namen. Die Pflanze ist toxisch, verursacht nach *Zerlentis* [3] oft tödliche Vergiftungen von Weidetieren und Keimhemmung bei Rotklee und anderen Pflanzen. Sowohl oberirdische Teile [3] wie Wurzeln [4] enthalten Glykoside, die ähnliche Eigenschaften besitzen wie das aus *Marsdenia condurango* erhaltene Condurangin [5], [6]. Isolierung einheitlicher Stoffe oder reiner Bruchstücke ist bisher vermutlich nicht erfolgt.

Im Zusammenhang mit systematischen Untersuchungen über die Glykoside verschiedener *Asclepiadaceen* konnten wir in letzter Zeit auch die Glykoside der Blätter von *Marsdenia erecta* analysieren und berichten im folgenden über die erhaltenen Resultate.

2. Beschaffung des Ausgangsmaterials. – Oberirdische Teile von *Marsdenia erecta* wurden von C. *Zerlentis* am 10. 9. 1965 in Kalkgeröll bei ca. 400 m am Südhang des Berges Parnis bei Metochi (ca. 19 km nördlich Athens) gesammelt und in Athen bei 25° getrocknet. Das Material (2,2 kg) erreichte uns in Basel am 13. Sept. 1965 in ausgezeichnetem Zustand. 300 g Früchte und Samen wurden abgetrennt, ebenso 1,4 kg Blätter, es verblieben 400 g Zweige. Zur Untersuchung wurden 1,2 kg Blätter in 2 Portionen extrahiert.

¹⁾ 324. Mitt. vgl. *Lardon, Stöckel & Reichstein* [1].



Fig.1. *Marsdenia erecta* R. Br.

Ca. 8 km nördlich Titov Velez westl. der Strasse nach Skoplje, Makedonien, Jugoslawien. Auf Serpentin, ca. 200 m, sehr lokal aber hier dominierend. Photo T. R. 17. Juni 1967



Fig.2. *Marsdenia erecta*

Blühender Zweig an gleicher Stelle wie Fig.1. Photo T. R. 17. Juni 1967. Zugehöriges Herbarmuster TR-2012, leg. E. Mayer, U. Mayer, K. Micewsky, H. Vent & T. Reichstein, wird im Botan. Inst. der Univ. Basel deponiert,

3. Extraktion und Vortrennung der Extrakte. – Die Blätter wurden in der Schlagmühle pulverisiert, mit $2\frac{1}{2}$ Teilen Wasser 2 Std. geweicht und anschliessend mit wässrigem Alkohol nach früherer Vorschrift [7], aber ohne Reinigung mit $Pb(OH)_2$, extrahiert und durch fraktioniertes Ausschütteln mit Petroläther, Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen grob in 5 Extrakte zunehmender Polarität aufgetrennt. Ausser dem Pe-Extrakt wurden im ersten Versuch alle Auszüge zur Entfernung von Säuren und Phenolen bei 0° mit 2N NaOH gewaschen. Über die Ausbeuten orientiert Tab.1.

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten²⁾

Art des Extraktes	Versuch 1 (200 g)		Versuch 2 (1,2 kg)		Kedde- Reaktion [8] ³⁾	Xanthy- drol- Reaktion [9] ⁴⁾	SbCl ₃ [10] ⁵⁾
	Ausbeute in g	in %	Ausbeute in g	in %			
Pe-Extr.	13,0 ⁶⁾	6,52	27,8	2,72			
Ae-Extr.	6,44	3,22	34,5	3,42	–	+	+
Chf-Extr.	2,61	1,31	8,12 ⁶⁾	0,83	–	+	+
Chf-Alk-(2:1)-Extr.	0,63	0,32	24,09 ⁶⁾	2,38	–	+	+
Chf-Alk-(3:2)-Extr.	0,18	0,09			±	+	
Säuren + Phenole aus Ae-Extr.	0,25	0,12	1,21	0,12			
" " " " Chf-Extr.	0,17	0,08					
" " " " Chf-Alk-(2:1)	0,97	0,49					
" " " " Chf-Alk-(3:2)	0,17	0,08					

4. Untersuchung des Äther-Extrakts. – Bisher wurde nur der neutrale Ae-Extrakt weiter untersucht, der die Hauptmenge der Glykoside enthielt. Papierchromatographie (PC.) und Dünnschichtchromatographie (DC.) gaben kein befriedigendes Resultat. Auf die präparative Trennung der intakten Glykoside wurde verzichtet und die Hauptmenge des Materials in 3 Portionen durch milde saure Hydrolyse [11] gespalten. Unter den verwendeten Bedingungen [11] werden praktisch nur die Glykoside von 2-Desoxyzuckern hydrolysiert. Beim fraktionierten Ausschütteln wurden die in Tab. 2 genannten Mengen an rohen Geninen erhalten. Es handelt sich um teilweise acylierte Stoffe (rohe «Acylgenine»⁷⁾).

Tabelle 2. Ausbeuten an rohen Spaltstücken («Acylgenine» u. Zucker) aus Ae-Extr.

Eingesetzte Menge Ae-Extr.	Rohe Acylgenine				Rohe Zucker	
	Chf-Auszug		Chf-Alk-(2:1)-Auszug ⁷⁾		in g	in %
	in g	in %	in g	in %	in g	in %
1,14 g (aus Vers. I)	0,66	57,8	0,05	4,4	1,85	7,25
14,42 g (" " II)	11,83	81,9	0,61	4,2	acetonlöslich	
10,01 g (" ")	6,87	68,7	2,03	20,3	1,06	4,2
					{	(acetonunlöslich) ⁸⁾

25,57 g total

Beide Anteile wurden separat untersucht.

- 2) Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.
- 3) Dies Reagens gibt mit allen Butenoliden blauviolette Flecke, Empfindlichkeit beim Tüpfeln ca. 0,002 mg.
- 4) Dies Reagens gibt mit allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden eine rote Färbung, Empfindlichkeit in kleinem Glasrohr ca. 0,01 mg.
- 5) Unspezifisches Reagens, gibt hier meist graublau Flecke.
- 6) Nicht mit NaOH gewaschen.
- 7) Da die Genine teilweise sehr stark wasserlöslich waren und ein Teil der Zucker sich bereits mit Chf-Alk-(2:1) ausschütteln liess, war die Trennung unvollständig. Die Chf-Alk-(2:1)-Auszüge enthielten merkliche Mengen von Zuckern und Methylglykosiden (Artefakte). Umgekehrt war ein Teil der Genine mit Chf-Alk-(2:1) nicht ausgeschüttelt worden und verblieb im rohen Zuckergemisch, besonders in den in Aceton unlöslichen Anteilen.
- 8) Dieser Teil enthielt viel Genine, besonders Marssectohexol (Q).

4.1. *Untersuchung der Zucker.* Dies Material enthielt ausser freien Zuckern noch hoch polare Genine (besonders Genin Q). Es wurde durch Chromatographie an SiO_2 getrennt, wobei sich vier krist. Zucker (D -Cymarose, D -Oleandrose, Pachybiose und Marsectobiose) sowie Marsectohexol (Q) in Kristallen isolieren liessen. Ferner liessen sich durch PC., DC. und Papierelektrophorese (PE.) vier weitere Zucker (Digitoxose, Thevetose, 3-O-Methyl-6-desoxyallose und wenig Canarose) nachweisen, auf deren Isolierung verzichtet wurde. Von den genannten Zuckern stellte Marsectobiose ein neues Disaccharid dar, dessen Struktur als 4-O-(β -D-Thevetopyranosyl)-D-oleandrose ermittelt wurde [12].

4.2. *Untersuchung der Acylgenine.* Nach DC. (vgl. Fig. 3) lagen schwer trennbare Gemische vor; es wurden sehr viele Flecke erhalten, die nach Sprühen mit p -Toluolsulfonsäure und Erhitzen teilweise stark verschiedene Färbungen gaben, was die Erkennung erleichterte.

4.2.1. *Trennung der chloroformlöslichen Anteile.* Von diesem Material, das die Hauptmenge der Acylgenine darstellte, wurde eine Probe präparativ getrennt. Dazu musste wiederholt in verschiedenen Systemen an SiO_2 , teilweise auch an Al_2O_3 , unter ständiger Kontrolle durch DC. chromatographiert werden. Dabei gelang es, folgende sieben Kristallisate zu gewinnen. A1, A2, A3, A4, A5, Marsectohexol (Q) und β -Sitosteryl- β -D-glucopyranosid (T). Von diesen stellen A1–A5 Acylgenine dar, von denen aber mindestens A1 und A2 noch Gemische von zwei nahe verwandten Stoffen sind. A1 und A2 stellen die Hauptkomponenten der rohen Acylgenine dar, ihre vermutliche Struktur ist weitgehend abgeklärt (vgl. folgende Publikation [14]); auch über die Struktur von A3, A4 und A5 lassen sich begründete Strukturvorschläge machen (vgl. [14]).

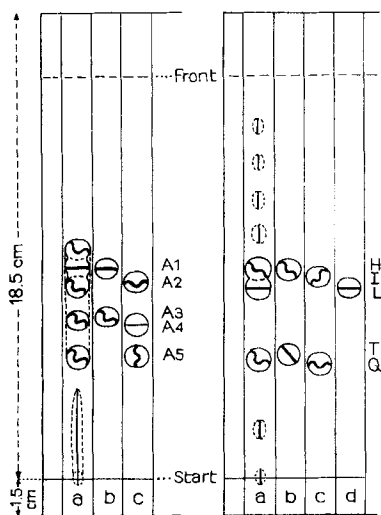


Fig. 3.
Chf-iPr-(93:7)
80 Min.
Acylgenine

Fig. 4.
Chf-iPr-(9:1)
60 Min.
Desacylgenine

Die Figuren 3–4 geben Beispiele für Dünnschichtchromatogramme. Ausführung aufsteigend an Silicagel G («Merck») auf Linienglas [13]. Sichtbarmachung durch Sprühen mit 20-proz. p -Toluolsulfonsäure in Me und anschliessendes Erhitzen auf ca. 110° (ca. 5 Min.) bis die Farben möglichst deutlich auftreten. Sie ändern sich besonders am Anfang stark. Die entstehenden Färbungen sind wie folgt angedeutet: \odot = gelb, \ominus = rot, \otimes = violett, \oplus = blau, \otimes = grün, \otimes = grau, \otimes = braun.

Fig. 3a = Chloroformlösli. Acylgenine (Gemisch),
3b, c = reine Komponenten

Fig. 4a = Gemisch der Desacylgenine,
4b, c, d = reine Komponenten

4.2.2. *Untersuchung der Chloroform-Alkohol-(2:1)-löslichen Anteile.* Dieses hochpolare, nur in kleiner Menge erhaltene Material enthielt nach DC. noch reichliche Mengen an Zuckern (besonders Cymarose, Oleandrose u. Methylglykoside) sowie freies Marssectohexol (Q). Von letzterem wurde ein Teil in Kristallen isoliert, der Rest nicht untersucht.

4.3. *Alkalische Verseifung der Acylgenine.* Um einen weiteren Einblick in den Bau der Stoffe zu erhalten, wurde ein Teil der rohen Acylgenine (12,35 g, entspr. 450 g getrockneten Blättern) in zwei Versuchen einer alkalischen Hydrolyse unterworfen. Erhalten wurden total:

0,384 g Pentan-Äther-lösliche Neutralstoffe (nicht untersucht),

1,45 g Pentan-Äther-lösliche Säuren,

8,50 g Rohe Genine, vorwiegend hoch polar.

Daneben entstand etwas Essigsäure, deren Menge nicht bestimmt wurde.

4.4. *Trennung der Säuren.* Die rohen Säuren bestanden aus Essigsäure (im wasserlöslichen Teil), Tiglinsäure und Benzoessäure, neben wenig Myristinsäure und drei weiteren, nicht identifizierten Komponenten. Präparative Chromatographie an SiO_2 und Sublimation gab krist. Tiglinsäure und Benzoessäure.

4.5. *Trennung der Desacylgenine.* Die rohen Desacylgenine zeigten im PC. und DC. ca. 7–8 Flecke (vgl. Fig. 4). Durch wiederholte Chromatographie an SiO_2 , sowie teilweise präparative Papierchromatographie, liessen sich drei Desacylgenine (L, H und I) in reinen Kristallen und zwei weitere (Q und T) in Form krist. Konzentrate gewinnen. Q konnte über sein krist. Tri-O-acetylderivat in reiner Form gewonnen werden⁹⁾. Nur T wurde bisher nicht ganz rein erhalten, lieferte aber auch ein einheitliches krist. O-Acetylderivat. Von diesen 5 Stoffen wurden drei mit bekannten Verbindungen identifiziert, es sind dies L = 17-*iso*-Drevogenin-P [15], H = Marsdenin [16] und T = β -Sitosteryl- β -D-glucopyranosid [17]. Die zwei anderen stellen neue Stoffe dar, denen wir die folgenden Trivialnamen gaben: I = 17 β -Marsdenin und Q = Marssectohexol.

Marsdenin (H) ist ein Raumisomeres des 17 β -Marsdenins (I) und wird in unserem Fall höchstwahrscheinlich erst bei der alkalischen Hydrolyse aus I gebildet [14]. Auf Grund der optischen Rotationsdispersion (ORD.) leiten sich die Acylgenine A2, A3 und A4 vom 17 β -Marsdenin ab, auch wenn sie nach alkalischer Hydrolyse vorwiegend das 17 α -Derivat (Marsdenin) geben. Die Reihenfolge zunehmender Polarität an SiO_2 entspricht H, I, L, Q, T.

