

**128. Die Glykoside von *Vincetoxicum hirundinaria* MEDIKUS<sup>1)</sup>****1. Mitteilung: Isolierungen und Spaltprodukte**Glykoside und Aglykone, 316. Mitteilung<sup>2)</sup>von **K. Stöckel, W. Stöcklin** und **T. Reichstein**

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(7. V. 69)

*Summary.* The dried roots of *Vincetoxicum hirundinaria* MEDIKUS, collected in the lake of Garda area, yielded ca. 6% of a crude glycoside mixture, of which 5,16% consisted of relatively weakly polar material. After mild acid hydrolysis of the latter, 7 sugars could be identified through paper and thin layer chromatography, and paper electrophoresis. Of these D-cymarose, L-digitonose, D-digitoxose, and a small amount of lilacinobiose could be isolated in crystalline form. Of the other three sugars, D-oleandrose was characterised as a crystalline derivative, whereas boivinose and canarose could only be identified through paper and thin layer chromatography, and paper electrophoresis.

Four crystalline genins (B, D, E, G) and a glycoside (F) were isolated from the genin extract. Of these, D was very unstable and therefore thus was not further investigated. B, E, and F were shown to be 15-oxasteroids, a type of steroids so far not found in nature. Very probably, G also represents a 15-oxasteroid. The four substances B, E, G, and F were given the following trivial names: B = anhydrohirundigenin, E = hirundigenin, G = vincetogenin, and F = hirundoside-A. F is an oleandroside of anhydrohirundigenin. The structures of hirundigenin and anhydrohirundigenin have already been elucidated [35].

**1. Einleitung.** – Der Schwalbenwurz, *Vincetoxicum hirundinaria* MEDIKUS (= *V. officinale* MÖNCH = *Cynanchum vincetoxicum* (L.) PERS.) ist die einzige in Mitteleuropa heimische Asclepiadacee; sie ist auch in der Schweiz verbreitet [2]. Über die korrekte lateinische Benennung besteht keine Einigkeit. Die von FUCHS [3] vorgebrachten Argumente, wonach die Pflanze als *Alexitoxicum Vincetoxicum* (L.) H. P. FUCHS bezeichnet werden soll, scheinen den meisten Taxonomen nicht begründet, vgl. ROSS [4]. Nach Privatmitteilung von BULLOCK (in *lit.* 6. 6. 1966)<sup>3)</sup> ist der Name *Cynanchum vincetoxicum* (L.) PERS. richtig, wenn man die Pflanze in die Gattung *Cynanchum* einreihen will. Zieht man es jedoch vor, *Vincetoxicum* als eigene Gattung abzutrennen, was ihm zweckmässig scheint, so wäre sie nach den geltenden Regeln [5] als *Vincetoxicum hirundinaria* MEDIKUS zu bezeichnen. Wir verwenden daher auch hier diesen Namen.

*Vincetoxicum hirundinaria* ist eine ausserordentlich formenreiche Art, deren Gliederung verschiedentlich versucht [2] [6–8], aber bis heute noch nicht erfolgreich durchgeführt worden ist. Es ist daher durchaus möglich, dass die verschiedenen Sippen teilweise auch chemisch verschiedene Stoffe produzieren. *Vincetoxicum* war früher eine beliebte Arzneipflanze und wurde in Gärten gezogen [2]. Das getrocknete

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. K. STÖCKEL, Basel 1968.

<sup>2)</sup> 315. Mitt.: K. STÖCKEL, H. HÜRZELER & T. REICHSTEIN [1].

<sup>3)</sup> Wir danken Herrn A. A. BULLOCK, Herbarium der Royal Botanical Gardens, Kew, auch hier bestens für seine Angaben.

Rhizom war als *Rhizoma Vincetoxici* oder *Radix Hirundinariae* officinell, hat jedoch heute seine Bedeutung fast völlig verloren. Wegen der früheren medizinischen Verwendung ist die Pflanze aber schon oft chemisch untersucht worden.

Über die ältere Literatur vgl. WEHMER [9], sowie GAGER & ZECHNER [10]. Danach enthält die Droge reichliche Mengen eines Glykosidgemisches, das unter verschiedenen Namen wie Asclepiadin, Cynanchin, Asclepion usw., meist jedoch als Vincetoxin beschrieben wurde. GAGER & ZECHNER [10] geben eine brauchbare Vorschrift zur Isolierung, die von ZECHNER & KELLERMAYER [11] verbessert wurde. Danach enthalten die getrockneten unterirdischen Teile [11a] ca. 1% «Vincetoxin», das als N-freies, farbloses, amorphes Pulver erhalten wurde. Die Reaktion auf 2-Desoxyzucker war positiv. Nach milder saurer Hydrolyse konnten ca. 17% eines krist. Aglykons vom Smp. 147–149° erhalten werden (keine Drehung und keine Analyse). Die Samen [10] [11b] lieferten neben 12,5% fettem Öl [12] ca. 0,7% «Vincetoxin», teilweise sogar in mikrokristalliner Form [11b], das von PFLEIFER [13] pharmakologisch untersucht wurde. Nach Ansicht der genannten Autoren [11a–c], die sicher richtig ist, dürfte es sich bei allen in der Literatur als «Vincetoxin» beschriebenen Präparaten um Gemenge einander nahestehender Glykoside von komplizierter Struktur gehandelt haben. In letzter Zeit haben KORTE & Mitarb. [14] noch über «Vincetoxin» publiziert, wobei die stark unterschiedlichen Ausbeuten an diesem Material auffallen (0,04% [14b] bzw. 0,3–0,5% [14c]). Hydrolyse soll D-Glucose, D-Thevetose, L-Oleandrose und einen unbekannten 2-Desoxyzucker [14d, e] (keiner davon isoliert) geben, daneben zwei amorphe Genine. Letztere lieferten bei der Selen-Dehydrierung zwei amorphe Kohlenwasserstoffe, deren UV.-Spektren angegeben werden [14d]. Die Glykoside des verwandten *Cynanchum adriaticum* FRITSCH beschreibt ZECHNER [11d]. Angaben über Flavonglykoside in *Vincetoxicum* finden sich bei TRITTLER [15]. Die Isolierung von zwei neuen Quercetinglykosiden beschreiben KOZJEK & LEBRETON [16]. Vor kurzem fanden PAILER & STREICHER [17], dass die Droge auch kleine Mengen (0,018%) Alkaloide enthält, von denen zwei (A und B) in Kristallen isoliert wurden. B erwies sich als identisch mit Tylophorin, das erstmals aus *Tylophora asthmatica* WIGHT et ARN (ebenfalls einer Asclepiadaceae) erhalten worden war. Das Alkaloid A enthielt eine Methoxylgruppe weniger und war möglicherweise identisch mit Antofin (erstmalig isoliert aus *Antitoxicum funebre*)<sup>4)</sup>. Ein Alkaloid, das denselben Smp. zeigte, wie dieses, isolierten auch HÁZNAGY et al. [18a]. Über die fungiziden Eigenschaften eines weiteren «DRAGENDORFF-positiven Stoffes» aus *Vincetoxicum* berichten FERENCZY et al. [18b].

Im Rahmen einer systematischen Untersuchung verschiedener Asclepiadaceen haben wir auch den Schwalbenwurz analysiert und berichten im Folgenden darüber.

**2. Beschaffung des Ausgangsmaterials.** – Für die Untersuchung erhielten wir von Herrn E. HAUSER am 18. Okt. 1963 13,7 kg frische unterirdische Teile (Rhizome mit Wurzeln, durch Waschen von Erde völlig befreit), die er in der Umgebung des Gardasees (Buco di Vela bei Trento, Val Vestino und Val d'Ampola) gesammelt hatte. Es handelt sich um eine relativ einheitliche, blassgelb blühende Sippe. Das Material wurde sofort nach dem Eintreffen bei ca. 40° getrocknet und lieferte 6,1 kg getrocknete Droge.

**3. Extraktion und Vortrennung der Extrakte.** – 2,6 kg getrocknete Droge wurden in der Schlagmühle gemahlen, in zwei Portionen mit Wasser geweicht<sup>5)</sup>, dann erschöpfend mit wässrigem Alkohol (von 50 auf 96% Alkoholgehalt steigend) bei 60° extrahiert. Die im Vakuum stark eingeeengten Auszüge wurden mit Alkohol auf 50% Alkoholgehalt gestellt und nach früherer Vorschrift [19] mit Pb(OH)<sub>2</sub> gereinigt. Nach Entfernung des Alkohols im Vakuum wurde die wässrige Suspension durch fraktioniertes Ausschütteln mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Ge-

<sup>4)</sup> *Antitoxicum* ist ein Synonym zu *Vincetoxicum*.

<sup>5)</sup> Ob hierbei fermentativer Abbau eintritt, wurde nicht geprüft.

mischen grob in vier rohe Extrakte stark verschiedener Polarität getrennt, die wie üblich mit Sodalösung gewaschen wurden. Über die Ausbeuten und Eigenschaften der rohen Extrakte orientiert Tabelle 1.

Tabelle 1. *Ausbeuten und Reaktionen der rohen Extrakte*

Art des Extraktes und Präp. Nr.	Menge in g aus		KEDDE- Reaktion	Xanthydrol- Reaktion	$K_3Fe(CN)_6$ - FeCl <sub>3</sub>
	Probe 1 0,6 kg Droge	Probe 2 2 kg Droge			
Pe-Extr.	nicht bereitet	7,177 = 0,36%	–	+	–
Ae-Extr. roh (KST-18)	17,560 = 2,92%	87,2 = 4,36%	–	++	++
Ae-Extr. gereinigt	nicht bereitet	82,0 = 4,1 %	–	++	++
Chf-Extr. (KST-19)	15,312 = 2,55%	21,3 = 1,06%	–	++	++
Chf-Alk-(2:1) (KST-20)	3,607 = 0,6%	10,9 = 0,55%	–	++	++
Chf-Alk-(3:2) (KST-21)	2,703 = 0,45%	5,8 = 0,29%	–	++	++

Der rohe Ae-Extr. enthielt noch etwas Petroläther-lösliches Material. Bei Probe 2 wurde er durch Verteilung zwischen 80-proz. Methanol und Petroläther gereinigt. Der so erhaltene Pe-Extrakt enthielt Fettreste, Sterine usw., und gab noch schwach positive Xanthydrol-Reaktion, wurde aber nicht weiter untersucht. Die Hauptmenge der Glykoside befand sich in den Ae- und Chf-Extrakten, die zusammen über 5% der Droge ausmachten<sup>9)</sup>. Die relativ geringen Mengen der hochpolaren Glykoside (Chf-Alk-Extrakte) wurden nicht weiter untersucht. Der negative Ausfall der KEDDE-Reaktion zeigt, dass keine Cardenolide anwesend waren. Die positive Reaktion mit  $K_3[Fe(CN)_6]$ -FeCl<sub>3</sub>-Reagens spricht normalerweise für die Anwesenheit von Phenolen. Auf Versuche zur Entfernung phenolischer Stoffe wurde aber verzichtet, als sich zeigte, dass die hier vorliegenden neutralen Glykoside mit dem Reagens ebenfalls positiv reagierten.

Bei der Prüfung in Papierchromatogrammen (PC.) und Dünnschichtchromatogrammen (DC.) zeigten die Ae- und Chf-Extrakte in verschiedenen Systemen bei der Entwicklung mit SbCl<sub>3</sub> (in DC. auch mit *p*-Toluolsulfonsäure) überall durchgehende Bänder, die sich teilweise vom Start bis zur Front erstreckten. Schwerpunkte mit auffallenden Färbungen waren zwar sichtbar, eine Auflösung in einzelne Flecke war aber in keinem Fall möglich. – Versuche zur präparativen Trennung der genuinen Glykoside gaben kein befriedigendes Resultat<sup>10)</sup>. Die Hauptmenge des Materials wurde daher einer milden sauren Hydrolyse<sup>11)</sup> unterworfen und anschliessend die Spaltstücke getrennt.

<sup>9)</sup> Dieses Reagens gibt mit allen Butenoliden eine violette Färbung. Empfindlichkeit beim Tüpfeln auf Papier ca. 0,002 mg.

<sup>7)</sup> Dieses Reagens gibt mit allen 2-Desoxyzuckern und ihren Glykosiden eine rote Färbung.

<sup>8)</sup> Dieses Reagens gibt mit den meisten Phenolen eine tiefblaue Färbung. Gleich reagieren alle Stoffe, die sich durch Einelektronenprozesse leicht oxydieren lassen.

<sup>9)</sup> Bei Probe 2 wurde öfter mit Äther ausgeschüttelt, daher ist der Anteil an Ae-Extr. relativ gross. Die Summe beider Extrakte ist bei beiden Proben praktisch gleich.

<sup>10)</sup> Es wurde eine Trennung an SiO<sub>2</sub> mit den Systemen Cy-iPr-(4:1) und Bc-An-(75:25) versucht. Zwei isolierte Stoffe, die nach DC. einheitlich waren, erwiesen sich aber nach Spaltungsversuchen als Gemische.

<sup>11)</sup> Unter den verwendeten Bedingungen werden praktisch nur die Glykoside von 2-Desoxyzuckern gespalten.

**4. Milde saure Hydrolyse [23] des Ae-Extrakts und des Chf-Extrakts.** – Tabelle 2 gibt das Resultat von 2 Vorversuchen und einem Hauptversuch. Letzterer diente für die präparative Isolierung der Spaltstücke.

Tabelle 2. *Milde saure Hydrolyse der Glykosidgemische*

Eingesetztes Material	Erhaltene Spaltstücke	
	Genine roh	Zucker roh
1,640 g Ae-Extr. roh	1,053 g	0,632 g
2,126 g Chf-Extr.	1,309 g	0,760 g
35,0 g Ae-Extr. gereinigt	21,9 g	12,0 g

**5. Trennung der Zucker.** – Die Zucker aus dem Ae-Extr. zeigten im PC. (in 2 Systemen [24]) 5 Flecke mit Laufstrecken entsprechend Digitoxose + Lilacinobiose, Boivinose + Canarose<sup>12)</sup>, Diginose, Oleandrose und Cymarose. Durch Chromatographie an SiO<sub>2</sub> liessen sich D-Cymarose, D-Digitoxose und wenig Lilacinobiose in Kristallen isolieren, sowie ein Gemisch von Diginose und Oleandrose. Dieses wurde durch präparative PC. getrennt, worauf sich L-Diginose in Kristallen isolieren liess. Die dabei nur amorph erhaltene Oleandrose wurde ins krist. Phenylhydrazid der zugehörigen Säure übergeführt [27] und so als D-Form identifiziert. Das binäre Gemisch von Boivinose und Canarose wurde nur durch PC., DC. und PE. als solches identifiziert, so dass nicht angegeben werden kann, welche der Antipoden vorlagen. Der Zuckersirup aus dem Chf-Extr. enthielt nach PC., DC. und PE. dieselben 6 Komponenten. Zur Prüfung auf normale Zucker wurde eine Probe des Zuckersirups sowie eine Probe des rohen Geningemisches mit KILIANI-Mischung [28] energisch hydrolysiert<sup>13)</sup>, worauf sich (durch DC. und PC.) Thevetose als einziger in 2-Stellung hydroxylierter («normaler») Zucker nachweisen liess. Glucose, die KORTE [14d,e] in seinem Vincetoxin gefunden hatte, war in unserem Material offenbar nicht anwesend.

