

D. Darstellung des 1-Methyl-3-spiro-(N-methyl-piperidin-4)-indolins (III)

20 g 1-Methyl-3-spiro-(N-methyl-piperidin-4)-oxindol (dargestellt nach *Eisleb*¹⁾) in 300 ml Tetrahydro-furan wurden zu einer Aufschlammung von 20 g Lithiumaluminiumhydrid in 100 ml Äther gegeben und 4 Std. am Rückfluss gekocht. Aufarbeitung nach Abschnitt A, 3b. Das aus der Ätherextraktion resultierende gelbe Öl erstarrte im Kühlschrank zu einer derben Kristallmasse. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Äther betrug die Ausbeute 17,8 g (95% d.Th.). Zur Analyse wurde zweimal aus Petroläther (40—50°) umkristallisiert und 3 Std. im Hochvakuum getrocknet: farblose, platten- bis stengelförmige Kristalle vom Smp. 49—50°.

4,395 mg Subst. gaben 12,48 mg CO₂ und 3,78 mg H₂O

3,700 mg Subst. gaben 0,431 cm³ N₂ (22°, 730 mm)

C ₁₄ H ₂₀ N ₂	Ber. C 77,73	H 9,32	N 12,95%
	Gef. „ 77,49	„ 9,61	„ 12,95%

Hydrochlorid: feine, farblose Nadelchen, Zersp. 243—245°. *Salicylat*: farblose Nadeln, Smp. 101—102°.

Die Analysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der *Ciba AG.* unter Leitung von Dr. *H. Gysel* durchgeführt.

Zusammenfassung.

Zum Studium des Verhältnisses von chemischer Konstitution und physostigminähnlicher Wirkung wurde das 1-Methyl-3-spiro-(N-methyl-piperidin-4)-5-N-methylcarbamoxy-indolin aufgebaut. Die Synthese des entsprechenden Urethans in 6-Stellung wurde bis zur Äthoxy-indolin-Stufe, diejenige des Analogons in 7-Stellung bis zur Oxyoxindol-Stufe durchgeführt.

Organische Anstalt der Universität Basel und
Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

71. Über die Inhaltsstoffe von *Mansonia altissima* A. Chev.

von A. Uffer.

(25. I. 52.)

Eine soeben erschienene Arbeit von *M. Frèrejacque*²⁾ gibt uns die Veranlassung, über die Inhaltsstoffe von *Mansonia altissima* zu berichten, mit denen wir uns schon längere Zeit beschäftigt haben. Neben den von *M. Frèrejacque* zitierten Arbeiten finden sich weitere Angaben über *Mansonia altissima* bei *J. M. Dalziel*³⁾, *M. Mascré & R. Paris*⁴⁾, bei *J. Kerharo & A. Bouquet*⁵⁾ und bei *A. Clerc & R. Paris*⁶⁾.

¹⁾ B. 74, 1433 (1941).

²⁾ *M. Frèrejacque*, C. r. 233, 1220 (1951).

³⁾ *J. M. Dalziel*, Useful plants of west tropical Africa, London 1937.

⁴⁾ *M. Mascré & R. Paris*, Bl. Sc. Pharmacol. 46, 145 (1939).

⁵⁾ *J. Kerharo & A. Bouquet*, Acta Tropica 6, 193 (1949).

⁶⁾ *A. Clerc & R. Paris*, C. r. Soc. Biol. 128, 1006 (1938).

Von *Masché & Paris* wurde einwandfrei festgestellt, dass *Mansonia* herzaktive Glykoside enthält, doch gelang es diesen Autoren nicht, kristallisierte Körper zu erhalten.