Die wichtigsten Kennzahlen der isolierten Acylgenine und Desacylgenine sind in Tab. 3 zusammengestellt. Die UV.-Spektren finden sich in den Fig. 5 und 6 und die IR.-Spektren in den Fig. 7–16. In einigen Fällen konnten auch NMR.- und Massenspektren aufgenommen werden. Sie werden in der folgenden Mitteilung [14] besprochen, in der über Versuche zur Strukturbestimmung berichtet wird. Keine der Strukturen konnte sicher bewiesen werden. Mit Hilfe der Spektren liessen sich aber hypothetische Formeln aufstellen, welche die Eigenschaften der Stoffe befriedigend zu erklären vermögen. Sie werden hier in die Figuren bereits eingesetzt.

⁹⁾ Wir danken Herrn Dr. J. v. Euw auch hier für die Bereitung von reinem Q = Marssectohexol. Bei der Acetylierung von rohem Marssectohexol (Q) wurden neben reinem Tri-O-acetyl-Q (AS-24) noch drei schwächer polare Kristallisate erhalten, die in abnehmender Polarität als AS-32 (Gemisch); AS-25 und AS-26 bezeichnet wurden. Es liegen ihnen vermutlich noch andere Genine zugrunde.

Tabelle 3. Wichtigste Kennzahlen der isolierten Stoffe
(A = Acylgenine; H, I, L, Q, T = freie Genine)

Bezeichnung (Präp. Nr.) ev. Identifizierung	bekannt [Lit.]	Smp. $[\alpha]_D^{19}$ oder Cotton-Effekt ¹¹⁾ (Extrema)	Bewiesene oder (in Klammern) vermutliche Bruttoformeln ¹²⁾	NaJO ₄ Benzidin [18]	Spaltstücke nach alkalischer Hydrolyse	Isolierte Menge (roh) aus 120 g Blättern in mg	Schätzung der in 100 g Blättern wirklich enthaltenen Menge in mg
A1 (AS-15) Gemisch	-	143-145° $\alpha = +50^\circ$ Me (304; 270)	C ₃₀ H ₃₈ O ₇ (510,60) C ₂₈ H ₄₀ O ₇ (488,60)		Drevogenin-P u. 17-iso-P	144	280
A2 (AS-19) Gemisch	-	170-174° $\alpha = +34,5^\circ$ Me (304; 273)	C ₃₀ H ₃₈ O ₈ (526,60) C ₂₈ H ₄₀ O ₈ (504,60)		17 β -Marsdenin u. Marsdenin	71	140
A3 (AS-17)	-	144-147° $\alpha = +43,8^\circ$ Di (308; 270)	(C ₃₁ H ₄₄ O ₈ ?) (544,65)		17 β -Marsdenin u. Marsdenin	15	50
A4 (AS-18) Gemisch	-	171-172° [-34° ± 6° Di] kein Cotton-Effekt	(C ₂₈ H ₃₈ O ₇ ?) (462,56) (C ₂₈ H ₃₈ O ₇ ?) (484,57) u. andere		17 β -Marsdenin u. Marsdenin	18	50
A5 (AS-16)	-	144-150° [+21,8° ± 2° Chf]	C ₂₅ H ₃₈ O ₈ (466,55)		Marssectohexol (Q)	71	150
H (AS-9) Marsdenin (17-iso-Marssectogenin)	+ [16]	263-266° [-9,0° ± 2° Me] $\alpha = -73^\circ$ ¹³⁾	C ₂₁ H ₃₂ O ₆ (380,48)	+	-	740	entsteht aus I
I (AS-14) 17 β -Marsdenin	-	220-224° [+81,6° ± 4° Me] $\alpha = +41,3^\circ$ Me	C ₂₁ H ₃₈ O ₆ (380,48)	+	-	120	350
						aus 480 g Blättern	

L (AS-10) 17-iso-Drevoenin-P	+	[15]	180–204° [– 50,3° ± 4° Me]	C ₂₁ H ₃₂ O ₅ (364,48)	+	–	223	200 entsteht aus Drevoenin-P
Q (AS-11) Marsctohexol (TR-1404)	–		324–325° [+ 51° ± 1° Py]	C ₂₁ H ₃₄ O ₆ (382,48)	+	–	193	150
T (AS-12) β-Sitosteryl-β-D- glucopyranosid (nicht rein)	+	[17]	296–302° [– 34,1° ± 4° Py]	C ₃₈ H ₆₀ O ₆ (576,83)	+	–	220	150
aus 742 g Blättern								
D-Cymarose (AS-30)	+	[20]	59–70° [+ 60° ± 4° W]	C ₇ H ₁₄ O ₄ (162,18)	–	–	230	120
D-Oleandrose (AS-31)	+	[21]	56–62° [– 10,5° ± 2° W]	C ₇ H ₁₄ O ₄ (162,18)	–	–	50	40
Pachybiose (AS-29)	+	[22]	153–156° [– 9,4° ± 2° W]	C ₁₄ H ₂₈ O ₈ (322,36)	–	–	112	60
Marsctobiose (AS-22)	–	[12]	136–140° [– 10,5° ± 2° W]	C ₁₄ H ₂₈ O ₈ (322,36)	–	–	120	60
aus 300 g Blättern								
Benzoessäure	+		111–113°	C ₇ H ₆ O ₂ (122,12)	–	–	60	50
Tiglinsäure	+		56– 58°	C ₉ H ₈ O ₂ (100,12)	–	–	200	100

¹⁰) Eigene Werte.

¹¹) $a = 0,01 \times \text{Amplitude}$ [19].

¹²) Bei den Acylgeninen A1–A5 sind die vermutlichen Bruttoformeln (der Komponenten in Gemischen) nur auf Grund der Spaltstücke, der UV-Spektren, und bei A1, A2 und A5 der Massenspektren erschlossen.

¹³) Von uns gefundener Wert. Das kurzwellige Extremum war nur als Schulter bei ca. 250–260 nm sichtbar, daher kann seine genaue Lage nicht angegeben werden. *Hayashi & Mitsuhashi* [16] fanden $a = -88,1^\circ$.

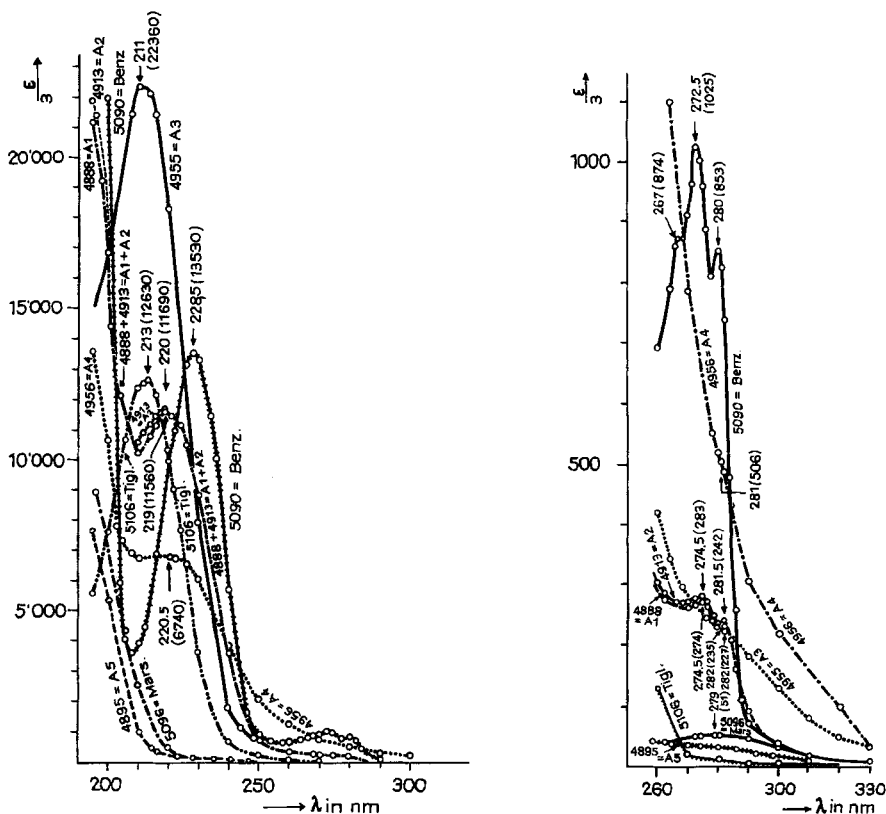
Fig. 5 und 6. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol¹⁴⁾

Fig. 5, ganzer gemessener Bereich; Fig. 6, nur langwelliger Bereich derselben Kurven in grösserem Masstab, zeigt besonders die Absorption der Benzoylgruppen im 270–285 nm-Gebiet.

Kurve 4888 = Acylgenin A1 (Präp. AS-15), Gemisch von $C_{30}H_{38}O_7$ (510,63) mit $C_{28}H_{40}O_7$ (488,63): Bei 195 nm $\epsilon = 21180$; $\lambda_{max}^{Alk} = 219$ nm ($\epsilon = 11560$); 274,5 ($\epsilon = 274$); 282 ($\epsilon = 235$). Ber. auf $M = 500$

Kurve 4913 = Acylgenin A2 (Präp. AS-19), Gemisch von $C_{30}H_{38}O_8$ (526,63) mit $C_{28}H_{40}O_8$ (504,63): Bei 195 nm $\epsilon = 21815$; $\lambda_{max}^{Alk} = 220$ nm ($\epsilon = 11690$); 274,5 ($\epsilon = 283$); 281,5 ($\epsilon = 242$) Ber. auf $M = 515$

Kurve 4955 = Acylgenin A3 (Präp. AS-17), möglicherweise Gemisch, mit 11,12-Di-O-tiglyl-17 β -marsdenin als Hauptkomponente, $C_{31}H_{44}O_8$ (544,67). Dafür berechnen sich folgende ϵ -Werte: Bei 195 nm $\epsilon = 14900$; $\lambda_{max}^{Alk} = 211$ nm ($\epsilon = 22360$); Schulter bei 282 ($\epsilon = 227$)

Kurve 4956 = Acylgenin A4 (Präp. AS-18), vermutl. Gemisch. Für Mol.-Gew. = 470 berechnen sich folgende ϵ -Werte: Bei 195 nm $\epsilon = 13650$; $\lambda_{max}^{Alk} = 220,5$ nm ($\epsilon = 6740$); Schulter bei 281 nm ($\epsilon = 506$)

Kurve 4895 = Acylgenin A5 (Präp. AS-16) = 11,12-Di-O-acetyl-marsectohexol $C_{25}H_{38}O_8$ (466,55): Bei 196 nm $\epsilon = 7600$; keine Maxima im messbaren Bereich

Kurve 5090 = Benzoesäure-methylester $C_9H_{10}O_2$ (150,5) zum Vergleich: Bei 195 nm $\epsilon = 43580$; $\lambda_{max}^{Alk} = 228,5$ ($\epsilon = 13530$); 267 (Schulter $\epsilon = 874$); 272,5 ($\epsilon = 1025$); 280 ($\epsilon = 853$); vgl. Nr. 20 und 30 sowie p. 323 im Spektrenatlas [23]

¹⁴⁾ Aufgenommen von Herrn K. Aegerter im Spektrollabor unseres Instituts auf einem Beckman-Spektrophotometer, Modell DK-2. Grenze der Messbarkeit in Alk bei 195 nm.

Kurve 5106 = Tiglinsäure $C_6H_8O_2$ (100,11) zum Vergleich: Bei 195 nm $\epsilon = 5520$; $\lambda_{max}^{Alk} = 213$ nm ($\epsilon = 12630$); vgl. Nielsen [24] und frühere Lit. daselbst, sowie [25]

Kurve 5096 = 17 β -Marsdenin (Präp. AS-14) $C_{21}H_{32}O_8$ (380,47): Bei 196 nm $\epsilon = 8942$; $\lambda_{max}^{Alk} = 279$ nm ($\epsilon = 51$)

5. Biologische Prüfung. – Die CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, hatte die Freundlichkeit, die rohen Extrakte (vgl. Tab.1) an Mastocytom-P-815-Zellen *in vitro* auf cytostatische Wirkung zu prüfen, vgl. Tab.4.

Tabelle 4. Biologische Prüfung von Extrakten aus Tab.1

Art des Extraktes	ED. 50 in $\mu\text{g/ml}$
Ae-Extrakt	30
Chf-Extrakt	13
Säuren und Phenole aus Ae-Extrakt	24
” ” ” ” Chf-Extrakt	18
” ” ” ” Chf-Alk-Extrakt	unwirksam

Diese Aktivitäten müssen als relativ schwach bezeichnet werden und haben kein praktisches Interesse¹⁵⁾.