**6. Vorprüfung der Genine.** – Die rohen Genine aus Ae-Extr. zeigten im PC. (Fig. 3–5) und DC. (Fig. 1 und 2) eine Vielzahl von Flecken. Die am raschesten laufenden wurden mit Buchstaben (A–G) bezeichnet. Die rohen Genine aus dem Chf-Extr. zeigten in allen Fällen sehr ähnliche Bilder.

Da vermutet wurde, dass hier, wie bei vielen anderen Asclepiadaceen, Esterglykoside anwesend sind, wurde eine Probe der rohen Genine auch noch mit KOH in Methanol gekocht. Die Aufarbeitung (vgl. Exp. Teil) gab kein völlig klares Bild. Immerhin konnte festgestellt werden, dass höchstens Spuren von Essigsäure oder anderen leicht flüchtigen Säuren gebildet wurden; Benzoesäure und Zimtsäure waren abwesend. Eine merkliche Menge (ca. 15%) ätherlöslicher Säuren war ent-

<sup>12)</sup> Die Anwesenheit von Boivinose und Canarose wurde erst nach präparativer Vortrennung durch PE. [25] dieses binären Gemisches festgestellt. Im PC. [26] sowie im DC. (vgl. Fig. 9) zeigen diese zwei Zucker in den üblichen Systemen gleiche Laufstrecken.

<sup>13)</sup> Beste Methode zur Freisetzung von Hexosen, 6-Desoxyhexosen und ihrer Methyläther aus Glykosiden. Einstündiges Erhitzen mit HCl in wässriger Essigsäure auf 100°. Die 2-Desoxyzucker werden dabei völlig zerstört.

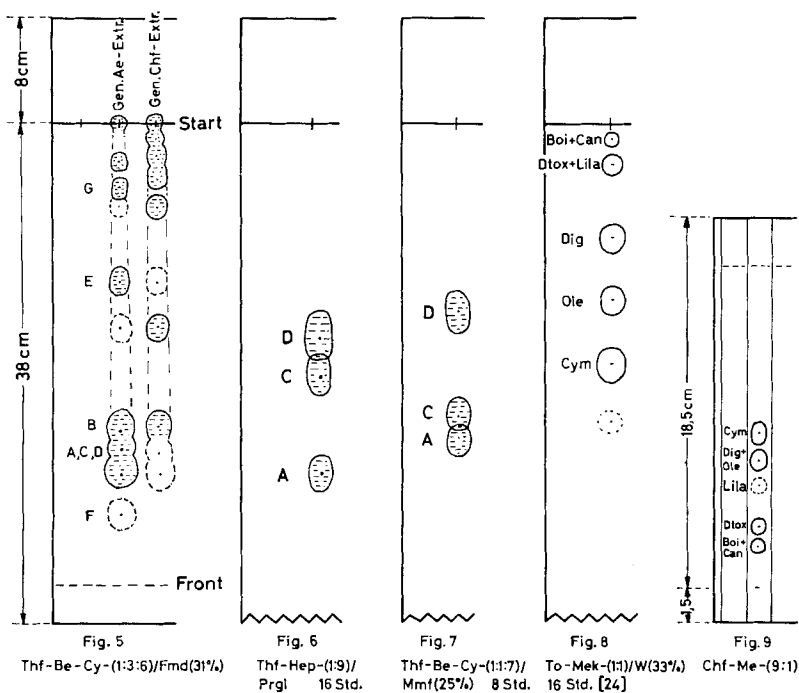
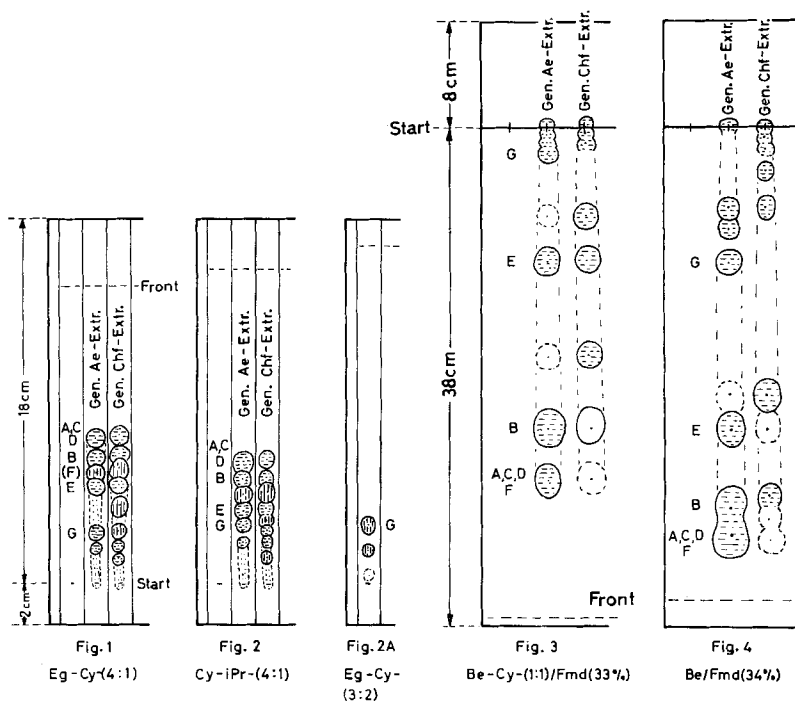
standen, nach PC. lag ein Gemisch von ca. 7 Stoffen vor, die nicht identifiziert werden konnten. Die verbliebenen Neutralteile zeigten im PC. und DC. ein recht ähnliches Bild wie vor der alkalischen Hydrolyse, auch wenn gewisse Veränderungen eingetreten zu sein schienen<sup>14)</sup>. Für die Trennung der Genine wurde daher auf eine alkalische Hydrolyse verzichtet.

**7. Präparative Trennung der Genine aus Ae-Extr.** – Die 21,9 g Genine aus gereinigtem Ae-Extr. wurden in zwei Portionen an  $\text{SiO}_2$  chromatographiert. Dabei liessen sich 1,8 g krist. Genin B gewinnen (davon 1,6 g analysenrein). Die Stoffe A, C, D wurden als Gemisch (ca. 3 g) erhalten, die Stoffe E, F und G als rohe Konzentrate, aus denen aber nach erneuter Chromatographie alle drei in reinen Kristallen anfielen. Schwieriger war die Trennung von A, C und D. Schon ihre eindeutige Differenzierung stiess auf Schwierigkeiten und erforderte *zwei* Systeme im PC. Im ersten System (Fig. 6) zeigten C und D nahezu gleiche Laufstrecken und im zweiten (Fig. 7) laufen A und C fast genau gleich. Alle drei Stoffe zeigten zudem mit  $\text{SbCl}_3$  praktisch gleiche Rotfärbung. Ein Teil des Gemisches (1,1 g) wurde durch Verteilungschromatographie im System von Fig. 7 getrennt. Dabei resultierten: ein Gemisch von A + C (279 mg), ca. 108 mg nahezu reines A, sowie 325 mg fast reines D. Aus diesem Konzentrat konnten 52 mg nicht ganz reine D-Kristalle isoliert werden. Ein Versuch zur Sublimation im Vakuum gab merkliche Zersetzung. Die unbehandelten D-Kristalle färbten sich bereits nach mehreren Stunden gelb, waren nach einigen Wochen dunkelbraun und nach PC. völlig zersetzt. Auch bei A und C handelte es sich um recht zersetzliche Stoffe, so dass auf weitere Versuche zur völligen Reinigung verzichtet wurde<sup>15)</sup>. Bei der folgenden Untersuchung beschränkten wir uns auf die Substanzen B, E, F und G. Es handelt sich um neue Stoffe, die wir mit Trivialnamen bezeichnet haben (vgl. Tab. 3 und 4). Tabelle 3 gibt eine Übersicht der Ausbeuten sowie eine Schätzung der im rohen Geningemisch wirklich enthaltenen Mengen, Tabelle 4 gibt die wichtigsten Eigenschaften, Gruppenreaktionen und die Bruttoformeln der isolierten Stoffe und einiger daraus bereiteter Derivate wieder. Es sind darin auch die Hydrierungsprodukte aufgenommen, die erst in der folgenden Mitteilung [33] beschrieben werden. Die Tabellen 5a und 5b geben einige Farbreaktionen<sup>16)</sup>. Die meisten dieser Stoffe wurden durch ihre UV.-Spektren (Fig. 10 und 11), IR.-Spektren (Fig. 12–20) und ihre Massenspektren (vgl. folgende Mitt. [33]) charakterisiert; einige Kommentare zu diesen Spektren finden sich bei den Figuren, eine weitere Besprechung erfolgt in der dritten Mitteilung [34], in der über die Strukturen berichtet wird, und in der auch die NMR.-Spektren wiedergegeben werden. Zur Erleichterung des Überblicks wurden die bewiesenen oder vermutlichen Formeln bereits in die Figuren eingesetzt.

<sup>14)</sup> Dies hat sich anschliessend als richtig erwiesen. Die Genine enthielten neben alkalistabilen Komponenten auch andere (z. B. Vincetogenin), die von Alkali verändert werden und die vermutlich eine Lactongruppe enthalten.

<sup>15)</sup> Es besteht die Möglichkeit, dass es sich bei A, C und D teilweise um Artefakte gehandelt hat, da die Stoffe B, E, F und G auch unter den Bedingungen der milden sauren Hydrolyse keineswegs völlig beständig sind. Das UV.- und das IR.-Spektrum von Substanz D zeigen Ähnlichkeit mit den Spektren von Iso-dihydroanhydrohirundigenin, es ist daher wohl möglich, dass dieser zersetzliche Stoff bei der sauren Hydrolyse aus B oder E entstanden ist.

<sup>16)</sup> Die auffallende Rotfärbung, die viele der Inhaltsstoffe von *Vincetoxicum* mit  $\text{SbCl}_3$  oder mit *p*-Toluolsulfonsäure geben, ist zu ihrer Erkennung im PC. und DC. sehr nützlich.



Die Fig. 1, 2, 2A und 9 sind Dünnschichtchromatogramme, Ausführung aufsteigend auf Linien-glas [29], bei 1–2 entwickelt durch Sprühen mit  $\text{SbCl}_3$  (gesättigt, ca. 22% in  $\text{CHl}$ ) und anschlie-ssendes Erhitzen auf  $90^\circ$  [30], bei Fig. 9 Spritzen mit 15-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk und Er-hitzen wie oben. – Fig. 3–8 sind Papierchromatogramme, Ausführung absteigend, bei Fig. 8 nach [24], bei Fig. 3–7 nach früheren Angaben [31], mit Wägung des Imprägniermittels [31c] und Ent-wicklung mit  $\text{SbCl}_3$  wie oben. – Boi = Boivinos = 2,6-Didesoxy-xylohexose, Can = Canarose = 2,6-Didesoxy-arabino-hexose, Cym = Cymarose = 3-O-Methyl-2,6-didesoxy-ribohexose, Dig = Diginose = 3-O-Methyl-2,6-didesoxy-lyxohexose, Dtox = Digitoxose = 2,6-Didesoxy-ribo-hexose, Ole = Oleandrose = 3-O-Methyl-2,6-didesoxy-arabino-hexose, Lila = Lilacinobiose = 4-O-(3-O-methyl-6-desoxy- $\beta$ -D-glucopyranosyl)-D-cymarose [32]. – Färbungen in den Fig. 1–7 vgl. Tab. 5a.

Tabelle 3. Ausbeuten an isolierten Stoffen, sowie rohe Schätzung der in 21,9 g Geningemisch (aus 855 g trockenen Rhizomen<sup>17)</sup>) wirklich vorhandenen Mengen

Stoff	Isolierte Menge		Geschätzter wirklicher Gehalt	
	in mg	in %	in mg	in %
A, nicht isoliert, nur als Gemisch mit C	–	–	400	0,047
B = Anhydrohirundigenin	1800	0,21	3000	0,35
C, nicht isoliert, nur als Gemisch mit A	–	–	200	0,024
D	130	0,015	350	0,041
E = Hirundigenin	400	0,047	700	0,082
F = Hirundosid-A	90	0,01	200	0,024
G = Vincetogenin	90	0,01	200	0,024

**8. Reaktionen und Schlussfolgerungen.** – Hier soll noch folgendes hervorgeho-ben werden. Hirundigenin (E) geht beim Sublimieren im Vakuum leicht in Anhydro-hirundigenin (B) über, was die nahe Verwandtschaft dieser zwei Stoffe beweist. Auch Hirundosid-A (F) ist nahe verwandt, denn es stellt ein Glykosid des Anhydro-hirundigens dar, das als Zuckeranteil D-Oleandrose enthält. Die kleine Menge Hirundosid-A, die wir isoliert haben, ist offenbar bei der milden sauren Hydrolyse des rohen Glykosidgemisches ungespalten geblieben, denn reines Hirundosid-A wurde bei erneuter Hydrolyse unter gleichen Bedingungen glatt gespalten. Beide Spalt-stücke liessen sich präparativ isolieren, nur enthielt das rohe Genin noch mehrere Nebenprodukte, da Anhydrohirundigenin (B) unter den Hydrolysebedingungen teil-weise verändert wird. Auch Vincetogenin (G) ist auf Grund seiner Zusammensetzung und seiner Spektren mit B und E verwandt, enthält jedoch mehr Sauerstoff. Wie in

<sup>17)</sup> Hier ist nur der geschätzte Gehalt in 21,9 g Geningemisch angegeben. Letzteres wurde aus 35 g gereinigtem Äther-Extrakt gewonnen und entspricht 855 g getrockneten Rhizomen. Es ist aber zu berücksichtigen, dass der Chloroform-Extrakt eine weitere Menge derselben Stoffe enthielt und dass alle diese Stoffe gegen Erwärmen mit Säure nicht völlig beständig sind, dabei teil-weise sogar sehr rasch verändert werden (dies ist besonders bei F, aber auch bei E und G der Fall. E und F gehen dabei zunächst in B über). Die in den Rhizomen in gebundener Form wirk-lich vorhandenen Mengen an unversehrten Geninen dürften daher teilweise erheblich grösser gewesen sein.



