

S- und N-Atome angenommenen Maxima Temperaturfaktoren, deren Beträge von  $B = 44,2 \text{ \AA}^2$  bzw.  $B = 10,5 \text{ \AA}^2$  unnatürlich hoch ausfielen. Zudem ist auch die Geometrie des Anions äusserst unbefriedigend: während für  $\text{NCS}^-$ -Ionen Abstände N–C von  $1,25 \text{ \AA}$  und C–S von  $1,59 \text{ \AA}$  zitiert werden, ergeben sich hier Werte von  $0,82 \text{ \AA}$  bzw.  $1,00 \text{ \AA}$  (!!) bei einem Bindungswinkel von  $169^\circ$  (oder  $0,82 \text{ \AA}$  bzw.  $1,45 \text{ \AA}$  bei einem Bindungswinkel von  $139^\circ$ , falls das S-Atom symmetrisch zur zweizähligen Drehachse bei  $x, 1/2-y, 1/2-z$  angenommen wird). Die statistische Unordnung dürfte wahrscheinlich nicht nur in bezug auf die zweizählige Drehachse sondern auch bezüglich der Anordnung von S- und N-Atomen vorhanden sein. Der relativ schlechte  $R$ -Faktor von 12,5% dürfte nicht zuletzt auf die Unzulänglichkeit unseres Strukturfaktormodells zur Behandlung der Unordnung der Thiocyanatgruppe (etwa 15% der Gesamtelektronenzahl) zurückzuführen sein. Die Packung der Moleküle im Kristall ist aus Fig. 6 ersichtlich. Sie ist, wie schon erwähnt, einem stark verzerrten Kochsalzgitter vergleichbar. Die kürzesten intermolekularen Kontakte bestehen zwischen Wasserstoffatomen von Methylgruppen ( $2,32 \text{ \AA}$ ). Der kürzeste solche Kontakt eines Gerüstatoms zu einem Wasserstoffatom beträgt  $2,59 \text{ \AA}$ .

Für die Ausführung dieser Arbeit standen Mittel des SCHWEIZ. NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG zur Verfügung. Wir sprechen ferner der CIBA (U.K.) unseren Dank aus für ein CIBA *Research Fellowship* (verliehen an B.T.K.).

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. BECK, H. GERLACH, V. PRELOG & W. VOSER, *Helv.* **45**, 621 (1962).
- [2] J. DOMINGUEZ, J. D. DUNITZ, H. GERLACH & V. PRELOG, *Helv.* **45**, 129 (1962).
- [3] S. N. GRAVEN, D. LARDY, D. JOHNSON & A. RUTTER, *Biochemistry* **5**, 1729 (1966); S. N. GRAVEN, D. LARDY & A. RUTTER, *Biochemistry* **5**, 1735 (1966).
- [4] C. MOORE & B. C. PRESSMAN, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **15**, 562 (1964).
- [5] P. MUELLER & D. O. RUDIN, *Biochem. biophysic. Res. Commun.* **26**, 398 (1967).
- [6] Z. ŠTEFANAC & W. SIMON, *Chimia* **20**, 436 (1966); *Mikrochem. J.* **12**, 125 (1967).
- [7] L. A. R. PIODA, H. A. WACHTER, R. E. DOHNER & W. SIMON, *Helv.* **50**, 1373 (1967).
- [8] W. KELLER-SCHIERLEIN & H. GERLACH, *Fortschr. Chemie org. Naturstoffe* **26**, 161 (1968).
- [9] J. D. DUNITZ, *Acta Crystallogr.* **17**, 1299 (1964); K. DORNBURGER-SCHIFF, *ibid.* **21**, 311 (1966).
- [10] B. T. KILBOURN, J. D. DUNITZ, L. A. R. PIODA & W. SIMON, *J. Mol. Biol.* **30**, 559 (1967).
- [11] H. HÄUPTMANN & J. KARLE, *Amer. Crystallogr. Assoc. Monograph* Nr. 3 (1953).
- [12] H. A. BENT, *Chem. Reviews* **61**, 276 (1961).

#### 259. Cardenolide und Pregnanderivate aus den Wurzeln von *Trachycalymma fimbriatum* (WEIMARCK) BULLOCK<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglycone, 322. Mitteilung<sup>2)</sup>

von R. ELBER, EK. WEISS und T. REICHSTEIN

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(15. X. 69)

*Summary.* The roots of *Trachycalymma fimbriatum* (WEIMARCK) BULLOCK contain both cardenolide and pregnaneglycosides. Elimination of 2-deoxysugars by mild acid hydrolysis gave a mixture from which some anhydroderivatives and the following compounds could be isolated:

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. R. ELBER, Basel 1965.

<sup>2)</sup> 321. Mitt.: F. BRÜSCHWEILER, K. STÖCKEL & T. REICHSTEIN [1].

uzarigenin (**1**), ascleposide = 3-O-(6-deoxy- $\beta$ -D-allopyranosyl)-uzarigenin (**4**), coroglaucigenin (**6**) and two pregnane derivatives (H and J). Compound H could be identified as  $3\beta,14\beta$ -dihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-one (**10**). Compound J is probably a new substance, for which we tentatively assign structure **18**, *i.e.*  $3\beta,8\beta,14\beta$ -trihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-one. We suspect H and J to be artefacts produced from the corresponding  $17\beta$ -derivatives during acid hydrolysis. 17-iso-H is probably a precursor in the biosynthesis of uzarigenin. The cardenolides of *Trachycalymma fimbriatum* are the same as found in *Asclepias glaucocephala*, a closely related species, while the pregnane derivatives of the latter are distinctly higher hydroxylated.

1. *Trachycalymma fimbriatum* (WEIMARCK) BULLOCK [2] (= *Asclepias fimbriata* WEIMARCK [3]) ist eine afrikanische Asclepiadacee, die soweit uns bekannt bisher nur in Südrhodesien und dort besonders im hohen, bergigen Gebiet (ca. 1900 m ü. M.) des Inyanga Districts gefunden wurde. Die jährliche Regenmenge beträgt dort durchschnittlich 2,50 m. Im Winter gibt es strenge Fröste. Die Pflanze wächst nur auf



Fig. 1. Standortaufnahme einer fruchtenden Pflanze von *Trachycalymma fimbriatum* (WEIMARCK) BULLOCK im Inyanga District, ca. 1900 m ü. M. Aufgenommen von Herrn Dr. I. B. POLE EVANS<sup>3)</sup>

<sup>3)</sup> Wir danken Herrn Dr. I. B. POLE EVANS (†) auch hier für dieses Material, ebenso für seine weiteren Angaben (Briefe vom 11.12.1957, 5.8.1960 und 12.1.1965) und die Photographien der Pflanze. Herbarmaterial sandte er direkt nach Kew.

Dolorit-Untergrund. Sie wird ca. 30–45 cm hoch (Abbildung vgl. Fig. 1), ihre oberirdischen Teile sterben nach dem Fruchten ab. Die frische Pflanze enthält reichlich Milchsaft, der einen sehr unangenehmen Geschmack besitzt. Die Wurzeln sind sehr bitter und verbreiten beim Trocknen einen stechenden Geruch; getrocknet riechen sie ähnlich wie die Wurzeln von *Xysmalobium*-Arten.

2. *Beschaffung des Ausgangsmaterials.* Das folgende Material wurde von Herrn Dr. POLE EVANS im Sommer 1960 im Inyanga Distrikt (Südrhodesien) auf ca. 1900 m Höhe nahe dem *locus classicus* gesammelt<sup>3)</sup>. Blätter und Stengel wurden wie üblich getrocknet, die fleischigen Wurzeln wurden in Scheiben geschnitten und ebenfalls gut getrocknet. Das Material erreichte uns am 7. 10. 1960 in ausgezeichnetem Zustand: Probe a = 35 g Samen; Probe b = 675 g getrocknete Blätter und Stengel; Probe c = 2800 g getrocknete Wurzeln.

*Voruntersuchung:* Auf Grund orientierender Prüfungen [4] waren alle drei Proben frei von Alkaloiden; sowohl die Samen wie die ganzen Pflanzen enthielten aber reichliche Mengen von Cardenoliden sowie anderer Glykoside, die 2-Desoxyzucker enthielten. Über weitere chemische Untersuchungen ist uns nichts bekannt. Wir beschreiben hier eine präparative Analyse der Wurzeln.

3. *Extraktion und Vortrennung der Extrakte.* Bisher wurde nur Probe c (Wurzeln) untersucht. 960 g getrocknete Wurzeln wurden fein gepulvert, in Wasser geweicht

Tabelle 1. Ausbeuten an rohen Extrakten aus 960 g getrockneten Wurzeln von *Trachycalymma fimbriatum*<sup>4)</sup>

Art des Extraktes	Ausbeuten		Reaktionen		Flecke im PC. [8] <sup>7)</sup> und DC.	
	in g	in %	KEDDE [6] <sup>5)</sup>	Xant- hydrol [7] <sup>6)</sup>	direkt mit Extrakt	nach milder saurer Hydrolyse
Pc-	13,41	1,40	–	–	nicht untersucht	
Ae-gereinigt	13,55	1,41	+	+	<i>A</i> , <i>C</i> ( <i>D</i> ), $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$	<i>A</i> , <i>C</i> ( <i>D</i> ) $\bar{F}$ , $\bar{F}'$ , $\bar{H}$ , $\bar{J}$ ( <i>P</i> )
Chf-	4,00	0,42	+	$\pm$	( <i>A</i> ) <i>C</i> , <i>D</i>	<i>A''</i> ( <i>A'</i> ) ( <i>A</i> ) <i>B</i> ( <i>B'</i> ) <i>C</i> ( <i>C'</i> )
Chf-Alk-(2:1)-	7,24	0,75	+	$\pm$	( <i>C</i> ) <i>D</i> , <i>E</i>	( <i>C''</i> ) <i>D</i> ( <i>D'</i> ) ( <i>D''</i> ) $\bar{F}$ , $\bar{F}'$ ( $\bar{H}$ ) ( $\bar{J}$ ) ( <i>P</i> )
" " -(3:2)-	2,01	0,21	+	–	nicht untersucht	( <i>A''</i> ) ( <i>A'</i> ) ( <i>A</i> ) <i>B</i> ( <i>B'</i> ) ( <i>C</i> ) ( <i>C'</i> ) ( <i>C''</i> )
						<i>D</i> ( <i>D'</i> ) ( <i>D''</i> ) <i>E</i> , $\bar{F}$ , $\bar{F}'$ , $\bar{H}$ , $\bar{J}$ ( <i>P</i> )

In Klammern schwache Flecke, nicht isoliert. Kursiv = sichtbar bei Entwicklung mit KEDDE Reagens. Überstrichen = sichtbar bei Entwicklung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin [9]. P wurde nur sichtbar mit  $SbCl_3$  auf Papier oder mit Cer(IV)-sulfat bzw. *p*-Toluolsulfonsäure nach Erhitzen auf  $SiO_2$ -Dünnsschichtplatte.

<sup>4)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

<sup>5)</sup> Dieses Reagens gibt mit allen Butenoliden violette Flecke. Empfindlichkeit beim Nachweis von Cardenoliden im PC. ca. 0,005 mg.

<sup>6)</sup> Dieses Reagens gibt mit allen 2-Desoxyzuckern sowie ihren Glykosiden im Mikroreagensglas eine rote Färbung. Empfindlichkeit ca. 0,001 mg Zucker.

<sup>7)</sup> Entwickelt mit KEDDE-Reagens [6]<sup>5)</sup>, 2,4-Dinitrophenylhydrazin [9]<sup>8)</sup> sowie  $SbCl_3$  [10]<sup>9)</sup>.

<sup>8)</sup> Empfindlichkeit zum Nachweis von Pregnan-20-on sowie 17 $\alpha$ -Pregnan-20-on-Derivaten ca. 0,01 mg im PC.

<sup>9)</sup> Unspezifisches Reagens. 2-Desoxyzucker und ihre Derivate geben blaugraue Färbung, stark hydroxylierte oder ungesättigte Steroide geben verschiedene Färbungen.

Tabelle 2. Eigenschaften der isolierten Stoffe und einiger Derivate

Bezeichnung der Substanz	Art des Extraktes, aus dem der Stoff (teilweise nach Hydrolyse) isoliert wurde <sup>4)</sup>	Identifiziert als	Formel Nr.	Literatur	Ausbeute in mg	Schätzung der ungefähr vorhandenen Mengen <sup>10)</sup> in mg	in %
<b>Cardenolide</b>							
A"	Chf	$\beta$ -Anhydro-uzarigenin	5	[28]	27,0	100 <sup>13)</sup>	0,010
A	Ae	Uzarigenin	1	[14]	440	700	0,073
Ac-A	–	O-Acetyluzarigenin	2	[14]	–	–	–
Bz-A	–	O-Benzoyluzarigenin	3	neu	–	–	–
B	Chf und Chf-Alk-(2:1)	$\beta$ -Anhydrocoroglaucigenin	9	[17] [30]	80,7	120 <sup>13)</sup>	0,013
C	Ae	Ascleposid	4	[18]	74,7	200	0,021
D	Ae und Chf-Alk-(2:1)	Coroglaucigenin	6	[29]	27,2 41,9	140	0,015
Ac-D	–	Di-O-acetylcoroglaucigenin	7	[29] [17]	–	–	–
<b>Pregnanderivate</b>							
F'	Ac und Chf	$3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ - $\Delta^{14}$ -pregnen-20-on	16	neu	24,0 11,6	180 <sup>13)</sup>	0,019
F	Ac und Chf	$3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ , $17\alpha$ - $\Delta^{14}$ -pregnen-20-on	12	neu	11,6 10,0		
H	Ae	$3\beta$ , $14\beta$ -Dihydroxy- $5\alpha$ , $17\alpha$ -pregnan-20-on	10	[24] [25]	472	900	0,094
Ac-H	–	$3\beta$ -Acetoxy- $14\beta$ -hydroxy- $5\alpha$ , $17\alpha$ -pregnan-20-on	11	[26]	–	–	–
J	Ae	$3\beta$ , $8\beta$ , $14\beta$ -Trihydroxy- $5\alpha$ , $17\alpha$ -pregnan-20-on	18?	neu	71,6	150	0,016
Ac-J	–	$3\beta$ -Acetoxy- $8\beta$ , $14\beta$ -dihydroxy- $5\alpha$ , $17\alpha$ -pregnan-20-on	19?	neu	–	–	–
P	Ae	Ähnlich, aber verschieden von Subst. T aus <i>Asclepias glaucocephala</i> [18]		neu ?	12,7	50	0,005

sowie erhaltene Ausbeuten und Schätzung der ungefähr vorhandenen Mengen

Summen- formel (Molekular- gewicht)	Smp. $[\alpha]_D$		$\lambda_{max}$ in nm <sup>11)</sup> (log e)	Reaktionen		Perjodat-Benzidin [21] Tetrinitromethan [22]	
	Gef. Werte	Literaturwerte		KEDDE [6] <sup>5)</sup>	DNPPh [9] <sup>8)</sup>	Xanthydro [7] <sup>6)</sup>	
<b>Cardenolide</b>							
C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>3</sub> (356,5)	260–264° [−24,2 ± 2Chf]	261–265° [−26 ± 2Chf]	201 (4,23) 206 (4,23) 211 (4,22)	+	−		+
C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub> (374,5)	248–252° [+13,7 ± 4Chf]	230–246° [+14 ± 2Alk]		+	−		−
C <sub>25</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub> (416,5)	262–270° [+1,6 ± 2Chf]	267–268° [+8 ± 2Chf]		+			
C <sub>29</sub> H <sub>38</sub> O <sub>5</sub> (478,6)	270–272° [+10,5 ± 2Chf]	−	226 (4,35) 272 (2,90) 279 (2,80)	+			
C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub> (372,5)	248–252° [+19,1 ± 2Chf-Me-(1:1)]	247–250° [+19 ± 2Chf-Me-(1:1)]	201 (4,23) 212 (4,21)	+	−		+
C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>8</sub> ·H <sub>2</sub> O (538,6)	257–261° [−26,1 ± 2Me]	248–251° [−27 ± 2Me]		+	−	−	+
C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub> (390,5)	252–256° [+24,2 ± 3Me]	249–250° [+23 ± 3Me]		+	−		
C <sub>27</sub> H <sub>38</sub> O <sub>7</sub> (474,6)	213–215° [+9,7 ± 4Chf]	222–223° [+9 ± 3Chf]		+			
<b>Pregnanderivate</b>							
C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> (316,5)	188–192° [+52,4 ± 2An]	−		−	+		+
C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> (316,5)	139–141/148–150° [+117 ± 2An] [+98 ± 3An]	−	195 (3,95) <sup>14)</sup> 278 (1,72)	−	+		+
C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub> (334,5)	218–222° [−47,2 ± 3An]	195–198° [24] 215–220° [25]	277 (1,91)	−	+	−	−
C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub> (376,5)	166–168° [−46,4 ± 2An]	165–167° [−48Chf]	219 (2,06) <sup>15)</sup> 281 (1,71)	−	+		
C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub> (350,5)	213–217° [−27,5 ± 3Me]	−	275 (2,13)	−	+	+	−
C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub> (392,5)	144–146° [−34,4 ± 2Chf]	−		−	+	+	
?	191–196° (> 500 ?)	−	234 (1,45) <sup>16)</sup>	−	−	+	+
	[−120 ± 50Me]						

und anschliessend nach früherer Vorschrift [5] mit wässrigem Alkohol extrahiert. Nach Reinigung mit  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  wurde aus wässriger Lösung fraktioniert ausgeschüttet; es resultierten die in Tab. 1 genannten Ausbeuten an Extrakten, die in Papierchromatogrammen (PC.) und Dünnschichtchromatogrammen (DC.) untersucht wurden.