6. Schlussfolgerungen. – Die Hauptmenge des Glykosidgemisches aus den Blättern besteht aus Esterglykosiden. Es liegen ihnen hoch hydroxylierte Pregnanderivate zu Grunde, vor allem Drevogenin-P, 17 β -Marsdenin und Marssectohexol. Die zwei letzten sind neu. Diese Genine sind mit verschiedenen Säuren, insbesondere Essigsäure, Tiglinsäure und Benzoesäure, verestert und (vermutlich in 3-Stellung) mit einer Reihe von Zuckern zu Di- oder Oligosacchariden verknüpft. Als Zucker liegen vor allem D-Cymarose, D-Oleandrose, D-Thevetose (= 3-O-Methyl-6-desoxy-D-glucose) und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose vor, in kleinen Mengen auch Digitoxose (= 2,6-Didesoxy-ribohexose) und Canarose (= 2,6-Didesoxy-arabinohexose). Von diesen Zuckern sind auch zwei in Form von Disacchariden (Pachybiose und Marssectobiose) isoliert wor-

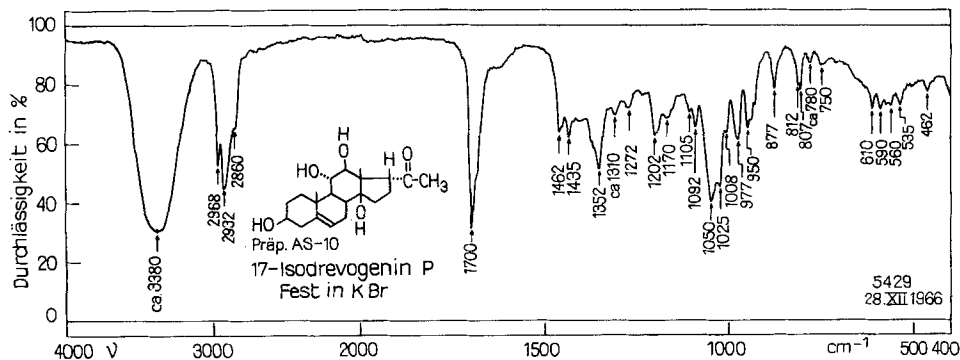


Fig.7. IR.-Absorptionsspektrum von 17-iso-Drevogenin-P (Präp. AS-10), Smp. 176–202°. 0,74 mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾

¹⁵⁾ Wir danken Herrn PD Dr. R.Hess in den Biologischen Laboratorien der CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, auch hier bestens für die Ausführung dieser Prüfung.

¹⁶⁾ Aufgenommen von Herrn K.Aegerter im Spektallabor unseres Instituts auf einem Perkin-Elmer-IR.-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

den. Bei der alkalischen Verseifung wurden Drevogenin-P und 17β -Marsdenin weitgehend in ihre 17 -*iso*-Derivate umgelagert, die bei der Aufarbeitung daher in grösseren Mengen anfallen, aber vorwiegend Artefacte darstellen dürften.

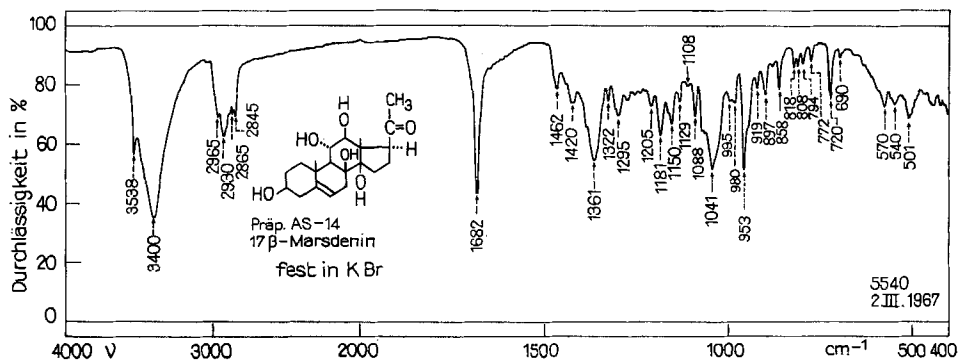


Fig. 8. IR.-Absorptionsspektrum von 17β -Marsdenin (Präp. AS-14), Smp. 220 – 224° . $0,63$ mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾

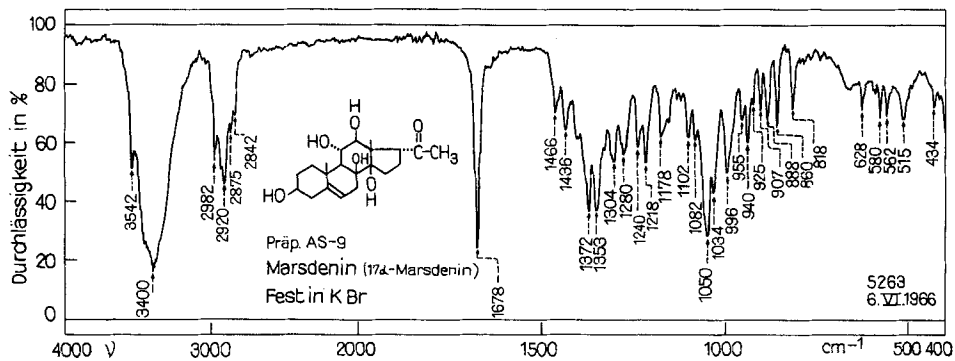


Fig. 9. IR.-Absorptionsspektrum Marsdenin (= 17α -Marsdenin) (Präp. AS-9), Smp. 258 – 262° . $0,81$ mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾

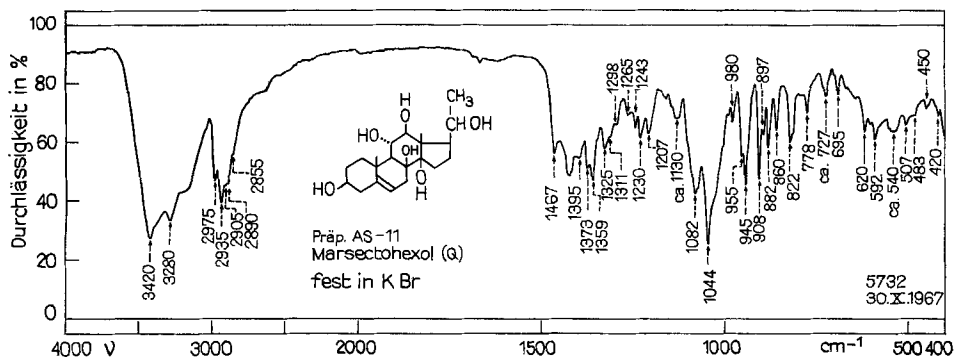


Fig. 10. IR.-Absorptionsspektrum von Marssectohexol (Q) (Präp. AS-11), Smp. 312 – 316° . $0,75$ mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾. Das reine Präp. TR-1404, Smp. 323 – 325° , gab ein fast identisches Spektrum (Nr. 6251)

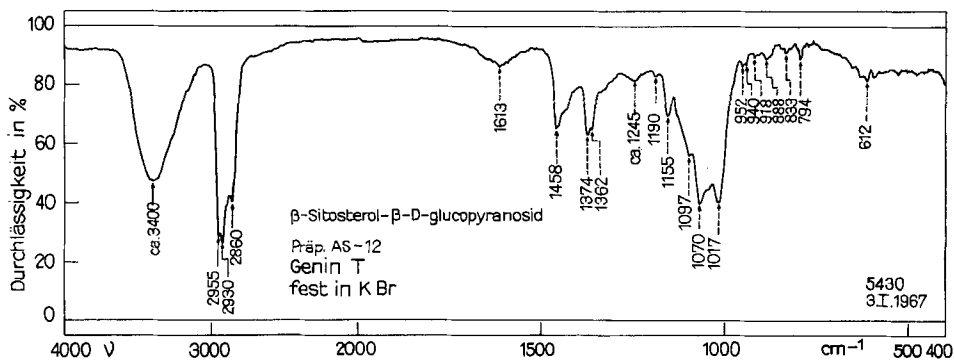


Fig. 11. IR.-Absorptionsspektrum von β -Sitosteryl- β -D-glucopyranosid (T) (Präp. AS-12), Smp. 285–290°, vermutlich nicht ganz rein. 0,78 mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾

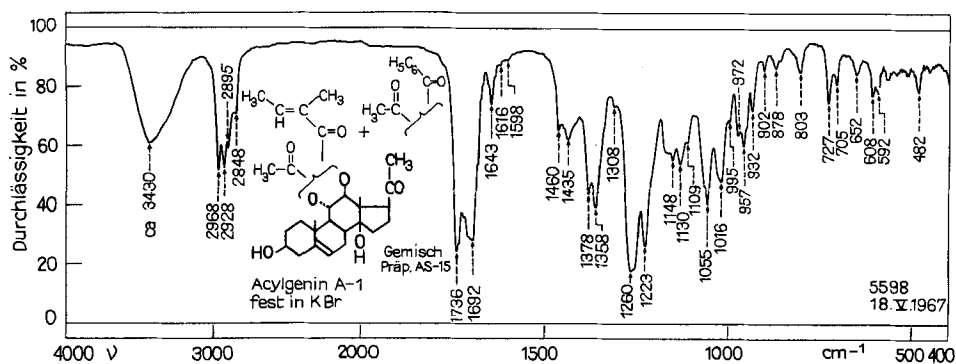


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum von Acylgenin A 1 (Präp. AS-15), Smp. 143–145°. 0,99 mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾

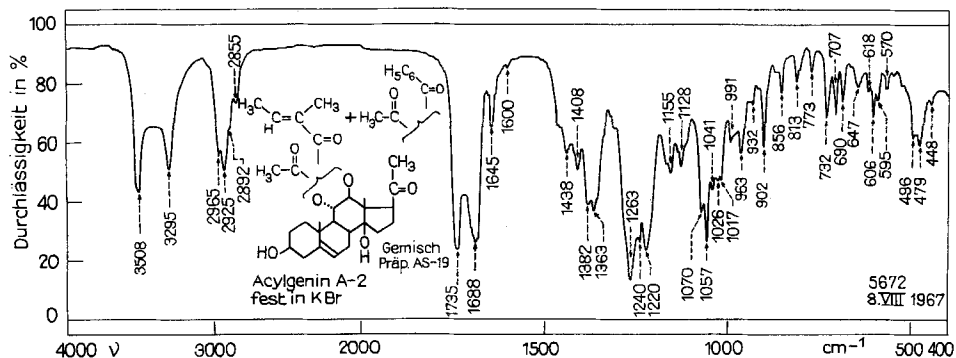


Fig. 13. IR.-Absorptionsspektrum von Acylgenin A 2 (Präp. AS-19), Smp. 170–174°. 1,0 mg fest in ca. 300 mg KBr¹⁶⁾. In der Formel fehlt irrtümlicherweise die HO-Gruppe an C-8

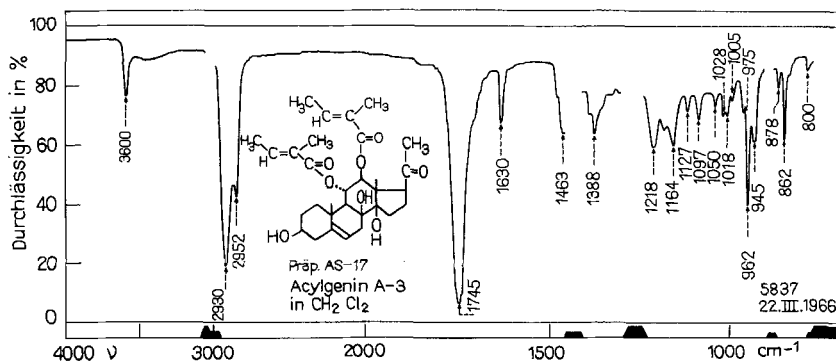


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum von Acylgenin A3 (Präp. AS-17), Smp. 144–147°. 0,06 m in CH_2Cl_2 (4,28 mg in 0,16 ml), $d = 0,2 \text{ mm}^{16}$)

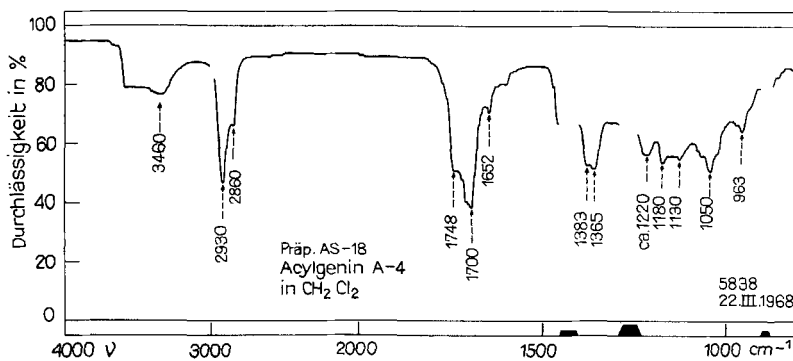


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum von Acylgenin A4 (Präp. AS-18), Smp. 171–172°. ca. 0,06 m in CH_2Cl_2 , $d = 0,2 \text{ mm}^{16}$)

Versuchsweise Deutung¹⁷⁾: 506, 494 und 480 vermutl. Spuren von Verunreinigungen. 466 = M ; 448 = $M - \text{H}_2\text{O}$ (m^* gef. 430,5; ber. 430,7); 430 = 448 – H_2O (m^* gef. 412,5; ber. 412,7); 422 = 466 – $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (Seitenkette); 406 = 466 – AcOH (m^* gef. 354; ber. 353,7); 404 = 422 – H_2O ; 388 = 448 – AcOH (m^* gef. 336,5; ber. 336,0) und 406 – H_2O (m^* gef. 370,5; ber. 370,8); 370 = 388 – H_2O ; 362 = 404 – $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (m^* gef. 324; ber. 324,4); 346 = 406 – AcOH (m^* gef. 294,5; ber. 294,9); 328 = 388 – AcOH (m^* gef. 278; ber. 277,3) und 346 – H_2O , vermutl. auch rechtes Retro-Diels-Alder-Fragment $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_5^{18}$); 313 = 328 – CH_3 ; 311 = 328 – HO; 310 = 328 – H_2O ; 302 = 346 – $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$; 295 = 310 – CH_3 ; 285 = 346 – AcOH – 1 (m^* gef. 234,3; ber. 234,7); 284 = 328 – $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ und 302 – H_2O ; 269 = 328 (rechtes Retro-Diels-Alder-Fragment) – AcOH + H; 268 = 328 – AcOH; 251 = 268 – HO (m^* gef. 234,5; ber. 235,1); 231 = ?; 222 = 268 – $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$; 209 = 251 – $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ (Keten); 191 = 251 – AcOH; 138 = linkes Retro-Diels-Alder-Fragment ($\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}$)¹⁸⁾; 121 = 138 – HO; 120 = 138 – H_2O ; 105 = 120 – CH_3

¹⁷⁾ Bezieht sich auf Fig. 17; vgl. dazu Massenspektrum von Marssectohexol (Q) [14].