Tetrahydro-B (KST-6)	175–177° [+ 61,4 ± 3] Chf	C <sub>31</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> (348,49)	–	UV. IR. NMR. MS.
Ac-Tetrahydro-B (KST-16)	166–170° [+ 41,7 ± 4] Chf	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> (390,52)		IR. NMR.
Dihydro-desoxyhirundigenin (KST-7)	224–226° [– 26,1 ± 3] Chf	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> (348,49)	–	UV. IR. NMR. MS.
Ac-dihydro-desoxy- hirundigenin (KST-17)	190–193° [– 34,9 ± 3] Chf	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> (390,52)		IR. NMR.
Dihydro-14- <i>seco</i> - hirundigenin (KST-76)	234–240° Zers. [– 81,7 ± 4] Me	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub> (364,49)		IR. MS.
Tetrahydro-14- <i>seco</i> - hirundigenin (KST-75)	220–230° Zers. [– 36,8 ± 4] Me	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> (366,50)		IR. MS. NMR.
Iso-dihydro-B (KST-12)	181–183° [– 31,5 ± 3] Me	C <sub>21</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> (346,47)	– – +	UV. IR. ORD. <sup>24)</sup> NMR. MS.
Di-O-acetyl-iso-dihydro- anhydrohirundigenin (KST-33)	amorph [– 36,3 ± 3] An	C <sub>25</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub> (430,45)		UV. IR. MS. NMR.
Nebenprodukt (KST-26)	224–228°	(C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> ?) (378,51)		UV. IR. MS.
Tetrahydro-G (KST-38)	245–251° Zers. [+ 5,3 ± 4] Chf	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub> (380,49)		IR. MS.
Iso-terahydro-G (KST-37)	220–222° [+ 24,8 ± 4] Chf	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub> (380,49)		UV. IR. NMR. MS.
Di-O-acetyl-iso-tetrahydro- vinctogenin (KST-47)	184–190° [+ 26,5 ± 4] Chf	C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>8</sub> (464,56)		IR. MS.

+ bedeutet positive, – negative Reaktion. Wo nicht geprüft wurde, ist das entsprechende Feld offen gelassen.

<sup>18)</sup> Die meisten Phenole sowie andere kuppelungsfähige Stoffe geben bei diesen Reaktionen gelbe bis rote Färbung.

<sup>19)</sup> Reaktionsfähige Glykole und Ketole geben mit diesem Reagens farblose-gelbe Flecke auf blauem Grund.

<sup>20)</sup> Reaktionsfähige Ketole geben mit diesem Reagens eine Blaufärbung.

<sup>21)</sup> Aldehyde, Ketole, insbesondere auch Zucker und andere «reduzierende» Stoffe, geben mit diesem Reagens bereits bei 20° eine Schwarzfärbung. Einfache Phenole reagieren nicht, wohl aber *o*- und *p*-Dihydroxybenzole.

<sup>22)</sup> Vgl. Fig. 10–20; NMR. in [34]; MS. in [33].

<sup>23)</sup> Auf Grund des NMR.-Spektrums ist eine Methoxylgruppe anwesend, keine ZEISEL-Bestimmung ausgeführt.

<sup>24)</sup> Die optische Rotations-Dispersion (Fig. 19 in [33]) zeigte einen stark negativen Corron-Effekt mit  $\alpha = -144^\circ$  in Me ( $a = 0,01$  der molaren Amplitude).

Tabelle 5a. Farbreaktionen der nachgewiesenen Stoffe im DC. ( $\text{SiO}_2$ ) und PC. (Die Acetylderivate zeigten ähnliche Färbungen)

Stoff	SbCl <sub>3</sub> (22% in CHCl <sub>3</sub> ) vgl. die Fig. 1-8 (SiO <sub>2</sub> und PC.)				<i>p</i> -Toluol-sulfonsäure, nur auf SiO <sub>2</sub>	
	nicht erhitzt SiO <sub>2</sub> u. PC. sofort	auf 90° erhitzt				
		nach 3 Min.		nach 10 Min.		
		SiO <sub>2</sub>	PC.	SiO <sub>2</sub>	PC.	
A	fraglich	}	rotviol.	}	rotviol.	
C	fraglich		rotviol. <sup>25)</sup>		rotviol.	rotviol.
D	fraglich				rotviol.	rotviol.
B	orangerot	grauviol.	orangerot	graugrün	blauviol.	
E	orange	grauviol.	orangerot	graugrün	blauviol.	
F	orangerot	rotviol.	rotbraun	graugrün	graugrün	
G	rotviol.	rotviol.	rotviol.	rotviol.	rotviol.	
Dihydro-B	keine Färb.	schwach orangerot	graubraun	graugrün	braunrot	
Tetrahydro-B	keine Färb.	rötl. braun	rotbraun	graubraun	viol. rot	
Dihydro-desoxy-E	keine Färb.	rötl. braun	rotbraun	graubraun	viol. rot	
Isodihydro-B	orangerot	rotorange	orangerot	rotbraun	rotorange	
Tetrahydro-G	orangerot	rotorange	rotorange	rotbraun	rotorange	
Iso-tetrahydro-G	orangerot	rotorange	rotorange	rotviol.	rotviol.	

<sup>25)</sup> A, C und D liessen sich im DC. nicht trennen.

<sup>25)</sup> A, C und D liessen sich im DC. nicht trennen.

Tabelle 5b. Farbreaktionen der isolierten Stoffe mit 96-proz.  $H_2SO_4$ <sup>26)</sup>

Zeit	B	D	E	F	G
1 Min.	orange	fraglich	gelb	gelbbraun	himbeerrot
2 Min.	rotorange	fraglich	orange	gelbbraun	himbeerrot
3 Min.	rotorange	fraglich	rotorange	gelbbraun	himbeerrot
	Rand rotviol.		Rand rotviol.		
10 Min.	himbeerrot	fraglich	himbeerrot	rötl. braun	rotbraun
	Rand rotviol.		Rand rotviol.		
30 Min.	rotviol.	fraglich	rotviol.	rotviol.	braunrot

folgender Mitteilung [33] gezeigt wird, enthalten Hirundigenin (E) und Anhydrohirundigenin (B) ein 16-Methyl-15-oxa-pregnan-Gerüst. Ihre Struktur ist auf chemischem Wege nur teilweise, von KENNARD *et al.* [35] durch RÖNTGEN-Strukturanalyse sicher bewiesen worden. Vermutlich enthält auch Vincetogenin dasselbe Gerüst. Ein solches ist unseres Wissens noch bei keinem Naturprodukt beobachtet worden. — Diese Glykoside aus *Vincetoxicum* unterscheiden sich von vielen anderen in Asclepiadaceen aufgefundenen Glykosiden von Pregnanderivaten, nicht nur durch den im Sterinanteil aufgebrochenen D-Ring, sondern auch durch die Tatsache, dass sie keine Estergruppen enthalten und dass an ihrem Aufbau fast nur 2-Desoxyzucker beteiligt sind.

**9. Biologische Prüfung.** — Die CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, war so freundlich, die reinen Genine: Hirundigenin (KST-5), Anhydrohirundigenin (KST-1) und Vincetogenin (KST-23) sowie Hirundosid-A (KST-22), auf cytostatische Wirkung an Mastocytozomen *in vitro* zu prüfen [41]. Die vier genannten reinen Präparate zeigten bis zu einer Konzentration von 100  $\mu\text{g/ml}$  keine Wirkung. Eine gewisse, teilweise sogar starke Wirkung zeigten einige der rohen Glykosidgemische, sowie das rohe Geningemisch aus dem Chf-Extr. (vgl. Tab. 6).

Danach zeigte einzig der Chf-Extr. eine relativ starke Wirkung<sup>28)</sup>. Dieses Material zeigte auch gute Wirksamkeit gegen Pilze *in vitro*. *Trichophyton interdigitale* und

Tabelle 6. Cytostatische Wirkung der rohen Glykoside und Genine aus den unterirdischen Teilen von *Vincetoxicum hirundinaria*<sup>27)</sup>

Geprüftes Präparat	ED <sub>50</sub> $\mu\text{g/ml}$
Ae-Extr. roh (KST-18)	1,0
Chf-Extr. (KST-19)	0,25
Chf-Alk-(2:1)-Extr. (KST-20)	3,0
Chf-Alk-(2:1)-Extr. (KST-21)	20,0
Genin-Gemisch (KST-34) aus Chf-Extr.	3,0

<sup>26)</sup> Auf Porzellantüpfelplatte [40].<sup>27)</sup> Wir danken den Herren J. GELZER, F. KNÜSEL und F. KRADOLFER in den Biologischen Laboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, für die Ausführung der Prüfung, und der Direktion dieser Abteilung für die Erlaubnis die Resultate (Briefe vom 30. 3. 1966 und 31. 5. 1967 sowie 20. 2. 1968) hier publizieren zu dürfen.<sup>28)</sup> In derselben Versuchsanordnung zeigt Colcemid eine ED<sub>50</sub> von 0,008  $\mu\text{g/ml}$  und Actinomycin D eine solche von 0,005  $\mu\text{g/ml}$ .



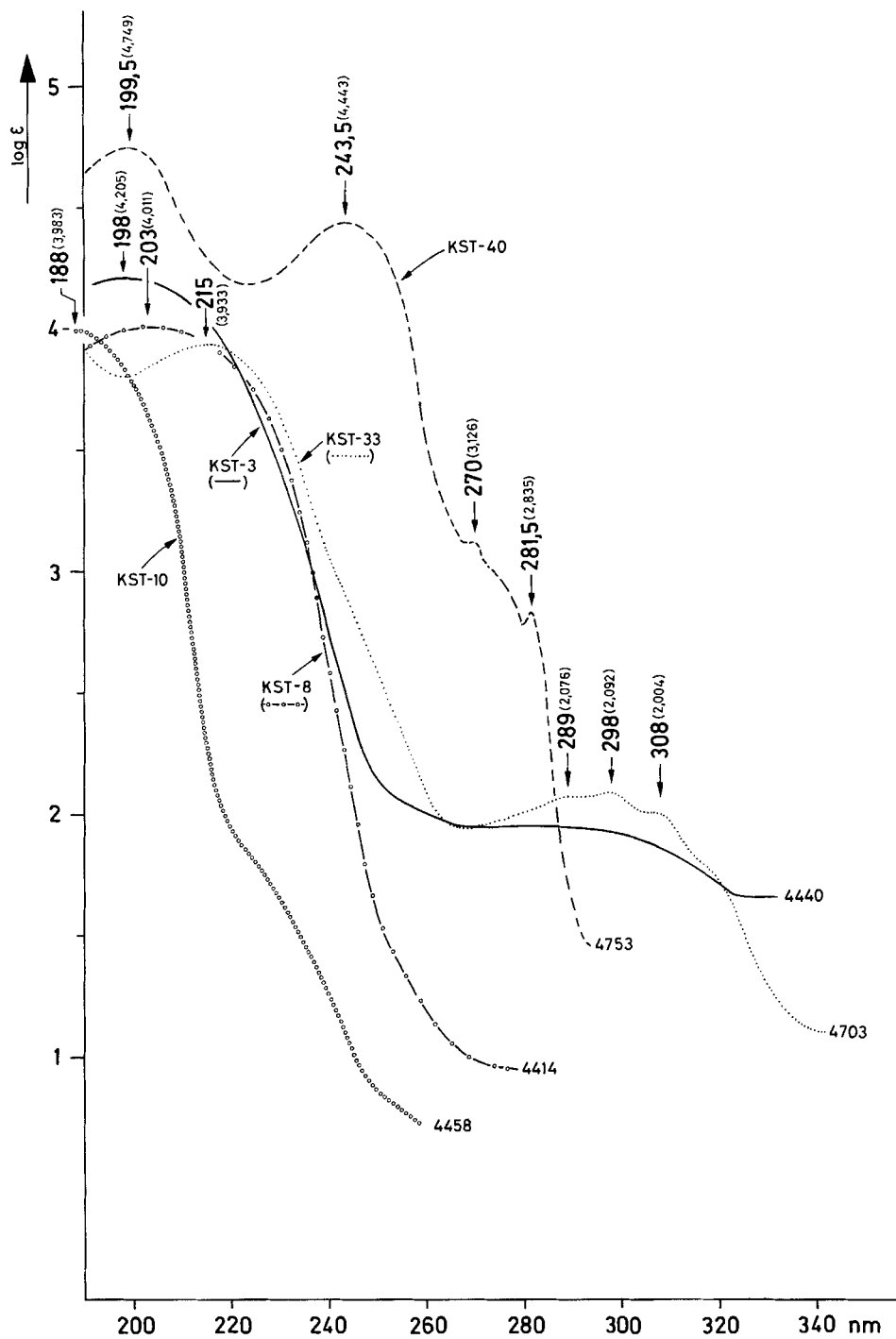


Fig. 11

Fig. 10. UV.-Spektren in Alkohol<sup>29)</sup>

Kurve 4231 = B = Anhydrohirundigenin (KST-1)  
 $\log \epsilon = 4,284$  bei 196 nm; Max. bei 289 nm,  
 $\log \epsilon = 1,954$ .

Kurve 4406 = Dihydro-B = Dihydro-anhydro-  
 hirundigenin (KST-4) Max. bei 202 nm,  $\log \epsilon = 4,06$ .

Kurve 4450 = E = Hirundigenin (KST-5)  
 $\log \epsilon = 3,915$  bei 196 nm.

Kurve 4686 = F = Hirundosid-A (KST-22)

Kurve sehr ähnlich wie B, Max. bei 199 nm,  
 $\log \epsilon = 4,246$ ; Max. bei 286 nm,  $\log \epsilon = 1,577$ .

Kurve 4596 = G = Vincetogenin (KST-23)  
 $\log \epsilon = 4,05$  bei 196 nm; S bei 216 nm,  $\log \epsilon = 3,787$ .

Kurve 4488 = Is-odihydro-B = Iso-dihydro-  
 anhydrohirundigenin (KST-12)  
 Max. bei 214 nm,  $\log \epsilon = 3,764$ ; Max. bei 292 nm,  
 $\log \epsilon = 1,875$ .

Kurve 4598 = KST-26 = Nebenprodukt bei der  
 Herstellung von Iso-dihydro-B  
 $\log \epsilon = 3,384$  bei 196 nm; Max. bei 282 nm,  
 $\log \epsilon = 1,718$ .

Keine selektive Absorption zeigten Tetrahydro-  
 hirundigenin (KST-6), Dihydro-desoxy-hirundigenin  
 (KST-7) und seine O-Acetylverbindung (KST-17)  
 sowie Iso-tetrahydro-vincetogenin (KST-37).

Fig. 11. UV.-Spektren in Cyclohexan<sup>29)</sup>

Kurve 4440 = Ac-B = O-Acetyl-  
 anhydro-hirundigenin (KST-3)  
 Max. bei 198 nm,  $\log \epsilon = 4,205$ ; Max.  
 bei ca. 290 nm,  $\log \epsilon = 1,93$ .