Für unsere Versuche haben wir verschiedene Rinden verwendet. Die erste Rinde wurde am 10. 5. 1947 in der Gegend des Bo-Bosi-Forest Reservats, ca. 20 Meilen von Kumasi entfernt an der Strasse nach Accra, gesammelt. Eine zweite Rindensendung erhielten wir durch die Vermittlung von Herrn W. *Niklaus* (Man, Elfenbeinküste). Beide Sendungen verhielten sich in bezug auf Beschaffenheit und pharmakologische Eigenschaften der rohen Extrakte gleich. Eine dritte Sendung aus der Gegend Yaoundé (Franz. Kamerun), welche uns durch Herrn *Letouzey* (Inspecteur principal du Service des Eaux et Forêts du Cameroun Français) übermittelt wurde, enthielt sozusagen keine herzwirksamen Inhaltsstoffe.

A. Extraktion der Rinde.

Die feingemahlene Rinde haben wir nach den üblichen Methoden¹⁾ aufgearbeitet und den wässrigen Extrakt in seine petrolätherlöslichen (Fette), ätherlöslichen (Fraktion A), chloroformlöslichen (Fraktion B) und chloroformalkohollöslichen (Fraktion C) Bestandteile zerlegt. Ein Ansatz von 120 kg getrockneter Rinde lieferte uns folgende Fraktionen, deren pharmakologische Prüfung am isolierten Froschherzen und an der Katze nachstehende Werte ergab.

	Syst. Herzstillstand am isolierten Frosch-H.	Toxizität an der Katze (<i>Hatcher</i>)
Extrakt A 59 g	nicht geprüft	nicht geprüft
Extrakt B 29 g	5×10^6	1 mg = 1,76 D.K.E.
Extrakt C 1641 g	2×10^6 — 5×10^6	1 mg = 4,78 D.K.E.
Ouabain (zum Vergleich)	2×10^6 — 5×10^6	1 mg = 7,8 D.K.E.

Während sich *Frèrejacque* in seiner Publikation ausschliesslich mit Extrakt B befasst, haben wir vorderhand nur den Extrakt C untersucht. Die Fraktion C ist ein amorphes, hellgelbes Pulver, das auf der Zunge den charakteristischen bitteren Geschmack zeigt. Der *Legal*-Test ist positiv, die *Keller-Küliani*-Reaktion ist negativ.

B. Chromatographieren der Fraktion C.

Orientierende Versuche mit verschiedenen Adsorptionsmitteln zeigten, dass für unsere Versuche Floridin XXS am geeignetsten war. Wir erhielten dabei folgende kristallisierte Fraktionen, die mittels Papierchromatographie unter Verwendung von Antimontrichlorid als

¹⁾ A. *Stoll* und Mitarb., *Helv.* **20**, 1484 (1937); T. *Reichstein* und Mitarb., zahlreiche Arbeiten in den *Helv.* der letzten Jahre.

Bezeichnung	Summenformel	Schmelzpunkt	$[\alpha]_D$	$\log \epsilon_{\max}$ UV.	Bemerkungen
Mansonin A . . .	$C_{31}H_{46}O_{11}$	162—163°	$[\alpha]_D^{24} = +22^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin)	4,15 bei 217 m μ	Kristallisiert aus Methanol in kurzen Nadeln. Enthält 2 Methoxyyle. Ausbeute bezogen auf Rohextrakt: 2,3%. Stellt ein Gemisch dar. Ausbeute: 0,34%.
Mansonin B . . .		260—262°	$[\alpha]_D^{25} = -26^\circ \pm 4^\circ$ (Pyridin)	4,15 bei 217 m μ	
Mansonin C . . .	$C_{29}H_{42}O_{10}$	258—259°	$[\alpha]_D^{22} = -30^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin)	4,13 bei 217 m μ 1,69 bei 300 m μ	Aus Methanol als mikrokristallines Pulver. Ausbeute: 0,96%.
Mansonin D . . .	$C_{35}H_{54}O_{14}$	258—260°	$[\alpha]_D^{22} = -33^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin)	4,37 bei 217 m μ 1,74 bei 300 m μ	Aus Methanol in feinen verfilzten Nadelchen. Ausbeute: 0,03%.
Mansonin E . . .	$C_{35}H_{52}O_{14}$	243—244°	$[\alpha]_D^{28} = -30^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin)	4,05 bei 215 m μ 2,05 bei 280 m μ	Aus Methanol in Nadelbüscheln. Ausbeute: 0,03%.
Mansonin F . . .	(?)	266—268°	$[\alpha]_D^{23} = +98^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin)	4,2 bei 217 m μ	Aus Methanol in harten Nadeln. Artefakt.