¹⁸⁾ Vgl. dazu die Massenspektren von Lineolon und anderen Δ^5 -Steroiden mit HO-Gruppen an C-8 bei Kapur *et al.* [26].

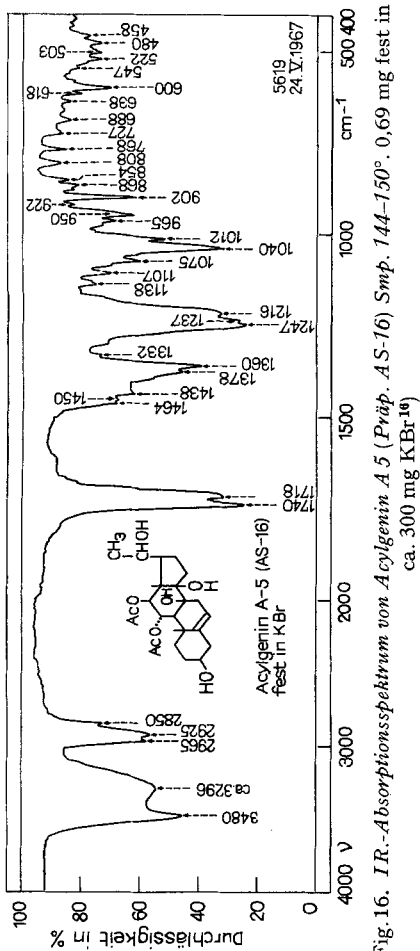


Fig. 16. IR-Absorptionsspektrum von Acygenin A 5 (Präp. AS-16) Smp. 144-150°. 0,69 mg fest in ca. 300 mg KBr₁₆

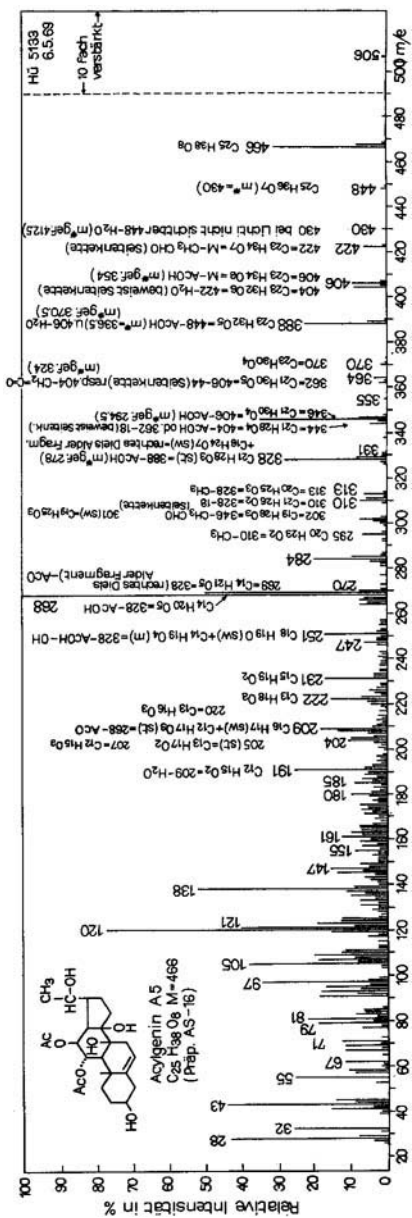


Fig. 17. Massenspektrum von Acygenin A 5 (Präp. AS-16) = 11,12-Di-O-acetyl-marssetohexol, Smp. 144-150°¹⁹

In der Formel fehlt irrtümlicherweise die Methylgruppe an C-18

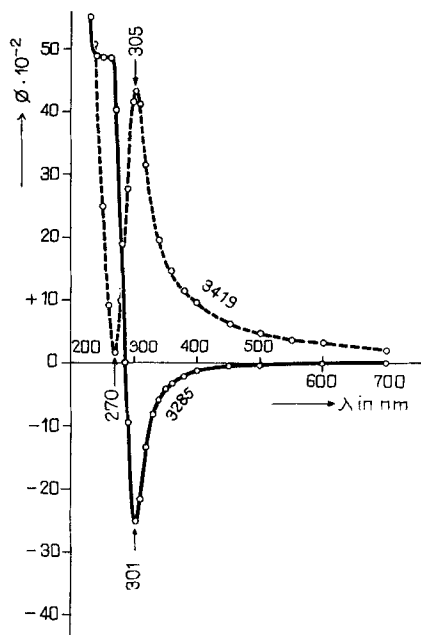


Fig. 18. *Optische Rotationsdispersion in Methanol*¹⁹⁾

Kurve 3419 = *17β-Marsdenin* $C_{21}H_{32}O_6$ (380,5), mit Gipfel bei 304–306 nm mit $[\alpha] = +1127^\circ \pm 5^\circ$ und Tal bei 270–271 nm mit $[\alpha] = +40^\circ \pm 5^\circ$

Kurve 3285 = *Marsdenin* (= *17α-Marsdenin*) $C_{21}H_{32}O_6$ (380,5), mit Tal bei 302–304 nm mit $[\alpha] = -666^\circ \pm 5^\circ$, kein Gipfel sichtbar aber deutliche Schulter bei 250–260 nm mit $[\alpha] = +1270^\circ$

Der eine von uns (A.S.) dankt der *Stiftung für Stipendien auf dem Gebiete der Chemie* für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit ermöglichte, ferner danken wir dem *Schweizerischen Nationalfonds* für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Allgemeine Angaben. – Alle *Smp.* sind auf dem *Kofler-Block* bestimmt und korrigiert. *Substanzproben* für die Spektren und zur Bestimmung der Drehung wurden 2 Std. bei 60° und 0,01 Torr getrocknet.

Zur *Adsorptionschromatographie* diente Kieselgel «*Merck*», Korngrösse 0,05–0,2 mm, oder Al_2O_3 «*Woelm*» neutral, Akt.-Stufe III zur Chromatographie. Ausführung der DC. auf Linienglas

¹⁹⁾ Wir danken Herrn Dr. *H. Hürzeler*, Physikal. Abt. der *CIBA-Aktiengesellschaft*, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums und seine Hilfe bei der Interpretation. Zur Aufnahme diente ein *Atlas-Massenspektrometer* CH-4 mit direktem Einlass-System, Elektronen-Energie 70 eV. *m** = metastabile Ionen. – Ferner danken wir Herrn Dr. *H. Lichti*, Forschungslaboratorien der *Sandoz AG*, Basel, auch hier vielmals für die Aufnahme eines weiteren Massenspektrums mit hoher Auflösung auf einem CEC-Massenspektrometer 21-110B, und Vermessung vieler wichtiger Spitzen durch Aufnahme einer Photoplatte (Nr. 125, 6. VI. 1969) mit Berechnung der Formeln durch einen Computer. Die gefundenen Bruttoformeln wurden in Fig. 17 direkt eingesetzt.

²⁰⁾ Aufgenommen von Herrn Dr. *F. Burkhardt* im Physikalabor der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel auf einem selbstgebauten Spektropolarimeter, der Messungen im Bereich von 235 bis 700 nm erlaubt, wobei die Fehlergrenze des gemessenen Winkels innerhalb $0,003^\circ$ liegt. Wir danken Herrn Dr. *Burkhardt* auch hier für diese Aufnahme.

[13] mit Kieselgel G «Merck» oder Al_2O_3 (wie oben). Ausführung der PC. auf *Whatman*-Papier Nr. 1, absteigend [27], das bei Imprägnierung [28] mit 33% W beladen war; die Rf-Werte sind dann sehr gut reproduzierbar. Sichtbarmachung der Flecke auf Papier bei Glykosiden mit SbCl_5 [10], bei 2-Desoxyzuckern mit Vanillin-Perchlorsäure [29], bei normalen Zuckern mit PAH-Reagens (1,5 g *p*-Aminohippursäure, 15 g Phtalsäure und 500 ml Alk) [30], bei Säuren 10-proz. $\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$ in Alk, oder Universalindikatorlösung «Merck» vom pH = 9 [31]. Anschliessend wurde bis zum Auftreten der Flecke auf ca. 110° erhitzt. Für DC. diente 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk oder 10-proz. $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ in 2N H_2SO_4 [32] oder 50-proz. H_2SO_4 in W und Erhitzen bis zum Auftreten der Flecke (ca. 110°). Zur Sichtbarmachung von Zuckern und Säuren wurde gleich verfahren wie bei PC. Bei den DC. von Säuren wurde teilweise auch Fluoreszenzindikator (Zn-silicat K5 grün/1M) verwendet [33].

Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Ae-Chf-(3:1) (oder anderem Lösungsmittel, falls angegeben), Waschen mit 2N HCl, 2N Na_2CO_3 und W, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen.

Es werden folgende *Abkürzungen* benützt: AcOH = Eisessig, Ac_2O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC. = Dünnschichtchromatographie und Dünnschichtchromatogramm(e), Di = Dioxan, Eg = Äthylacetat, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en); GLC. = Gas-Chromatographie und Gas-Chromatogramm(e), iPr = Isopropanol, Me = Methanol, Mek = Butanon, ML. = eingedampfte Mutterlauge(n), n.u. = nicht untersucht, PC. = Papierchromatographie und Papierchromatogramm(e), Pe = Petroläther, PE. = Papirelectrophorese, Pn = Pentan, PTS. = *p*-Toluolsulfonsäure, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser.

3. Extraktion der Blätter. – *Versuch 1.* Die getrockneten Blätter von *Marsdenia erecta* wurden im Turmix pulverisiert. 199,4 g Pulver wurden mit 500 ml W angeteigt, 2 Std. bei 20° stehengelassen, mit 500 ml Alk versetzt und nach früherer Vorschrift [7], aber ohne Reinigung mit $\text{Pb}(\text{OH})_2$, extrahiert. Über das Resultat orientiert Tab. 1.

Versuch 2. 1,01 kg Blattpulver wurde analog extrahiert und gab die in Tab. 1 genannte Ausbeute.

4. Untersuchung des Äther-Extrakts. – *Milde saure Hydrolyse.* 25,57 g Ae-Extrakt wurden in 3 Versuchen nach Vorschrift [11] hydrolysiert. Sie gaben die in Tab. 2 genannten Ausbeuten an rohen Acylgeninen und rohen Zuckern.

4.1. *Trennung der Zucker.* Der rohe Zuckersirup (2,91 g) wurde erschöpfend mit An-Ae-(1:4) ausgerieben und lieferte 1,85 g darin lösliches Material, sowie 1,06 g unlöslichen Sirup. Ersteres enthielt nach PC. [34], DC. ([35] und Fig. 10 in [36]) und PE. [37] Cymarose, Oleandrose, Digitoxose und Canarose. Das in An-Ae unlösliche Material (1,06 g) gab aus wenig W zunächst etwas krist. Genin Q, nach Umkristallisieren aus Me, Smp. 309–312°. Die ML. enthielt nach PC. und DC. ausser viel Q noch Digitoxose, Thevetose und 3-O-Methyl-6-desoxyallose, stark polare Zucker waren nicht anwesend. Das Gemisch wurde aber präparativ nicht getrennt.

Das in An-Ae lösliche Zuckergemisch (1,85 g) wurde an 1 kg SiO_2 chromatographiert. Über das Resultat orientiert Tab. 5.

Die Fr. 81–118 wurden im Molekularkolben bei 0,03 Torr destilliert (Ölbad 60–70°). Das Destillat (114 mg) gab aus abs. Ae bei –10° farblose Kristalle von Cymarose. Nach Umkristallisieren 10 mg analysenreines Material, Smp. 59–70°.

Die Fr. 119–164 gaben wie oben 35 mg farbloses Destillat und daraus 8 mg krist. D-Oleandrose, Smp. 56–62°.

Die Fr. 172–212 gaben aus An-Ae 70 mg reine Pachybiose und die Fr. 233–275 analog 49 mg reine Marssectobiose.

Aus den Fr. 293–308 liessen sich 8 mg krist. Marssectohexol isolieren sowie 12 mg eines Zuckergemisches vom Smp. 112–114°.

4.2.1. *Trennung der schwächer polaren Acylgenine.* 6,87 g Chf-lösliche Acylgenine wurden an 600 g SiO_2 grob vorgetrennt. Über das Resultat orientiert Tab. 6.