Der Petroläther-Extrakt sowie der Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt wurden nicht untersucht. Bei der Prüfung der drei anderen Extrakte im PC. und DC. wurden im Äther-Extrakt zunächst nur drei KEDDE-positive Stoffe (A, C, D; vgl. Fig. 2-4 und 9) nachgewiesen, sowie drei KEDDE-negative Stoffe ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ; vgl. Fig. 7), die aber mit Ketonreagens [9] nachweisbar waren. Im Chloroform-Extrakt liessen sich ebenfalls die Stoffe A, C, D und im Chf-Alk-(2:1)-Extrakt die Stoffe C, D und E nachweisen. Eine grössere Anzahl anderer Flecke wurden nach milder saurer Hydrolyse der Extrakte erhalten (vgl. Tab. 1); sie dürften vorwiegend den entstandenen Spaltprodukten (teilweise Anhydroderivaten) entsprechen.

4. *Untersuchung des Ätherextraktes.* Durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  und  $\text{SiO}_2$  liessen sich die drei KEDDE-positiven Stoffe A, C und D in reinen Kristallen isolieren (vgl. Tab. 2). Die in diesem Extrakt nachgewiesenen Ketone  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  konnten nicht rein erhalten werden. Das gesamte wieder vereinigte amorphe Material wurde einer milden sauren Hydrolyse [14] unterworfen. Dabei wurde ein Gemisch von Zuckern abgespalten, in dem sich in Papierchromatogrammen [15] Cymarose und Digitoxose nachweisen liessen, sowie zwei weitere nicht identifizierte Zucker.

Die rohen Genine (die aber teilweise noch schwerer hydrolysierbare Glykoside enthielten) wurden durch wiederholte Chromatographie an viel feinem  $\text{SiO}_2$  nach DUNCAN [16], zum Teil auch an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  getrennt, wobei sich F, F', H, J und P in Kristallen isolieren liessen (vgl. Tab. 2 und Besprechung weiter unten).

5. *Untersuchung des Chloroformextrakts.* Vorversuche zeigten, dass dieses Material nach milder saurer Hydrolyse teilweise dieselben Spaltstücke lieferte wie der Ae-Extrakt. Daher wurde das gesamte Material einer solchen Hydrolyse unterworfen, worauf sich durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  teilweise auch an  $\text{SiO}_2$  noch die Stoffe A" und B sowie weitere Mengen von F und F' isolieren liessen.

6. *Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts.* Dieses Material wurde wie der Chf-Extrakt behandelt, worauf sich kleine Mengen der Stoffe B und D isolieren liessen. Subst. E blieb bei der milden sauren Hydrolyse unverändert. Sie wurde nicht isoliert, war aber nach PC. in 2 Systemen mit Frugosid [17] identisch.

In Tab. 2 sind die Eigenschaften der isolierten Stoffe und einiger ihrer Derivate zusammengestellt. A", A, B, C, D und H konnten mit bekannten Stoffen identifiziert werden. Glykosid P zeigte sehr ähnliche Eigenschaften wie Substanz T von NASCIMENTO

<sup>10)</sup> Rohe Schätzung des Gehaltes in sämtlichen Extrakten auf Grund der Ausbeuten und der Stärke der Flecke im PC. oder DC.

<sup>11)</sup> In Alk, ausser bei Ac-H, das in Cy gemessen wurde.

<sup>12)</sup> Prüfung auf die Anwesenheit von 2-Hydroxyzuckern in Glykosiden.

<sup>13)</sup> Vermutlich ursprünglich nicht oder in wesentlich kleinerer Menge in der Pflanze vorhanden und erst bei der milden sauren Hydrolyse entstanden.

<sup>14)</sup> Endabsorption. Das wirkliche Maximum liegt bei tiefen Wellenlängen.

<sup>15)</sup> Diese Bande stammt von der Acetoxygruppe, vgl. LARDON & REICHSTEIN [23].

<sup>16)</sup> Bezogen auf Mol.-Gewicht 500.

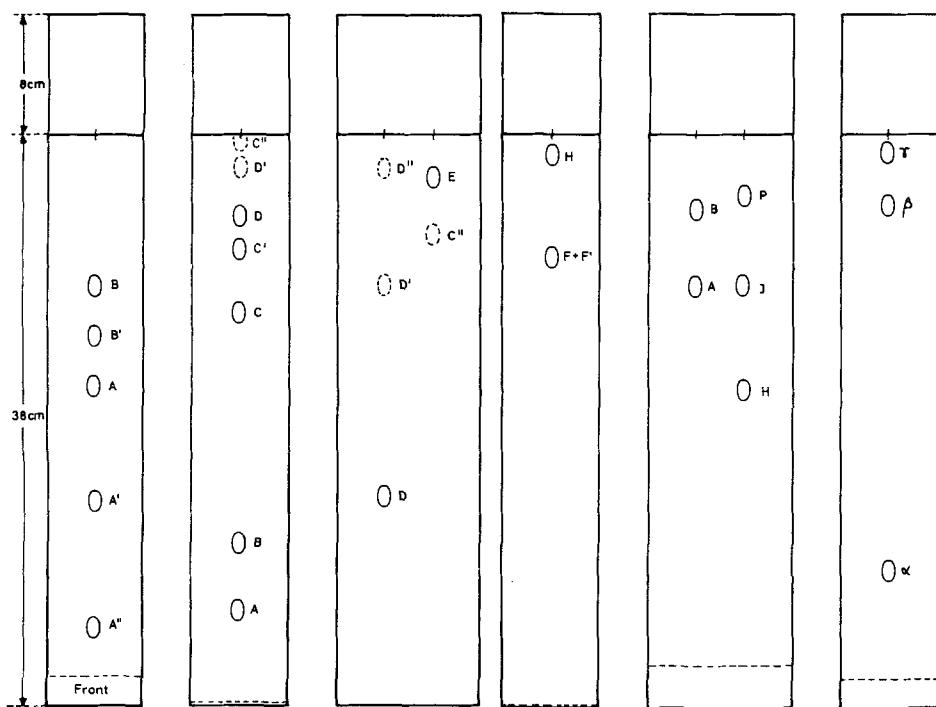


Fig. 2.  
Be-Chf-(7:5)/  
Fmd; 2,5 Std.

Fig. 3.  
Chf/Fmd  
2,5 Std.

Fig. 4.  
Chf/Fmd  
18 Std.

Fig. 5.  
Be-Cy-(1:3)/  
Fmd; 3 Std.

Fig. 6.  
Be-Chf-(4:1)/  
Fmd; 2,5 Std.

Fig. 7.  
Be-Cy-(1:1)/  
Fmd; 3 Std.

Fig. 2-7 sind Beispiele von Papierchromatogrammen<sup>4)</sup>, schematisiert aber massgetreu. Ausführung absteigend nach früheren Angaben [8]. Wo keine Front (gestrichelt) eingezeichnet ist, wurde sie ablaufen gelassen. Fig. 2-4 entwickelt mit KEDDE-Reagens [6]<sup>5)</sup>, Fig. 5-6 mit  $SbCl_3$  [10]<sup>9)</sup> und Fig. 7 mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens [9]<sup>8)</sup>.

et al. [18] aus *Asclepias glaucocephala*, deren Struktur auch noch nicht aufgeklärt ist. Es war aber doch von ihr verschieden. Die Struktur von F und F' konnte aufgeklärt und diejenige von J wahrscheinlich gemacht werden (siehe unten). In Tab. 2 sind auch die erhaltenen Ausbeuten zusammengestellt; ebenso wird eine rohe Schätzung der in den Wurzeln wirklich vorhandenen Menge gegeben. Im folgenden werden die einzelnen Stoffe noch kurz besprochen.

7. Besprechung der isolierten Stoffe. – 7.1. Cardenolide. Die 5 isolierten Cardenolide A'', A, B, C und D konnten nach Smp., Drehung, Misch-Smp., Laufstrecke im PC. und Färbung mit  $H_2SO_4$  mit authentischem Material von « $\beta$ »-Anhydro-uzarigenin (5), Uzarigenin (1), « $\beta$ »-Anhydrocoroglauconigenin (9), Ascleposid (4) und Coroglauconigenin (6) identifiziert werden. Bei A und D wurden auch die O-Acetyldeivate hergestellt und verglichen, bei A noch das bisher unbekannte O-Benzoylderivat (3).

7.2. Pregnanderivate. – 7.2.1. Substanz H. Dieser Stoff besitzt die Struktur 10 eines  $3\beta,14\beta$ -Dihydroxy- $5\alpha$ - $17\alpha$ -pregnan-20-ons. Das freie Keton ist zuerst in einer Patentschrift [24] (mit Smp. 195–198°) beschrieben und ist kürzlich von MITSUHASHI et al.

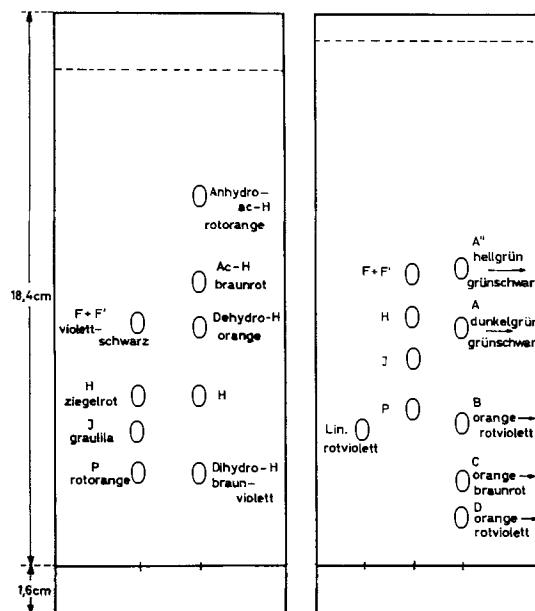


Fig. 8.  
Chf-iPr-(93:7)  
45 Min.

Fig. 9.  
Chf-iPr-(9:1)  
45 Min.

Fig. 8-9 sind Beispiele für Dünnsschichtchromatogramme<sup>4)</sup>. Ausführung aufsteigend auf Linienglas [11]. Entwicklung mit Cer(IV)-sulfat-Reagens [12]. Die angegebenen Farben wurden nach ca. 5 Min. bei 110° erhalten. Lin = Lineolon [13] ist zum Vergleich angegeben.

[25] zusammen mit seinem 17 $\beta$ -Isomeren wieder bereitet worden, die aber einen höheren Smp. (215–220°) fanden. Das 3-O-Acetylterivat **11** ist schon von PLATTNER *et al.* [26] genau beschrieben worden. Wir fanden für unser Präparat (Smp. 218–222°) zunächst durch Analyse und Massenspektrum (Fig. 21)<sup>17)</sup> die Bruttoformel C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>. Die UV.- (Tab. 2), IR.- (Fig. 15) und Protonenresonanz-Spektren (Fig. 28)<sup>18)</sup> sowie der Verlauf der optischen Rotationsdispersion (Fig. 26)<sup>19)</sup> sprachen sehr stark für Formel **10**. Durch Bereitung des 3-O-Acetylterivates **11** und direkten Vergleich desselben mit dem Originalpräparat von PLATTNER *et al.* [26] konnte die Identität bewiesen werden<sup>20)</sup>. Reduktion von Substanz H mit NaBH<sub>4</sub> gab ein krist. Triol **15**, das gegen Pb(OAc)<sub>4</sub> beständig war (eine HO-Gruppe an C-17 wird damit ausge-

<sup>17)</sup> Wir danken Herrn Prof. G. SPITELLER, Organisch-chemisches Institut der Universität Göttingen, auch hier bestens für die Ausführung und Diskussion dieses Spektrums. Zur Aufnahme diente ein ATLAS-Massenspektrometer Modell CH-4.

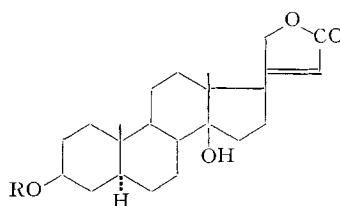
<sup>18)</sup> Wir danken Herrn P.D. Dr. R.F. ZÜRCHER, Physiklabor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Bascl, auch hier bestens für die Ausführung dieses Spektrums und seine Hilfe bei der Interpretation. Zur Aufnahme diente ein modifizierter VARIAN-Spektrograph, Modell V-4302 bei 60 MHz und 21°. Die Signale sind auf 0,01 ppm genau.

<sup>19)</sup> Wir danken Herrn Prof. W. KLYNE, Chem. Dept., Westfield College, London N.W. 3, auch hier bestens für die Aufnahme der ORD.-Spektren.

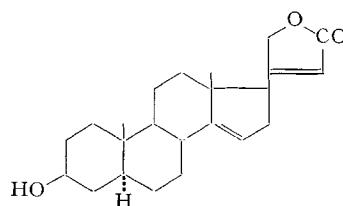
<sup>20)</sup> Wir danken Herrn Dr. B. ENGEL (†), ETH Zürich, auch hier bestens für die Überlassung einer Probe des Originalpräparates von PLATTNER *et al.*

schlossen). Dehydrierung von Substanz H mit  $\text{CrO}_3$  lieferte das krist. Diketon **14**, das gegen verd.  $\text{HCl}$  in Aceton stabil war (Ausschluss einer 5-HO-Gruppe).

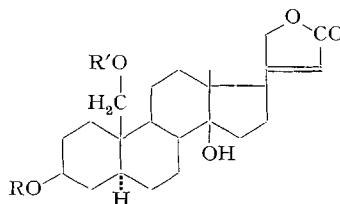
7.2.2. *Substanz F (12) und Substanz F' (16)*. Diese zwei Stoffe sind schwer trennbar. Es gelang uns weder im PC. noch im DC. Systeme zu einer eindeutigen Differenzierung zu finden. Bei der Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  wird jedoch F' etwas rascher eluiert. In kristallisierter Form lassen sich die zwei Stoffe durch den Smp., die optische Rotationsdispersion und auch durch ihr IR.-Spektrum (Fig. 13 und 14) voneinander unterscheiden. Es ist bekannt, dass bei  $\Delta^{14}$ -Pregnen-20-onen die  $17\beta$ -Verbindung stabiler ist als die  $17\alpha$ -Verbindung [31]. In Übereinstimmung damit scheint F durch Alkali (vermutlich auch durch Kontakt an  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) in F' umgelagert zu werden.



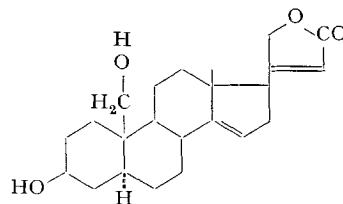
- 1** ( $\text{R} = \text{H}$ ) Uzarigenin (A)  
F.  $230-246^\circ$  [ $+14$  Alk] [14]  
**2** ( $\text{R} = \text{Ac}$ ) F.  $267-268^\circ$   
[ $+8$  Chf] [14]  
**3** ( $\text{R} = \text{Bz}$ ) F.  $270-272^\circ$   
[ $+10$  Chf]<sup>21)</sup>  
**4** ( $\text{R} = 6\text{-Desoxy-}\beta\text{-D-allo-pyranosyl-Rest}$ )  
Ascleposid (C) F.  $248-251^\circ$   
[ $-27$  Me] [18]



- 5** < $\beta$ >-Anhydro-uzarigenin (A'')  
F.  $261-265^\circ$  [ $-26$  Chf] [28]

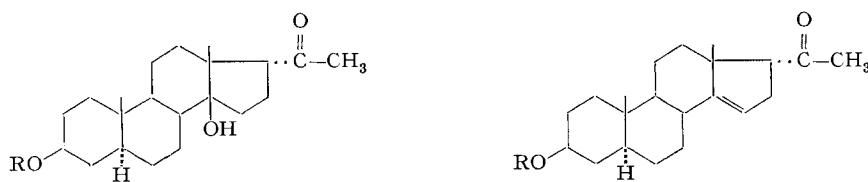


- 6** ( $\text{R} = \text{R}' = \text{H}$ ) Coroglaucigenin (D)  
F.  $249-250^\circ$  [ $+23$  Me] [29]  
**7** ( $\text{R} = \text{R}' = \text{Ac}$ ) F.  $222-223^\circ$   
[ $+9$  Chf] [29] [17]  
**8** ( $\text{R} = 6\text{-Desoxy-}\beta\text{-D-allo-pyranosyl-Rest, R}' = \text{H}$ )  
Frugosid (E) F.  $160-170/237-242^\circ$  [ $-17$ ; 80-proz. Me]  
[17]



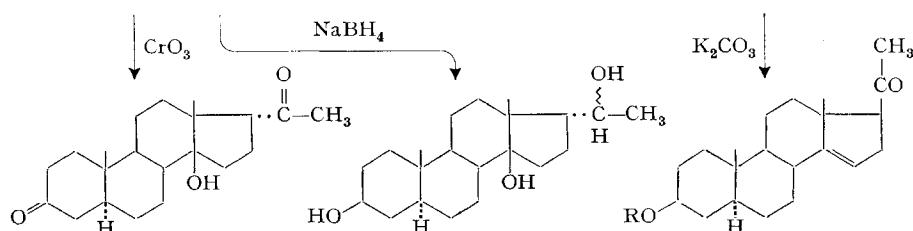
- 9** < $\beta$ >-Anhydrocoroglaucigenin (B) F.  $247-250^\circ$   
[ $-19$  Chf-Me-(1:1)] [17] [30]

<sup>21)</sup> Vgl. Exper. Teil dieser Arbeit.