Sämtliche Mansonine zeigen eine negative K.-K.-Reaktion¹⁾. Die *Legal*-Probe ist bei allen positiv.

¹⁾ Ausführung nach *E. von Eux & T. Reichstein*, *Helv.* **31**, 888 (1948).

Indikator¹⁾ auf Einheitlichkeit geprüft wurden. Sämtliche Kristallisate zeigten positive *Legal*-Probe, die *Keller-Kiliani-Reaktion* war auch hier überall negativ.

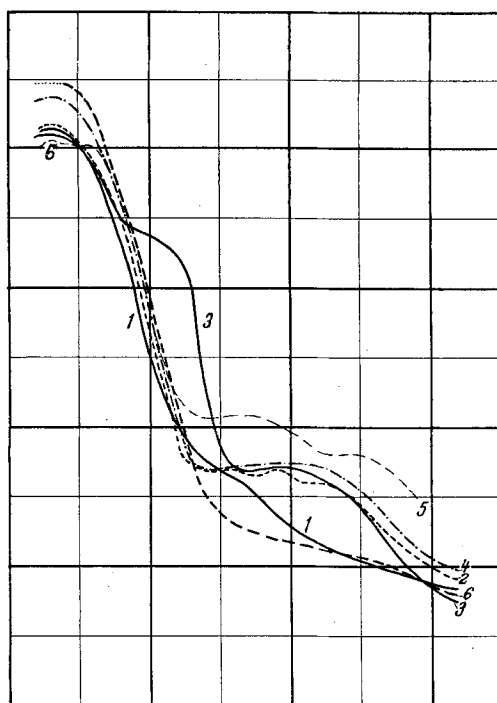


Fig. 1.

UV-Spektren von:

- | | |
|----------------|----------------|
| 1 = Mansonin A | 4 = Mansonin D |
| 2 = Mansonin B | 5 = Mansonin E |
| 3 = Mansonin C | 6 = Mansonin F |

in Alkohol

Neben diesen kristallisierten Produkten (5,5% bezogen auf das Rohglykosid C) erhielten wir grosse Mengen amorpher Substanzen. Diese waren im pharmakologischen Versuch hochaktiv, konnten jedoch bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden. Über die Herzwirksamkeit der kristallinen und amorphen Fraktionen gibt nachstehende Tab. Auskunft.

Die geringe Herzwirksamkeit unserer kristallisierten Fraktionen liess uns vermuten, dass ev. durch das Chromatographieren eine Inaktivierung eingetreten sein könnte. Der Beweis für die Richtigkeit

¹⁾ A. B. Svendsen & K. B. Jensen, *J. Pharmacy et Pharmacol.* **2**, 848 (1950); *Pharm. acta Helv.* **25**, 241 (1950); O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 108, 608 (1951); R. Neher & A. Wettstein, *Helv.* **34**, 2283 (1951).

dieser Ansicht ist nicht leicht zu erbringen. Immerhin haben wir festgestellt, dass die Aktivität unserer amorphen Fraktionen auch bei langdauerndem Kontakt mit Floridin nicht abnimmt. Zur Feststellung, ob eventuell Dehydratisierungen eingetreten sein könnten,