Tabelle 5. Chromatographie von 1,85 g Zuckergemisch an 1 kg SiO₂

Fr.-Nr.	Eluiermittel 45 ml/Fr./40 Min.	Eindampfdruckstand		Kristalle Menge in mg	Smp. (aus)	[α] _D ²⁵ (in)
		Menge in mg	Flecke im PC. und DC. ²¹⁾			
1–30	Chf-Me-(96:4)	31	n. u.	–	–	–
31–69	" "	254	Methylglykoside	–	–	–
70–80	" "	207	"	–	–	–
81–98	" "	171	" + Cym	–	–	–
99–118	" "	66	Cym u. a.	18	59–70 (Ae)	+60° ± 4° (W)
119–134	" "	41	(Cym), Ole	–	–	–
135–146	" "	41	Ole	8	56–62	–10,5° ± 2° (W)
147–164	" -(95:5)	9	Ole + (Pach)	–	–	–
165–171	" "	36	(Ole) + Pach	–	–	–
172–181	" "	76	Pach	70	153–156 (An-Ae)	–94° ± 2° (W)
182–184	" "	17	Pach + Mars	–	–	–
185–212	" -(94:6)	24	(Pach) + Mars	49	136–140 (An-Ae-Pn)	–10,5° ± 2° (W)
213–222	" "	96	Mars	–	–	–
223–232	" -(93:7)	36	Mars + Dtox	–	–	–
233–246	" "	32	(Mars), Dtox, Mall	8	315–316 (Me) = Q	+10° ± 2° (W)
247–269	" "	47	Q (Can)	12	112–114 (An-Ae) (Zuckergemisch)	+47,4° ± 4° (Py)
270–275	" -(92:8)	135	(Mars), Dtox, Mall	–	–	–
276–292	" "	36	Q, (Can), Thev	–	–	–
293–300	" "	36	Mall + Thev	–	–	–
301–308	" "	13	Mall, (Thev)	–	–	–
309–312	" "	306	Mall, (Thev)	–	–	–
313–342	" -(91:9)	1674		–	–	+19,5° ± 4° (W)
343–351	" "			–	–	–
352–360	" -(90:10)			–	–	–
361–554	" "			–	–	–
	bis -(84:16)			–	–	–
Total eluiert		1674				

²¹⁾ In Klammern = schwache Flecke. Abkürzungen: Can = Canarose; Cym = Cymarose; Dtox = Digitoxose; Mall = 3-O-Methyl-6-desoxyallose; Mars = Marssectobiose [12]; Ole = Oleandrose; Pach = Pachybiose [22]; Q = Marssectohexol; Thev = Thevetose = 3-O-Methyl-6-desoxy-glucose.

Tabelle 6. *Chromatographie von 6,87 g Acylgeninen an 600 g SiO₂*

Fr.-Nr.	Eluiermittel 700 ml/Fr./50 Min.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Habitus	Bestandteile nach DC. Weitere Verarbeitung
1	Ae	93	gelbes Öl	
2	Ae-Ge-(98:2) ^{2b)}	320	schwarzgrünes Öl	
3	" " -(96:4)	1033	" "	Acylgenine Fr. 4, 6, 8
4	" " -(92:8)	1174	" Harz	(1,971 g) zur
5– 8	" " -(88:12)–(76:24)	1843	" "	Chromat.
9–10	" " -(72:28)–(68:32)	436	" "	Tab. 7
11–14	" " -(64:36)–(30:70)	420	braungelbes "	Freie Genine Fr. 11–13
15–21	Ge sowie Ge-Me-Gemische und reines Me	3505	braun- schwarzes "	usw. zur Isolierung von T.
Total		8824		

Die Fr. 4, 6 und 8 von Tab. 6 (total 1,971 g) wurden an 1000 g SiO₂ nach *Duncan* [38] chromatographiert. Über das Resultat orientiert Tab. 7.

Tabelle 7. *Chromatographie von 1,971 g Acylgeninen an 1 kg SiO₂*

Fr.-Nr.	Eluiermittel 50 ml/Fr./37 Min.	Eindampfrückstand		
		Menge in mg	Habitus	Weitere Verarbeitung
1– 27	Chf-iPr-(93,5:6,5)	84	gelbes Öl	–
28– 36	" " "	10	grünes Öl	–
37– 42	" " "	3	" Harz	–
43	" " "	50	braunes Harz	–
44– 47	" " "	309	grün, teilw. Krist.	Isolierung von A 1
48– 53	" " "	661	grüner Schaum	" " A 2
54– 59	" " "	200	grünes Harz	
60– 77	" " "	162	" "	" " A 3 u. A 4
78– 87	" " "	44	" "	
88–112	" " -(93:7)	142	" "	
113–128	" " "	95	" "	} " " A 5
129–140	" " -(92:8)	43	" "	
141–169	" " "	25	" Öl	–
170–197	" " -(91:9)	26	farbl. Harz	–
198–298	" " -(90:10)	61	grünes Harz	–
Total		1915		

Isolierung von A 1. Die Fr. 44–47 gaben aus Ae-Pe 82 mg rohes Acylgenin A 1 in farblosen Nadeln vom Smp. 129–145°. Dies wurde nochmals an 82 g SiO₂ nach *Duncan* [38] chromatographiert. Eluiermittel Chf-iPr-(96,5:3,5) 4 ml/Fr./4 Min. Total wurden 146 Fr. gewonnen. Die Fr. 60–64 (36 mg) gaben aus Ae-Pn ziemlich scharf bei 143–145° schmelzendes Acylgenin A 1 (Präp. AS-15).

Die ML. dieser Kristalle sowie daneben erhaltener A 1-haltiger Fr. (29 mg) wurden mit der ML. (227 mg) des rohen A 1 (aus Fr. 44–47 von Tab. 7) vereinigt und nochmals an 260 g SiO₂ nach *Duncan* wie oben chromatographiert. Dabei wurden noch 103 mg gute A 1-Fractionen gewonnen, die aus Ae-Pn weiteres krist. A 1 lieferten. Total wurden 79 mg Präp. AS-15 vom Smp. 143–145° erhalten.

Isolierung von A 2. Die Fr. 48–53 von Tab. 7 gaben aus Ae 232 mg rohe A 2-Kristalle in farblosen Nadeln, Smp. 164–172°, die nach DC. aber noch etwas A 1 sowie zwei stärker polare Stoffe enthielten (Reinigung siehe unten). Die ML. dieser Kristalle (439 mg) vereinigten wir mit den Fr.

^{2b)} Ge = Gemisch gleicher Teile von Chf-Me-Eg.

54–59 von Tab.7 (200 mg) sowie mit 21 mg analogem Material aus A1-Reinigung. Das Ganze (670 mg) wurde an 30 g Al_2O_3 chromatographiert.

Die Fr. 1–8 (19 mg), eluiert mit Ae, enthielten A1 und weniger polares Material.

Die Fr. 9–19 (128 mg, eluiert mit Ae sowie Ae-Ge-(1%)) waren ein Gemisch von A1 und A2, aus dem durch nochmalige Chromatographie an Al_2O_3 noch A2 gewonnen werden konnte.

Die Fr. 20–27 (86 mg, eluiert mit Ae-Ge-(2–4%)) gaben aus Ae-Pn 45 mg krist. A2 vom Smp. 153–168° (Reinigung weiter unten).

Die Fr. 28–45 (21 mg, eluiert mit Ae-Ge (4–6%)) enthielten auch noch A2 und dienten zu nochmaliger Chromatographie.

Aus der erwähnten nochmaligen Chromatographie der A2-haltigen Fr. und ML. konnten noch 80 mg rohe A2-Kristalle gewonnen werden. Umkristallisation aus Ae-Pe lieferte insgesamt 56 mg Acylgenin A2 vom Smp. 170–174° (Präp. AS-19).

Isolierung von A3 und A4. Die Fr. 60–77 von Tab.7 (162 mg) wurden an 20 g Al_2O_3 chromatographiert. Über das Resultat orientiert Tab.8.

Tabelle 8. *Chromatographie von 162 mg Fr. 60–77 von Tab.7 an 25 g Al_2O_3*

Fr.-Nr.	Eluiermittel 10 ml/Fr./5 Min.	Eindampfdruckstand			
		Menge in mg	Habitus	Flecke im DC.	Kristalle aus Ae Menge Smp. in mg
1–4	Cy	12	gelbes Öl	unpolar	–
5–15	Cy-Chf-(92:8)	5	'' ''	''	–
16–23	'' '' -(84:16)	23	'' ''	A3 + unpol.	
24	'' '' ''	2	'' Harz	A3 u. a.	} 4 144–146°
25–28	'' '' -(76:24)	13	weisses Krist.	'' ''	
29–30	'' '' ''	5	'' Harz	A3, A4	–
31–34	'' '' ''	14	'' Krist.	A4 u. a.	} 4 171–172°
35–37	'' '' -(72:28)	4	'' ''	'' ''	
38–42	'' '' ''	7	'' Harz	polar	–
43–85	bis Chf	32	gelbl. Schaum	''	–
Total		117			

Isolierung von A5. Die Fr. 113–140 von Tab.7 (138 mg) wurden an 140 g SiO_2 chromatographiert. Dabei wurden 72 mg gutes A5-Konzentrat erhalten, das nochmals an 72 g SiO_2 nach Duncan [38] chromatographiert wurde; Eluiermittel Chf-iPr-(95:5) je 3,5 ml/Fr./4 Min. (total 196 Fr.). Die Fr. 115–145 (40 mg) gaben aus An-Ae 12 mg Präp. AS-16 = Acylgenin A5 vom Smp. 144–150°.

4.2.2. *Untersuchung der hochpolaren Acylgenine.* Diese erst mit Chf-Alk-(2:1) ausschüttelbaren Anteile enthielten nach DC. noch reichliche Mengen von Zuckern. Es waren danach dieselben Zucker anwesend, die im rohen Zuckersirup enthalten waren, wobei aber die weniger polaren (Cymarose, Oleandrose sowie Methylglykoside) vorherrschten. Durch direkte Kristallisation aus Chf-Alk, dann aus Me liess sich etwas (ca. 3 mg) reines Marssectohexol (Q) vom Smp. 304–312° isolieren. Die ML. wurde nicht getrennt.

4.3. *Alkalische Verseifung der rohen schwächer polaren Acylgenine.* – *Versuch 1.* 0,51 g Chf-lösliche Acylgenine wurden mit 20 ml 5-proz. KOH in Me 5 Std. in N_2 -Atmosphäre unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von 15 ml W wurde im Vakuum auf 10 ml eingengt, mit H_3PO_4 kongosauer gemacht und 5 mal mit je 30 ml Pn-Ae-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen Auszüge wurden durch Ausschütteln mit 2N Na_2CO_3 in Säuren (0,06 g) und Neutralteile (0,04 g) getrennt. Die sauren wässrigen Phasen (inkl. erste Waschwässer) wurden mit K_2CO_3 alkalisch gemacht und anschliessend mit Chf sowie mit Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt; erhalten wurden 0,080 g Chf-lösliche Genine sowie 0,24 g Chf-Alk-(3:2)-lösliche Genine.

Versuch 2. In einem zweiten Versuch wurden 11,83 g Chf-lösliche Acylgenine gleich hydrolysiert. Erhalten wurden 1,39 g Pe-Ae-lösliche Säuren, 0,37 g Pe-Ae-lösliche Neutralstoffe sowie 8,21 g Genine.

4.4. *Trennung der Säuren.* Eine Probe (10 mg) der rohen Pe-Ae-löslichen Säuren wurde mit Diazomethan in Ae methyliert, das rohe Estergemisch im Gas-Chromatograph untersucht und mit authentischem Material verglichen. Verwendet wurde ein «Aerograph HY-FI Modell 600 B», Säule 5 ft $\frac{1}{8}$ " Fire-brick 60/80 mesh mit 10% Neopentylglykolsuccinat + 2% H₃PO₄ [39] und Flammen-Ionisationsdetektor; Trägergas N₂ 30 ml/Min. Säulentemp. und Retentionszeit in Min. bei Subst. angegeben. Nachgewiesen wurden: Tiglinsäure-methylester 106° (2,16), Benzoesäure-methylester 106° (14,15), Myristinsäure-methylester 181° (25,10), sowie drei Unbekannte mit folgenden Komponenten: 106° (3,00, sehr wenig); 106° (3,65, sehr wenig); 181° (17,0, sehr wenig). Sie waren nicht identisch mit geradkettigen Fettsäure-methylestern der C₂-C₁₀-Reihe sowie C₁₂, C₁₆ und C₁₈. Auch Angelicasäure, Zimtsäure, Dimethylessigsäure, Trimethylessigsäure, 3,3-Dimethylpropionsäure und 2-Methylbuttersäure waren abwesend.

Präparative Trennung. 1,05 g des rohen Gemisches der Pn-Ae-löslichen Säuren wurden an 85 g SiO₂ getrennt.

Die Fr. 1–8 (25 mg, eluiert mit Pe, Be und Be-Ae-(9:1)) gaben nur amorphes Material (n.u.).

Die Fr. 9–12 (351 mg, eluiert mit Be-Ae von 30–70% Ae-Gehalt) enthielten hauptsächlich Tiglinsäure. Fraktionierte Sublimation bei 19 Torr und 50–60° gab 30 mg krist. Sublimat. Krist. aus Pn, dann aus W gab 18 mg Nadeln, Smp. 56–58°. Nach Misch-Smp. und Gas-Chromatogramm identisch mit authentischem Material.

Die Fr. 13–18 (123 mg, eluiert mit Ae sowie Ae-Ge²²) enthielten nach Gas-Chromatogramm Tiglinsäure und Benzoesäure. Fraktionierte Sublimation sowie Krist. aus An-W gab 10 mg fast reine Benzoesäure, Smp. 111–113°, nach Misch-Smp. identisch mit authentischem Material. 5 mg der Kristalle wurden wie üblich ins Anilid übergeführt: Smp. 159–161°, Misch-Smp. ebenso.