Kurve 4414 = Ac-dihydro-B = O-  
 Acetyl-di-hydro-anhydrohirundigenin  
 (KST-8)

Max. bei 203 nm,  $\log \epsilon = 4,011$ .

Kurve 4753 = *p*-Br-benz.-B = *p*-  
 Brombenzoyl-anhydrohirundigenin  
 (KST-40)

Max. bei 199,5 nm,  $\log \epsilon = 4,749$

Max. bei 243,5 nm,  $\log \epsilon = 4,443$

Max. bei 270 nm,  $\log \epsilon = 3,126$

Max. bei 281,5 nm,  $\log \epsilon = 2,835$

Kurve 4458 = Ac-E = O-Acetyl-  
 hirundigenin (KST-10)

Max. bei 188 nm,  $\log \epsilon = 3,983$ .

Kurve 4703 = Ac-Iso-dihydro-B = O-  
 Acetyl-iso-dihydro-anhydrohirundige-  
 nin (KST-33) Max. bei 215 nm,  $\log \epsilon =$   
 $3,933$ ; Max. mit Feinstruktur (?) bei  
 289 nm,  $\log \epsilon = 2,076$ ; 298 nm,  $\log \epsilon =$   
 $2,092$ ; 308 nm,  $\log \epsilon = 2,004$ . Extink-  
 tionen ev. ungenau, da Präp. amorph.

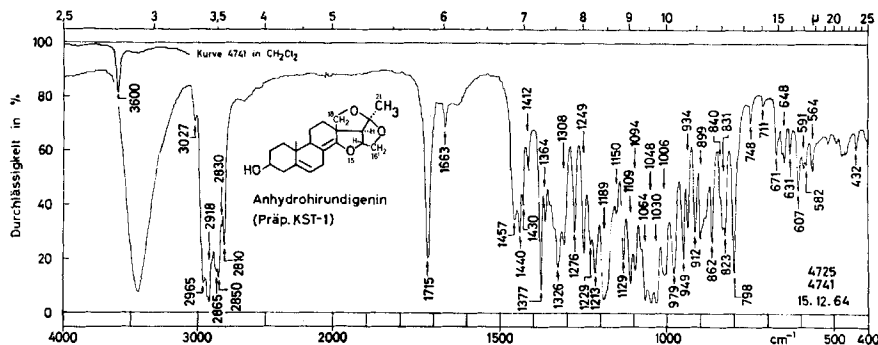


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum von B = Anhydrohirundigenin (KST-1), Smp. 212–217° (Zers.). Hauptkurve 4725 entspr. 2,7 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>30)</sup>. Teilstück Kurve 4741 entspr. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung, 0,06 M,  $\bar{d} = 0,2$  mm<sup>30)</sup>.

<sup>29)</sup> Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER auf einem BECKMAN-UV.-Spektralphotometer, Modell DK-2,  $\log \epsilon$  überall berechnet auf die in Tab. 4 angegebenen Bruttoformeln.

<sup>30)</sup> Aufgenommen von den Herren W. SCHWAB und CH. SENN auf einem PERKIN-ELMER-Zwei-strahl-Gitter-Spektrometer, Modell 125.

<sup>31)</sup> Frau Dr. B. S. GALLAGHER, Institute for Steroid Research, Montefiori Hospital & Medical Center, 111 East 210th Street, Bronx, N.Y. 10467, fand auf einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell IR9, für die charakteristischen Banden der zwei Doppelbindungen eine etwas andere Lage, nämlich 1721 und 1667 cm<sup>-1</sup>. Sie schrieb dazu (in *lit.* 19.11.65): «1721 cm<sup>-1</sup> undoubtedly due to a perturbed >C=C-O-; other examples are found below 1700 cm<sup>-1</sup>, but in this instance the adjacent group could account for the shift». Wir danken Frau Dr. GALLAGHER auch hier bestens für die Aufnahme und ihren Kommentar.

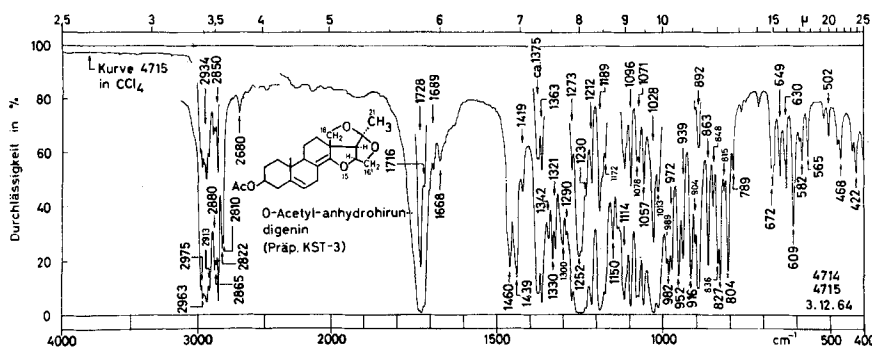


Fig. 13. IR.-Absorptionsspektrum von Ac-B = O-Acetyl-anhydrohirundigenin (KST-3), Smp. 156–158°.

Hauptkurve 4714 = 2,95 mg, obere Teile 0,5 mg fest in ca. 300 mg KBr. Teilstück, Kurve 4715, entspr. 0,06 M  $\text{CCl}_4$ -Lösung,  $d = 0,2 \text{ mm}^{30)}$ , hier lagen die kurzwelligen Hauptbanden bei 2970, 2940, 2885, 2855, 2812, 1732 und  $1664 \text{ cm}^{-1}$ , die kleine Zacke bei  $1720 \text{ cm}^{-1}$ . Wie ersichtlich, ist bei Kurve 4715 im  $4000\text{--}3100 \text{ cm}^{-1}$ -Bereich keine Bande sichtbar, eine HO-Gruppe ist daher abwesend.

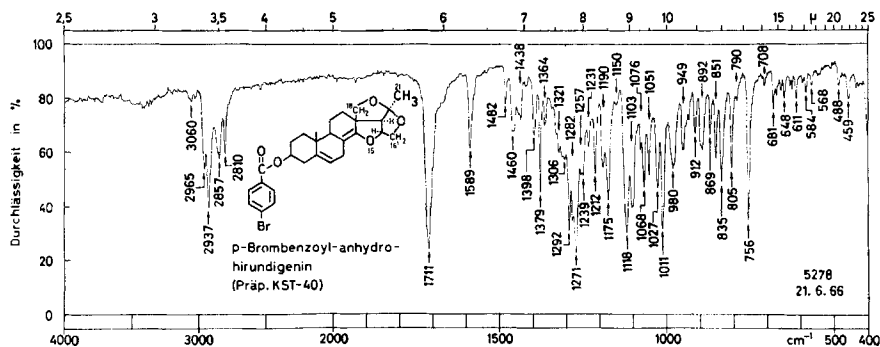


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum von p-Brombenzoyl-anhydrohirundigenin (KST-40), Smp. 244–248°.

1,00 mg fest in  $\text{KBr}^{32)}$ .

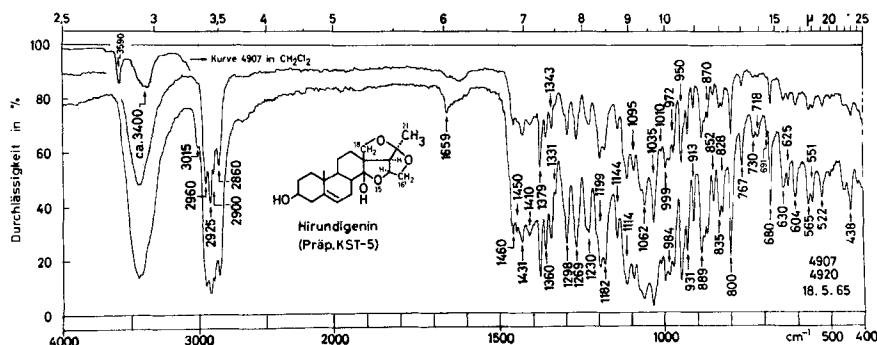


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum von E = Hirundigenin (KST-5), Smp. 190–196°.

Obere Hauptkurve (4920) = 0,6 mg, untere Hauptkurve = 3 mg, fest in ca. 300 mg KBr. Teilstück 4907 entspr.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Lösung, 0,06 M,  $d = 0,2 \text{ mm}^{32)}$ .

<sup>32)</sup> Aufgenommen von Herrn K. AEGERTER und W. SCHWAB; es diente dazu das oben <sup>30)</sup> genannte Instrument.

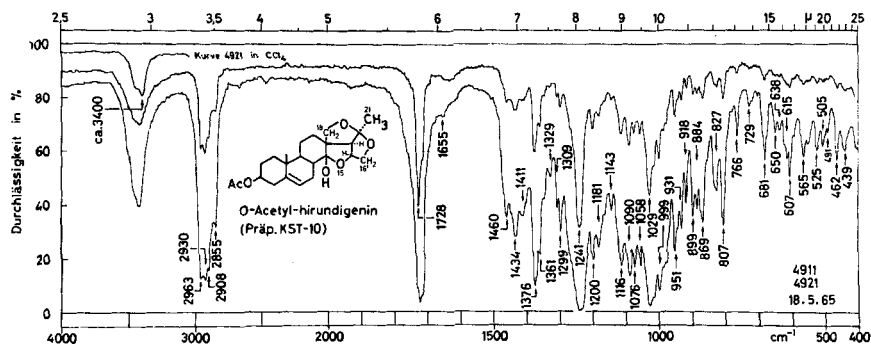


Fig. 16. IR-Absorptionsspektrum von O-Acetyl-hirundigenin (KST-10), Smp. 168–178°.

Obere Hauptkurve (4911) = ca. 0,6 mg, untere Hauptkurve = 2,62 mg, fest in ca. 300 mg KBr. Teilkurve 4921 (5% nach oben versetzt) entspr. 0,06 M CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung,  $d = 0,2$  mm<sup>32</sup>). In letzterer ist im HO-Gebiet nur eine Bande bei ca. 3400 cm<sup>-1</sup> sichtbar, entspr. einer stark verbrückten HO-Gruppe.

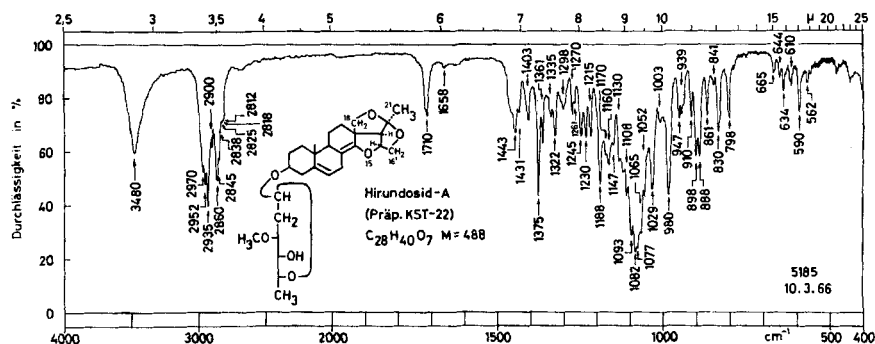


Fig. 17. IR-Absorptionsspektrum von F = Hirundosid-A (KST-22), Smp. 207–212°. 0,69 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>32</sup>).

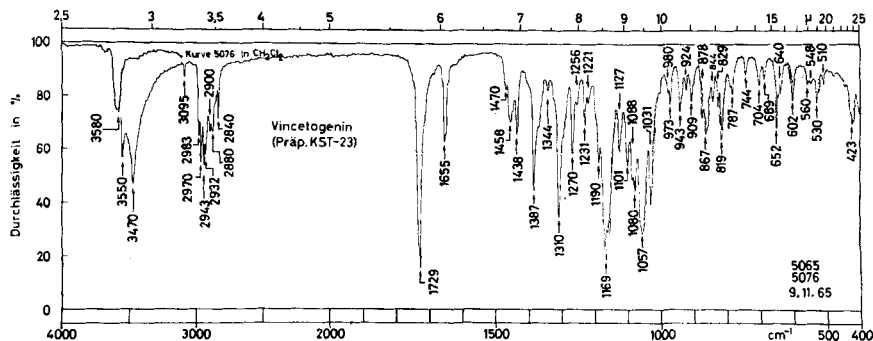


Fig. 18. IR-Absorptionsspektrum von G = Vincetogenin (KST-23), Smp. 228–230°.

Hauptkurve 5065 = 0,77 mg fest in ca. 300 mg KBr. Teilkurve 5076 entspr. 0,06 M CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Lösung,  $d = 0,2$  mm<sup>32</sup>).

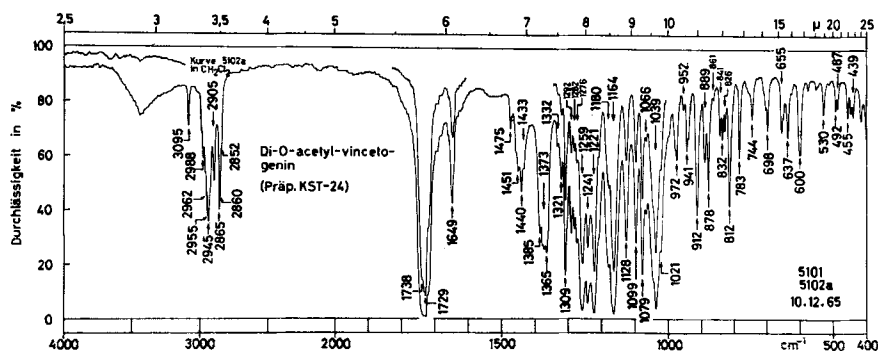


Fig. 19. IR-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-vincetogenin (KST-24), Smp. 251–258°.

Hauptkurve 5101 = 1,06 mg (oberes Teilstück = ca. 0,5 mg) fest in ca. 300 mg KBr. Teilkurve 5102a = 0,06 M  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Lösung,  $d = 0,2 \text{ mm}^{32}$ ).

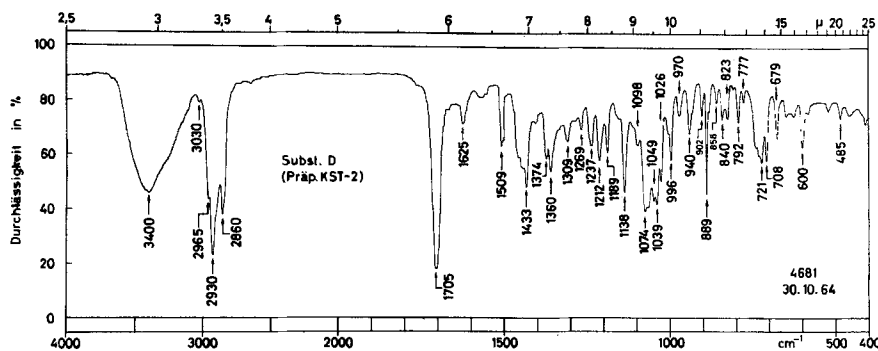


Fig. 20. IR-Absorptionsspektrum von Subst. D (KST-2), Smp. 88–92°, nicht sicher rein, sofort nach der Isolierung aufgenommen, Bruttoformel unbekannt; 1,2 mg fest in ca. 300 mg  $\text{KBr}^{30}$ ).