- 10** ( $R = H$ ) Subst. H  
F. 195–198° [24]  
F. 215–220°;  $\alpha = -97,5^\circ$  [25]  
F. 218–222° [–47 An]  
 $\alpha = -94^\circ$ !<sup>21</sup>)  
**11** ( $R = Ac$ ) F. 165–167°  
[–48 Chf] [26]

- 12** ( $R = H$ ) Subst. F.  
F. 139–141°/148–150°  
[+117 An] [+98 An]<sup>21</sup>)<sup>22</sup>)  
 $\alpha = -64^\circ$ !  
**13** ( $R = Ac$ ) F. 103–106°  
[+74 Chf]<sup>21</sup>)

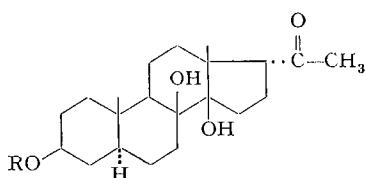


**14** F. 208–210° [–27 An]<sup>21</sup>)

**15** F. 177–180° [–8 Me]<sup>21</sup>)

**16** ( $R = H$ ) Subst. F'  
F. 188–192° [+52 An]<sup>21</sup>)  
 $\alpha = +85^\circ$  Me

**17** ( $R = Ac$ ) F. 102–103°  
[+36 Chf] [27]



- 18** ( $R = H$ ) Subst. J.,  
hypothetische Formel  
F. 213–217° [–28 Me]<sup>21</sup>)  
 $\alpha = -94^\circ$ !

- 19** ( $R = Ac$ ) F. 144–146°  
[–34 Chf]<sup>21</sup>)

$Ac = CH_3CO-$ ;  $Bz = C_6H_5CO-$ .  $\alpha = 0,01 \times$  Amplitude der Rotationsdispersion in Methanol. Ein Ausrufezeichen (!) bedeutet, dass das kurzwellige Extremum nicht ganz erfasst ist, der absolute Wert von  $\alpha$  also etwas grösser ist. Die Zahlen in langen eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln an.

Die Massenspektren von F und F' (Fig. 19 und 20)<sup>23</sup>) passen auf die Formel  $C_{21}H_{32}O_2$  (316), wobei in beiden Fällen auch deutliche Fragmente bei den Massenzahlen 273 (= 316 – 43) und 255 (= 316 – 18 – 43) auftreten, was der Abspaltung der  $CH_3CO$ -Gruppe entspricht. In den IR.-Spektren (Fig. 13 und 14) ist außer der Ketogruppe (bei 5,92 bzw. 5,87  $\mu$ ) die Absorption einer  $\text{C}=\text{C}$  Gruppe sichtbar,

(bei 3,278 sowie bei 6,07 bzw. 6,09  $\mu$ ) deren Lage für eine  $\Delta^{14}$ -Doppelbindung in Steroiden charakteristisch ist [32]. Die Stereochemie an C-17 ergibt sich aus der

<sup>22</sup>) Dieses Keton stellt das labile Isomere dar.

<sup>23</sup>) Wir danken Herrn Dr. H. HÜRZELER, Physiklaboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums und seine Hilfe bei der Interpretation. Zur Aufnahme diente ein ATLAS-Massenspektrometer Modell CH-4 mit direktem Einlass-System. Die Elektronenenergie betrug 70 eV, der Elektronenstrom 35  $\mu$ Amp.

optischen Rotationsdispersion (Fig. 25), wobei F' (16) einen stark positiven und F (12) einen stark negativen COTTON-Effekt zeigte<sup>24)</sup>.

Um die abgeleiteten Strukturen zu beweisen, wurde die folgende Teilsynthese durchgeführt: 3-O-Acetyl-H (11) wurde mit Pyridin-SOCl<sub>2</sub> [33] behandelt, worauf das krist. O-Acetyl-derivat 13 isoliert werden konnte. Ein Stoff gleicher Bruttoformel und mit gleichem Smp. ist von PLATTNER *et al.* [27] beschrieben worden. Auf Grund der stark verschiedenen Drehungen dürfte es sich bei unserem Präparat um das 17 $\alpha$ -Isomere 13 und bei der Substanz von PLATTNER *et al.* [27] um das 17 $\beta$ -Isomere 17 gehandelt haben, wie es diese Autoren auch formuliert haben. Verseifung des Acetyl-derivates 13 mit KHCO<sub>3</sub> in wässrigem Methanol gab eine sehr kleine Menge von Kristallen, die nach Smp., Misch-Smp. und PC. mit Subst. F (12) identisch war. Die Hauptmenge des Acetyl-derivates 13 wurde mit K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> verseift, worauf sich wiederum etwas Kristalle isolieren liessen, die erwartungsgemäss nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im DC. und IR.-Spektrum mit F' (16) identisch waren.

7.2.3. *Substanz J (vermutlich 18)*. Dieser Stoff liess sich schwer von H abtrennen. Die zwei Stoffe liefern auch Mischkristalle. Analyse und Massenspektrum (Fig. 23)<sup>17)</sup> von J passten auf die Formel C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub> (350). Der Stoff enthält nach IR.-Spektrum (Fig. 16) eine Ketogruppe. Er liefert eine Mono-O-acetyl-derivat 19, das im Protonenresonanzspektrum neben dem Signal der Acetoxygruppe (bei 2,03 ppm) ein solches der -COCH<sub>3</sub>-Gruppe bei 2,15 ppm zeigt. Im IR.-Spektrum zeigt 19 noch starke HO-Absorption. Mit NaJO<sub>4</sub>-Benzidin [21] auf Kieselgel [1]<sup>25)</sup> gibt Substanz J keine Reaktion, wohl aber mit Pb(OAc)<sub>4</sub> [20]. Mit letzterem reagiert auch O-Acetyl-J (19). Ein solches Verhalten zeigen 8 $\beta$ ,14 $\beta$ -Dihydroxysterole [34] [35]. Als wahrscheinliche Struktur für Subst. J glauben wir daher Formel 18 vorschlagen zu können. Die Konfiguration an C-17 ergibt sich aus der optischen Rotationsdispersion (Fig. 26)<sup>19)</sup>. Die 5 $\alpha$ -Konfiguration ist schon darum wahrscheinlich, weil die anderen, oben beschriebenen aus *Trachycalymma fimbriatum* isolierten Steroide an C-5 dieselbe Konfiguration zeigten. Aber vor allem sind die Signale im Protonenresonanzspektrum von O-Acetyl-J, insbesondere auch die Lage der zwei Methyldsignale [36] mit der vorgeschlagenen Formel gut vereinbar (vgl. Berechnung im Exper. Teil).

7.2.4. *Glykosid P*. Dieser Stoff wurde nur in sehr kleiner Menge isoliert<sup>26)</sup>. Er zeigte ähnlichen Smp., praktisch gleiche Laufstrecken im PC. und DC., fast gleiches IR.-Spektrum (Fig. 18) und gleiche Farbreaktion mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wie Subst. T, die NASCIMENTO *et al.* [18] aus *Asclepias glaucocephala* isoliert hatten. Hingegen war die Drehung (soweit feststellbar) stark verschieden und die Xanthydrolreaktion war bei P deutlich positiv, während sie bei Subst. T aus *Asclepias glaucocephala* negativ war<sup>27)</sup>. Substanz P ist ein KEDDE-negatives Glykosid. Nach energetischer saurer Hydrolyse

<sup>24)</sup> Wir danken Herrn Dr. F. BURKHARDT, Physiklaboratorium der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, auch hier bestens für die Aufnahmen der ORD.-Spektren.

<sup>25)</sup> Die NaJO<sub>4</sub>-Benzidin Probe [21] ist auf Papier nicht immer zuverlässig, weil die Cellulose auch langsam mit NaJO<sub>4</sub> reagiert.

<sup>26)</sup> Das beschriebene Präparat wurde aus Extrakten nach milder saurer Hydrolyse isoliert, wobei die Hauptmenge gespalten sein dürfte. Die isolierte Menge ist somit nur der kleine Teil, der bei dieser Hydrolyse nicht gespalten wurde.

<sup>27)</sup> Wir danken Herrn Dr. J. VON EUW für die Ausführung dieser Reaktion. Es wurden beide Präparate gleichzeitig unter genau gleichen Bedingungen zur Reaktion gebracht.

[37] wurde ein Zucker erhalten, der nach DC., PC. und Papierelektrophorese [38] [39] mit Thevetose identisch ist<sup>28)</sup>. Auf Grund der positiven Xanthydrolyreaktion muss außerdem noch mindestens ein 2-Desoxyzucker darin enthalten sein. Im Massenspektrum (Fig. 24) liess sich keine Spur eines Moleköl-Ions feststellen, jedoch viele Spitzen, die darauf deuten, dass das Glykosid ein Disaccharid enthält, das mit Asclepobiose [40] identisch ist oder isomer sein könnte. Glykosid P zeigt im UV. bis 196 nm herunter keine selektive Absorption, dürfte somit keine C=C-Doppelbindung enthalten; im IR. (Fig. 18) ist keine CO-Absorption sichtbar, wohl aber starke HO-Absorption, sowie eine kleine Bande bei  $3,52 \mu$ , die von einer Methoxygruppe herühren könnte. Eine Analyse konnte nicht ausgeführt werden.

8. *Diskussion der Resultate.* Bei Betrachtung der isolierten Stoffe ist ersichtlich, dass die sekundären Inhaltstoffe von *Trachycalymma fimbriatum* eine grosse Ähnlichkeit mit denjenigen der verwandten *Asclepias glaucophylla* [18] zeigen. Die Cardenolide sind weitgehend dieselben, wobei es wahrscheinlich ist, dass die hier beschriebenen Anhydro-derivate **5** und **9** als Artefakte durch versehentlich zu hohe Säurekonzentration bei der milden sauren Hydrolyse entstanden sind. Grössere Unterschiede zeigen die Preganderivate. In *Asclepias glaucophylla* sind Esterglykoside von Sarcostin und Lineolon vorherrschend. Hier wurden insbesondere Substanz H und Substanz J erhalten, die ursprünglich auch in Form von Glykosiden vorlagen. Die Stoffe F und F' könnten vielleicht auch aus H oder seinem  $17\beta$ -Isomeren entstanden sein. Trotzdem ist eine grosse Verwandtschaft sichtbar. Substanz J unterscheidet sich von Lineolon vermutlich nur durch das Fehlen der  $12\beta$ -ständigen HO-Gruppe und der Doppelbindung. Bei Substanz H fehlt auch noch die 8-ständige HO-Gruppe. Das gleichzeitige Vorkommen von Substanz H und Uzarigenin ist vermutlich biogenetisch bedingt. H oder ihr  $17\beta$ -Isomeres (bzw. ein Glykosid dieser Stoffe) dürfte die Vorstufe bei der Biosynthese des Uzarigenins (oder eines Glykosids desselben) darstellen, da

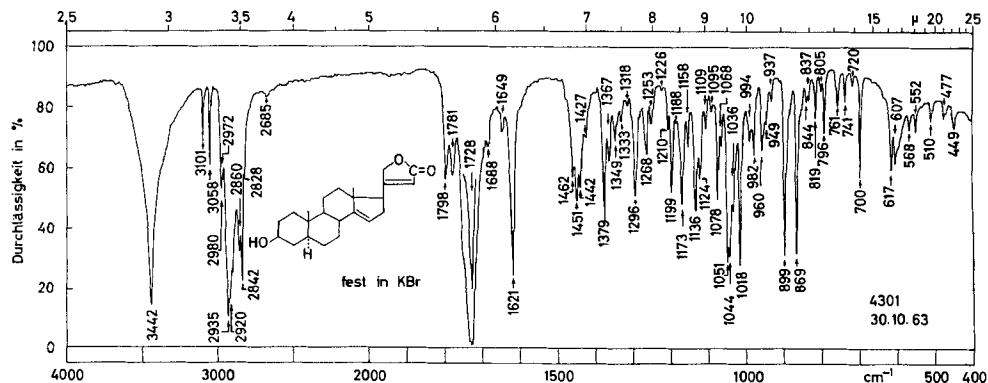


Fig. 10. IR.-Absorptionsspektrum von « $\beta$ -Anhydro-uzarigenin (A'') (5), Präp. RKE-15 vom Smp. 260–264°

1,0 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>29)</sup>

<sup>28)</sup> Wir danken Herrn Dr. H. KAUFMANN für die Ausführung der Papierelektrophorese.

<sup>29)</sup> Aufgenommen von den Herren CH. SENN & W. SCHWAB auf einem PERKIN-ELMER Zweistrahlgitter-Spektrophotometer Modell 125.

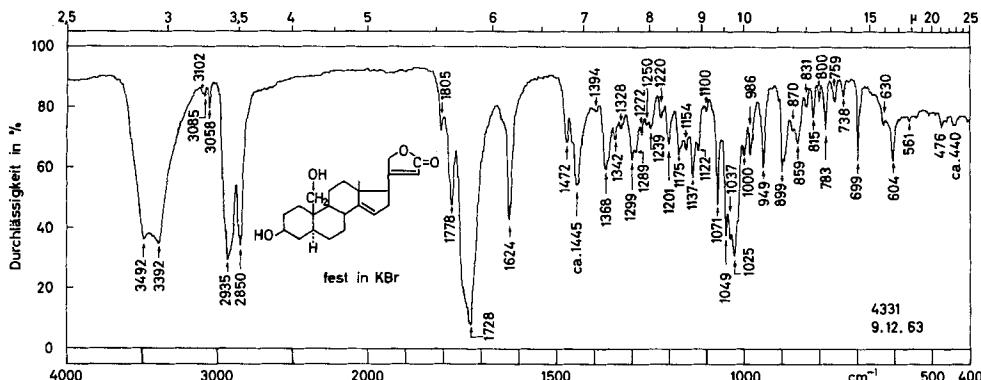
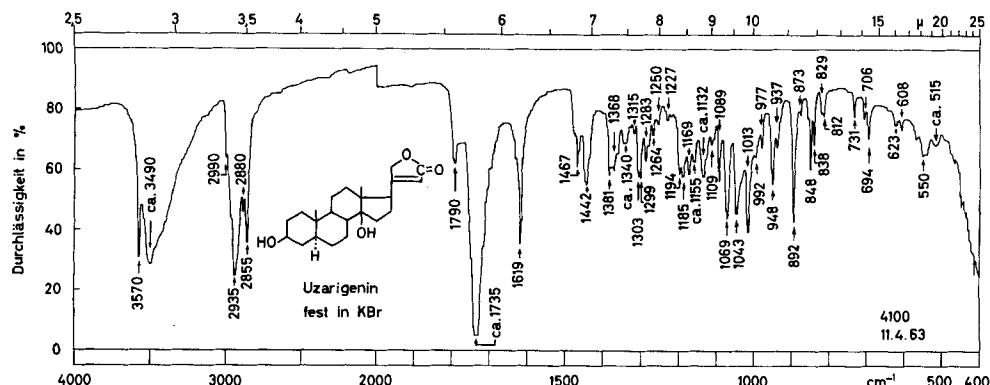


Fig. 12. IR-Absorptionsspektrum von <math>\beta</math>-Anhydro-coroglaucigenin (B) (9), Präp. RKE-16 vom Smp. 248–252° 1,1 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>29</sup>)