Aus den weiteren Fr. konnte kein reines Produkt mehr isoliert werden.

4.5. *Trennung der Desacylgenine.* In einem Vorversuch wurden 309 mg Desacylgenin-Gemisch an 190 g SiO₂ chromatographiert, worauf sich kleine Mengen der Genine H, L, Q und T gewinnen liessen. Im Hauptversuch wurden zuerst 8,06 g rohes Gemisch durch Chromatographie an 500 g SiO₂ mit Ae-Ge²² von 2–100% Ge-Gehalt (800 ml/Fr./2 Std.) grob in 16 Fr. aufgetrennt. Das H, I, L, Q und T-haltige Material (5,2 g) wurde an 1700 g SiO₂ weiter aufgetrennt. Über das Resultat orientiert Tab. 9.

Tabelle 9. *Chromatographie von 5,2 g H, I, L, Q und T-Gemisch an 1700 g SiO₂*

Fr.-Nr.	Eluiermittel 325 ml/Fr./4 $\frac{1}{2}$ Std.	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	Flecke im DC.	
1– 14	Chf-Me-(93:7)	130	schwach polar	–
15– 18	" " "	299	H + schwach polar	chromat.
19– 22	" " "	929	H u. andere	Krist. H, ML. chromat.
23– 25	" " "	750	H, (I), (L)	chromat.
26– 32	" " "	549	(H), (I), L	"
33– 56	" " "	510	L, Q, T	274 mg Q, ML. chromat.
57– 63	" " "	} 318	Q, T u. stark	} chromat.
64– 95	" " -(86:14)		polare	
96– 99	" " "			
100–112	" " -(72:28)		hoch polare	
Total eluiert		4134		

Die Fr. 19–22 lieferten aus Me-Ae 419 mg rohes Genin H (Marsdenin), nach Reinigung Smp. 263 bis 264°. Die ML. wurden mit den Fr. 15–18 und 23–25 der Tab. 9 vereinigt und nochmals nach *Duncan* an viel SiO₂ mit Chf-Me-(95:5) getrennt (s. Tab. 10).

Die Fr. 66–79 von Tab. 10 gaben aus Me noch 110 mg krist. Genin H. Die Fr. 102–108 lieferten aus Me-Ae 12 mg krist. Genin L (= Isodrevogenin-P) und die Fr. 119–150 gaben aus An 11 mg rohes Genin T vom Smp. 285–290°.

Aus dem H, I-Gemisch der Fr. 80–84 wurde zuerst reines I durch präp. PC. im System Be-Bu-(4:1)/W isoliert. Nach Rechromatographie an SiO₂ wurden aus Me-An-Ae mit etwas Feuchtigkeit

Tabelle 10. *Trennung von 1,07 g H, I, L-Gemisch an 1070 g SiO₂*

Fr.-Nr.	Eluiermittel 100ml/Fr./86 Min.	Eindampfrückstand		Weitere Verarbeitung
		Menge in mg	Flecke im DC.	
1– 65	Chf-Me-(95:5)	94	unpolare	–
66– 79	” ” ”	136	H	110 mg Krist. 249–250°
80– 84	” ” ”	93	H, I	Präp. PC.
85– 89	” ” ”	109	H, I, L	
90– 98	” ” ”	246	(H), I, L	chromat.
99–101	” ” ”	70	I, L	
102–108	” ” ”	137	L	12 mg Krist., 176–202°, ML. chromat.
109–118	” ” ”	67	L + polare	chromat.
119–134	” ” ”	44	(L) + polare + (T)	11 mg Krist. T, 285–290°, ML. chromat.
135–150	” ” ”	27	T u. andere	
Total eluiert		1020		

die ersten Kristalle von I (17 β -Marsdenin) vom Smp. 214–225° erhalten. Nachdem diese vorlagen, konnten H, I, L-Gemische durch Säulenchromatographie nach *Duncan* im obigen System getrennt und Genin I nach Impfen kristallisiert werden.

Die Fr. 33–56 von Tab. 9 gaben aus Me 274 mg krist. Q (Marsectohexol). Weitere Mengen der Substanzen Q und T konnten nach Chromatographie der verbliebenen ML. mit den Fr. 57–99 von Tab. 9 erhalten werden. Über die Ausbeuten orientiert Tab. 3.

Acetylierung von rohem Marsectohexol (Q) und Trennung der Acetylderivate. 239 mg rohes Marsectohexol (Q), Präp. AS-11, vom Smp. 306–315° wurden in 3,2 ml abs. Py und 2,6 ml Ac₂O 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 346 mg rohes Neutralprodukt, das an 270 g SiO₂ im System Eg-Cy-iPr-(38:57:5) chromatographiert wurde. – Zur Kontrolle diente DC. in demselben System, wobei die folgenden 8 Hauptflecke festgestellt wurden (Färbung nach Spritzen mit *p*-Toluolsulfonsäure und Erhitzen):

O-Acetyl-T, Rf = 0,88, rotviolett; Fleck I (AS-26), Rf = 0,715, gelbbraun; Fleck II (AS-25), Rf = 0,64, blau; Fleck III (AS-24), Rf = 0,61, rotviolett; Fleck IV (nicht identifiziert), Rf = 0,56, blau; Fleck V, Rf = 0,51, rotviolett; Fleck VI, Rf = 0,49, grau; Fleck VII noch langsamer. (Für relativ aktives SiO₂.)

Die Fr. 1–16 (21 mg) enthielten O-Acetyl-T und rascher wanderndes Material (nicht getrennt).

Die Fr. 17–20 (3 mg, Hauptfleck I); 21–28 (310 mg, zeigte Flecke I–VI; Fr. 29–31 (3 mg, Hauptflecke V und VI) und Fr. 32–44 (7 mg, Hauptflecke V und VI) wurden vereinigt (313 mg) und dienten für die nächste Chromatographie.

Die Fr. 45–65 gaben noch 12 mg (Hauptflecke VI und VII, nicht getrennt).

Die 313 mg (Fr. 17–44 von obiger Chromatographie) wurden an 270 mg SiO₂ im System Chf-iPr-(95:5) chromatographiert.

Die Fr. 1–11 (9 mg) wurden nicht untersucht.

Die Fr. 12–15 (11 mg) enthielten AS-26 oder ähnliches Material, wurden nicht gereinigt.

Fr. 16 (27 mg) gab aus An-Ae-Pn 11 mg krist. Präp. AS-26, Smp. 162–164°.

Die Fr. 17–18 (42 mg) enthielten AS-25. Nach nochmaliger Chromatographie im System Eg-Cy-iPr-(29:67:4) und Kristallisation aus An-Ae-Pn wurden 11 mg Präp. AS-25 vom Smp. 251 bis 253° erhalten.

Die Fr. 19 (157 mg) gab aus Ae-Pn 20 mg Präp. AS-24 (Tri-O-acetyl-Q), Smp. 156–158°.

Die ML. (132 mg) der Fr. 19 sowie alle weiteren Fr. 20–24 (56 mg) wurden mit 6 mg analogem Material aus erster Chromatographie vereinigt. Das Ganze (194 mg) diente zur dritten Chromatographie an 200 mg SiO₂ im System Eg-Cy-iPr-(29:67:4).

Die Fr. 29–32 (39 mg) gaben aus Ae-Pn 19 mg Präp. AS-32, Smp. zwischen 166–167° und 175 bis 180° schwankend, Gemisch, gab im DC. einen Doppelfleck mit Laufstrecke fast wie AS-24, Färbung oliv und weinrot.

Die Fr. 33–37 (69 mg) gaben aus Ae-Pn noch 30 mg Präp. AS-24 (Tri-O-acetyl-Q).

Die weiteren Fr. 38–94 (92 mg) enthielten teilweise noch Kristalle, wurden aber nicht weiter untersucht.

Beschreibung der isolierten Stoffe. – *Acylgenin A1* (Präp. AS-15). Aus Ae-Pn farblose dünne Nadeln, Smp. 143–145° (sintert ab 120°). ORD.²⁰⁾ in Me: $[\alpha]_{306-302}^{25} = +1010^\circ \pm 50^\circ$ (Max); $[\alpha]_{274}^{25} = 0^\circ$; $[\alpha]_{272-268}^{25} = -30^\circ \pm 50^\circ$ (Min.). IR.-Spektrum vgl. Fig. 12. Nach Massenspektrum (MS.) liegt ein Gemisch von Acetyl-benzoyl-drevogenin-P ($M1 = C_{30}H_{38}O_7 = 510,63$) und Acetyl-tiglyl-drevogenin-P ($M2 = C_{28}H_{40}O_7 = 488,63$) vor.

MS. (H. Hü 2999, 10.1.1968)¹⁹⁾, versuchsweise Deutung, vgl. hier auch das MS. von Drevogenin-P (Fig. 11 in [15]). Intensitäten bezogen auf 488 = 100. 526 (0,4%), 520 (0,42%), vermutliche Verunreinigungen. 510 (9,8%) = $M1$, vermutl. $C_{30}H_{38}O_7$; 504 (5,8%), event. Verunreinigung; 488 (100%) = $M2$, vermutl. $C_{28}H_{40}O_7$; 490 (16,3%) = $M2 - H_2O$ (m^* gef. 453; ber. 452,7); 460 (18,2%) = $M2 - 28 (C_2H_4)$; 432 (6,7%); 428 (4,3%); 410 (54,5%) = 470 – AcOH; 395 (9,8%) = 410 – CH_3 ; 388 (42%) = $M1 - C_6H_5COOH$ und $M2 - C_5H_8O_2$ (Tiglins.); 377 (11,5%); 370 (31%) = 388 – H_2O ; 360 (37%) = 460 – $C_5H_8O_2$ und 388 – 28 (C_2H_4); 345 (30%) = 360 – CH_3 ; 342 (19,7%) = 360 – H_2O ; 328 (82%) = 388 – AcOH; 325 (24%); 300 (39,5%) = 328 – 28 (C_2H_4); 295 (21%) = 310 – CH_3 ; 285 (30%) = 328 – CH_3CO (Seitenkette); 267 (42,5%) = 285 – H_2O ; 249 (18,2%) = 267 – H_2O ; 145 (29%); 131 (18%); 120 (18%); 105 (70%) = $C_8H_5CO^+$; 83 (133%) = $C_4H_7CO^+$; 55 (88%) = 83 – CO (m^* gef. 36,4; ber. 36,5).

Auch das UV.-Spektrum (Fig. 5 u. 6) passt zu diesem Befund. Nach alkalischer Verseifung wurde ein Gemisch von 17-*iso*-Drevogenin-P und Drevogenin-P, Mengenverhältnis ca. (4:1), erhalten (nur nach DC. bestimmt).

Acylgenin A2 (Präp. AS-19). Aus Ae farblose dünne Nadeln, Smp. 170–174° (sint. ab 165°). ORD.²⁰⁾ in Me: $[\alpha]_{305-303}^{25} = +1250^\circ \pm 5^\circ$ (Max.); $[\alpha]_{274-272}^{25} = +580^\circ \pm 50^\circ$. IR.-Spektrum vgl. Fig. 13. Nach dem Massenspektrum liegt ein Gemisch von Acetyl-benzoyl-17 β -marsdenin ($M1 = C_{30}H_{38}O_8 = 526,6$) und Acetyl-tiglyl-17 β -marsdenin ($M2 = C_{28}H_{40}O_8 = 504,6$) vor.

MS. (H. Hü 3000, 10.1.1968)¹⁹⁾, versuchsweise Deutung, vgl. dazu auch das MS. von 17 β -Marsdenin in [14]. Intensitäten bezogen auf 266 = 100%. 526 (5%) = $M1$, vermutlich $C_{30}H_{38}O_8$; 504 (25,8%) = $M2$, vermutl. $C_{28}H_{40}O_8$; 486 (5,8%) $M2 - H_2O$ (m^* gef. 469; ber. 469,1); 448 (3,3%); 444 (7,7%) = 504 – AcOH; 426 (14,6%) = 444 – H_2O und 486 – AcOH; 408 (7,9%) = 426 – H_2O ; 404 (4,2%) = $M1 - C_7H_6O_2$ (Benzoës.) und $M2 - C_5H_8O_2$ (Tiglins.); 386 (7,5%) = 404 – H_2O ; 361 (3,3%); 344 (68%) = 444 – $C_5H_8O_2$ und 404 – AcOH; 329 (30%) = 344 – CH_3 ; 326 (73%)²³⁾ = 344 – H_2O ; 311 (18%)²³⁾ = 326 – CH_3 ; 307 (92%) = event. rechtes *Diels-Alder*-Fragment (306) von 444 + 1; 301 (5%) = 326 – CH_3 ; 293 (5%); 283 (14%) = 326 – 43 (Seitenkette); 266 (100%) = rechtes *Diels-Alder*-Fragment von $M1 - C_7H_6O_2$ und $M2 - C_5H_8O_2$; 231 (10%)²³⁾; 224 (7,1%)²³⁾; 207 (17%); 138 (27%) = linkes *Diels-Alder*-Fragment²³⁾; 120 (67%) = 138 – H_2O ²³⁾; 105 (41%) = 120 – CH_3 ²³⁾.

Auch das UV.-Spektrum (Fig. 5 u. 6) passt zur genannten Annahme. Alkalische Verseifung von A2 lieferte nach DC. ein Gemisch von 17 β -Marsdenin und Marsdenin (= 17 α -Marsdenin) im Verhältnis von ca. 1:4 bis 1:3.