Das Spektrum zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit demjenigen von Iso-dihydro-anhydrohirundinogenin (Fig. 14 in [33]), so besonders durch die Banden bei ca. 1625 und 1509  $\text{cm}^{-1}$  und durch die Anwesenheit einer Bande bei 1705  $\text{cm}^{-1}$ , sowie der scharfen Bande bei 889  $\text{cm}^{-1}$ , die für das Vorliegen einer Vinylgruppe spricht.

*T. mentagrophytes* wurden bereits durch eine Konzentration von 0,2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  in ihrem Wachstum gehemmt, *Aspergillus elegans* durch 1,5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  und *Candida albicans* durch 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . *In vivo* war hingegen an Mäusen bei wiederholter subcutaner oder oraler Gabe von 100 mg/kg keine Wirkung gegen *Candida albicans* festzustellen. Bei den übrigen mikrobiologischen Untersuchungen gab das Präparat bis 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  negative Resultate (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mitis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Entamoeba histol.* und *Trichomonas foetus*).

Der eine von uns (K. St.) dankt der CIBA-AKTIENGESellschaft, Basel, auch hier bestens für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichte. Ferner danken wir der BIGA, BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT in Bern für einen Beitrag zur Beschaffung des Pflanzenmaterials und dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag zu den Kosten dieser Untersuchung.

## Experimenteller Teil

**Allgemeine Angaben.** – Alle *Smp.* wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführung bis 200° ca.  $\pm 2^\circ$ ; darüber  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben für *Drehungsbestimmungen* wurden 1 Std. bei 60° und 0,01 Torr getrocknet, für *Spektren* und *Analysen* 3–4 Std. bei 20° und 0,01 Torr. Zur Analyse wurde danach noch weiter, wie jeweils angegeben, bei 0,01 Torr über  $P_2O_5$  getrocknet. – Zur *Adsorptionschromatographie* nach DUNCAN [42] diente  $SiO_2$  «MERCK» (Korngrösse 0,05–0,2 mm), für *Dünnschichtchromatographie* (DC.) Kieselgel G nach STAHL [43]. Die *Papierchromatogramme* (PC.) wurden auf WHATMAN-Papier Nr. 1, imprägniert mit W oder anderen stationären Phasen (ca. 33% des Trockengewichtes [31 c]), absteigend ausgeführt. Wo nichts anderes angegeben, wurden die DC. und PC. durch Besprühen mit 22-proz.  $SbCl_3$  in  $CHCl_3$  und anschliessendes Erhitzen auf ca. 100° (4–5 Min.) entwickelt. – *Reaktionen:* Ausführung der KEDDE-Reaktion [20], der Xanthydrol-Reaktion [21], der BARTON-Reaktion [22], der Reaktionen mit Blautetrazolium [38],  $NaJO_4$ -Benzidin [37], diazotierter Sulfanilsäure [36] und alkalischer Silberdiamminlösung [39] nach früherer Lit. – *Übliche Aufarbeitung* bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Ae-Chf-(3:1), zweimaliges Waschen mit kalter (0°) 0,5N HCl, 10-proz.  $KHCO_3$ -Lösung und W, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen (meist im Vakuum).

**Abkürzungen:** AcOH = Eisessig,  $Ac_2O$  = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, Eg = Äthylacetat, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), Hep = Heptan, iPr = Isopropanol, Me = Methanol, Mek = Butanon, ML. = Eingedampfte Mutterlauge, Mmf = Monomethylformamid, MS. = Massenspektrum, Pe = Petroläther, PE. = Papier-Elektropherogramm und Papier-Elektrophorese, Pgl = Propylenglykol, Pn = Pentan, Py = Pyridin, Sp = Spektrum, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser; Verhältniszahlen bei Gemischen beziehen sich auf Volumina.

**Extraktion der Wurzeln und Vortrennung der Extrakte.** – *Probe 1.* 600 g getrocknete und fein gemahlene Wurzeln wurden mit 2 l W angeteigt, 12 Std. bei 20° stehengelassen und anschliessend nach früherer Vorschrift [19a] weiterbehandelt. Sie gaben die in Tab. 1 aufgeführten Ausbeuten an neutralen Extrakten.

*Probe 2.* 2 kg Wurzeln wurden genau gleich extrahiert, Ausbeute vgl. Tab. 1.

*Entfettung des rohen Ätherextraktes.* 87,2 g roher Ätherextrakt wurden durch Verteilung zwischen 80-proz. Me und Pe entfettet [44] und gaben 7,177 g Pe-Extr. als orange-rotes dickes Öl (nicht untersucht) und 80 g entfetteten Ae-Extrakt.

**Hydrolysen und Extrakte.** – *Milde saure Hydrolyse des Ätherextraktes.* – a) *Vorversuch*<sup>33)</sup>. 1,640 g Ae-Extr. wurden nach früherer Vorschrift [23] mild hydrolysiert. Erhalten wurden 1,053 g rohes Geningemisch und 0,632 g roher Zuckersirup. Das Geningemisch zeigte im DC. (Fig. 1, 2) und im PC. (Fig. 3–5) eine Vielzahl von Flecken. Das Zuckergemisch zeigte im DC. (Fig. 9) 4 Flecke, im PC. in zwei Systemen (To-Bu-(4:1)/W, To-Mek-(1:1)/W (Fig. 8)) jeweils 5 Flecke. Die  $R_{Cym}$ -Werte [24] stimmten mit denjenigen überein, die für Boivinose, Digitoxose, Diginose, Oleandrose und Cymarose angegeben werden [24]. Wie die präparative Trennung zeigte (siehe unten), war ausser diesen 5 Zuckern noch Canarose anwesend.

b) *Hauptversuch.* 35 g entfetteter Ae-Extrakt wurden genau gleich hydrolysiert und lieferten 21,9 g Geningemisch und 12 g gelben Zuckersirup.

*Milde saure Hydrolyse des Chloroformextraktes.* Eine Probe dieses Materials (2,126 g) wurde wie oben hydrolysiert. Die Aufarbeitung geschah gleich, nur wurde zum Ausschütteln reines Chf verwendet. Erhalten wurde 1,309 g Geningemisch, das im DC. (Fig. 1, 2) und im PC. (Fig. 3–5) eine Vielzahl von Flecken zeigte, sowie 0,760 g Zuckersirup, der im PC. (Fig. 8) dieselben 5 Flecke zeigte wie der Zuckersirup aus dem Ae-Extr.

*Energische Hydrolyse des Geningemisches aus dem Ätherextrakt.* 285 mg Geningemisch wurden mit 10 ml KILIANI-Mischung<sup>34)</sup> 1 Std. auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung nach RHEINER *et al.* [45]

<sup>33)</sup> Dieser Versuch wurde mit nicht entfettetem Ae-Extrakt ausgeführt.

<sup>34)</sup> Gemisch von konz. HCl-AcOH-W-(1:3,5:5,5) [28].

gab als «Zuckerfraktion» nur 3 mg hellgelben Rückstand. Die Prüfung mit PARTRIDGE-Reagens [46] war negativ. Normale Zucker waren im geprüften Geningemisch somit abwesend.

*Energetische Hydrolyse des Geningemisches aus dem Chf-Extrakt.* 294 mg Geningemisch wurden genau wie oben behandelt und lieferten 222 mg dunkelbraune Anhydrogenine, die nicht untersucht wurden, sowie aus der wässrigen Phase 3 mg hellgelben Rückstand. Die Zuckerprüfung mit PARTRIDGE-Reagens [46] war auch hier negativ.

**Trennung der Zucker aus Ae-Extr.** – 6,4 g Zuckersirup wurden an 2 kg SiO<sub>2</sub> chromatographiert. Die Säule wurde mit Chf bereitet, eluiert wurde mit Chf-Me-Gemischen. Resultat siehe Tabelle 7.

Tabelle 7. *Trennung von 6,4 g Zuckersirup an 2 kg SiO<sub>2</sub>*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel 200 ml je Fr.	Eindampf- rückstand Menge in mg	Zusammensetzung <sup>35)</sup>		Weitere Verarbeitung
			PC.	PE.	
1– 25	Chf-Me-(95:5)	–			
26	Chf-Me-(95:5)	120			nicht weiter untersucht
27– 31	Chf-Me-(95:5)	53			nicht weiter untersucht
32	Chf-Me-(95:5)	528	Cym		nach Dest. 70 mg Krist.
33	Chf-Me-(95:5)	938	Cym		nach Dest. 317 mg Krist.
34	Chf-Me-(95:5)	468	Cym		nach Dest. 32 mg Krist.
35	Chf-Me-(95:5)	190	Cym		nach Dest. 90 mg Krist.
36– 39	Chf-Me-(95:5)	216	Cym (Ole) (Dig)		
40– 43	Chf-Me-(95:5)	1225	(Cym) Ole Dig		Chrom. an SiO <sub>2</sub> , dann präp. PC.
44– 51	Chf-Me-(95:5)	1095	Ole, Dig		Präp. PC.
52– 67	Chf-Me-(95:5)	62	Ole, Dig		Präp. PC.
68	Chf-Me-(95:5)	10	Lila (Ole) (Dig)		Chrom. an SiO <sub>2</sub>
69	Chf-Me-(93:7)	10	Lila (Ole) (Dig)		Chrom. an SiO <sub>2</sub>
70	Chf-Me-(93:7)	10	Lila (Ole) (Dig)		Chrom. an SiO <sub>2</sub>
71– 92	Chf-Me-(93:7)	101	Dtox, Ole, Dig		nicht getrennt
93– 96	Chf-Me-(9:1)	333	Dtox		247 mg Krist.
97–107	Chf-Me-(9:1)	415	Dtox		110 mg Krist.
108–114	Chf-Me-(9:1)	181		Dtox (Can) (Boi)	nicht getrennt
115–118	Chf-Me-(9:1)	168		Dtox, Can, Boi	
119–122	Chf-Me-(9:1)	101		(Dtox) Can, Boi	PE.
123–134	Chf-Me-(9:1)	90		(Dtox) Can, Boi	
		Total 6314			

Die Fr. 32–34 wurden jeweils einzeln bei 80–100° Ölbadtemp./0,01 Torr destilliert und die farblosen Destillate anschliessend aus abs. Ae kristallisiert; sie lieferten 419 mg krist. D-Cymarose. Die braungelben Destillationsrückstände wurden nicht weiter untersucht. Eine Probe Zucker wurde nochmals umkristallisiert und zeigte Smp. 85–90° (Präp. KST-63),  $[\alpha]_{D}^{22} = +53,4^{\circ} \pm 4^{\circ}$  ( $c = 0,4918$  in W) (nach 25 Min; nach 13 Std. ebenso). Der Misch-Smp. mit D-Cymarose zeigte keine Depression, auch die Laufstrecken im PC. waren gleich.

Die Fr. 35 (190 mg) gab nach der Destillation 180 mg farblosen Sirup, der aus abs. Ae 90 mg krist. D-Cymarose vom Smp. 77–83° gab.

Die Fr. 40–43 (1225 mg) wurden an 320 g SiO<sub>2</sub> mit Chf-Me-(95:5) chromatographiert. Dabei erhielt man 944 mg Material, das nach PC. nur noch Diginose und Oleandrose, aber keine Cymarose mehr enthält. 350 mg davon wurden zur präparativen Papierchromatographie (siehe unten) verwendet.

<sup>35)</sup> Abkürzungen wie bei Fig. 8–9.

Die Fr. 68 und 70 (20 mg teilweise krist. gelber Sirup) wurden an 1 g  $\text{SiO}_2$  mit Chf-Me-(9:2) chromatographiert. Erhalten wurden 15 mg farbloser Honig, aus An-Pn farblose Prismen Smp. 168–182°. Nach DC. (Chf-Me-(9:1)) waren die Kristalle nicht ganz einheitlich, bestanden aber zur Hauptsache aus Lilacinobiose.

Die Fr. 69 (10 mg gelbliche Kristalle, Smp. 177–183°) wurden an 0,5 g  $\text{SiO}_2$  wie oben chromatographiert. Erhalten wurden 7 mg farbloser Honig, aus An-Pn farblose Prismen vom Smp. 177–184° (Präp. KST-74),  $[\alpha]_{589}^{22} = +29,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,363$  in W). Sie waren nach PC. fast einheitlich und nach Mischprobe und IR.-Spektrum identisch mit authentischer *Lilacinobiose* [32].

Die Fr. 93–107 gaben aus An-Ae insgesamt 357 mg krist. D-Digitoxose. Ein Teil wurde nochmals umkristallisiert und lieferte farblose Nadeln vom Smp. 99–105° (Präp. KST-64),  $[\alpha]_{589}^{22} = +47,2^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,9817$  in W) nach 10 Min.;  $[\alpha]_{589}^{22} = +48,4^\circ \pm 4^\circ$  nach 4 Std. Misch-Smp. mit D-Digitoxose ohne Depression.

Die Fr. 108–134 wurden nur im DC. und PE. untersucht. Sie stellten Gemische von Dtox, Can und Boi dar.

*Energetische Hydrolyse des rohen Zuckergemisches aus Ae-Extrakt.* 522 mg Zuckersirup wurden mit 20 ml KILIANI-Mischung [28] wie oben behandelt. Aus dem Chf-Ae-(1:2)-Auszug erhielt man 282 mg schwarzen Sirup (nicht untersucht). Die wässrige Phase lieferte 57 mg gelben Honig, der nach PC. (To-Bu-(1:2)/W) und DC. (Eg-iPr-Me-70:15:15) *Thevetose* als einzigen Zucker enthielt.

*Präparative Papierchromatographie der Fr. 40–43 von Tab. 7.* 350 mg der an  $\text{SiO}_2$  gereinigten Fr. 40–43 von Tab. 7 wurden auf 10 Bögen Filterpapier WHATMAN Nr. 1 (40 × 46 cm) mit Mek-To (1:1)/W (16 Std.) getrennt. Zur Lokalisierung der Substanzzonen wurden nach kurzer Trocknung (5 Min. bei ca. 90°) aus jedem Filterbogen 3 schmale Streifen ausgeschnitten und mit Vanillin-Perchlorsäure-Reagens [47] entwickelt. Die Substanzzonen schnitt man aus, zerkleinerte sie mit der Schere und extrahierte sie 4mal mit An-Me-(1:1).