	Frosch	Katze
Mansonin A	unwirksam	1 mg = 0,1 D.K.E.
Mansonin B	unwirksam	1 mg = 0,15 „
Mansonin C	unwirksam	1 mg = 0,2 „
Mansonin D	unwirksam	1 mg = 0,125 „
Mansonin E	unwirksam	1 mg = 0,28 „
„amorphe Fr. 42 ⁽¹⁾ . .	5×10^{-6} (9')	1 mg = 1,5 „
„amorphe Fr. 43 ⁽¹⁾ . .	5×10^{-6} (10')	1 mg = 2,3 „
„amorphe Fr. 44 ⁽¹⁾ . .	2×10^{-6} (8')	1 mg = 5,24 „
Ouabain	5×10^{-6} (10')	1 mg = 7,8 „

wurde Mansonin A in Eisessig bei Gegenwart von Platin hydriert, und es wurde dabei festgestellt, dass die H₂-Aufnahme bei 1,2 Mol stillsteht. Soweit die Eigenschaften der einzelnen Kristallfraktionen in der Tab. nicht erschöpfend wiedergegeben sind, können noch folgende Ergänzungen gemacht werden:

Mansonin B: Dieses Produkt stellt ein Gemisch von 2 schwer trennbaren Glykosiden dar. Nicht nur das Papierchromatogramm, sondern auch das UV.-Spektrum lässt den gleichen Schluss zu. Eine Auftrennung in die Einzelkomponenten wurde bis jetzt noch nicht durchgeführt.

Mansonin C: Dieses Monoglykosid fällt zuerst als Gallerte an, die beim Erwärmen in Methanol in ein mikrokristallines Pulver übergeht. Bei weiterer Reinigung kristallisiert dieses in feinen, kleinen Nadelchen. Neben dem für die ungesättigte Lactonseitenkette typischen Maximum bei 215 m μ (log ϵ = 4,05) zeigte das UV.-Spektrum ein für eine Carbonylgruppe charakteristisches Maximum bei 300 m μ (log ϵ = 1,7). Daneben fällt noch eine Inflexion zwischen den Extinktionswerten 2,3 und 3,5 auf, die von einer geringen Beimischung einer 16-Anhydroverbindung herrühren könnte²⁾. Im Papierchromatogramm zeigt das Produkt allerdings eine einheitliche Zusammensetzung.

Mansonin D: Auf Grund seines UV.-Spektrums kann auch für diese Verbindung eine Carbonylfunktion angenommen werden.

Mansonin E: Aus dem UV.-Spektrum kann geschlossen werden, dass es sich bei dieser Verbindung möglicherweise um eine Δ^{16} -ungesättigte Substanz handeln könnte²⁾.

¹⁾ Aus Fraktion C der Rinde von *Man.* Siehe Exp. Teil S. 543.

²⁾ *A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **33**, 79 (1950); *A. Aebi & T. Reichstein*, Helv. **33**, 1016 (1950).

Mansonin F: Dieses Mansonin ist wahrscheinlich ein Artefakt. Wir isolierten es aus den wässrigen Mutterlaugen der *Mannich*-Spaltungen. Es dürfte sich dabei um ein teilweise abgebautes Glykosid handeln, das wir noch nicht näher untersuchten.

C. Acetylieren des Extraktes C und Chromatographieren des benzollöslichen und benzolunlöslichen Acetats.

Den rohen Extrakt C haben wir in Pyridin und Acetanhydrid acetyliert. Der Ansatz wurde nach 5tägigem Stehen nach den üblichen Methoden aufgearbeitet. Ein Teil des Acetylierungsprodukts erwies sich als in Benzol gut löslich, während der andere Teil darin unlöslich war (vgl. exper. Teil). Da keine der beiden Fraktionen irgendwelche Neigung zur Kristallisation zeigte, wurden diese getrennt an Aluminiumoxyd chromatographiert. Auch nach dem Chromatographieren zeigte keine der Fraktionen beim Behandeln mit den verschiedensten Lösungsmitteln irgendwelche Kristallisationsspuren.