Acylgenin A3 (Präp. AS-17). Aus Ae mikrokristallines Pulver, Smp. 144–147° (sint. ab 138°). ORD.²⁰⁾ in Di: $[\alpha]_{308}^{25} = +550^\circ \pm 60^\circ$ (Max.); $[\alpha]_{280}^{25} = 0^\circ$; $[\alpha]_{274-260}^{25} = -400^\circ \pm 60^\circ$ (Min.). IR.-Spektrum vgl. Fig. 14. Nach dem UV.-Spektrum (Fig. 5 u. 6) enthält der Stoff keine Benzoësäure aber zwei Mol. Tiglinsäure. Die alkalische Verseifung gab ein Gemisch von Marsdenin (= 17 α -Marsdenin) und wenig 17 β -Marsdenin. Hier konnte wegen Materialmangels kein NMR.-Spektrum aufgenommen werden, das mit (von der ORD.) regeneriertem Material aufgenommene Massenspektrum¹⁹⁾ gab kein brauchbares Resultat.

Acylgenin A4 (Präp. AS-18). Aus Ae farbloses mikrokristallines Pulver, Smp. 171–172° (sint. ab 165°). ORD.²⁰⁾ in Di: $[\alpha]_{280-285}^{25} = -3500^\circ \pm 60^\circ$ (Min.) kein *Cotton*-Effekt feststellbar. IR.-Spektrum vgl. Fig. 15. Alkalische Verseifung lieferte nach DC. ein Gemisch von Marsdenin mit wenig 17 β -Marsdenin und einer Spur Marsctohexol. Auf Grund des UV.-Spektrums (Fig. 5 u. 6) enthielt das Präparat Tiglinsäure und Benzoësäure in Esterbindung, wegen der niedrigen Extinktion jedoch vermutlich noch andere Komponenten. Ein NMR.-Spektrum konnte nicht aufgenommen werden. Ein Massenspektrum¹⁹⁾ (mit von der ORD. regeneriertem Material) war nicht deutbar.

²³⁾ Vgl. analoge Spitzen im Spektrum des 17 β -Marsdenins [14].

Acylgenin A5 (Präp. AS-16). Aus An-Ae farblose dünne Nadeln, Smp. 144–150°; $[\alpha]_D^{22} = +21,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,34$ in Chf). Das UV.-Spektrum (Fig. 5 u. 6) zeigte nur Endabsorption. IR.-Spektrum vgl. Fig. 16. Alkalische Verseifung gab nur Marssectohexol (Q), nach DC. identifiziert. Nach Massenspektrum (Fig. 17) liegt ein 11,12-Di-O-acetyl-marssectohexol vor, entspr. $C_{25}H_{38}O_8$ (466,5). Nach Trocknung zur Analyse, 16 Std. bei 80°/0,01 Torr, lag offenbar ein Halbbhydrat vor.

$C_{25}H_{38}O_8 + 0,5H_2O$ (475,56) Ber. C 63,13 H 8,27% Gef. C 63,09 H 8,51%²⁴⁾

Marsdenin (= 17 α -Marsdenin) (H) (Präp. AS-9). Aus Me farblose dünne Nadeln, Smp. 263 bis 266°; $[\alpha]_D^{26} = -9,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,88$ in Me). ORD.²⁰⁾ in Me: $[\alpha]_{304-302}^{25} = -666^\circ \pm 50^\circ$ (Min.); $[\alpha]_{286}^{25} = 0^\circ$; $[\alpha]_{280}^{25} = +1270^\circ \pm 50^\circ$ (Max. als Schulter). Das UV.-Spektrum in Alk zeigt kurzwellige Endabsorption mit $\epsilon = 10650$ bei 196 nm und Max. bei 282 nm ($\epsilon = 64,6$). IR.-Spektrum vgl. Fig. 9. Massenspektrum und NMR.-Spektrum vgl. folgende Mitteilung [14]. Einstündiges Kochen mit 5-proz. KOH in Me gab ein Gemisch von 17 β -Marsdenin-Marsdenin von ca. 1:3 (PC. u. DC.). Trocknung zur Analyse (6 Std., 80°/0,01 Torr über P_2O_5) gab 0,5% Verlust.

$C_{21}H_{32}O_6$ (380,47) Ber. C 66,30 H 8,48% Gef. C 66,58 H 8,57%

17 β -Marsdenin (I) (Präp. AS-14). Aus Spur Me mit An kleine Prismen, Smp. 220–224°; $[\alpha]_D^{24} = +81,6^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,72$ in Me). ORD.²⁰⁾ in Me: $[\alpha]_{307-308}^{25} = +1127^\circ \pm 50^\circ$ (Max.); $[\alpha]_{271-270}^{25} = +40^\circ \pm 50^\circ$ (Min.). UV.-Spektrum in Alk zeigte wieder kurzwellige Endabsorption mit $\epsilon = 8940$ bei 196 nm und $\lambda_{max}^{Alk} = 279$ nm ($\epsilon = 51$). IR.-Spektrum vgl. Fig. 8. Massenspektrum und NMR.-Spektrum vgl. folgende Mitteilung [14]. Einstündiges Kochen in 5-proz. KOH in Me gab ein Gemisch von 17 β -Marsdenin und 17 α -Marsdenin von ca. 1:3 (PC. und DC.). Trocknung von AS-14 zur Analyse (6 Std., 80°/0,01 Torr über P_2O_5) gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{21}H_{32}O_6$ (380,47) Ber. C 66,30 H 8,48% Gef. C 64,48 H 8,44%
 $C_{21}H_{32}O_6 + 1/2H_2O$ (389,48) „ „ 64,76 „ 8,54%

17-iso-Drevogenin-P (L) (Präp. AS-10). Aus Me-Ae farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 180–204°; $[\alpha]_D^{26} = -50,3^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,42$ in Me). Das UV.-Spektrum in Alk zeigte kurzwellige Endabsorption mit $\epsilon = 9200$ bei 196 nm und $\lambda_{max}^{Alk} = ca. 272-278$ nm ($\epsilon = 77$). Nach Misch-Smp., PC., DC. und IR.-Spektrum (Fig. 7) identisch mit authentischem Material [15a].

Marssectohexol (Q). Das durch Isolierung gewonnene Präp. AS-11 gab aus Me rechteckige Prismen, Smp. 312–315° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = +47,4^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,46$ in Py). Das UV.-Spektrum zeigte nur kurzwellige Endabsorption mit $\epsilon = 7620$ bei 195 nm, entspr. dreifach substit. Doppelbindung. Nach Massenspektrum war das Präparat nicht rein, es enthielt neben der Hauptkomponente ($C_{21}H_{34}O_6$) noch weitere mit Masse 414 (event. Genin T), 410 u. event. andere, die teilweise nach Acetylierung gefasst werden konnten. Reines Marssectohexol wurde aus dem Tri-O-acetylderivat erhalten (siehe unten). Trocknung zur Analyse gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{21}H_{34}O_6$ (382,5) Ber. C 65,94 H 8,96% Gef. C 66,76 H 9,22%

Tri-O-acetyl-marssectohexol. Präp. AS-24 (vgl. S. 240) wurde zur Reinigung mit abs. Benzol eingedampft. Aus reinem Ae Präp. TR-1403⁹⁾ in farblosen Nadeln, Smp. 161–162°; $[\alpha]_D^{22} = +44,0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1$ in Chf). NMR.- und Massenspektrum vgl. folgende Mitteilung [14].

$C_{27}H_{40}O_9$ (508,59) Ber. C 63,76 H 7,93% Gef. C 63,30 H 8,25%²⁵⁾

Marssectohexol (Q) aus Tri-O-acetylderivat. 30 mg Tri-O-acetyl-marssectohexol vom Smp. 161 bis 162° wurden in 2 ml 2,5-proz. Ba(OH)₂-Methanol 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Entfernung des Me im Vakuum wurde mit 1,5 ml W versetzt, heiss mit CO₂ neutralisiert, filtriert und mit wenig W und Alk gewaschen. Das Filtrat wurde 6mal mit je 5 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (23 mg) gab aus Me 7 mg reinstes Marssectohexol (Präp. TR-1404) in farblosen Prismen, gewaschen mit Me-Ae und Ae, Smp. 323–325°; $[\alpha]_D^{24} = +51^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,4$ in Py). IR.-Spektrum vgl. Fig. 10, Massenspektrum vgl. folgende Mitteilung [14].

Nebenprodukte der Acetylierung von rohem Marssectohexol (Q). – Präp. AS-25. Aus An-Ae-Pn farblose rhomboedrisch begrenzte Platten, Smp. 251–253°, sint. ab 230°; $[\alpha]_D^{25} = +58^\circ \pm 1^\circ$ ($c =$

²⁴⁾ Wir danken Herrn Dr. A. Dirschel, Analytisches Labor der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, auch hier bestens für die Ausführung dieser Bestimmung.

²⁵⁾ Ausgeführt mit 0,6 mg. Wir danken Herrn Dr. H. Wagner, Analytisches Labor der I. R. Geigy AG, Basel, auch hier bestens für die Ausführung dieser Analyse.

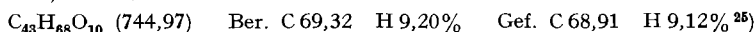
0,62 in Chf). NMR.- und Massenspektrum vgl. folgende Mitteilung [14]. Farbreaktion nach Spritzen mit *p*-Toluolsulfonsäure und Erhitzen blau und im UV. ebenfalls blau.

Präp. AS-26. Aus An-Ae-Pn Octaeder, Smp. 162–164°, sint. ab 156°; $[\alpha]_D^{25} = +24,1^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,6$ in Chf). NMR.- und Massenspektrum vgl. folgende Mitteilung [14]. Farbreaktion nach Spritzen mit *p*-Toluolsulfonsäure und Erhitzen braungelb, im UV. ebenso.

Präp. AS-32. Gemisch; Plättchen, Smp. 166–167°, sowie Nadeln, Smp. 166–169° und Prismen, Smp. 175–180°. Im DC. meist Doppelflecke mit oliv und violettroten Teilen, sehr schwer von Tri-O-acetyl-Marsectogenin zu trennen.

β -Sitosteryl- β -D-glucopyranosid (T) (Präp. AS-12). Aus Chf-Me langsam farblose gallertige Kristalle, nach Zugabe von An mikrokristallines Pulver, Smp. 296–303° (Zers.); $[\alpha]_D^{24} = -34,1^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,61$ in Py). Lit.-Werte vgl. [17]. Das UV.-Spektrum zeigte nur kurzweilige Endabsorption mit $\epsilon = 6850$ bei 200 nm (ber. für $M = 576$). IR.-Spektrum vgl. Fig. 11. – Nach Massenspektrum war das Präparat nicht völlig rein, war aber offenbar frei von Q, denn eine Spitze bei 382 st zwar vorhanden, es fehlt aber die Spitze bei 364 (= 382 – H₂O), die im MSp. von Q [14] sehr stark ist. Die ersten deutlichen Spitzen höchster Masse lagen bei 414 und 396. Vermessung²⁶⁾ ergab folgende Zuordnung: 414 = C₂₉H₅₀O; 397 = C₂₈H₄₉; 396 = C₂₉H₄₈; 394 = C₂₉H₄₆; 382 = C₂₈H₄₆; 329 = C₂₄H₄₁; 303 = C₂₂H₃₉; 275 = C₂₀H₃₅; 273 = C₁₉H₂₉O; 255 = C₁₈H₂₇; 213 = C₁₆H₂₁. – Das NMR.-Spektrum (in Deuteropyridin bei 100 MHz), mit zu wenig Material aufgenommen, war kaum interpretierbar. In der Methylregion zeigte es Signale bei $\delta = 0,67$; 0,85; 0,93 (stark); 1,02 (schwach); 1,27 (stark) und 1,30 (stark) ppm.

Tetra-O-acetyl- β -sitosteryl- β -D-glucopyranosid²⁷⁾. 8 mg Subst. T (Präp. AS-12) wurden in 0,3 ml abs. Pyridin und 0,2 ml Ac₂O 15 Std. bei 35° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 11 mg neutrales Rohprodukt. Aus Ae-Pentan (ca. 2:1) 6 mg Präp. TR-1405 in flachen farblosen Nadeln, Smp. 170–171°; $[\alpha]_D^{24} = -24,0^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 0,47$ in Chf, photoelektr. Polarimeter *Perkin-Elmer*, Modell 141). Färbung auf SiO₂-Platte (Spritzen mit 20-proz. *p*-Toluol-sulfonsäure in Alk und Erhitzen auf 110°) violett, dann verblassend zu hellbraun.



Im Massenspektrum lag die erste deutliche Spitze höchster Masse wieder bei $m/e = 414$ (Genin, zu schwach zum Vermessen). Die Vermessung²⁶⁾ der weiteren Spitzen gab folgende Zuordnung: 397 = C₂₉H₄₉; 396 = C₂₉H₄₈; 383 = C₂₈H₄₇; 382 = C₂₈H₄₆; 331 = C₁₄H₁₉O₉ (Tetra-O-acetyl-glucosyl-Kation); 275 = C₂₀H₃₅ (?); 255 = C₁₉H₂₇ (Anhydrogenin-Seitenkette).