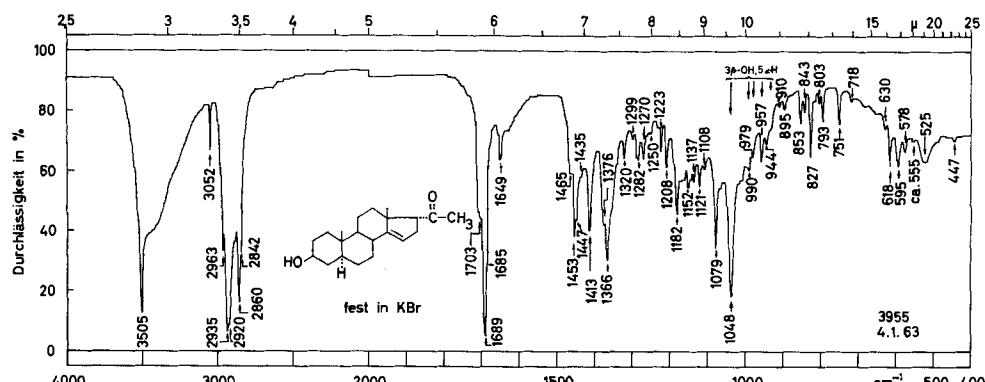


Fig. 13. IR-Absorptionsspektrum von 3<math>\beta</math>-Hydroxy-5<math>\alpha</math>,17<math>\alpha</math>-<math>\Delta^{14}</math>-pregnen-20-on (F) (12), Präp. RKE-2 vom Smp. 139–141°/148–150° 1,0 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>29</sup>)

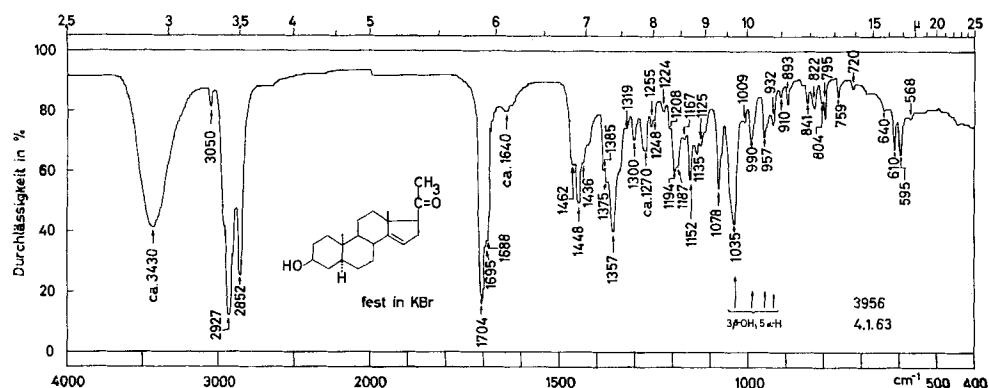


Fig. 14. IR.-Absorptionsspektrum von 3 $\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ -14 $\alpha$ -pregnen-20-on (16), Präp. RKE-9 vom Smp. 188-192°  
 1,0 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>29</sup>)

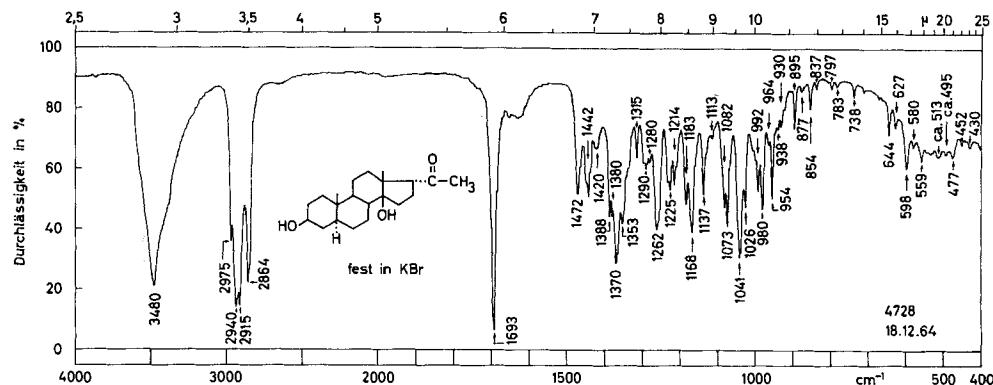


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum von 3 $\beta$ ,14 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -pregnan-20-on (H) (10), Präp. RKE-3 vom Smp. 218-222°  
 0,9 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>29</sup>)

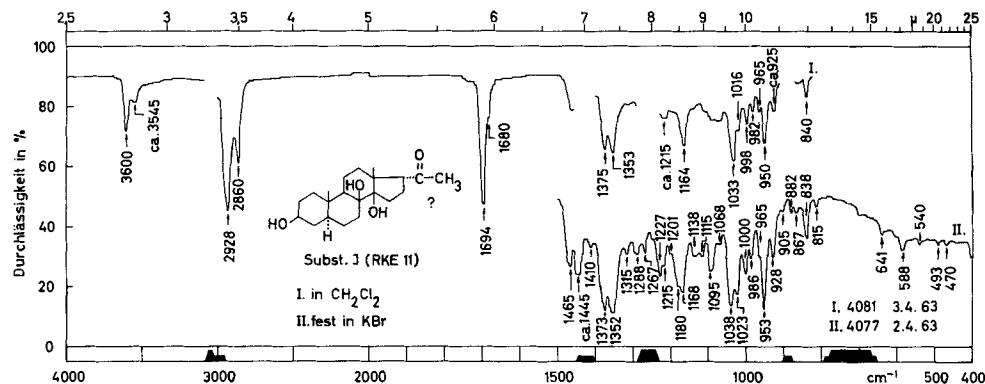


Fig. 16. IR.-Absorptionsspektrum von Substanz J = vermutlich 3 $\beta$ ,8 $\beta$ ,14 $\beta$ ,17 $\alpha$ -Trihydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -pregnan-20-on (18), Präp. RKE-11 vom Smp. 213-217°

Obere Kurve = gesättigte Lösung in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, untere Kurve 0,9 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>29</sup>)

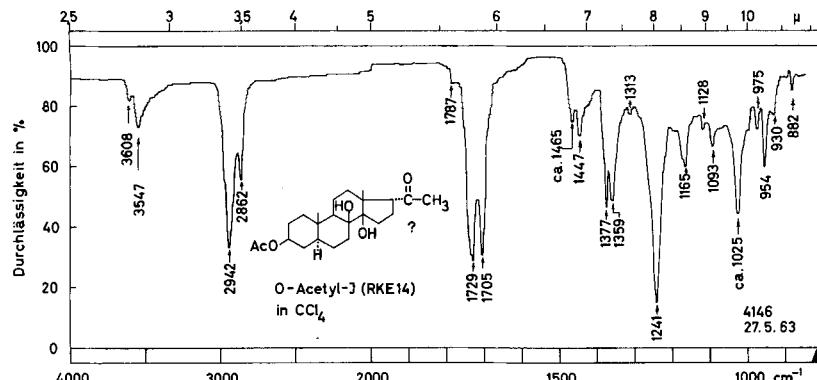


Fig. 17. IR-Absorptionsspektrum von *O*-Acetyl-*J* (vermutlich **19**), Präp. RKE-14 vom Smp. 144–146°  
Gesättigte Lösung in  $\text{CCl}_4$ <sup>28</sup>)

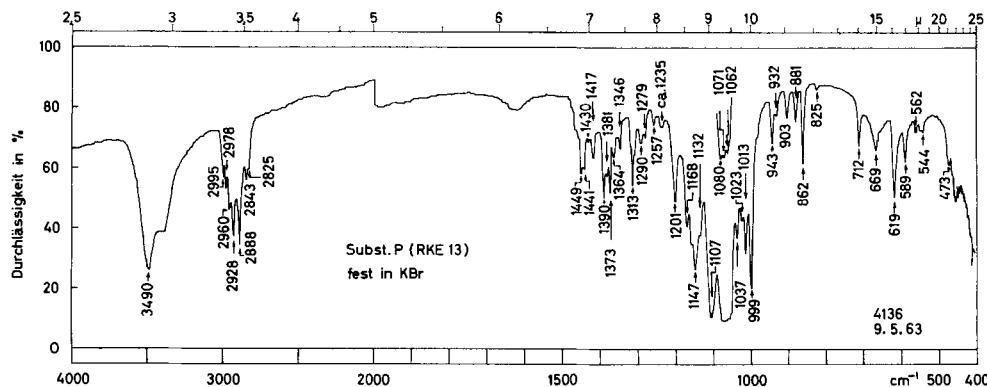


Fig. 18. IR-Absorptionsspektrum vom Glykosid *P*, Präp. RKE-13 vom Smp. 191–196°  
0,3 mg fest in ca. 50 mg KBr (Mikropastille)<sup>29</sup>)

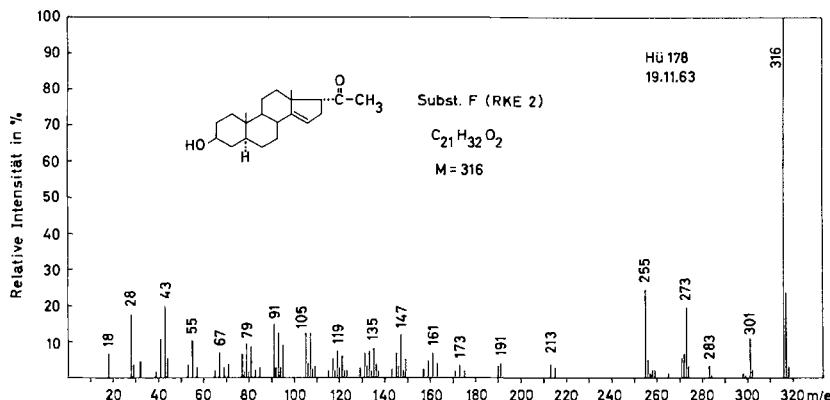


Fig. 19. Massenspektrum von  $3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha,17\alpha$ - $\Delta^{14}$ -pregnen-20-on (Subst. **F**) (**12**), Präp. RKE-2 vom Smp. 139–141°/148–150°

Temperatur der Ionenquelle  $> 100^\circ$ , Tiegeltemperatur  $> 100^\circ$ <sup>23</sup>). Versuchsweise Zuordnung:  $M = 316$  (100%);  $301 = M - \text{CH}_3$ ;  $298 = M - \text{H}_2\text{O}$ ;  $283 = M - \text{CH}_3 - \text{H}_2\text{O}$ ;  $273 = M - \text{CH}_3\text{CO}$ ;  $255 = M - \text{CH}_3\text{CO} - \text{H}_2\text{O}$

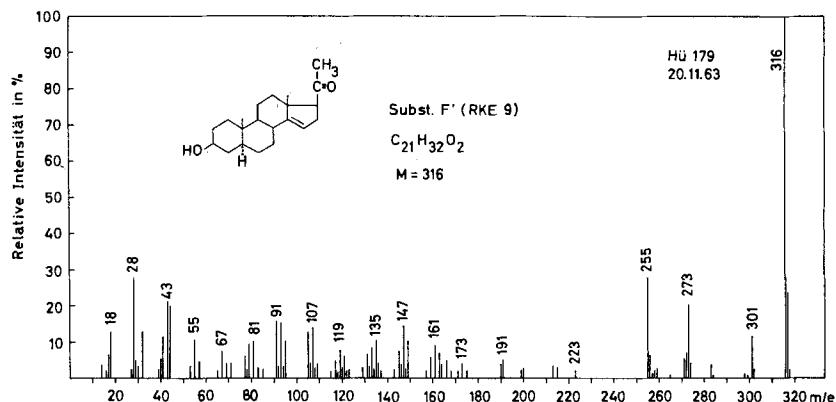


Fig. 20. Massenspektrum vom  $3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ - $\Delta^{14}$ -pregnen-20-on (Subst. F') (**16**), Präp. RKE-9 vom Smp.  $188-192^\circ$ <sup>23</sup>)

Versuchsweise Zuordnung: wie bei Fig. 19

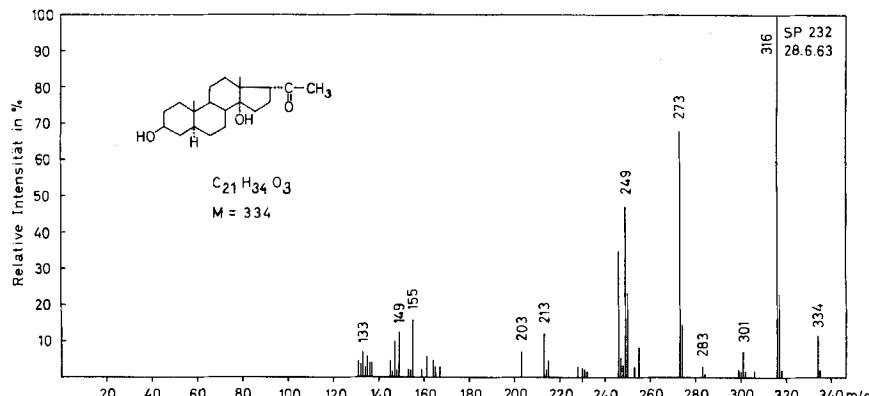
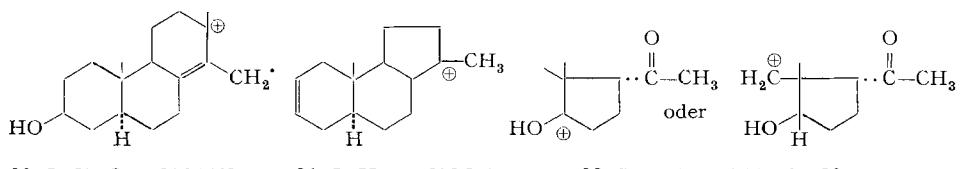


Fig. 21. Massenspektrum von  $3\beta,14\beta$ -Dihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-on (Subst. H) (**10**), Präp. RKE-3 vom Smp.  $218-222^\circ$ <sup>17</sup>)<sup>30</sup>)

Versuchsweise Zuordnung:  $M = 334$ ;  $316 = M - 18$ ;  $301 = 316 - \dot{C}H_3$  ( $m^*$  gef. 287; ber. 286,7);  $283 = M - 2H_2O - \dot{C}H_3$ ;  $273 = M - H_2O - \dot{C}H_3CO$ ;  $255 = M - 2H_2O - \dot{C}H_3CO$ ;  $249 = M - C_5H_9O$  (Ring D + Seitenkette + H);  $246 = \mathbf{20}$ ;  $213 = ?$ ;  $203 = \mathbf{21}$ ;  $155 = \mathbf{22}$  oder  $\mathbf{23}$ ;  $149$  event.  $\mathbf{21} - C_4H_6$  (Butadien aus Retro-DIELS-ALDER-Spaltung)<sup>30</sup>)



<sup>30</sup>) Die Spitze bei  $m/e 149$  kann teilweise auch vom Untergrund (Phtalester aus Vorpumpenöl) stammen [42].

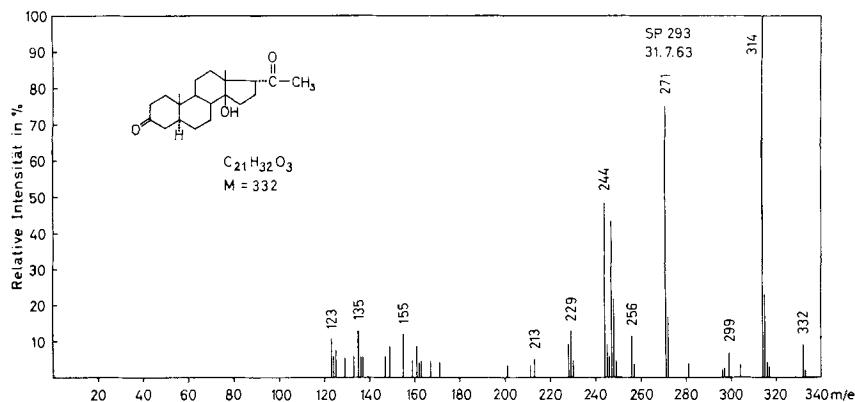


Fig. 22. Massenspektrum von  $14\beta$ -Hydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-3,20-dion (Dehydro-H), Präp. RKE-5 (14) vom Smp.  $208\text{--}210^\circ$ <sup>17)</sup>

Versuchsweise Zuordnung:  $M = 332$ ;  $314$  (100%) =  $M - \text{H}_2\text{O}$ ;  $304$  =  $M - \text{C}_2\text{H}_4$  oder  $\text{CO}$ ;  $299$  =  $M - \text{H}_2\text{O} - \dot{\text{C}}\text{H}_3$ ;  $281$  =  $M - 2\text{H}_2\text{O} - \dot{\text{C}}\text{H}_3$ ;  $271$  =  $M - \text{H}_2\text{O} - \text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{O}$ ;  $256$  =  $M - \text{H}_2\text{O} - \dot{\text{C}}\text{H}_3 - \text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{O}$ ;  $247$  =  $M - \text{C}_5\text{H}_9\text{O}$  (Ring D + Seitenkette + H);  $244$  (analog 20);  $229$  =  $244 - \dot{\text{C}}\text{H}_3$ ;  $201$  event.  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}$  (analog 21 mit zusätzlicher Doppelbindung, Abspaltung von  $\text{H}_2\text{O}$  aus Enol).