D. Verseifen der Glykoside (Zuckerspaltungen).

(Die negative *K.-K.*-Reaktion liess vermuten, dass es sich durchwegs um schwer spaltbare Glykoside handeln dürfte. Versuche zur enzymatischen Spaltung mit *Medicago sativa*¹⁾ und mit dem von *Tschesche*²⁾ empfohlenen Fermentpräparat „Luicym“ verliefen negativ.)

1. *Mannich*-Spaltung der krist. Glykoside A und C: Die krist. Glykoside A und C wurden nach der Methode von *Mannich-Siewert*³⁾ aufgespalten und anschliessend auf die zu erwartenden Genine nach den üblichen Methoden aufgearbeitet. Während Mansonin A kein krist. Genin lieferte, konnte bei der Verseifung von Mansonin D mit geringer Ausbeute ein Kristallinat gewonnen werden, das bei 265⁰ u. Z. schmolz, dessen Analyse aber nicht gestattet, eine brauchbare Formel aufzustellen.

2. Hydrolyse mit 0,1-n. H₂SO₄ und nach *Kiliani*⁴⁾: Da der überwiegende Teil des Extraktes (ungefähr 95%) auch nach wiederholtem Chromatographieren amorph blieb, versuchten wir, beim Rohglykosid durch Abspaltung von Zuckern zu krist. Geninen zu gelangen. Die amorphe Glykosidfraktion C ist in Wasser spielend löslich; dies liess vermuten, dass die dazu gehörigen Genine ziemlich stark mit Sauerstoff beladen sein würden. Die Spaltung von 100 g Rohglykosid C mit 0,1-n. H₂SO₄ lieferte nur 4,5 g chloroformlösliche Substanz neben 77 g unverändertem Ausgangsmaterial. Die kleine chloroformlösliche Fraktion konnte auf keine Weise kristallisiert erhalten werden. Bessere Resultate lieferte die Methode nach *Kiliani*.

¹⁾ A. Stoll & J. Renz, Helv. **33**, 286 (1951).

²⁾ R. Tschesche, B. **84**, 576 (1951).

³⁾ C. Mannich & G. Siewert, B. **75** (B), 737 (1942).

⁴⁾ M. Frèrejacque, C. r. **230**, 127 (1950).

Man erhielt ein kristallines Gemisch der Genine. In der Folge wendeten wir diese Methode aber nicht an, da wir unerwünschte Dehydratisierungen im Steroidteil vermeiden wollten¹⁾.

3. *Mannich-Siewert-Spaltung* des Rohglykosids C: Versuche mit den Rohglykosiden C liessen vermuten, dass diese nach der *Mannich-Siewert-Methode* verhältnismässig leicht aufgespalten werden konnten. Die Rohglykoside C wurden in acetonischer Lösung mit Salzsäure bei Zimmertemperatur stehengelassen; im Laufe einiger Wochen schied sich in beträchtlicher Menge ein Kristallisat aus (Fraktion 1), bei welchem es sich um die Acetonverbindungen eines oder mehrerer Genine handeln muss. Durch Aufarbeitung der acetonischen Mutterlauge, wie sie im exper. Teil wiedergegeben ist, erhielten wir dann die Fraktionen 2 und 3.

a) *Untersuchung der Fraktion 1*: Bei Fraktion 1 handelt es sich um eine Aceton-Additionsverbindung, die zuerst in alkoholischer Lösung mit Salzsäure aufgespalten werden muss. Nach 16maligem Umkristallisieren des Spaltproduktes aus Methanol erhielt man ein Genin V mit konstantem Smp. 247—249°, dessen Verbrennungsanalysen auf die Bruttoformel $C_{24}H_{34}O_6$ verwiesen. Das Genin besass eine Methoxylgruppe. Dieses krist. Genin wurde in üblicher Weise acetyliert und aufgearbeitet, nach Chromatographieren an Aluminiumoxyd wurde das Acetat II vom Smp. 135—180° isoliert, dem wir auch noch in anderen Fraktionen begegnen werden.