Im NMR.-Spektrum²⁸⁾ (in CHCl₃ bei 100 MHz) waren u. a. folgende Signale sichtbar: 5,34 ppm (m , 1 H = Vinyl); Vier Singulette bei 1,97, 1,99, 2,02 und 2,05 ppm (je 3 H = vier Acetylgruppen). Im Zwischengebiet (5,3–3,20 ppm) waren viele Signale (entspr. ca. 8 Protonen) sichtbar, im Gebiet der Methylgruppen (0,58–0,97 ppm) ebenfalls zahlreiche Signale, darunter zwei besonders starke Singulette bei 0,66 ppm (18-Methyl) und 0,97 ppm (19-Methyl).

D-Cymarose (Präp. AS-30). Destillation bei 60–80°/0,03 Torr über Spur BaCO₃, dann Kristallisation aus wenig abs. Ae-Pn bei –10° (Impfen) gab farblose Nadeln, Smp. 59–70°, $[\alpha]_D^{26} = +60^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,68$ in W). Nach Misch-Smp., PC. (To-Bu-(4:1)/W, To-Mek-(1:1)/W und Chf-Mek-(3:2)/W) und DC. (Chf-Me-(9:1)) identisch mit authentischem Material.

D-Oleandrose (Präp. AS-31). Das wie oben destillierte Material, farbloser Sirup, war nach PC. (3 Systeme wie oben) und DC. (Chf-Me-(9:1)) einheitlich und identisch mit Oleandrose, er zeigte $[\alpha]_D^{25} = -10,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,05$ in W). Aus Ae-Pn (Impfen) bei –10° farblose Nadeln, Smp. 56 bis 62°. Identifizierung mit authentischer Oleandrose wie oben.

Pachybiose (Präp. AS-28). Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 153–156°, $[\alpha]_D^{26} = -9,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,07$ in W). Nach Misch-Smp., PC. (To-Bu-(4:1)/W, To-Mek-(1:1)/W und Chf-Mek-(3:2)/W)

²⁶⁾ Wir danken Herrn Dr. *H. Lichti*, Physikalisch-Chemische Laboratorien, Pharmazeutisches Departement der *Sandoz AG*, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme und Vermessung dieses Spektrums. Dazu diente ein CEC-Massenspektrometer 21-110 B mit direktem Einlass-System, Ionenquelle E. B., Elektronenenergie 70 eV. Die Vermessung der erwähnten Spitzen zur Ermittlung der angegebenen Bruttoformeln geschah durch Aufnahme einer Photoplatte und Berechnung durch einen Computer.

²⁷⁾ Wir danken Herrn Dr. *J. von Euw* für die Ausführung dieser Reaktion.

²⁸⁾ Wir danken den Herren Dr. *H. Fuhrer* und *A. Borer*, Physikalisches Laboratorium der *CIBA-Aktiengesellschaft*, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums.

und DC. (Chf-Me-(9:1)) identisch mit authentischem Material. Trocknung zur Analyse (6 Std., 0,01 Torr bei 60° über P₂O₅ gab keinen Gewichtsverlust.

C ₁₄ H ₂₈ O ₈ (322,35)	Ber. C 52,17	H 8,13%	
C ₁₄ H ₂₈ O ₈ + 1/2 H ₂ O (331,36)	„ „	50,74	Gef. C 51,34 H 8,10%
		„	8,23%

Marssectobiose (Präp. AS-22). Aus An-Ae-Pn farblose, zu Drusen vereinigte Körner, Smp. 136 bis 140°; $[\alpha]_D^{25} = -10,5 \pm 2^\circ$ ($c = 1,08$ in W). NMR.-Spektrum vgl. [12], ebenso Massenspektrum. Letzteres zeigte das Ion grösster Masse bei 323, das wir als $M + 1$ deuten. Energische saure Hydrolyse (Kochen mit *Kiliani*-Mischung [7a] lieferte Thevetose als einzigen im PC. (To-Bu-(1:2)/W, To-Bu-(1:1)/W und To-Mek-(1:1)/W) sowie DC. (Eg-iPr-Me-(70:15:15)) nachweisbaren Zucker [35]. Zur Mikroanalyse wurde 24 Std. bei 120 Torr und 20° über P₂O₅ getrocknet.

C ₁₄ H ₂₈ O ₈ (322,36)	Ber. C 52,17	H 8,13%	Gef. C 51,98 H 7,88% ²⁵)
---	--------------	---------	--------------------------------------

Benzoessäure. Aus An-W farblose Blättchen, Smp. 111–113°. Nach Misch-Smp. identisch mit authentischem Material. Der mit Diazomethan bereitete Methylester zeigte im Gas-Chromatogramm gleiche Retentionszeit. Das via Chlorid bereitete Anilid gab aus Me farblose rechteckige Blättchen, Smp. 159–161°, Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso.

Tiglinsäure. Aus wenig Me-W farblose Prismen, Smp. 56–58°; Misch-Smp. mit authentischem Material ebenso. Der Methylester zeigte im Gas-Chromatogramm gleiche Retentionszeit wie Tiglinsäure-methylester.

Die Analysen wurden, wo nichts anderes erwähnt, von Herrn E. Thommen im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. Lardon, K. Stöckel & T. Reichstein, *Helv.* 53, 167 (1970).
- [2] K. Browicz, a) *Rocznik Dendrologiczny* XX, 53–73 (1966); b) *Arboretum Kornckie Rocznik* CII, 5–32 (1967).
- [3] a) C. Zerlentis, «Synökologische und toxikologische Untersuchungen an *Marsdenia erecta* R. Br.» (unveröffentl. Habil.-Schr.), Landw. Hochschule, Athen 1958; b) *idem*, *Naturwiss.* 49, 21 (1962); c) D. Frohne & C. Zerlentis, *Planta medica* 10, 107 (1962); C. Zerlentis, *ibid.* 13, 73 (1965).
- [4] a) T. Baytop & M. Tanker, *Istanbul Universitesi Tip Fakültesi Mecmuasi' nin* (Bull. Fac. Méd. d'Istanbul) 22, 624 (1959); b) T. Baytop, M. Tanker, N. Öner & S. Tekman, *Nature* 184, 1319 (1959); c) M. Tanker, *Istanbul Univ. Ecr. Oh. Farm. Enst.* 1960 (cit. nach [2b]).
- [5] H. J. Cellarius & L. Zechner, *Sci. pharm.* 34, 10 (1966), *Chem. Abstr.* 65, 2340 (1966), und frühere Lit. daselbst.
- [6] R. Tschesche, P. Welzel & G. Snatzke, *Tetrahedron* 21, 1777 (1965), und frühere Lit. daselbst; R. Tschesche, P. Welzel & H. W. Fehlhaber, *ibid.* 21, 1797 (1965); R. Tschesche, «Pflanzliche Steroide mit 21 Kohlenstoffatomen», in L. Zechmeister (Edit.), *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe* XXIV, 99–148 (Springer-Verl., Wien – New York 1966); R. Tschesche, M. Baumgarth & P. Welzel, *Tetrahedron* 23, 249 (1967); R. Tschesche, H. Kohl & P. Welzel, *ibid.* 23, 1461 (1967); R. Tschesche & H. Kohl, *ibid.* 24, 4359 (1968).
- [7] a) P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, *Helv.* 34, 1740 (1951); b) J. v. Eeuw, H. Hess, P. Speiser & T. Reichstein, *Helv.* 34, 1821 (1951).
- [8] D. L. Kedde, *Pharmac. Weekbl.* 82, 741 (1947); vgl. I. F. Bush & D. A. H. Taylor, *Biochem. J.* 52, 643 (1952); M. L. Lewbart, W. Wehrli & T. Reichstein, *Helv.* 46, 505 (1963).
- [9] P. Bellet, *Ann. pharm. franç.* 8, 471 (1950); M. Pesez, *ibid.* 10, 104 (1952).
- [10] R. Neher & A. Wettstein, *Helv.* 34, 2278 (1951).
- [11] S. Rangaswami & T. Reichstein, *Helv.* 32, 939 (1949).
- [12] A. Saner & H. Allgeier, *Helv.* 52, 1655 (1969).
- [13] A. Gamp, P. Studer, H. Linde & K. Meyer, *Experientia* 18, 292 (1962).
- [14] A. Saner, K. Stöckel & T. Reichstein, *Helv.*, in Vorbereitung.
- [15] H. H. Sauer, Ek. Weiss & T. Reichstein; a) *Helv.* 48, 857 (1965); b) 49, 1625, 1632 (1966).
- [16] K. Hayashi & H. Mitsuhashi, *Chem. pharm. Bull. (Japan)* 16, 2522 (1968).
- [17] a) A. H. Salway, *J. chem. Soc.* 103, 1022 (1913); b) H. Staub, *Helv.* 25, 649 (1942); c) L. J. Swift, *J. Amer. chem. Soc.* 74, 1099 (1952), u. frühere Lit. daselbst.

- [18] *J. A. Cifonelli & F. Smith*, *Analyt. Chemistry* **26**, 1132 (1954); *H. T. Gordon, W. Thornburg & N. L. Werum*, *ibid.* **28**, 849 (1956); *D. F. Mowery*, *ibid.* **29**, 1560 (1957).
- [19] *C. Djerassi*, «Optical Rotatory Dispersion Applications to Organic Chemistry», McGraw-Hill Book Comp., New York – Toronto – London 1960; *W. Klyne*, *Advances organ. Chemistry I*, 239 (1960); *P. Crabbé*, «Optical Rotary Dispersion and Circular Dichroism in Organic Chemistry», Holden Day, San Francisco – London – Amsterdam 1965.
- [20] *D. A. Prins*, *Helv.* **29**, 378 (1946), u. frühere Lit. daselbst.
- [21] *E. Vischer & T. Reichstein*, *Helv.* **27**, 1332 (1944), u. frühere Lit. daselbst.
- [22] *H. Allgeier*, *Helv.* **51**, 311 (1968), u. frühere Lit. daselbst.
- [23] *W. Neudert & H. Röpke*, «Steroid-Spektrenatlas» (Engl. Übersetz. von *J. B. Leane*), Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York 1965.
- [24] *A. T. Nielsen*, *J. org. Chemistry* **22**, 1539 (1957).
- [25] *J. Cason & M. J. Kalm*, *J. org. Chemistry* **19**, 1947 (1954).
- [26] *B. M. Kapur, H. Allgeier & T. Reichstein*, *Helv.* **50**, 2147 (1967).
- [27] *O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* **34**, 108 (1951); *H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **36**, 357 (1953); *E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein*, *Helv.* **37**, 680 (1954).
- [28] Vgl. Fussnote ^{4b} in *B. Fechtig, J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* **43**, 1570 (1960).
- [29] *A. P. McLennan, H. M. Randall & D. W. Smith*, *Analyt. Chemistry* **31**, 2020 (1959).
- [30] *F. Scheffer & R. Kickuth*, *Z. analyt. Chem.* **191**, 116 (1962).
- [31] *F. Brown & L. P. Hall*, *Nature* **166**, 66 (1950); *E. R. Hiscox & N. J. Berridge*, *Nature* **166**, 522 (1950); *F. Brown*, *Biochem. J.* **47**, 598 (1950); *A. G. Long, I. R. Quayle & R. J. Stedman*, *J. chem. Soc.* **1951**, 2197.
- [32] *D. Waldi* in *E. Stahl*, «Dünnschichtchromatographie», S. 496, Springer-Verlag, Berlin 1962.
- [33] Vgl. *K. A. Jaeggi, Ek. Weiss, W. Wehrli & T. Reichstein*, *Helv.* **50**, 1201 (1967).
- [34] *O. Renkonen & O. Schindler*, *Helv.* **31**, 1490 (1956).
- [35] *E. Stahl*, «Dünnschichtchromatographie», Springer-Verlag, Berlin 1962.
- [36] *F. Schaub, H. Kaufmann, W. Stöcklin & T. Reichstein*, *Helv.* **51**, 738 (1968).
- [37] *H. Kaufmann, P. Mühlradt & T. Reichstein*, *Helv.* **50**, 2287 (1967).
- [38] *G. R. Duncan*, *J. Chromatogr.* **8**, 37 (1962).
- [39] *L. D. Metcalfe*, *Nature* **188**, 142 (1960); *B. R. Baumgardt*, *Dep. Bull. Nr. 1*, Dep. of Dairy Science, Univ. of Wisconsin, Madison, June 1964, zitiert nach *L. Sawlewicz, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* **50**, 504 (1967).

29. Säurekatalysierte Isomerisierung von (–)- α -Copaen-epoxid

von **G. Ohloff** und **M. Pawlak**

Laboratoire de Recherches, *Firmenich & Cie*, Genève

(19. XII. 69)

Zusammenfassung. Die Epoxy-Verbindung **2** des (–)- α -Copaens (**1**) geht bei der Behandlung mit schwachen Säuren unter molekularer Umlagerung in zwei Alkohole (**3** und **5**) der (–)- α -Muurolen-Reihe über, während sich der dritte (**4**) vom (+)- δ -Cadinen ableitet. (–)-3 β -Hydroxy-T-muurolo (**5**) ist ebenso wie der entsprechende Ketoalkohol **6** mit den beiden Naturprodukten identisch.

(–)-3 β -Hydroxy-T-muurolo (**5**) und das entsprechende α,β -ungesättigte Keton (–)-3-Oxo-T-muurolo (**6**) wurden unter anderen Sesquiterpenderivaten aus einer in Aceton löslichen Fraktion des Holzextraktes von *Taiwania cryptomerioides Hayata* isoliert [1] und ihre Struktur auf Grund spektroskopischer Daten sowie durch Verknüpfung mit dem T-Muurolo [2] festgelegt. (–)-T-Muurolo andererseits ist kürzlich