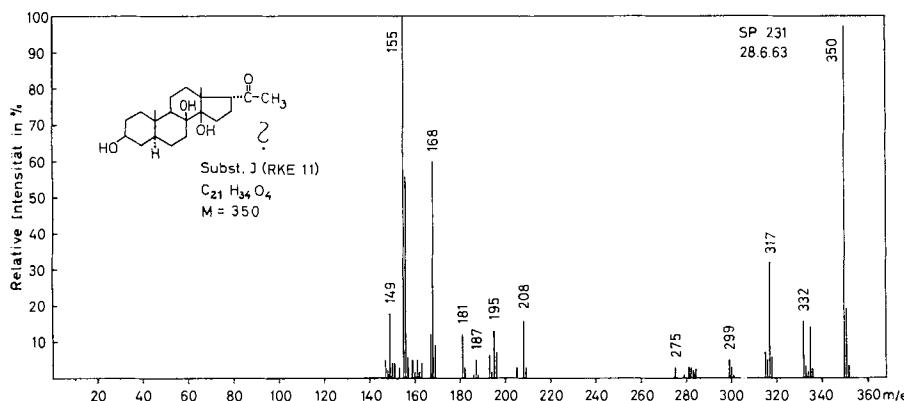
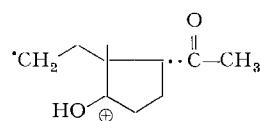


Fig. 23. Massenspektrum von Subst. J (Präp. RKE-11) vom Smp.  $213\text{--}217^\circ$ , vermutlich  $3\beta,8\beta,14\beta$ -Trihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-on (18)<sup>17)</sup>

Versuchsweise Zuordnung:  $M = 350$  (96,1%);  $335$  =  $M - \dot{\text{C}}\text{H}_3$ ;  $332$  =  $M - \text{H}_2\text{O}$  ( $m^*$  gef. 316; ber. 315);  $317$  =  $M - \text{H}_2\text{O} - \dot{\text{C}}\text{H}_3$  ( $m^*$  gef. 302; ber. 302,7);  $299$  =  $M - 2\text{H}_2\text{O} - \dot{\text{C}}\text{H}_3$  ( $m^*$  gef. 281,5; ber. 282,0);  $275$  =  $M - \dot{\text{C}}\text{H}_3 - \text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{OOH}$ ;  $208$  =  $M - \text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_2$  (?);  $168$  = event. 24;  $155$  = event. 22 oder 23. Keine Abspaltung der Seitenkette ( $\text{CH}_3\dot{\text{C}}\text{O} = 43$ ) feststellbar.



24  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2 = 168$  [42]

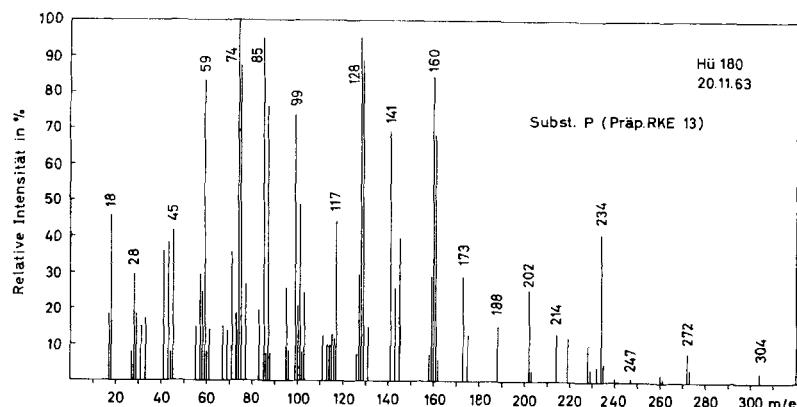


Fig. 24. Massenspektrum von Glykosid P (Präp. RKE-13) vom Smp. 191-196°

Temperatur der Ionenquelle  $> 100^\circ$ , Tiegeltemperatur  $> 100^\circ$ <sup>23</sup>). Das Spektrum enthält im Bereich höherer Massenzahlen eine ganze Reihe schwacher Spitzen, die sich bis oberhalb  $m/e$  500 verfolgen lassen, die hier aber nicht wiedergegeben sind. Die hier sichtbaren Spitzen bei  $m/e$  304, 272, 234, 228, 219, 214, 202, 188, 173, 161, 160, 145, 141, 128, 117, 99, 85, 74 und 59 lassen sich leicht deuten, wenn man annimmt, dass das Glykosid ein Disaccharid  $C_{14}H_{26}O_8$  (322) enthält. Vgl. die MS. von Asclepobiose, Marsectobiose und Pachybiose sowie besonders des (-)-Methyl-lilacinobiosids [43].

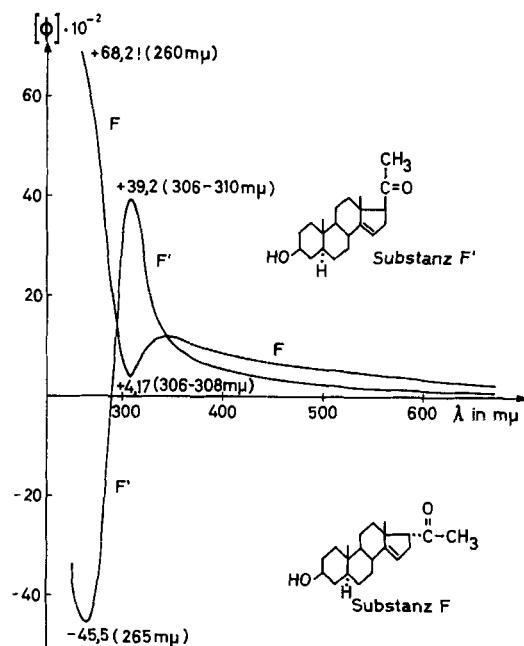
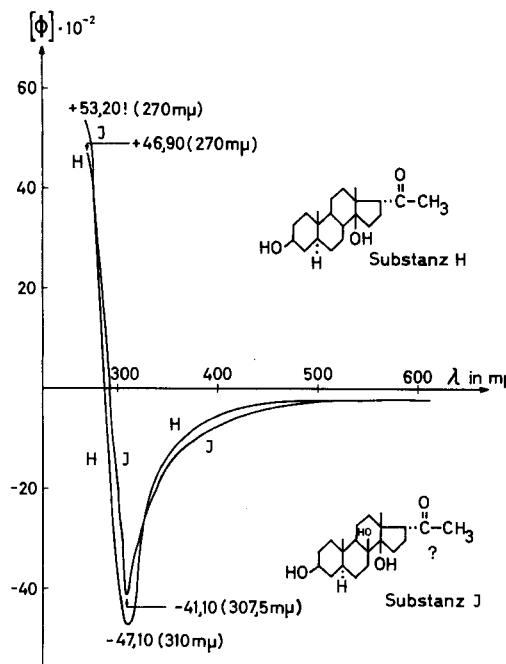
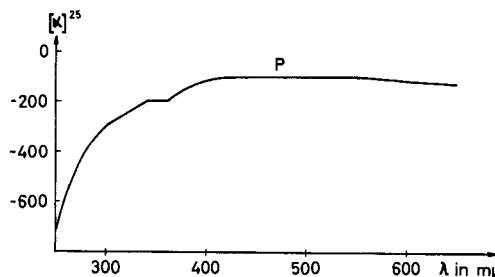


Fig. 25. Optische Rotationsdispersion in Methanol<sup>24</sup>)

$3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha,17\alpha$ - $\Delta^{14}$ -pregnen-20-on (F) (12) zeigt  $\alpha = -64^\circ$ !;  $3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ - $\Delta^{14}$ -pregnen-20-on (F') (16) zeigt  $\alpha = +85^\circ$ . Fehlerrgrenzen für  $[\Phi]$  zwischen 260-280 nm =  $\pm 142^\circ$ ; zw. 290 bis 330 nm =  $\pm 57^\circ$ ; zw. 340-700 nm =  $\pm 28^\circ$ .

Fig. 26. Optische Rotationsdispersion in Methanol<sup>19)</sup>

$3\beta,14\beta$ -Dihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-on (H) **10** zeigt  $\alpha = -94^\circ$ !<sup>31)</sup>. Subst. J (vermutlich =  $3\beta,8\beta,14\beta$ -Trihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-on (**18**) zeigt  $\alpha = -94^\circ$ !

Fig. 27. Optische Rotationsdispersion von Glykosid P in Methanol<sup>24)</sup>

Fehlergrenze  $\pm 50^\circ$ . Es ist kein COTTON-Effekt sichtbar.

schon wiederholt gezeigt wurde, dass 20-Oxopregnан-Derivate die Vorstufen bei der Biosynthese der Cardenolide sind [44].

Zur Beschaffung des Pflanzenmaterials standen uns Mittel aus den Arbeitsbeschaffungskrediten des Bundes (BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT in Bern) zur Verfügung. Einen

<sup>31)</sup> MITSUHASHI *et al.* [25] fanden für **10** die Extrema bei 262 nm mit  $\Phi = +4328^\circ$  und bei 302 nm mit  $\Phi = -5427^\circ$  in Me (gibt  $\alpha = -97,5^\circ$ ). Das entspr.  $17\beta$ -Isomere zeigte  $\alpha = +20,6^\circ$ .

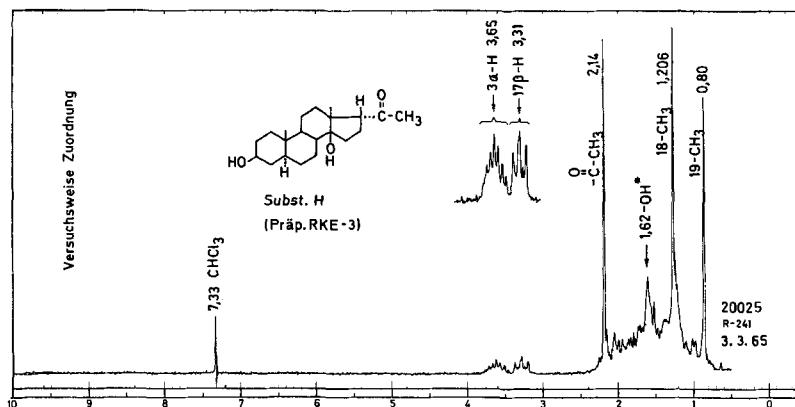


Fig. 28. Protonenresonanzspektrum von  $3\beta,14\beta$ -Dihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan-20-on (H) (10) vom Smp.  $218-222^\circ$  in  $CDCl_3^{18}$ )

Beitrag an die weiteren Kosten dieser Arbeit erhielten wir vom SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG. Es sei auch hier für diese Hilfe bestens gedankt.

### Experimenteller Teil

**1. Allgemeines.** – Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis  $200^\circ$  etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Bestimmung der Drehung und zur Aufnahme der Spektren wurden eine Std. bei 0,02 Torr und  $60-70^\circ$  getrocknet, zur Analyse 3 Std. bei  $100^\circ$  und 0,01 Torr über  $P_2O_5$ . Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf-Ae-(1:3), Waschen mit 2N HCl, 2N Soda-Lösung und W, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Adsorptions-chromatographie an  $Al_2O_3$  [45]<sup>32</sup> oder  $SiO_2$  [16]<sup>33</sup>. Die Papierchromatogramme wurden absteigend nach früheren Angaben [8] ausgeführt. Besprühen der Papiere mit KEDDE-Reagens [6], DNPH-Reagens [9] oder mit  $SbCl_3$ -Reagens [10]. Dünnssichtchromatographie auf Rillenplatten [11]. Die Platten wurden mit *p*-Toluolsulfonsäure [12] oder mit Cer(IV)-sulfat [12] entwickelt.

Abkürzungen: AcOH = Eisessig,  $(Ac)_2O$  = Essigsäureanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Alkohol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC. = Dünnssichtchromatogramm(e), DNPH = 2,4-Dinitrophenylhydrazin, Eg = Essigsäure-äthylester, Fmd = Formamid, Fr. = Fraktion(en), iPr = Isopropanol, Me = Methanol, ML. = eingedampfte Mutterlauge, PC. = Papierchromatogramm(c), Pe = Petroläther Sdp. 40–60°, Pn = Pentan, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser.

**2. Extraktion der Wurzeln und Vortrennung der Extrakte.** – 960 g fein gemahlenes, hellbraunes Wurzelpulver wurden nach früherer Vorschrift [5] in W gewiecht und dann mit wässrigem Alk extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit  $Pb(OH)_2$  gereinigt und das schliesslich erhaltene wässrige Konzentrat wurde nacheinander erschöpfend mit Ae, Chf, Chf-Alk-(2:1) und Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Ausbeuten an Extrakten vgl. Tab. 1.

*Entfettung des rohen Äther-Extraktes.* 27,1 g roher Ae-Extrakt wurden in 300 ml 80-proz. Me gelöst, von wenig unlöslichem Material filtriert und 3mal mit je 600 ml Pe ausgeschüttelt. Die Pe-Extrakte wurden 2mal mit je 200 ml 80-proz. Me gewaschen. Anschliessend wurden die vereinten wässrigen Me-Extrakte im Vakuum von Me befreit und der wässrige Rückstand noch einmal mit 500 ml und 2mal mit je 300 ml Chf ausgeschüttelt. Ausbeuten vgl. Tab. 1.

<sup>32</sup>) Aluminiumoxid WOELM, neutral, zur Chromatographie, eingestellt auf die jeweils angegebene Aktivität.

<sup>33</sup>) Kieselgel 0,05–0,20 mm Korngrösse der Firma E. MERCK AG. Darmstadt.

**3. Untersuchung des gereinigten Äther-Extraktes.** – 3.1. *Vorversuch.* Zur Orientierung wurden zuerst 1,95 g Ae-Extrakt an 60 g  $Al_2O_3$  chromatographiert (vgl. Tab. 3).

Tabelle 3. *Chromatographie von 1,95 g Ae-Extrakt an 60 g  $Al_2O_3$ , Akt. II*

Fr. Nr.	Elutionsmittel 200 ml/Fr.	Eindampfrückstand				Weitere Verarbeitung bzw. Endprodukt
		Menge in mg	KEDDE- Reaktion	Flecke im PC. <sup>34)</sup>		
1– 3	Be	48,0	–			amorph
4– 6	Be-Chf-(9:1)	19,0	–			Weiterverarbeitung
7– 9	Be-Chf-(8:2)	48,0	(+)	((A))		vgl. Tab. 4
10–14	Be-Chf-(6:4)	451,6	+	A		
15–16	Be-Chf-(4:6)	337,4	+	A		
17–18	Be-Chf-(4:6)	79,6	–			amorph
19–22	Be-Chf-(2:8)	394,8	–			Weiterverarbeitung
23–25	Chf	191,1	–			vgl. Tab. 4
26–29	Chf-Me-(99:1)	195,4	+	D		Fr. 27: krist. Subst. D
30–32	Chf-Me-(95:5)	41,8	(+)			amorph
33–34	Chf-Me-(9:1)	16,1	(+)			Weiterverarbeitung
35–36	Chf-Me-(3:1)	13,6	(+)			vgl. Tab. 4
37–39	Chf-Me-(1:1)	201,5	+	C		krist. Subst. C

*Substanz A.* Aus den Fr. 10–16 kristallisierten aus Ae-Pe 96,5 mg Rohkristalle vom Smp. 230 bis 236°, nach PC noch nicht rein. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus An-Ae 31,6 mg reine Kristalle A, Smp. 248–252°. Weiterverarbeitung der ML. vgl. Tab. 4.

*Substanz C.* Die rohen Fr. 37–39 enthielten noch  $Al_2O_3$ . Sie wurden in 60 ml Chf aufgenommen, einmal mit 15 ml 2N  $H_2SO_4$  sowie je 2mal mit 25 ml 2N Sodalösung und mit 25 ml W gewaschen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 152,5 mg weißer Schaum erhalten. Daraus konnten nach mehrfachem Umkristallisieren aus An-Ae 24,7 mg reine krist. Subst. C vom Smp. 254–263° erhalten werden. Weiterverarbeitung der ML. vgl. Tab. 4.

Tabelle 4. *Chromatographie der amorphen Fr. und der ML. der krist. Fr. aus Tab. 3 (1,53 g Substanz) an 50 g  $Al_2O_3$ , Akt. II*

Fr. Nr.	Eluierungsmittel 150 ml/Fr.	Eindampfrückstand			
		Menge in mg	KEDDE- Reaktion	DNPH- Reaktion	Flecke im PC <sup>34)</sup>
1– 2	Be-Chf-(9:1)	54,1		+	α
3– 4	Be-Chf-(8:2)	4,3		+	α
5– 6	Be-Chf-(6:4)	33,0		+	α
7	Be-Chf-(4:6)	359,8		+	α
8–12	Be-Chf-(4:6)	581,9	+	(+)	(α, β)
13–14	Be-Chf-(1:9)	297,1		(+)	(α, β)
15–16	Be-Chf-(1:9)	80,2		+	β
17–19	Chf	72,7		+	β
20–21	Chf-Me-(9:1)	151,6		+	γ
22–23	Chf-Me-(3:1)	36,2	+	+	γ

Keine der Fraktionen kristallisierte.