Von der langsamer laufenden Komponente (Dig) wurden so 162 mg Rohprodukt als Sirup erhalten. Destillation bei 0,01 Torr wie oben und Kristallisation aus Ae-Pn lieferten 92 mg L-Diginose in farblosen Nadeln vom Smp. 81–87° (Präp. KST-65),  $[\alpha]_{589}^{22} = -63,4^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,678$  in W) nach 10 Min.;  $[\alpha]_{589}^{22} = -59,6^\circ \pm 4^\circ$  nach 5 Std. Misch-Smp. mit L-Diginose ohne Depression.

Von der schneller laufenden Komponente (Ole) wurden 165 mg Rohprodukt (gelber Sirup) erhalten. Dieses Material wurde bei 0,01 Torr im Molekularkolben destilliert und das Destillat an 10 g  $\text{SiO}_2$  mit Chf-Me-(47:3) chromatographiert. Erhalten wurden 144 mg farbloser Sirup,  $[\alpha]_{589}^{23} = -8,0^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,674$  in W), der nach PC. und DC. nur den *Oleandrose*-Fleck zeigte, sich aber nicht kristallisieren liess.

*D-Oleandronsäure-phenylhydrazid.* 139 mg vom obigen Sirup wurden nach früherer Vorschrift [27] mit Bromwasser oxydiert und lieferten 117 mg rohes und 110 mg destilliertes Lacton als farblosen Sirup. Nach Umsetzung mit 85 mg reinem Phenylhydrazin und Chromatographie an 16 g  $\text{SiO}_2$  (Chf-Me-(9:1)) wurden 58,9 mg gelblicher Sirup erhalten. Aus Me-Ae 20 mg farblose, zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 127–130° (Präp. KST-71),  $[\alpha]_{589}^{23} = -18,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,452$  in Me). Nach Mischprobe und IR.-Spektrum identisch mit authentischem Material.

**Alkalische Hydrolyse des Geningemisches.** – a) *Aus dem Ae-Extrakt*<sup>23</sup>. 300 mg Geningemisch wurden mit 9 ml 5-proz. KOH in Me unter  $\text{N}_2$  2 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde mit 9 ml W versetzt, im Vakuum auf ca. 8 ml eingengt, mit  $\text{H}_3\text{PO}_4$  kongosauer gemacht und 3mal mit 35 ml Ae-Pn-(1:1) ausgeschüttelt. Die Ae-Pe-Extrakte wurden einmal mit 3 ml W, 3mal mit 6 ml 2N  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lsg. und noch einmal mit 3 ml W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es verblieben 75 mg neutrales Material (vgl. Tab. 8).

Die vereinigten  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Auszüge wurden mit 2N HCl angesäuert und 3mal mit 35 ml Ae ausgeschüttelt. Die Ae-Extrakte wurden mit 3 ml W gewaschen, getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es verblieben 42 mg ätherlöst. Säuren und Lactone.

Die phosphorsaure, wässrige Phase wurde von organischen Lösungsmittelresten befreit, mit 50-proz.  $\text{K}_2\text{CO}_3$  alkalisch gemacht und anschliessend erst 3mal mit je 35 ml Chf und dann 3mal mit je 30 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden 2mal mit wenig W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft; sie lieferten 121 mg Chf-Auszug und 7 mg Chf-Alk-(2:1)-Auszug. Dieses Material zeigte nach DC. und PC. sehr ähnliche Zusammensetzung wie das Geningemisch vor der alkalischen Verseifung. – Die alkalische, wässrige Phase wurde im Vakuum von Lösungsmittelresten befreit, mit  $\text{H}_3\text{PO}_4$  kongosauer gestellt und im Vakuum bei 60°/

60 Torr bis zur Trockne eingedampft. Das bei 0° aufgefangene Destillat wurde mit 0,01N Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert, wobei nur ein Verbrauch von 2 ml festgestellt wurde, entspr. 1,2 mg Essigsäure (vgl. Tab. 8).

b) Aus dem *Chf-Extr.* 292 mg Geningemisch des *Chf-Extraktes* wurden genau gleich wie das Geningemisch des *Ae-Extraktes* behandelt. Ausbeuten siehe Tabelle 8.

Tabelle 8. Ausbeuten der alkalischen Hydrolyse des Geningemisches

	neutr. Ae-Pe- Auszug <sup>36)</sup>	Ae-Pe- lösl. Säuren + Lactone	neutr. Chf-Auszug	neutr. Chf-Alk- (2:1)-Auszug	Flüchtige Säure: verbr. 0,01N KOH
300 mg Geningemisch aus Ae-Extr.	75 mg brauner Honig	42 mg gelber Honig	121 mg brauner Honig	7 mg brauner Honig	2 ml entspr. 1,2 mg AcOH
292 mg Geningemisch aus Chf-Extr.	49 mg gelber Honig	38 mg brauner Honig	128 mg brauner Honig	22 mg brauner Honig	1,9 ml entspr. 1,14 mg AcOH

*Untersuchung des Ae-Pe-löslichen Säure-Lacton-Gemisches aus alkalischer Verseifung der Genine aus Ae-Extr.* Dieses Gemisch (42 mg, vgl. Tab. 8) wurde nur im PC. und DC. untersucht. Im PC. wurde im System 1 (Bu geschüttelt mit wässriger 1,5N  $\text{NH}_3$ -Lösung [48], Entwicklung mit Durchziehen durch eine Lösung von Universalindikator «MERCK», die vorher mit 0,01N NaOH auf pH = 9 gestellt war [49]) nur ein rasch wandernder Fleck erhalten ( $R_{\text{Benzoës.}} = 1,9$ ; Zimtsäure zeigt dabei 1,26, war also sicher auch abwesend). Auch in anderen Systemen [50] war bei gleicher Entwicklung jeweils nur ein Fleck sichtbar. Bei Entwicklung durch Sprühen mit  $\text{SbCl}_3$  [30] waren im obigen System 1, ausser einem Fleck am gleichen Ort, noch zwei weitere Flecke, noch raschere, sichtbar ( $R_{\text{Benzoës.}} = \text{ca. } 1,98 \text{ und } 2,13$ ). Im System To-Bu-(9:1)/W waren bei der Entwicklung mit  $\text{SbCl}_3$  sogar total 6 Flecke (davon nur 3 stark) sichtbar. Wir glauben, dass dieses Material ausser einer Säure noch Neutralstoffe enthält.

Zur Prüfung im DC. wurden Platten mit  $\text{SiO}_2$ , das mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und Fluoreszenzindikator präpariert war [51], gleichmässig beschichtet. Nach der Entwicklung mit Pe-Ae-(1:1) wurden unter der UV.-Lampe [51] 3–4 Flecke sichtbar, die erheblich langsamer als Benzoessäure liefen ( $R_{\text{Benzoës.}} = \text{ca. } 0,38; 0,082; 0,03 \text{ und } \text{ca. } 0$ ).

*Untersuchung des Ae-Pe-löslichen Säure-Lacton-Gemisches aus alkalischer Verseifung der Genine aus Chf-Extr.* Im PC. im System 1 und Entwicklung mit Universalindikator wurde wieder nur ein Fleck erhalten mit gleicher Laufstrecke wie oben. Die Entwicklung mit  $\text{SbCl}_3$  gab teilweise gleiche Flecke, aber weniger als das obige Material aus dem Ae-Extr.

**Präparative Trennung der Genine aus dem Ae-Extr. – 1. Versuch.** 10,5 g Geningemisch wurden an 1,9 kg  $\text{SiO}_2$  chromatographiert. Da es im Eluiermittel Cy-iPr-(9:1) unlöslich war, wurde es in Chf-Ae-(1:4) gelöst, mit 25 g  $\text{SiO}_2$  vermischt und im Vakuum getrocknet. Das so beladene  $\text{SiO}_2$  wurde zwischen 2 Filterblättern oben auf die Säule gegeben. Laufgeschwindigkeit 600 ml pro 8 Std. Resultat vgl. Tabelle 9.

Die Fr. 8 und 9 von Tabelle 9 enthielten 3 Stoffe (A, C, D), zu deren Nachweis im PC. 2 Systeme nötig waren (vgl. Fig. 6 und 7). 1,1 g dieses Materials wurden durch Verteilungschromatographie getrennt (s. Tab. 11).

Die Fr. 12–14 von Tab. 9 gaben aus Me 908 mg krist. *Genin B* und daraus 810 mg analysenreines Material, Smp. 212–217°.

Die Fr. 17 und 18 von Tab. 9 gaben aus An-Ae 45 mg rohe Substanz F. Sie wurde an 5 g  $\text{SiO}_2$  grob chromatographiert (Eg-Cy-(3:2)). Das Eluat (42 mg) gab aus Me 20 mg reine Substanz F in farblosen Nadeln vom Smp. 207–212°.

<sup>36)</sup> Dieser Teil könnte auch solche Lactone enthalten, die sich aus den zugehörigen Hydroxysäuren sehr leicht zurückbilden.

Tabelle 9. *Trennung von 10,5 g Geningemisch aus dem Ae-Extr. an 1,9 kg SiO<sub>2</sub>*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel 600 ml je Fraktion	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Habitus	Flecke im PC. bzw. DC.	weitere Verarbeitung
1–5	Cy-iPr-(9:1)	176	gelbes Öl		nicht getrennt
6, 7	Cy-iPr-(9:1)	109	brauner Honig		nicht getrennt
8, 9	Cy-iPr-(9:1)	1546	brauner Honig	A, C, D	Verteilung (vgl. Tab. 11)
10, 11	Cy-iPr-(9:1)	92	brauner Honig		nicht getrennt
12–14	Cy-iPr-(9:1)	1851	teilw. krist.	B u. andere	908 mg Kristalle Genin B
15	Cy-iPr-(9:1)	555	gelbes Öl		nicht getrennt
16	Cy-iPr-(9:1)	255	brauner Honig		nicht getrennt
17, 18	Cy-iPr-(9:1)	272	teilw. krist.	F u. andere	45 mg gelbl. Krist. Reinigung an SiO <sub>2</sub>
19	Cy-iPr-(9:1)	174	brauner Honig		nicht getrennt
20	Cy-iPr-(9:1)	99	teilw. krist.		nicht getrennt
21, 22	Cy-iPr-(9:1)	82	brauner Honig		nicht getrennt
23, 24	Cy-iPr-(9:1)	273	gelber Honig		nicht getrennt
25–27	Cy-iPr-(9:1)	613	teilw. krist.	E (G) u. andere	198 mg gelbl. Krist. Reinigung an SiO <sub>2</sub>
28–36	Cy-iPr-(9:1)	766	gelber Schaum	G (E) u. andere	Chrom an SiO <sub>2</sub> (s. Tab. 10)
37–42	Cy-iPr-(9:1)	220	brauner Honig		nicht getrennt
43–57	Cy-iPr-(4:1)	460	brauner Schaum		nicht getrennt
58–78	Cy-iPr-(7:3)	787	brauner Schaum		nicht getrennt
79–90	Me	1300	brauner Schaum		nicht getrennt
		Total 9630			

Die Fr. 25–27 von Tab. 9 gaben aus Ae 198 mg rohes Genin E in gelblichen Kristallen. Sie wurden zur Reinigung noch an 120 g SiO<sub>2</sub> (Mek-Be-(1:1)) chromatographiert. Man erhielt 167 mg farbloses Material, das aus An-Pn 140 mg reines *Genin E* vom Smp. 190–196° gab.

Die Fr. 28–36 von Tab. 9 (766 mg) wurden mit den Fr. 25–28 (435 mg) aus dem 2. Versuch vereinigt und an SiO<sub>2</sub> nach DUNCAN [42] chromatographiert. (vgl. Tab. 10)

2. Versuch. 11,4 g Geningemisch wurden an 2,05 kg SiO<sub>2</sub>, genau wie oben, getrennt und gaben 661 mg krist. *Genin B* und 120 mg krist. *Genin E*, daneben noch 435 mg *E- und G-Gemisch*, das für die nächste Chromatographie (Tab. 10) diente.

Die Fr. 53–62 von Tab. 10 (117 mg) gaben aus An-Pn 39 mg krist. *Genin E* vom Smp. 187–197°.

Die Fr. 114–214 von Tab. 10 (347 mg) gaben aus An-Pn 90 mg nicht ganz einheitliche Kristalle von Genin G, Smp. 226–229°. Im DC. (Mek-Be-(3:2)) zeigten sie noch einen schwachen Fleck höherer Polarität. Umkristallisation aus An-Pn lieferte 40 mg reines *Genin G* in farblosen Kristallen vom Smp. 228–230°. Die erste ML (257 mg) wurde nicht weiter gereinigt, sondern mit Pt in AcOH hydriert [33]. Die relativ reine, beim Umkristallisieren der Rohkristalle angefallenen ML. (50 mg) wurde mit Ac<sub>2</sub>O in Py acetyliert (siehe unten).

*Präparative Trennung von 1,1 g Geningemisch (A, C, D) der Fr. 8 und 9 von Tab. 9 durch Verteilungschromatographie* [53] [54] an Cellulose. 1,1 kg Cellulosepulver<sup>37)</sup> wurden nach früherer Vorschrift [52] [53] gereinigt und getrocknet. 1 kg dieser Cellulose wurde mit 352 ml Mmf und 1,5 l An vermischt, 30 Min. maschinell durchmischt und anschließend bei 12 Torr und 60° getrocknet. Die imprägnierte Cellulose wurde im Lösungsmittel (Thf-Be-Cy-(1:1:7)) gesättigt, mit Mmf aufgeschwemmt, homogenisiert und in die mit demselben Lösungsmittel gefüllte Säule gestopft. – Die 1,1 g Geningemisch wurden in Chf gelöst, mit 10 g imprägnierter Cellulose vermischt, im Vakuum bei 30° getrocknet und dann auf die Säule gepresst, worauf sofort mit der Chromatographie begon-

<sup>37)</sup> Cellulose, Typ HL 600, Mikro-Technik, Miltenberg, BRD.

Tabelle 10. *Chromatographie von 1,2 g rohem E-G-Gemisch aus beiden Versuchen an 1 kg SiO<sub>2</sub> nach DUNCAN [42]*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel 46 ml/Fr./ 55 Min.	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Habitus	Zusammen- setzung	weitere Verarbeitung bzw. isolierte Kristalle
1- 52	Mek-Be-(3:2)	45	gelb-brauner Honig		nicht getrennt
53- 62	Mek-Be-(3:2)	117	teilw. krist.	E u. andere	38 mg Krist. Genin E
63-113	Mek-Be-(3:2)	159	gelb-brauner Honig		nicht getrennt
114-214	Mek-Be-(3:2)	347	gelber Schaum	G u. andere	90 mg Krist. Genin G
215-330	Mek-Be-(3:2)	148	brauner Honig		nicht getrennt
331-380	Mek-Be-(4:1)	225	brauner Honig		
381-420	An	50	gelbes Öl		nicht getrennt
		Total 1091			

nen wurde. Ungefähr jede 10. Fr. von Tab. 11 wurde im PC. untersucht. Fr. gleicher Zusammensetzung wurden vereinigt, im Vakuum bei 45° weitgehendst eingengt, in 15 ml Chf aufgenommen und zur Entfernung des Mmf einmal mit 20 ml 10-proz. KHCO<sub>3</sub>-Lösung und 3mal mit 20 ml W gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden 3mal im Gegenstrom mit je 15 ml Chf ausgeschüttelt. Die vereinigten Chf-Auszüge trocknete man über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und dampfte sie im Vakuum ein.