<sup>34)</sup> In Klammern schwache Flecke.

*Substanz D.* Die Fr. 26–29 enthielten nach PC alle Subst. D, jedoch nur Fr. 27 (27,6 mg) kristallisierte. Aus Chf-Ae-Pe 5,2 mg rohes D vom Smp. 236–241°. Weiterverarbeitung der ML und der Fr. 26, 28–29 vgl. Tab. 4.

Die Fr. 7, 13, 16 und 20 gaben mit Xanthydrol eine positive Reaktion. Entsprechend ihrem Gehalt an den mit DNPH-Reagens im PC. nachweisbaren Substanzen  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  wurden die Fr. in 4 Gruppen vereint und anschliessend jede Gruppe für sich mild sauer hydrolysiert.

*Milde saure Hydrolyse der Fr. 1–7 von Tabelle 4.* 360 mg Substanz wurden in 20 ml Me gelöst, mit 20 ml 0,1N  $H_2SO_4$  versetzt und 20 Min. unter Rückfluss gekocht. Anschliessend wurde mit 20 ml W versetzt und nach Entfernung des Me im Vakuum bei ca. 50° nochmals 60 Min. lang auf 60° erwärmt. Nun wurde die wässrige Lösung einmal mit 60 ml und 2mal mit je 40 ml Chf extrahiert. Nach üblicher Aufarbeitung wurde die in Tab. 5 angegebene Menge Geninanteil erhalten. Die nach Extraktion mit Chf übrig gebliebene wässrige Phase wurde mit frisch bereittem  $BaCO_3$  neutralisiert und durch Celite filtriert. Nach Zugabe von wenig  $BaCO_3$  wurde das Filtrat im Vakuum zur Trockene eingeengt. Der Rückstand wurde in 15 ml An-Ae-(1:2) aufgenommen, durch Celite filtriert und gründlich mit An-Ae-(1:3) nachgewaschen. Die vereinten Filtrate wurden im Vakuum eingedampft, worauf die in Tab. 5 aufgeführten Mengen an Rohzucker erhalten wurden.

Die Fr. 8–14, 15–19 und 20–23 von Tab. 4 wurden nun analog mild sauer hydrolysiert; Resultat vgl. Tab. 5.

Tabelle 5. Ausbeuten an rohen Geninen und Zuckern nach milder saurer Hydrolyse der Fr. von Tab. 4

Ausgangsmaterial		Spaltprodukte			
Fr. v. Tab. 4	Menge in mg	Mengen in mg Genin	Zucker	Flecke der Genine im DC.	
1–7	360	241,4	24,1	F, F' <sup>35</sup> , H	
8–14	800	392,3	135,3	F, F', H, J	
15–19	130	49,5	25,0	}	nicht weiter untersucht
20–23	150	52,8	29,3		

Der Geninanteil aus Fr. 8–14 gab beim Stehen Kristalle, welche mit An-Ae gewaschen wurden: 40 mg; nach DC. Mischkristalle H + J. Die übrigen Rohgenine waren amorph. Die 40 mg Mischkristalle H + J wurden an 1,2 g  $Al_2O_3$  Akt. II chromatographiert. Die Fr. 4–6, eluiert mit Be-Chf-(8:2), lieferten 14,9 mg rohes H; aus An-Ae 4,4 mg krist. Subst. H vom Smp. 218–222°. Die Fr. 8 bis 12, eluiert mit Be-Chf-(6:4) und -(2:8), lieferten 13 mg rohes J; aus Me-An-Pe 5,0 mg krist. Subst. J vom Smp. 210–212°. Analog wurden auch die Genine aus Fr. 1–7 und die ML. der Genine von Fr. 8–14 an  $Al_2O_3$  chromatographiert, wobei aber nur noch 28,4 mg krist. Subst. H erhalten wurden. Das ganze restliche Material der Genine der Fr. 1–14 wurde daher alkalisch hydrolysiert. Die rohen Zucker aus der Hydrolyse wurden nur im PC. untersucht [15]. Dabei konnte Cymarose, Digitoxose und zwei weitere, unbekannte Zucker nachgewiesen werden.

*Alkalische Hydrolyse.* 400 mg Geningemische wurden in 20 ml 1N methanolischer NaOH gelöst und die Lösung 2 Std. unter Rückfluss gekocht, dann mit 20 ml W versetzt und im Vakuum bei 40–50° vom Me befreit. Der wässrige Rückstand wurde 3mal mit je 80 ml Chf-Alk-(4:1) extrahiert, die organischen Phasen 3mal mit je 20 ml halbgesättigter  $Na_2SO_4$ -Lösung gewaschen. Nach Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum wurden 340 mg Neutralteil erhalten. Dieser wurde an  $Al_2O_3$  chromatographiert, vgl. Tab. 6. Die Wasserphase der alkalischen Hydrolyse wurde mit 84-proz.  $H_3PO_4$  schwach angesäuert (pH ca. 4) und 3mal mit je 80 ml Chf extrahiert. Die organischen Phasen wurden 3mal mit je 40 ml halbgesättigter  $Na_2SO_4$ -Lösung gewaschen, u. s. w., und lieferten 20 mg Säureteil, welcher jedoch nicht weiter untersucht wurde.

3.2. *Hauptversuch.* Die Hauptmenge des gereinigten Ae-Extraktes, 10,0 g, wurde analog wie im Vorversuch (3.1.) an 300 g  $Al_2O_3$  Akt. II chromatographiert. Dabei wurden 392 mg reine krist. Subst. A vom Smp. 240–250° und 22 mg reine krist. Subst. D vom Smp. 252–256° erhalten. Die die

<sup>35</sup>) F und F' waren weder im DC. auf Kieselgel noch im PC in verschiedenen Systemen unterscheidbar (vgl. auch Theoret. Teil 7.2.2.).

Tabelle 6. *Chromatographie von 335 mg Neutralteil aus alkalischer Hydrolyse an 12 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Akt. 11*

Fr. Nr.	Lösungsmittel 40 ml/Fr.	Eindampfrückstand			Weiterverarbeitung bzw. Endprodukt
		Menge in mg	Flecke im DC. <sup>34)</sup>		
1- 2	Be-Chf-(9:1)	25,0			amorph, verworfen
3	Be-Chf-(9:1)	47,9	F'		An-Ae: 7,8 mg
4- 5	Be-Chf-(8:2)	71,0	F'		Subst. F', Smp. 176-186°
6	Be-Chf-(8:2)	11,0	(F') (H)		amorph, verworfen
7- 8	Be-Chf-(6:4)	40,8	H		An-Pe: 4 mg Subst. H, Smp. 200-206°
9	Be-Chf-(6:4)	6,0	H, J		amorph, verworfen
10-12	Be-Chf-(4:6)	21,6	J		An-Pe: 4,6 mg Subst. J, Smp. 202-206°
13-15	Be-Chf-(2:8)	12,7			
16-18	Chf	22,1			
19-21	Chf-Me-(9:1)	31,8			amorph,
22-27	Chf-Me-(8:2) bis -(1:1)	8,9			nicht weiter untersucht
28-29	Chf-Me-(1:1) + 1% AcOH	64,5			

Substanz C enthaltenden, gereinigten Fr. wurden noch an SiO<sub>2</sub> mit Chf und Chf-Me-Gemischen chromatographiert, wonach noch 50 mg krist. Substanz C vom Smp. 257-261° erhalten wurden.

*Milde saure Hydrolyse.* Die gesamten amorphen Fr. und die ML. der Kristalle des Hauptversuches, insgesamt 8,0 g Substanz, wurden vereinigt und analog wie im Vorversuch mild sauer hydrolysiert und aufgearbeitet. Es wurden folgende Ausbeuten erhalten: Neutralteil (Aglykone): 6,189 g; Säureteil (aus Sodaauszug): 0,107 g, nicht weiter untersucht. Die Zucker wurden hier nicht isoliert.

6,10 g des obigen Neutralteils wurden an 600 g SiO<sub>2</sub> chromatographiert (vgl. Tab. 7).

Tabelle 7. *Chromatographie von 6,10 g Genienteil an 600 g SiO<sub>2</sub>*

Fr. Nr.	Eluierungsmittel 500 ml/Fr.	Substanz			Weiterverarbeitung bzw. Endprodukt
		Menge in mg	Flecke im DC. u. PC. <sup>34)</sup>		
1- 3	Be	35,4			
4- 6	Be-Chf-(9:1)	101,2			
7- 9	Be-Chf-(8:2)	35,8			amorph; SiO <sub>2</sub> -Chrom.
10-17	Be-Chf-(6:4) bis -(2:8)	37,4			
18-19	Chf	31,8	(F/F') <sup>35)</sup>		
20-21	Chf-Me-(99:1)	21,2	(F/F')		amorph; SiO <sub>2</sub> -Chromatographic
22-23	Chf-Me-(95:5)	182,0	F/F'		
24	Chf-Me-(9:1)	2294,7	(F/F', H, J)		amorph; SiO <sub>2</sub> -Chrom.
25	Chf-Me-(9:1)	1813,8	H, J		Mischkristalle H+J; SiO <sub>2</sub> -Chromatographie
26	Chf-Me-(9:1)	463,4	H, J		amorph; SiO <sub>2</sub> -Chrom.
27-28	Chf-Me-(9:1)	140,8	(H, J)		
29-30	Chf-Me-(8:2)	87,4	(H, J)		
31-32	Chf-Me-(7:3)	61,0			amorph;
33-34	Chf-Me-(6:4)	77,6			nicht weiter untersucht
35-36	Chf-Me-(1:1)	10,2			

Einzig Fr. 25 kristallisierte und lieferte aus Chf-Eg-Ac 285 mg Mischkristalle H + J.

Für die weiteren Trennungen wurden meist Chromatographien nach DUNCAN [16] mit 300–600-facher Menge  $\text{SiO}_2$  und Chf + 5% iPr als Eluierungsmittel durchgeführt. Zunächst konnte nur Substanz F (aus Fr. 18–23, siehe unten) und die Hauptsubstanz H (aus Fr. 25 u. 26) krist., rein erhalten werden. Die Subst. F', J und P wurden erst nach mehreren weiteren mühsamen Trennungen krist. und rein erhalten. In einem Fall wurde auch noch einmal Subst. A isoliert. Auf eine alkalische Hydrolyse wurde beim Hauptversuch verzichtet. Von Subst. H wurden insgesamt 435 mg reine Kristalle erhalten. Die Isolierung der anderen Substanzen wird im folgenden beschrieben.

*Substanz F:* Die Fr. 18–23 von Tab. 7, 235 mg Substanz, wurden an 150 g  $\text{SiO}_2$  mit Eg nach DUNCAN chromatographiert; pro Fr. 12 ml Lösungsmittel. Davon gaben die Fr. 16–18, 93 mg, nach Kristallisation und mehrfacher Umkristallisation aus An-Ae 11,6 mg reine Kristalle vom Smp. 147–150°.

*Substanz F':* 150 mg an Substanz F' angereichertes Gemisch wurden an 60 g  $\text{SiO}_2$  mit Be-An-(3:1) chromatographiert; pro Fr. 15 ml. Die Fr. 12–15, 55,7 mg F' (+ wenig F?), lieferten aus An-Pc 7,0 mg Substanz F' vom Smp. 178–182° sowie 9,2 mg vom Smp. 172–180°. Die folgenden Fr. enthielten noch 55,6 mg Gemische von F/F', H u. J.

*Substanz J (neben H und A):* 1,35 g verschiedene Gemische, nach weitgehender Abtrennung von krist. Substanz H, wurden an  $\text{SiO}_2$  nach DUNCAN chromatographiert; vgl. Tab. 8.

Tabelle 8. *Chromatographie von 1,35 g Gemischen an 350 g  $\text{SiO}_2$*

Fr. Nr.	Eluiermittel 15 ml pro Fr.	Substanz			Weiterverarbeitung bzw. Endprodukt
		Menge in mg	Flecke im DC. u. PC. <sup>34)</sup>		
1– 35	Chf-iPr-(95:5)	285,0	(F/F') <sup>35)</sup>		
36– 42	" " "	87,5	F/F'		amorph;
43– 55	" " "	70,0	F/F'		nicht weiter untersucht
56– 68	" " "	152,3	H		krist. H
69– 74	" " "	52,7	(A) H (J)		nicht weiter untersucht
75– 82	" " "	61,3	A (H) J		krist. A
83–101	" " "	238,3	J		" J
102–105	" " "	71,2	C (D)		nicht weiter untersucht
126–155	" " "	103,5	(D) P		amorph, → Subst. P
156–400	" " "	206,3	–		nicht weiter untersucht

Die Fr. 56–68 gaben aus An-Pe 49,7 mg krist. Substanz H vom Smp. 217–222°. Fr. 75–82 gaben aus An-Pe 16,4 mg krist. Subst. A vom Smp. 241–246°. Aus den Fr. 83–101 konnte nach mehrfacher Umkristallisation aus An-Me-Pe 29 mg reine krist. Subst. J vom Smp. 209–214° sowie 33 mg vom Smp. 206–208° erhalten werden.

*Substanz P:* Die Fr. 126–155 von Tab. 8, 103 mg, wurden an 55 g  $\text{SiO}_2$  mit Chf + 5% iPr chromatographiert; pro Fr. 10 ml. Die Fr. 26–40, 44,2 mg, gaben aus An-Ae 8,7 mg krist. Subst. P vom Smp. 191–196° sowie 4 mg vom Smp. 190–196°.

**4. Untersuchung des Chloroform-Extrakts.** – *Milde saure Hydrolyse.* 3,5 g Chf-Extrakt wurden wie oben beschrieben mild sauer hydrolysiert und aufgearbeitet, wobei die Genine mit Chf und Chf-Alk-(4:1) extrahiert wurden.

Ausbeuten: Neutralteil (Genine): Chf-Extr.: 2,385 g; Chf-Alk-(4:1)-Extr.: 0,085 g nicht weiter untersucht; Säuren (aus Sodaauszug): 0,058 g (n. w. u.). Die wässrige Zuckerlösung wurde ebenfalls nicht weiter untersucht.

2,3 g des Chf-löslichen Neutralteils wurden an 125 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Akt. III chromatographiert, vgl. Tab. 9.

Tabelle 9. Chromatographie von 2,3 g Chf-löslichem Geninanteil an  $Al_2O_3$ 

Fr. Nr.	Eluierungsmittel 100 ml/Fr.	Substanz			
		Menge in mg	Flecke im PC. u. DC. <sup>34)</sup>	KED- DE- Reak- tion	Weiterverarbeitung bzw. Endprodukt
1- 6	Be	394,5		-	
7-11	Be-Chf-(95:5)	22,9		-	
12-15	Be-Chf-(9:1)	10,8		-	nicht weiter untersucht
16-17	Be-Chf-(6:4)	44,5	F/F' <sup>35)</sup>	-	krist. F'
18-19	Be-Chf-(6:4)	17,5	F/F'	-	
20-21	Be-Chf-(1:3)	57,0	F/F'	-	krist. F
22	Be-Chf-(1:3)	31,5	(F/F', A'', A')	(+)	nicht weiter untersucht
23	Be-Chf-(1:3)	23,0	A'' (A', A)	+	
24-27	Chf	99,5	A'' (A', A)	+	krist. Subst. A''
28-29	Chf + 1/2 % Me	28,7	A'' (A') A	+	nach Chrom. an $SiO_2$
30-31	" "	50,5	(A', A, B, H, J)	+	krist. Subst. B
32-35	Chf-Me-(99:1)	167,0	(A', A, B, H, J)	+	nach Chrom. an $SiO_2$ ,
36-39	Chf-Me-(98:2)	126,3	(B') B (H, J)	+	siehe Chf-Alk-(2:1)-
40-42	Chf-Me-(95:5)	85,0	(B') B (H, J) P?	+	Extrakt (5.)
43	Chf-Me-(95:5)	16,4	D (D')	+	
44-47	Chf-Me-(9:1)	19,6	D (D', D'')	+	
48-51	Chf-Me-(8:2)	10,9	(D, D', D'')	+	
52-55	Chf-Me-(1:1)	10,9	(D, D', D'')	+	nicht weiter untersucht
56-61	Chf-Me-(1:1) + 1% AcOH	640,3	C (C', C'')	+	
62-63	Chf-Me-(1:1) + 2% AcOH	52,0	C, C', C''	+	
64-69	Chf-Me-(1:1) + 5% AcOH	150,8	(C), C', C''	+	

Die Fr. 16-17 gaben aus An-Pn 15,4 mg rohes F', nach DC. noch unrein. Kristallisation aus An-W und An-Ae-Pn gab 5,8 mg reines F' vom Smp. 188-192° und 3,9 mg vom Smp. 184-188°.

Die Fr. 20-21 gaben aus An-Pn 20,1 mg rohes F. Zweimaliges Umkristallisieren aus An-W gab 10 mg fast reines F vom Smp. 139-141°.