Tabelle 11. *Verteilungschromatographie von 1,1 g Geningemisch (A, C, D) der Fr. 8 und 9 von Tab. 9 an 1 kg Cellulose*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel Thf-Be-Cy-(1:1:7) <sup>38)</sup> 40 ml/Fr./2 Std.	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	Habitus	Flecke im PC.	weitere Verarbeitung
1- 89	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	33	gelbes Öl		
90-144	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	279	brauner Honig	A, C	
145-165	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	108	brauner Honig	A, (C)	
166-206	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	16	brauner Honig	A, D	
207-212	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	4	brauner Honig	D	
213-238	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	86	brauner Honig	D	Sublimation
239-262	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	145	hellbrauner Honig, der nach einiger Zeit kristallisierte	D	25 mg gelb-braune Kristalle
263-286	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	89	dunkelbrauner Honig	D	ML. an SiO <sub>2</sub> chromat. (s. Tab. 12)
287-306	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	10	dunkelbrauner Honig	(D)	Reinigung an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
307-397	Thf-Be-Cy-(1:1:7)	42	dunkelbraune feste Subst.		
		Total 812			

Die Fr. 213-238 (86 mg) von Tab. 11 wurden im Molekularkolben bei 0,02 Torr zuerst bis auf 160° (Ölbadtemp.) erhitzt; dabei destillierten 30 mg gelber Honig. Weiteres Erhitzen auf 180° lieferte kein Destillat mehr. Der Kolbenrückstand (43 mg) war tiefbraun gefärbt. Die Untersuchun-

<sup>38)</sup> Eluiermittel gesättigt mit Monomethylformamid.

gen des destillierten Materials im PC. (Thf-Bc-Cy-(1:1:7)/Mmf) ergaben, dass es hauptsächlich aus der Komponente D bestand. Neben dieser trat aber noch ein neuer, schneller laufender Fleck auf, der vor der Destillation nicht vorhanden war. Der Destillationsrückstand bestand aus Zersetzungsprodukten, die Komponente D war darin nur noch spurenweise vorhanden.

Die Fr. 263–286 (89 mg) von Tab. 11 wurden an 6 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (WOELM, neutral, Akt. 11) chromatographiert. Als Lösungsmittel wurde Bc mit steigenden Zusätzen von Ae verwendet. Der grösste Teil der Substanz wurde mit Bc-Ae-(95:5) und Bc-Ae-(9:1) eluiert. Man erhielt 54,2 mg fast farblosen Materials, das sich nach einiger Zeit wieder gelb färbte. Im PC. (Thf-Bc-Cy-(1:1:7)/Mmf) war die Subst. nicht einheitlich. Es zeigte sich neben der Komponente D ein neuer Fleck, der in den Systemen Thf-Bc-Cy-(1:1:7)/Mmf und Thf-Hep-(1:9)/Pgl die Laufstrecke der Komponente A zeigte.

Die Fr. 239–262 (145 mg) von Tab. 11 gaben aus Ae-Pn in Gegenwart von etwas Feuchtigkeit 25 mg *Genin D* als gelb-braun gefärbte Kristalle vom Smp. 78–86°. 80 mg Ml. wurden an 50 g Kieselgel mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Me-(97:3) chromatographiert (vgl. Tab. 12).

Tabelle 12. *Chromatographie von 80 mg Ml. der Fr. 239–262 von Tab. 11 an 50 g  $\text{SiO}_2$*

Fr.-Nr.	Lösungsmittel 8 ml/Fr./25 Min.	Eindampfdruckstand		
		Gewicht in mg	Habitus	weitere Verarbeitung
1–11	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Me-(97:3)	–		
12	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Me-(97:3)	3	gelbes Öl	
13–19	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Me-(97:3)	53	farbl. Schaum (Zers.)	27 mg gelbl. Kristalle Subst. D, Smp. 88–92°
20–35	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -Me-(97:3)	14	gelber Schaum	
		Total 70		

Die Fr. 13–19 (53 mg) von Tab. 12 gaben nach dem Eindampfen einen farblosen Schaum, der sich während 12 Std. gelb verfärbte. Aus Ae-Pn und etwas Feuchtigkeit erhielt man 27 mg *Genin D* als gelbliche Kristalle vom Smp. 88–92°, die sich nach einigen Wochen stark dunkel färbten. Nach einem Jahr war darin kein D mehr nachweisbar.

**Beschreibung der isolierten Stoffe und einiger ihrer Derivate.** – 1. *Hirundigenin (E)* (Präp. KST-5). Aus An-Pn farblose Nadeln, Smp. 190–196° (Zers., Gelbfärbung);  $[\alpha]_D^{24} = -44,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,217$  in Chf). UV.-Spektrum Fig. 10, IR.-Spektrum Fig. 15, MS. Fig. 22 in [33], NMR.-Spektrum vgl. Fig. 4 in [34]. Farbreaktionen mit  $\text{SbCl}_3$ , *p*-Toluolsulfonsäure und  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , vgl. Tab. 5a und b. Weitere Farbreaktionen mit Gruppennachweischarakter vgl. Tab. 4. Das reine Präparat war mindestens 2 Jahre beständig. Zur Analyse wurde 5 Std. bei 0,01 Torr und 20° über  $\text{P}_2\text{O}_5$  getrocknet.

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$  (362,47) Ber. C 69,58 H 8,34% Gef. C 69,78 H 8,44%

20,756 mg Subst. verbr. in 2 ml AcOH (vorhydriertes  $\text{PtO}_2$ )<sup>39)</sup> 2,57 ml  $\text{H}_2$  (0°, 760 Torr) entspr. 2,00 Mol-Äquiv., schon nach 15 Min. konstant.

*Prüfung auf Beständigkeit gegen Säure.* 3,4 mg Hirundigenin wurden in 2 ml Me und 2 ml 0,1N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  25 Min. unter Rückfluss gekocht. Übliche Aufarbeitung gab 3,2 mg farblosen Schaum. Dieser enthielt nach DC. (Eg-Cy-(3:2)) ca. 90% Anhydrohirundigenin und ca. 10% unverändertes Hirundigenin.

*3-O-Acetyl-hirundigenin (Präp. KST-10).* 46 mg Hirundigenin wurden in 2 ml abs. Py und 1,6 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  7 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 45 mg Rohprodukt. Aus Me 23 mg farblose Blättchen, Smp. 168–178° (Zers. unter Gelbfärbung);  $[\alpha]_{364}^{20} = -147,0^\circ$ ;  $[\alpha]_{405}^{20} = -109,4^\circ$ ;  $[\alpha]_{436}^{20} = -89,6^\circ$ ;  $[\alpha]_{446}^{20} = -50,2^\circ$ ;  $[\alpha]_{578}^{20} = -43,9^\circ$ ;  $[\alpha]_{589}^{20} = -41,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c =$

<sup>39)</sup> Apparatur nach CLAUSON-KAAS & LIMBORG [55].

0,5579 in Chf)<sup>40</sup>). UV.-Spektrum Fig. 11, IR.-Spektrum Fig. 16, NMR.-Spektrum Fig. 5 bei [34]. Das reine Präparat war über 2 Jahre lang haltbar. Zur Analyse wurde wie oben getrocknet.

$C_{23}H_{32}O_6$  (404,51) Ber. C 68,29 H 7,97% Gef. C 68,15 H 8,07%

2. *Anhydrohirundigenin (B) (Präp. KST-1)*. Aus Me farblose Nadeln, Smp. 212–217° (Zers. Gelbfärbung),  $[\alpha]_D^{25} = -25,8 \pm 3^\circ$  ( $c = 0,65$  in An). UV.-Spektrum Fig. 10, IR.-Spektrum Fig. 12, MS. Fig. 20 in [33], NMR.-Spektrum vgl. Fig. 6 in [34]. Farbreaktionen vgl. Tab. 5a und b. Die Reaktion mit Tetranitromethan (vgl. S. 190 bei [56]) gab starke Gelbfärbung. Die reinen Kristalle waren über 2 Jahre haltbar. Nach ZEISEL-Bestimmung methoxylfrei und nach O-Acetylbestimmung (mit saurer Verseifung) acetoxyllfrei. Zur Analyse wurde 2 Std. bei 0,01 Torr und 60° über  $P_2O_5$  getrocknet.

$C_{21}H_{28}O_4$  (344,45) Ber. C 73,22 H 8,19% Gef. C 73,08 H 8,38%

20,962 mg Subst. verbr. in 2 ml AcOH (vorhydriertes  $Pt(O_2)_2$ )<sup>39</sup>) nach 24 Std. 1,748 ml  $H_2$  (0°, 760 Torr) entspr. 1,28 Mol-Äquiv. Präparative Aufarbeitung vgl. [33], dort auch weitere Hydrierungsversuche.

3-O-Acetyl-anhydrohirundigenin (Präp. KST-3). 21 mg Anhydrohirundigenin wurden in 1 ml abs. Py und 0,8 ml  $Ac_2O$  7 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 21 mg Rohprodukt, aus Me 11 mg farblose Nadeln, Smp. 156–158°;  $[\alpha]_{364}^{20} = -46,5^\circ$ ;  $[\alpha]_{406}^{20} = -55,1^\circ$ ;  $[\alpha]_{436}^{20} = -50,0^\circ$ ;  $[\alpha]_{546}^{20} = -33,6^\circ$ ;  $[\alpha]_{578}^{20} = -31,0^\circ$ ;  $[\alpha]_{589}^{20} = -30,1^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,5807$  in An). Der Stoff ist beim Lagern nicht beständig, die Kristalle begannen sich nach mehreren Wochen gelbgrün zu färben. Die Spektren und Analysen wurden mit dem frisch bereiteten Präparat aufgenommen. UV.-Spektrum Fig. 11, IR.-Spektrum Fig. 13, NMR.-Spektrum vgl. Tab. 1 in [34]. Zur Analyse wurde bei 0,01 Torr 12 Std. bei 20° und 2 Std. bei 50° über  $P_2O_5$  getrocknet.

$C_{23}H_{30}O_5$  (386,49) Ber. C 71,48 H 7,82% Gef. C 71,53 H 8,00%

p-Brombenzoyl-anhydrohirundigenin (Präp. KST-40). 56 mg Anhydrohirundigenin in 0,8 ml abs. Chf und 0,3 abs. Py wurden unter  $H_2O$ -Ausschluss bei 0° mit der Lösung von 183 mg krist. p-Brombenzoylchlorid in 1,5 ml abs. Ae versetzt und 7 Std. bei 20° stehengelassen. Anschliessend wurde mit 0,2 ml Me versetzt und noch 2 Std. stehengelassen. Nach Zusatz von 2 ml Be wurde im Vakuum bei 20° eingedampft und dies noch 2mal wiederholt. Übliche Aufarbeitung mit Chf gab 188 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Me 58 mg farblose feine Nadeln, Smp. 244° (Zers.). Die ML. (130 mg) wurde an 60 g  $SiO_2$  chromatographiert. Die ersten Fraktionen gaben 78 mg p-Brombenzoesäure-methylester, Smp. 75–76°, die späteren lieferten noch 16 mg p-Brombenzoyl-anhydrohirundigenin. – Rekristallisation des reinen Materials aus An-Me gab farblose Nadeln, Smp. 244–248° (Zers., Gelbfärbung);  $[\alpha]_{364}^{20} = +47,7^\circ$ ;  $[\alpha]_{406}^{20} = +20,8^\circ$ ;  $[\alpha]_{436}^{20} = +12,9^\circ$ ;  $[\alpha]_{546}^{20} = +2,0^\circ$ ;  $[\alpha]_{578}^{20} = +1,0^\circ$ ;  $[\alpha]_{589}^{20} = +0,6^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,5073$  in Chf)<sup>40</sup>). Zur Züchtung guter Einkristalle für die kristallographische Untersuchung [35] wurde langsam aus Be-An-Me kristallisiert, wobei nur relativ wenig Methanol sehr langsam zugefügt wurde. – Die reinen trockenen Kristalle waren gut haltbar, die Lösungen zersetzten sich nach einigen Monaten unter Gelbfärbung. UV.-Spektrum Fig. 11, IR.-Spektrum Fig. 14, MS. Fig. 21 in [33].

$C_{28}H_{31}BrO_5$  (527,53) Ber. Br 15,15% Gef. Br 15,37%

Anhydrohirundigenin aus Hirundigenin. 15 mg Hirundigenin wurden bei 0,01 Torr und 160 bis 170° Badtemperatur im Molekularkolben sublimiert, wobei kein Rückstand verblieb. Das farblose Sublimat war nach DC. ein Gemisch von B und E. Es wurde noch zweimal analog sublimiert, worauf praktisch reines Anhydrohirundigenin (B) vorlag. Nach DC. (Eg-Cy-(3:2)), Mischprobe, spez. Drehung und IR.-Spektrum identisch mit Präp. KST-1.

3. *Vincetogenin (G) (Präp. KST-23)*. Aus An-Pn farblose kleine Blättchen, Smp. 228–230° (Zers., Gelbfärbung);  $[\alpha]_{364}^{20} = -301,2^\circ$ ;  $[\alpha]_{406}^{20} = -207,5^\circ$ ;  $[\alpha]_{436}^{20} = -167,4^\circ$ ;  $[\alpha]_{546}^{20} = -89,2^\circ$ ;  $[\alpha]_{578}^{20} = -79,2^\circ$ ;  $[\alpha]_{589}^{20} = -75,9^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,4481$  in Me)<sup>40</sup>). UV.-Spektrum Fig. 10, IR.-Spektrum Fig. 18, MS. Fig. 24 in [33], NMR.-Spektrum Fig. 15 in [34]; Farbreaktionen in Tab. 5a und b.

<sup>40</sup>) 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°.

Das reine Präparat war beim Lagern haltbar. Lösungen färbten sich nach einigen Wochen gelb. Zur Analyse wurde 12 Std. bei 0,01 Torr und 50° über  $P_2O_5$  getrocknet.

$C_{21}H_{28}O_8$  (376,45) Ber. C 67,00 H 7,50% Gef. C 67,13 H 7,51%

9,858 mg Subst. verbr. in 1 ml AcOH (vorhydriertes  $PtO_2$ )<sup>39</sup> nach 5 Std. (schon vorher konstant) 1,36 ml  $H_2$  (0°, 760 Torr) entspr. 2,32 Mol-Äquiv. Präparative Aufarbeitung vgl. [33].