Die ML. der Fr. 16-17 und 20-21 und die Fr. 18-19 (total 61 mg) wurden nochmals an  $Al_2O_3$  chromatographiert und lieferten noch 1,9 mg krist. F' vom Smp. 187-192°. Die verbleibenden Gemische wurden nicht getrennt.

Die Fr. 23-29 von Tab. 9 (151,2 mg) wurden an 100 mg  $SiO_2$  mit Chf-iPr-(87:12,5) chromatographiert; 15 ml pro Fr. Die Fr. 11-16 (72,3 mg) gaben aus Me-Ae 20,5 mg reine Substanz A'', Smp. 260-263° sowie 6,5 mg vom Smp. 256-259°.

**5. Untersuchung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakts. - Milde saure Hydrolyse.** 7,2 g Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurden wie oben beschrieben hydrolysiert, jedoch aus Versehen mit 1N  $H_2SO_4$  statt 0,1N  $H_2SO_4$ . Die neutralen «Genine» wurden mit Chf-Alk-(2:1) und -(3:2) ausgeschüttelt.

Ausbeuten: Neutralteil: Chf-Alk-(2:1)-Extr. 3,164 g; Chf-Alk-(3:2)-Extr. 1,520 g, enthielt nach PC. noch relativ viel Subst. E, nicht weiter untersucht. Der Sodaauszug und die die Zucker enthaltende restliche Hydrolyselösung wurden ebenfalls nicht weiter untersucht. Der neutrale Chf-Alk-(2:1)-Extr. wurde an 150 g  $Al_2O_3$  Akt. IV chromatographiert, vgl. Tab. 10.

Die Fr. 30-42 wurden zusammen mit den Fr. 30-42 von Tab. 9 (total 835 mg) zwecks Isolierung von Substanz B an 650 g  $SiO_2$  mit Chf + 12,5% iPr nach DUNCAN chromatographiert; pro Fr. 30 ml Lösungsmittel. Wegen eines Kollektordefekts wurde ein Grossteil der Substanz nicht getrennt. Aus den Fr. 98-123, 247 mg, wurden jedoch aus An-Ae 53,2 mg krist. Substanz B vom Smp. 248 bis 252° sowie 27,5 mg vom Smp. 246-249° erhalten.

Tabelle 10. Chromatographie von 3,16 g Chf-Alk-(2:1)-löslichem Neutralteil an  $Al_2O_3$ 

Fr. Nr.	Eluierungsmittel 100 ml/Fr.	Substanz			
		Menge in mg	KED- DE- Reak- tion	Flecke im PC. u. DC. <sup>34)</sup>	Weiterverarbeitung bzw. Endprodukt
1– 5	Be	127,5	–		
6– 9	Be-Chf-(98:2)	35,9	–		
10–13	Be-Chf-(95:5)	23,0	–	(F'/F) <sup>35)</sup>	
14–17	Be-Chf-(9:1)	43,0	–	(F'/F)	
18–21	Bc-Chf-(8:2)	45,3	–	(F'/F)	
22–25	Be-Chf-(6:4)	34,4	(+)	(A'', A', A)	
26–29	Be-Chf-(2:8)	147,0	+	(A', A, B, H, J)	
30–34	Chf	97,8	+	B (B', H, J)	
35–38	Chf-Me-(99:1)	141,1	+	B (B', H, J)	
39–42	Chf + 2,5% Me	168,4	+	B (B') H, J	
43–44	Chf-Me-(95:5)	127,5	+	D	Krist. D
45–46	Chf-Me-(95:5)	71,7	+	D (D', D'', P ?)	
47–50	Chf-Me-(9:1)	11,4	+	D (D', D'', P ?)	
51–54	Chf-Me-(8:2)	6,4	+	D (D', D'', P ?)	
55–60	Chf-Me-(7:3)	29,9	+	C (C', C'', E)	
61–66	Chf-Me-(1:1)	37,9	+	C (C', C'', E)	
67–72	Chf-Me-(1:1) + 1% AcOH	735,2	+	C (C', C'', E)	
73–78	Chf-Me-(1:1) + 2% AcOH	353,2	+	C (C', C'', E)	
79–84	Chf-Me-(1:1) + 5% AcOH	380,0	+	C (C', C'', E)	
85–90	Chf-Me-(1:1) + 10% AcOH	207,0	(+)	(C, C', C'', E)	
91–95	Chf-Me-(1:1) + 10% AcOH	64,3	–		

Fr. 44 gab aus An-Ac 25 mg reine Kristalle D vom Smp. 238–240° sowie 16,9 mg vom Smp. 238–244°.

**6. Beschreibung der isolierten Stoffe.** – PC. vgl. Fig. 2–7, DC. vgl. Fig. 8–9, UV.-Daten vgl. Tab. 2, IR.-Spektren vgl. Fig. 10–18.

Substanz A'' = « $\beta$ »-Anhydro-uzarigenin (5) (RKE-15). Aus Me-Ac feine Nadeln vom Smp. 260 bis 264°,  $[\alpha]_D^{23} = -24,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Chf). Die Substanz war nach Smp., Misch-Smp., Drehung, Laufstrecke im PC. und IR.-Spektrum identisch mit authentischem « $\beta$ »-Anhydro-uzarigenin.



Substanz A = Uzarigenin (1) (RKE-12). Aus An-Ac Drusen vom Smp. 248–252°,  $[\alpha]_D^{24} = +13,7^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,53$  in Chf). Die Substanz war nach Smp., Misch-Smp., Drehung, Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  und Laufstrecke im PC. identisch mit authentischem Uzarigenin.

O-Acetyl-uzarigenin (2). 42,7 mg Substanz A vom Smp. 248–252° wurden in 1 ml Py und 0,8 ml  $Ac_2O$  gelöst und 16 Std. bei 37° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 43 mg Rohacetat erhalten. Mehrfaches Umkristallisieren aus An-Ac gab 17,4 mg feine Nadeln vom Smp. 262 bis 270°,  $[\alpha]_D^{25} = +1,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,1$  in Chf). Das Acetyl derivat war nach Smp., Misch-Smp., Farbreaktion mit 84-proz.  $H_2SO_4$  sowie nach Laufstrecke im PC. identisch mit authentischem 3-O-Acetyl-uzarigenin.

O-Benzoyl-uzarigenin (3) (RKE-10). Nach einstündigem Trocknen bei 0,01 Torr und 60–70° Badtemperatur wurden 31,8 mg Substanz A vom Smp. 248–252° in 0,6 ml Py gelöst, auf 0° abgekühlt, mit 0,2 ml ebenfalls auf 0° gekühltem Benzoylchlorid versetzt und 20 Min. bei 0° und anschliessend 15 Std. bei 22° stehengelassen. Nach Zusatz von 0,5 ml Me wurde die Lösung nochmals 2 Std. bei 22° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 32,8 mg Rohbenzoat erhalten,

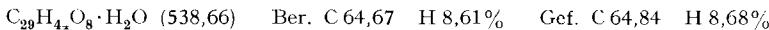
welches nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An-Pe 14,1 mg reines Benzoat in Blättchen vom Smp. 270–272° gab;  $[\alpha]_D^{25} = +10,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,1$  in Chf.).



*Substanz B* =  $\alpha\beta$ -Anhydrocoroglaucigenin (9) (RKE-16). Aus An-Ae Plättchen vom Smp. 248 bis 252°,  $[\alpha]_D^{22} = -19,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Chf-Me-(1:1)). Die Substanz war nach Smp., Misch-Smp., Drehung sowie Laufstrecke im PC. und Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  identisch mit authentischem  $\alpha\beta$ -Anhydrocoroglaucigenin.



*Substanz C* = Ascleposid (4) (RKE-1). Aus Me-An-Ae feine Nadeln vom Smp. 257–261°,  $[\alpha]_D^{25} = -26,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Me). Der Zuckertest nach FEIGL [19] ist positiv. Bei der MANNICH-Spaltung [46] im Mikromassstab [47] entstand nach PC. Uzargenin,  $\alpha\beta$ -Anhydro-uzarigenin und als Zucker 6-Desoxy-allose. Nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im PC. und Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  ist Substanz C identisch mit authentischem Ascleposid.



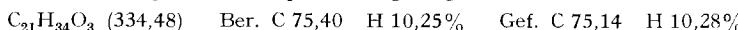
*Substanz D* = Coroglaucigenin (6). Aus An-Pe Nadeln vom Smp. 252–256°,  $[\alpha]_D^{23} = +24,2^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,8$  in Me). Nach Smp., Misch-Smp., Drehung, Laufstrecke im PC. und Färbung mit 84-proz.  $H_2SO_4$  ist Substanz D identisch mit authentischem Coroglaucigenin.

*Di-O-acetylcoroglaucigenin* (7). 20,1 mg krist. Substanz D vom Smp. 248–252°, gelöst in 1 ml Py und 0,8 ml  $Ac_2O$ , wurden 24 Std. bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 25,3 mg Rohacetat erhalten, welches nach Reinigung an  $SiO_2$  (1 g, Eluierungsmittel Chf) und mehrfacher Umkristallisation aus An-Ae 7,2 mg feine Nadeln vom Smp. 213–215° lieferte;  $[\alpha]_D^{25} = +9,7^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,6$  in Chf.). Das Acetyl-derivat war nach Smp., Misch-Smp., Drehung und Laufstrecke im PC. identisch mit authentischem Di-O-acetylcoroglaucigenin.

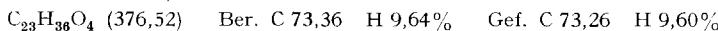
*Substanz F'* =  $3\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ ,14 $\alpha$ -pregnen-20-on (16) (RKE-9)<sup>35</sup>. Aus Me-An-Pe oder An-W Nadeln vom Smp. 188–192°,  $[\alpha]_D^{24} = +52,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9$  in An). Massenspektrum vgl. Fig. 20. ORD.-Spektrum vgl. Fig. 25.

*Substanz F* =  $3\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -pregnen-20-on (12) (RKE-2)<sup>21</sup><sup>35</sup>. Aus An-Pe oder An-W flache Nadeln mit Doppel-Smp. 139–141°/148–150°,  $[\alpha]_D^{24} = +117^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in An) und  $[\alpha]_D^{25} = +98^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,7$  in An) (letzteres Präp. vielleicht nicht ganz rein). Massenspektrum vgl. Fig. 19, ORD.-Spektrum vgl. Fig. 25.

*Substanz H* =  $3\beta,14\beta$ -Dihydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -pregnan-20-on (10) (RKE-3). Aus An-Ae Plättchen vom Smp. 218–222°,  $[\alpha]_D^{24} = -47,2^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,8$  in An). Massenspektrum vgl. Fig. 21, Protonenresonanzspektrum vgl. Fig. 28, ORD.-Spektrum vgl. Fig. 26.



*O-Acetyl-H* =  $3\beta$ -Acetoxy-14 $\beta$ -hydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -pregnan-20-on (11) (RKE-4). 120 mg Kristalle H vom Smp. 218–222°, gelöst in 1,5 ml Py und 1,2 ml  $Ac_2O$ , gaben nach 24 Std. Stehen bei 20° und nach üblicher Aufarbeitung 138 mg Rohacetat. Dieses kristallisierte nicht und wurde an 40 g  $Al_2O_3$  Akt. II chromatographiert; pro Fr. 10 ml Eluierungsmittel. Aus Fr. 25–30, eluiert mit Be-Chf-(1:1) wurden 100 mg weißer Schaum erhalten. Kristallisation und Umkristallisation aus An-Pe lieferte 36,6 mg reine Plättchen vom Smp. 166–168°;  $[\alpha]_D^{22} = -46,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in An). Das Acetat war nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im DC. und Drehung identisch mit authentischem Material [26]<sup>22</sup>. Das IR.-Spektrum in  $CS_2$  zeigt u.a. folgende Banden: 2,78  $\mu$  (-OH); 5,77 ( $-O-CO-CH_3$ ); 5,87 ( $-C-CO-CH_3$ ); 7,28 ( $\text{C}=\text{CH}_3$ ); 7,37 ( $-CO-CH_3$ ); 8,08 (nicht aufgespalten, äquat.  $>\text{C}-\text{O}-\text{Ac}$ ) und 9,76  $\mu$  ( $-C-\text{OH}$ ).



*Dehydro-H* =  $14\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -pregnan-3,20-dion (14) (RKE-5). 34,5 mg Substanz H vom Smp. 218–222° gelöst in 5 ml An wurden nach JONES [48] mit 0,1 ml (vierfachem Überschuss) einer  $CrO_3 \cdot H_2SO_4$ -Lösung<sup>36</sup> oxydiert. Nach 15 Min. bei 20° wurden vorsichtig 20 ml W zugesetzt und das An im Vakuum entfernt. Der wässrige Rückstand wurde nun mit 2mal 40 ml Chf-Ae-(1:3)

<sup>36</sup>) Lösung von 2,67 g  $CrO_3$  in 4 ml W, versetzt mit 2,3 ml konz.  $H_2SO_4$  und verdünnt auf 10 ml mit W.

extrahiert und gab nach üblicher Aufarbeitung 34,2 mg Rohprodukt. Nach Kristallisation aus An-Pe konnten 18,8 mg reine Nadeln vom Smp. 208–210° sowie 8,9 mg vom Smp. 206–210° gewonnen werden;  $[\alpha]_D^{25} = -27,4 \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in An). Im IR.-Spektrum in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  waren u. a. Banden bei 2,80  $\mu$  ( $-\text{OH}$ ); 5,87  $\mu$  (Keton-CO); 7,23  $\mu$  ( $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$ ) und 7,37  $\mu$  ( $-\text{CO}-\text{CH}_3$ ). Massenspektrum vgl. Fig. 22.

$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_3$  (332,47) Ber. C 75,86 H 9,70% Gef. C 74,43 H 9,55%

*Wasserabspaltungsversuch mit verdünnter HCl.* (Prüfung auf 5-Hydroxy-Gruppe). 10 mg Dehydro-H vom Smp. 208–210° versetzt mit 1 ml einer Lösung von 0,5% konz. HCl in An wurden nach früherer Vorschrift [49] 6 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Neutralisation der Lösung mit  $\text{KHCO}_3$  und Zugabe von 2 ml W wurde das An im Vakuum entfernt. Der wässrige Rückstand gab nach Extraktion mit 3 mal je 30 ml Chf-Ae-(1:3) und nach üblicher Aufarbeitung 8,1 mg Rohprodukt. Dieses gab nach Kristallisation aus An-Pe 4,0 mg Kristalle vom Smp. 206–208°, welche nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im DC. und PC., sowie nach UV.-Spektrum mit dem Ausgangsmaterial identisch waren.

*$3\beta,14\beta,20\zeta$ -Trihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan (15) (RKE-7) aus Subst. H.* 32,3 mg Substanz H vom Smp. 218–222° wurden mit einer Lösung von 12,2 mg  $\text{NaBH}_4$  in 1 ml 95-proz. Alk versetzt und 3 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Ansäuern des Gemisches mit 2 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf pH ca. 4, wurde 2 mal mit je 30 ml Chf-Ac-(1:3) extrahiert. Nach üblicher Aufarbeitung, wurden 25,3 mg Rohprodukt erhalten, welches nach mehrfacher Umkristallisation aus An-Pe 14,2 mg reine Kristalle in Form von Plättchen vom Smp. 177–180° gaben:  $[\alpha]_D^{24} = -8,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1$  in Me). Im IR.-Spektrum (fest in KBr) Banden bei 2,92  $\mu$  ( $-\text{OH}$ ); 7,24  $\mu$  ( $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$ ); 7,31  $\mu$  ( $-\text{C}-\text{CH}_3$ ) sowie weitere Banden bei 9,20; 9,62; 10,02; 10,30; 10,57; 11,12; 11,25 und 11,72  $\mu$ .

*Versuch zur  $\text{NaJO}_4$ -Oxidation von  $3\beta,14\beta,20\zeta$ -Trihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -pregnan 15 (Prüfung auf 17 Hydroxygruppe).* In einem Destillationskölbchen wurden 10 mg 15 vom Smp. 177–180° in 1 ml Me gelöst und mit einer Lösung von 30 mg  $\text{NaJO}_4$  in 0,3 ml W versetzt. Nun wurde 8 Std. bei 20°  $\text{CO}_2$  durch diese Lösung und weiter durch eine Vorlage mit einer gesättigten, eisgekühlten wässrigen Lösung von *p*-Nitrophenylhydrazin-hydrochlorid geleitet. Dabei fiel kein Hydrazon aus. Das Reaktionsgemisch wurde nun mit 2 ml W versetzt und das Me im Vakuum entfernt. Nach Extraktion mit 3 mal je 10 ml Chf und üblicher Aufarbeitung wurden 10,9 mg Rohprodukt erhalten. Aus An-Ae wurden 7,5 mg reine Kristalle, Plättchen vom Smp. 178–181° erhalten. Diese waren nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im DC. und IR.-Spektrum identisch mit dem Ausgangsmaterial.

*Teilsynthese der Substanzen F und F' aus O-Acetyl-H. – O-Acetyl-anhydro-H = O-Acetyl-F.* Vorversuch. 39,5 mg O-Acetyl-H (11) vom Smp. 164–166° in 0,4 ml Py gelöst und auf ca.  $-10^\circ$  gekühlt, wurden nach früherer Vorschrift [33] tropfenweise mit 0,1 ml ebenfalls auf  $-10^\circ$  gekühltem  $\text{SOCl}_2$  versetzt und anschliessend 10 Min. bei  $0^\circ$  stehengelassen. Nach vorsichtigem Zusatz von 5 ml Eiswasser wurde das Reaktionsprodukt 3 mal mit je 20 ml Chf extrahiert. Die Chf-Extrakte wurden mit 2 mal je 5 ml 2 N HCl, einmal 5 ml 2 N Sodalösung und 2 mal je 5 ml W gewaschen und durch eine dünne Schicht  $\text{SiO}_2$  filtriert. Nach üblicher Aufarbeitung des Filtrates wurden 44 mg braunes Öl erhalten, welches nicht kristallisierte. Reinigung durch Chromatographie an  $\text{SiO}_2$  vgl. Tab. 11.

Tabelle 11. Chromatographie von 99,7 mg rohem O-Acetyl-anhydro-H an 100 g  $\text{SiO}_2$  nach DUNCAN

Fr. Nr.	Lösungsmittel 15 ml/Fr.	Substanz	
		Menge in mg	Weiterverarbeitung
1– 10	Ae-Cy-(1:3)	17,9	3. Hydrolyseversuch
11– 41	“ “ “	59,4	2. ”
42–100	“ “ “	23,4	1. ”

Fr. 23–24 (18 mg) lieferten krist. O-Acetyl-anhydro-H.

*Hauptversuch.* 61,8 mg O-Acetyl-H vom Smp. 166–168° wurden wie im Vorversuch beschrieben behandelt. Als Rohprodukt wurden 55,7 mg gelbes Öl erhalten, aus welchem sich keine Kristalle isolieren liessen. Chromatographie an  $\text{SiO}_2$  vgl. Tab. 11.

*O-Acetyl-anhydro-H* = *O-Acetyl-F* =  $3\beta$ -Acetoxy- $5\alpha,17\alpha$ -*Δ*<sup>14</sup>-*pregnen-20-on* (**13**) (*RKE-17*). Aus An-W 12,7 mg reine Kristalle, Plättchen vom Smp. 103–106°;  $[\alpha]_D^{23} = +73,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9$  in Chf).

*Hydrolysen von O-Acetyl-anhydro-H.* – 1. *Versuch*: Die 23,4 mg Material der Fr. 42–100 von Tab. 11 wurden in 3,2 ml Me gelöst, mit 32 mg  $\text{KHCO}_3$  in 1,25 ml W versetzt und 24 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Zugabe von 6 ml W und Entfernung des Me im Vakuum wurde der wässrige Rückstand 3mal mit je 50 ml Chf-Me-(1:3) extrahiert. Übliche Aufarbeitung lieferte 25,3 mg Rohprodukt, welches nach DC. nur zu ca. 50% verseift war.

2. und 3. *Versuch*: 56,4 mg Fr. 11–41 sowie 17,4 mg der Fr. 1–10 von Tab. 11 wurden analog, jedoch 48 Std. bei 20° hydrolysiert. Es wurden total 55 mg Rohprodukt erhalten, das nach DC. ebenfalls nur zu ca. 50% verseift war.

4. *Versuch*: 80 mg vereinte Rohprodukte aus Versuch 1–3 wurden analog, jedoch 60 Std. bei 20° und unter Schütteln auf der Maschine hydrolysiert. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 41 mg braunes Öl als Rohprodukt erhalten, welches jedoch nach DC. immer noch ca. 20% Ausgangsmaterial enthielt. Das Rohprodukt wurde an 50 g  $\text{SiO}_2$  mit Chf chromatographiert; pro Fr. 15 ml Eluierungsmittel. Die Fr. 6–15, 22,6 mg, enthielten u.a. noch Ausgangsmaterial. Die Fr. 16–20, 6,2 mg, enthielten nur Subst. F; aus An-Ac-Pe 1,5 mg Nadeln vom Smp. (139–) 147–149°. Sie waren nach Smp., Misch-Smp. und Laufstrecke im DC. identisch mit authentischer Substanz F.

5. *Versuch*: 22,6 mg von Fr. 6–15 wurden in 10 ml Me gelöst und mit einer Lösung von 20 mg  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in 50 mg W versetzt und dann während 24 Std. bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 23 mg Rohprodukt erhalten, welches nach Kristallisation aus Ac-Pn 1,5 mg Nadeln vom Smp. 190–193° gab. Diese waren nach Smp., Misch-Smp., Laufstrecke im DC. und 1R.-Spektrum identisch mit authentischer Substanz F'. Nach Chromatographie von 18,2 mg ML. an 3 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Akt. III konnten aus Fr. 7–10, 6,4 mg eluiert mit Be-Chf-(9:1), aus An-Ac-Hexan nochmals 2,2 mg Substanz F' vom Smp. (176–) 186–190° gewonnen werden.

*Substanz J, vermutlich* =  $3\beta,8\beta,14\beta$ -Trihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -*pregnan-20-on* (**18**) (*RKE-11*). Aus An-Me-Pn längliche Plättchen vom Smp. 213–217°, Sintern ab 208°;  $[\alpha]_D^{25} = -27,5^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,8$  in Me). Massenspektrum vgl. Fig. 23. ORD.-Spektrum vgl. Fig. 26.

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_4$  (350,48) Ber. C 71,96 H 9,78% Gef. C 72,13 H 9,80%

*O-Acetyl-J, vermutlich* =  $3\beta$ -Acetoxy- $8\beta,14\beta$ -dihydroxy- $5\alpha,17\alpha$ -*pregnan-20-on* (**19**) (*RKE-14*). – 1. Ansatz. 30,2 mg letzte ML. der Substanz J gelöst in 1 ml Py und 0,8 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  wurden 24 Std. bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 33,8 mg Rohacetat erhalten, das jedoch nicht kristallisierte. Es wurde deshalb an 35 g  $\text{SiO}_2$  nach DUNCAN mit Chf als Eluierungsmittel gereinigt; pro Fr. 10 ml. Aus Fr. 33–36 wurden 17 mg fast reines Acetat erhalten; Kristallisation siehe unten. – 2. Ansatz. 20 mg Kristalle J vom Smp. 209–214° in 1 ml Py gelöst und mit 0,8 ml  $\text{Ac}_2\text{O}$  versetzt, gaben nach 44 Std. Stehen bei 20° und nach üblicher Aufarbeitung 22 mg Rohacetat. Vereinigt mit 17 mg Acetat aus 1. Ansatz, aus Ae-Pe 19 mg reines O-Acetyl-J in Plättchen vom Smp. 144–146° sowie 9 mg vom Smp. 142–146°,  $[\alpha]_D^{22} = -34,4 \pm 2^\circ$  ( $c = 1,1$  in Chf). Der

Tabelle 12. Berechnung der Lage der Methyldsignale in **19** nach ZÜRCHER [36]

	C19-H ( $\delta$ in ppm)	C18-H ( $\delta$ in ppm)
5 $\alpha,14\beta$ -Androstan	0,767	0,992
3 $\beta$ -OAc	0,050	0,008
8 $\beta$ -OH	0,183	0,183
14 $\beta$ -OH	0,017	- 0,025
17 $\alpha$ -CO-CH <sub>3</sub>	- 0,017 <sup>37)</sup>	0,233 <sup>37)</sup>
Ber. für <b>19</b>	1,000	1,391
Gef.	0,983	1,370

<sup>37)</sup> Privatmitteilung von Herrn P.D. Dr. R. ZÜRCHER. Berechnung des Beitrags aus dem Protonenresonanzspektrum von Subst. H (**10**).

Nachweis auf Glykole mit  $\text{Pb(OAc)}_4$  [20] ist deutlich positiv, ebenso bei der freien Substanz J. Berechnung der Lage der Methyldiäthylesterglykole vgl. Tab. 12.

Weitere deutliche Signale lagen bei 2,03 ppm (*s*, 3H = Acetyl) und bei 2,15 ppm (*s*, 3H = 21-CH<sub>3</sub>).

**Glykosid P (RKE-13).** Aus An-Ae farblose Plättchen, Smp. 191–196°,  $[\alpha]_D^{25} = -120^\circ \pm 50^\circ$  (*c* = 0,01 in Me)<sup>38</sup>). Massenspektrum vgl. Fig. 24, ORD. vgl. Fig. 27. Die Reaktion mit Xanthydrool [7] war positiv, ebenso der Zuckertest nach FEIGL [19]. Der Stoff zeigte einen ähnlichen Smp. wie Substanz T aus *Asclepias glaucocephala* von NASCIMENTO *et al.* [18] und der Misch-Smp. mit Substanz T zeigte keine Erniedrigung. Auch die Laufstrecken im PC. und DC. waren äußerst ähnlich, ebenso die Farbreaktion mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Die Stoffe sind aber doch nicht identisch, denn sie zeigen stark verschiedene Drehung und Substanz T von NASCIMENTO gab bei der Xanthydroolreaktion keine Färbung.

**Hydrolyse nach KILIANI im Mikromassstab [37].** 3 mg Substanz P wurden mit 0,3 ml KILIANI-Mischung<sup>38</sup>) 1 Std. auf 100° erwärmt. Danach wurde im Exsikkator über KOH im Vakuum bei 20° eingedampft, sodann 0,5 ml W zugegeben und 3 mal mit 1 ml Chf extrahiert. Die Chf-Extrakte wurden noch mit 0,5 ml W gewaschen. Die beiden wässrigen Phasen wurden vereinigt, im Vakuum von restlichem Chf befreit und im Exsikkator über KOH im Vakuum bei 20° eingedampft. Ausbeute: 1,9 mg. Geschätzter Gehalt an Zucker ca. 0,6 mg. Der Zucker zeigte im DC., System Eg-iPr-Me-(70:15:15), im PC., System To-Bu-(1:1)/W, 27 Std., sowie im Paperelektropherogramm<sup>28</sup>) die gleiche Laufstrecke wie Thevetose.

Die Analysen wurden von Herrn E. THOMMEN, im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] F. BRÜSCHWEILER, K. STÖCKEL & T. REICHSTEIN, Helv. 52, 2276 (1969).
- [2] A. A. BULLOCK, Notes on African Asclepiadaceae 3. Kew Bull. 8, 329–362 (1953) bes. p. 352.
- [3] H. WEIMARCK, Botaniska Notiser 1935, 378.
- [4] E. ABISCH & T. REICHSTEIN, Helv. 45, 2090 (1962).
- [5] P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951); J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 1821 (1951).
- [6] D. L. KEDDE, Pharm. Weekbl. 82, 741 (1947); I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).
- [7] M. PESEZ, Ann. pharmaceut. franç. 10, 104 (1952).
- [8] 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); F. KAISER, Chem. Ber. 88, 556 (1955).
- [9] C. D. KOCHAKIAN & G. STIDWORTHY, J. biol. Chemistry 199, 607 (1952).
- [10] R. NEHER & A. WETTSTEIN, Helv. 34, 2278 (1951).
- [11] A. GAMP, P. STUDER, H. LINDE & K. MEYER, Experientia 18, 292 (1962).
- [12] E. STAHL, «Dünnschichtchromatographie», Springer-Verlag, Berlin 1967, p. 821 (Nr. 42), p. 852 (Nr. 238).
- [13] K. A. JAEGGI, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 46, 694 (1963); H. MITSUHASHI & Y. SHIMIZU, Steroids 2, 373 (1963); und frühere Lit. daselbst.
- [14] S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. 32, 939 (1949).
- [15] O. RENKONEN & O. SCHINDLER, Helv. 39, 1490 (1956).
- [16] G. R. DUNCAN, J. Chromatogr. 8, 37 (1962).
- [17] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 429, 1073 (1952).
- [18] J. M. DO NASCIMENTO JR., CH. TAMM, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, Helv. 47, 1775 (1964).
- [19] F. FEIGL, «Spot Tests in Organic Analysis», S. 337, Elsevier Publ. Co., Amsterdam 1966.
- [20] J. G. BUCHANAN, C. A. DEKKER & A. G. LONG, J. Chem. Soc. 1950, 3162.
- [21] J. A. CIFONELLI & F. SMITH, Analyt. Chemistry 26, 1132 (1954); H. T. GORDON, W. THORNBURG & L. N. WERUM, *ibid.* 28, 849 (1956); D. F. MOWERY, *ibid.* 29, 1560 (1957).
- [22] K. REYLE & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 98 (1952).

<sup>38</sup>) Gemisch von 1 ml HCl konz., 3,5 ml AcOH und 5,5 ml W [50].

- [23] A. LARDON & T. REICHSTEIN, *Helv.* **46**, 392 (1963).
- [24] L. Ruzicka & PL. A. PLATTNER, U.S.-Patent Nr. 2555704 vom 5.6.1951; *Chem. Abstr.* **46**, 148 (1952).
- [25] H. MITSUHASHI, T. NOMURA & M. FUKUOKA, *Steroids* **4**, 483 (1964).
- [26] PL. A. PLATTNER, L. Ruzicka, H. HEUSSER & E. ANGLIKER, *Helv.* **30**, 385 (1947).
- [27] PL. A. PLATTNER, L. Ruzicka, H. HEUSSER, & E. ANGLIKER, *Helv.* **30**, 395 (1947).
- [28] N. M. SHAH, K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Pharmac. Acta Helv.* **24**, 113 (1949); R. TSCHESCHE & K. H. BRATHGE, *Chem. Ber.* **85**, 1042 (1952).
- [29] A. STOLL, A. PEREIRA & J. RENZ, *Helv.* **32**, 293 (1949).
- [30] H. R. URSCHELER & CH. TAMM, *Helv.* **38**, 865 (1955).
- [31] A. LARDON, *Helv.* **32**, 1517 (1949).
- [32] G. ROBERTS, B. S. GALLAGHER & R. N. JONES, «Infrared Absorption Spectras of Steroids», vol. II, 21, Interscience Publ. Co., London 1958.
- [33] O. SCHINDLER, *Helv.* **39**, 375 (1956).
- [34] A. V. WARTBURG & J. RENZ, *Helv.* **42**, 1620, 1643 (1959).
- [35] E. FLURY, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **48**, 1113 (1965).
- [36] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* **44**, 1380 (1961); **46**, 2054 (1953).
- [37] G. R. DUNCAN, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **48**, 649 (1965); und frühere Lit. daselbst.
- [38] A. F. KRASSO & EK. WEISS, *Helv.* **49**, 1113 (1966).
- [39] H. KAUFMANN, P. MÜHLRADT & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 2287 (1967).
- [40] H. ALLGEIER, *Helv.* **51**, 311; 668 (1968).
- [41] M. SPITELLER-FRIEDMANN & G. SPITELLER, «Massenspektren von Steroiden» in *Fortschr. d. chem. Forschung* **12**, 439–537, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1959, und frühere Lit. daselbst.
- [42] G. SPITELLER in litt. 28.6.1963; 7.7. und 10.12.1964.
- [43] L. SAWLEWICZ, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 530 (1967); K. A. JAEGGI, EK. WEISS, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 1201 (1967); A. SANER & H. ALLGEIER, *Helv.* **52**, 1655 (1969).
- [44] J. V. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* **47**, 711 (1964) und frühere Lit. daselbst; R. TSCHESCHE & G. LILINWEISS, *Zeitschr. Naturforsch.* **19b**, 265 (1964); R. TSCHESCHE, H. HULPKE & H. SCHOTTEN, *ibid.* **22b**, 677 (1967); E. LEETE, H. GREGORY & E. G. GROS, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 3475 (1965); E. GROS & E. LEETE, *ibid.* **87**, 3479 (1965); H. H. SAUER, R. D. BENNETT & E. HEFTMANN, *Phytochemistry* **6**, 1521 (1967); E. CASPI & D. O. LEWIS, *Science* **156**, 519 (1967); E. CASPI & G. M. HORNBY, *Phytochemistry* **7**, 423 (1968); R. D. BENNETT, H. H. SAUER & E. HEFTMANN, *ibid.* **7**, 41 (1968); H. H. SAUER, R. D. BENNETT & E. HEFTMANN, *ibid.* **7**, 1543 (1968); **8**, 839 (1969).
- [45] T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, *Discuss. Farad. Soc.* **7**, 305 (1949).
- [46] C. MANNICH & G. SIEWERT, *Ber. deutsch. Chem. Ges.* **75**, 737 (1942).
- [47] EK. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **41**, 736 (1958).
- [48] K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, *J. chem. Soc.* **1946**, 39; R. G. CURTIS, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & G. F. WOODS, *ibid.* **1953**, 457.
- [49] B. FECHTIG, J. V. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **43**, 1570 (1960); C. JUSLEN, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **45**, 2285 (1962).
- [50] H. KILIANI, *Ber. deutsch. Chem. Ges.* **63**, 2866 (1930).