*Prüfung auf Beständigkeit gegen Säure.* 0,8 mg Vincetogenin wurde in 1 ml Me und 1 ml 0,1N  $H_2SO_4$  25 Min. unter Rückfluss gekocht. Die übliche Aufarbeitung gab ca. 0,7 mg gelblichen Sirup. Dieser enthielt nach DC. (vgl. Fig. 2 A) noch ca. 75% Ausgangsmaterial und 2 höher polare Stoffe.

*Di-O-acetyl-vincetogenin* (Präp. KST-24). 50 mg Vincetogenin (ML., die beim Umkristallisieren der rohen Kristalle anfiel) wurden in 2 ml abs. Py und 1,6 ml  $Ac_2O$  11 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 65 mg neutrales Rohprodukt als gelbliche kristalline Masse, das an 35 g  $SiO_2$  chromatographiert wurde. Die nach PC. reinen Fr. gaben aus Chf-Pn 40 mg farblose Kristalle, Smp. 251–258° (Zers., Gelbfärbung);  $[\alpha]_{364}^{20} = +41,9^\circ$ ;  $[\alpha]_{405}^{20} = +1,7^\circ$ ;  $[\alpha]_{436}^{20} = -8,4^\circ$ ;  $[\alpha]_{546}^{20} = -10,1^\circ$ ;  $[\alpha]_{589}^{20} = 0,0^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,2980$  in Chf). IR.-Spektrum Fig. 19, MS. Fig. 25 in [33], NMR.-Spektrum Fig. 16 in [34]. Auch hier war das reine Präparat beim Lagern haltbar. Zur Analyse wurde 10 Std. bei 0,01 Torr und 50° über  $P_2O_5$  getrocknet.

$C_{25}H_{32}O_8$  (460,53) Ber. C 65,20 H 7,00% Gef. C 64,93 H 7,23%

4. *Hirundosid-A* (F) (Präp. KST-22). Aus Me farblose Nadeln, Smp. 207–212° (Zers., Gelbfärbung);  $[\alpha]_{364}^{20} = -183,3^\circ$ ;  $[\alpha]_{405}^{20} = -146,1^\circ$ ;  $[\alpha]_{436}^{20} = -125,2^\circ$ ;  $[\alpha]_{546}^{20} = -77,5^\circ$ ;  $[\alpha]_{578}^{20} = -68,6^\circ$ ;  $[\alpha]_{589}^{20} = -65,6^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,3354$  in An). UV.-Spektrum Fig. 10, IR.-Spektrum Fig. 17, MS. Fig. 23 in [33], NMR.-Spektrum vgl. Fig. 13 in [34]. Farbreaktionen Tab. 5a und b. Das Präparat war beim Lagern *nicht* haltbar, die Kristalle färbten sich nach einigen Wochen leicht und nach einigen Monaten stark gelbgrün. Die Spektren und die Analyse wurden mit dem frischen Material ausgeführt.

$C_{28}H_{40}O_7$  (488,63) Ber. C 68,83 H 8,25% Gef. C 69,09 H 8,39%

*Saure Hydrolyse von Hirundosid-A.* 8 mg Hirundosid-A wurden in 3 ml Me gelöst, mit 3 ml 0,1N wässriger  $H_2SO_4$  versetzt und 25 Min. unter Rückfluss gekocht. Übliche Aufarbeitung [23] gab 5,9 mg rohes Geningemisch und 2,1 mg rohen Zuckersirup. – Das rohe Geningemisch war eine gelbliche-grüne, teilw. krist. Masse. Aus Me wurden 1,5 mg Kristalle vom Smp. 192–210° (Zers., Gelbfärbung) erhalten, die nach Mischprobe und DC. identisch mit *Anhydrohirundigenin* waren. – Der Zuckersirup war nach PC. in zwei Systemen [24] identisch mit *Oleandrose*.

5. *Substanz D* (Präp. KST-2). Aus Ae-Pe in Gegenwart von etwas Feuchtigkeit leicht gelbliche Kristalle, Smp. 88–92°. Das UV.-Spektrum in Alk zeigt im kurzwelligen Teil eine Endabsorption bei 196 nm ( $\epsilon = 12500$ ), was mehr als einer isolierten (3-fach substituierten) Doppelbindung entspricht; bei ca. 210 nm eine Schulter ( $\epsilon = 7900$ ), sowie Maxima bei 283 nm ( $\epsilon = 141$ ) und 352 nm ( $\epsilon = 251$ ), alles berechnet auf ein willkürlich angenommenes Mol-Gewicht von 350. Die langwellige Absorption könnte der gelblichen Verunreinigung entsprechen. Die Schulter bei 210 nm und das Maximum bei 283 nm würden relativ gut mit dem Spektrum des Iso-dihydro-anhydrohirundigenins (Fig. 10) übereinstimmen. IR.-Spektrum vgl. Fig. 20. Das Präparat begann sich schon nach wenigen Stunden zu zersetzen und färbte sich bald gelb.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] K. STÖCKEL, H. HÜRZELER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 52, 1086 (1969).
- [2] G. HEGI, *Flora von Mitteleuropa*, Vol. 3, 2068–2073 (C. HANSEN, München 1927).
- [3] H. P. FUCHS, *Verh. naturf. Ges. Basel* 72, 343 (1961).
- [4] R. ROSS, *Acta bot. neerl.* 15, 147–161 (1966).
- [5] International Code of Botanical Nomenclature 1961, *Regnum Vegetabile*, Vol. 23, Utrecht.
- [6] P. DONADILLE, *Naturalia Monspeliensia*, Ser. Bot. 16, 17–42 (1965); vgl. auch *Bull. Soc. bot. France* 111, 351 (1964).
- [7] A. BORHIDI & S. PRISZTER, *Acta bot. Acad. Sci. Hung.* 12, 241–254 (1966).
- [8] F. EHRENDORFER, «Systematik und Evolution der Samenpflanzen», in *Fortschritte der Botanik* 29, 237–303, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1967.
- [9] C. WEHMER, *Die Pflanzenstoffe* 2. Aufl. II, 1004 (G. FRICHEY, Jena 1931).

- [10] R. GAGER & L. ZECHNER, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 276, 431 (1938).
- [11] L. ZECHNER & J. KELLERMAYER, a) Scientia pharmac. (Wien) 21, 81 (1953); b) *idem, ibid.* 21, 153 (1953); c) L. ZECHNER, *ibid.* 22, 254 (1954); d) *idem, ibid.* 34, 279 (1966).
- [12] J. KELLERMAYER & L. ZECHNER, Scientia pharmac. (Wien) 21, 161 (1953).
- [13] E. PFEIFER, Scientia pharmac. (Wien) 22, 1 (1954).
- [14] a) F. KORTE, Angew. Chem. 66, 562 (1954); b) Chem. Ber. 88, 1527 (1955); c) F. KORTE & I. KORTE, Z. Naturforsch. 10b, 223 (1955); d) F. KORTE & J. RIPPAHN, Liebig. Ann. Chem. 621, 58 (1959); e) F. KORTE, H. BARKEMEYER & I. KORTE, Neuere Ergebnisse der Chemie pflanzlicher Bitterstoffe, in Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe (Herausg. L. ZECHMEISTER) 17, 124 (bes. 137), Springer-Verlag, Wien 1959.
- [15] A. TRITTLER, «Über die Inhaltsstoffe von *Vincetoxicum officinale* MÖNCH», Diss. Eberhard-Karls-Universität, Tübingen 1961.
- [16] F. KOZJEK & PH. LEBRETON, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. [D] 264, 2409 (1967).
- [17] M. PAILER & W. STRICHER, Monatsh. Chem. 96, 1094 (1965).
- [18] a) A. HÁZNAGY, L. TÓTH & K. SZENDREI, Pharmazie 20, 649 (1965); b) L. FERENCZY, J. ZSOLT, A. HÁZNAGY, L. TÓTH & K. SZENDREI, Acta microbiol. Acad. Sci. Hung. 12, 337 (1966) (Chem. Abstr. 65, 1032 h (1966)).
- [19] a) P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951); b) J. V. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1821 (1951).
- [20] D. L. KEDDE, Pharmac. Weekbl. 82, 741 (1947); I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).
- [21] P. BELLET, Ann. pharmac. franc. 8, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* 10, 104 (1952).
- [22] G. M. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARDNER, Nature 170, 249 (1952).
- [23] S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. 32, 939 (1949).
- [24] O. RENKONEN & O. SCHINDLER, Helv. 39, 1490 (1956).
- [25] U. EPPENBERGER, H. KAUFMANN, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, Helv. 49, 1492 (1966).
- [26] P. STUDER, S. K. PAVANARAM, C. R. GAVILANES, HORST LINDE & K. MEYER, Helv. 46, 23 (1963).
- [27] C. W. SHOPPEE & T. REICHSTEIN, Helv. 23, 975 (1940).
- [28] H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 2866 (1930).
- [29] A. GAMP, P. STUDER, H. LINDE & K. MEYER, Experientia 18, 292 (1962).
- [30] R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. 34, 2278 (1951); D. LAWDAY, Nature 170, 415 (1952).
- [31] a) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951); b) F. KAISER, Chem. Ber. 88, 556 (1955); c) FUSSEN<sup>42)</sup> in B. FECHTIG, J. V. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 1570 (1960).
- [32] H. ALLGEIER, Helv. 51, 668 (1968).
- [33] K. STÖCKEL, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, 2. Mitt., Helv. 52 (1969), im Druck.
- [34] K. STÖCKEL, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, 3. Mitt., Helv. 52 (1969), im Druck.
- [35] OLGA KENNARD, J. K. FAWCETT, D. G. WATSON and K. ANN KERR, sowie K. STÖCKEL, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, Tetrahedron Letters Nr. 35, 3799 (1968).
- [36] F. CRAMER, «Papierchromatographie», S. 149, Verlag Chemie, Weinheim 1958.
- [37] 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).
- [38] R. B. BURTON, A. ZAFFARONI & E. H. KEUTMANN, J. biol. Chemistry 188, 763 (1951); W. J. MADER & R. R. BUCK, Analyt. Chemistry 24, 666 (1952).
- [39] FUSSEN<sup>41)</sup> auf S. 49 bei T. REICHSTEIN, Helv. 19, 29 (1936).
- [40] H. LICHTI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 39, 1933 (1956), FUSSEN<sup>34)</sup>.
- [41] H. STÄHELIN, Med. Exp. 7, 92 (1962).
- [42] G. R. DUNCAN, J. Chromatogr. 8, 37 (1962).
- [43] E. STAHL, Angew. Chem. 73, 646 (1961); E. STAHL, «Dünnschichtchromatographie», Springer-Verlag, Berlin 1962.
- [44] E. ABISCH, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1014 (1959).
- [45] A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 687 (1952).
- [46] S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).
- [47] A. P. MACLENNAN, H. M. RANDALL & D. W. SMITH, Analyt. Chemistry 31, 2020 (1959).
- [48] F. BROWN & L. P. HALL, Nature 166, 66 (1950).

- [49] A. G. LONG, J. R. QUAYLE & R. J. STEDMAN, *J. chem. Soc. 1957*, 2197.  
 [50] R. CONSDEN, A. H. GORDON & A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.* **38**, 244 (1944).  
 [51] K. A. JÄGGI, EK. WEISS, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 1201 (1967).  
 [52] S. A. SIMPSON, J. F. TAIT, A. WETTSTEIN, R. NEHER, J. V. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 1163 (1954) auf S. 1189.  
 [53] H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **36**, 357 (1953).  
 [54] T. GOLAB, C. H. TRABERT, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 2418 (1959).  
 [55] N. CLAUSON-KAAS & F. LIMBORG, *Acta chem. scand.* **1**, 884 (1947).  
 [56] L. F. FIESER & M. FIESER, «Steroide», übersetzt von H. GRÜNEWALD, Verlag Chemie, Weinheim 1961.

## 129. Optisch aktive 9,9' - Spirobifluoren-Derivate

von G. Haas und V. Prelog

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule Zürich

(5. V. 69)

*Summary.* The optically active compounds XXIII, XXIV, and XXV, named vespirenes, have been synthesized as first examples of compounds containing a single chirality centre of the type  $X(A_4)$ . The analogous optically active 9,9'-spirobifluorene derivatives XXI, XXVI, and XXVIII have been prepared for comparison of their chiroptic properties with those of vespirenes.

Vor kurzem wurde in zwei Vorträgen [1] [2] die Bedeutung der Begriffe des asymmetrischen Atoms einerseits und der Chiralitätselemente – Zentren, Achsen und Ebenen [3] – andererseits behandelt. Es wurde dort hervorgehoben, dass die Verbindungen mit tetraedrischen asymmetrischen Atomen vom Typus  $X(ABCD)$  mit vier verschiedenen Liganden nur einen – allerdings praktisch besonders wichtigen – Spezialfall von chiralen Molekeln darstellen. Im allgemeinen sind aber chirale Molekeln mit zwei, drei oder sogar vier gleichen Liganden an einem tetraedrischen Atom<sup>1)</sup> ebenfalls möglich, obwohl viel seltener verwirklicht und weniger untersucht.

Chirale Molekeln vom Typus  $X(A_2B_2)$  bzw.  $X(A_3B)$  bzw.  $X(A_4)$  mit einem tetraedrischen Chiralitätszentrum, das mehrere gleiche Liganden trägt, weisen im Gegensatz zu Molekeln mit einem «klassischen» asymmetrischen Atom (Punktsymmetriegruppe  $C_1$ ) eine höhere Symmetrie auf. Sie gehören den Punktsymmetriegruppen an, welche die chiralen Untergruppen der Punktsymmetriegruppen des regulären Tetraeders  $T_d$  darstellen, also  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $D_2 = V$  oder  $T$ . Mit Ausnahme von Molekeln, welche die Symmetrie  $C_2$  besitzen, für die es zahlreiche Beispiele gibt, sind organische Verbindungen, deren Molekeln den erwähnten höheren Punktsymmetriegruppen angehören, selten.

MISLOW *et al.* [5] haben erst vor einigen Jahren optisch aktive zweimal überbrückte Diphenyl-Derivate mit einer Chiralitätsachse bereitet, welche die Symmetrie  $D_2$  aufweisen. Analoge Verbindungen mit einem Chiralitätszentrum vom Typus  $X(A_4)$  waren dagegen u. W. nicht verwirklicht. Solche Verbindungen schienen uns

<sup>1)</sup> Solche Atome sollen unserer Ansicht nach nicht einmal in Anführungszeichen «asymmetrische Atome» (vgl. dagegen [4], S. 116) genannt werden. Diese Bezeichnung soll – so wie von VAN'T HOFF vorgeschlagen – auf Atome mit vier verschiedenen Liganden, welche einen asymmetrischen Simplex bilden, beschränkt bleiben.