Die Mutterlaugen von Fraktion 1, aus denen das krist. Genin vom Smp. 247—249° (s. o.) entfernt worden war, wurden vereinigt und im Vakuum zur Trockene verdampft. Der dabei erhaltene Rückstand wurde nun in einen chloroformlöslichen und einen chloroformunlöslichen Teil geschieden. Der chloroformlösliche Teil wurde acetyliert und das amorphe Acetat an Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit ca. 25-proz. Ausbeute wurde auch hier Acetat II (s. o.) erhalten. Gleichermassen wurde die chloroformunlösliche Fraktion acetyliert und das rohe Acetat an Aluminiumoxyd chromatographiert, dabei wurden das Acetat I (1,5 g, Smp. 212—214°), das Acetat II (5 g, Smp. 135/180°) und das Acetat III (2 g, Smp. 266—267°) erhalten.

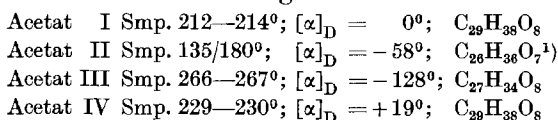
b) *Untersuchung der Fraktion 2*: Aus der Mutterlauge der *Mannich-Siewert-Spaltung* wird das Aceton im Vakuum entfernt und der Rückstand mit Methanol am Rückfluss erwärmt. Der nach dem Entfernen des Methanols erhaltene Rückstand wurde dann in Chloroform aufgenommen und mit Wasser gründlich gewaschen. Dabei fällt eine chloroformunlösliche kristalline Fraktion 2 an, die sich gut abfiltrieren lässt. Als Fraktion 3 bezeichneten wir denjenigen Geninteil, der bei dieser Aufarbeitung in Chloroform in Lösung bleibt. Die derart erhaltene Fraktion 2 wurde wie üblich acetyliert. Das amorphe, schup-

¹⁾ C. W. Shoppee, Helv. 23, 740 (1940); C. W. Shoppee & T. Reichstein, Helv. 26, 6 (1943).

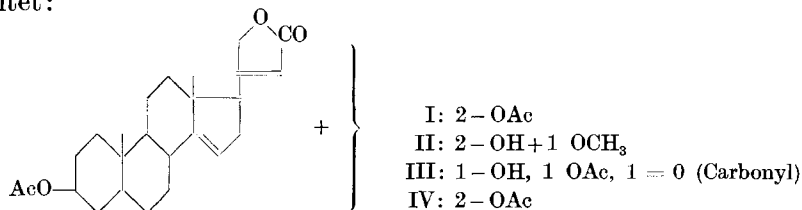
pige Rohacetat erwies sich nur z. T. als gut chloroformlöslich. Der schwerlösliche Teil lieferte durch Kristallisation aus Methanol das Acetat III. Der chloroformlösliche Teil wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Dabei erhielten wir die zwei folgenden Körper: Acetat IV (Smp. 229–233°) und Acetat III (Smp. 264–267°).

c) *Untersuchung der Fraktion 3*: Die Fraktion 3 lässt sich wegen ihrer Chloroformlöslichkeit leicht von der Fraktion 2 abtrennen (s. o.) Durch Einengen der Chloroformlösung erhielt man eine amorphe, braune Schmiere, aus der man durch Versetzen mit Methanol die krist. Fraktion 3 vom Smp. 222–224° gewann. Dieses Kristallisat wurde wie üblich acetyliert und das rohe Acetat durch Chromatographie an Aluminiumoxyd gereinigt. Dabei wurde das krist. Acetat II (Smp. 135/180°) erhalten, neben den Acetaten I und III.

d) *Untersuchung der Acetate I–IV*: Die analytischen Untersuchungen der 4 Acetate haben folgende Bruttoformeln ergeben:



Aus den Verbrennungswerten und den weiteren analytischen Resultaten haben wir für die 4 Acetate die folgenden Strukturformeln abgeleitet:



Aus 200 g Extrakt C erhielten wir folgende Acetatmengen: I = 2,5 g; II = 8,59 g; III = 12,18 g; IV = 8,5 g. Unsere Hoffnung, durch Zuckerspaltung eine grössere Ausbeute an kristallisierbaren Körpern zu erhalten als beim Chromatographieren der Rohglykoside, hatte sich also erfüllt, doch die Tatsache, dass wir anstelle der Genine deren Anhydroverbindungen erhalten hatten, war störend.

α) *Das Acetat II und sein Wasserabspaltungsprodukt*: Mit diesem Anhydrogeninderivat haben wir uns am eingehendsten beschäftigt. Die Bruttoformel $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_7$ wurde durch die Analyse des Genins V, dessen Hydrierungsprodukt XIII und der aus dem Genin hergestellten „Ätiosäure“ VI bestätigt. Es handelt sich beim Acetat II um eine Monoacetylverbindung, die neben zwei freien Hydroxylgruppen merkwürdigerweise noch eine Methoxylgruppe enthält. Diese Methoxylgruppe ist für ein Herzglykosid-Genin etwas Neuartiges, sie haftet im allgemeinen recht stark, kann aber oxydativ abgespalten werden.

1) Doppelter Smp. siehe exp. Teil, S. 547 und 548.

Die beiden vorhandenen Hydroxylgruppen lassen sich auch unter energischen Bedingungen nicht acetylieren. Mit Pyridin und Phosphoroxychlorid unter Ausschluss von Wasser lässt sich keine der beiden Hydroxylgruppen eliminieren¹⁾. Erst bei der Anwendung der energischeren Methode durch Zugabe einer Spur Wasser²⁾ gelang es unter Abspaltung einer Hydroxylgruppe zum Anhydroprodukt XI zu gelangen. Mit Tetranitromethan zeigte diese Substanz XI als einzige eine intensive Gelbfärbung. Sie lässt sich unter Aufnahme von 3 Mol H_2 leicht hydrieren.

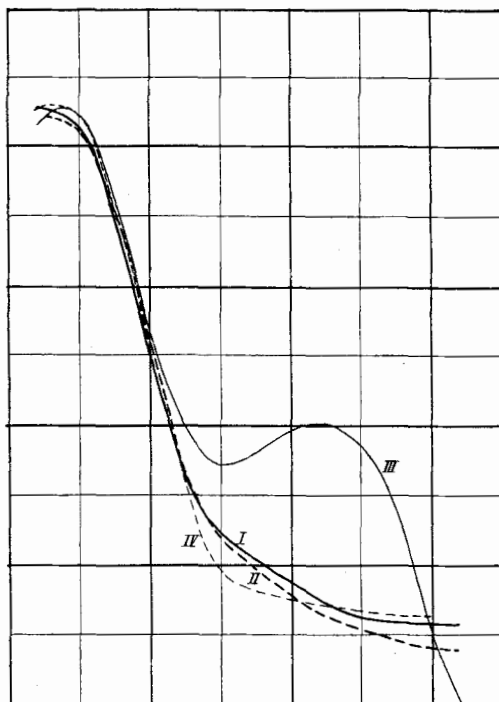


Fig. 2.

UV-Spektren der Acetate I—IV in Alkohol.

β) *Oxydationsprodukte von Acetat II*: Eine *Oppenauer*-Oxydation von Acetat II lieferte uns in guter Ausbeute das Produkt XII, das auffallenderweise die sonst sehr stabile Methoxylgruppe des Ausgangsmaterials verloren hatte.

Zur Durchführung einer CrO_3 -Oxydation haben wir das Acetat II zuerst hydriert. Es nahm dabei 2 Mol H_2 auf, das Hydrierungsprodukt liess sich durch Chromatographieren in die beiden Isomeren VII und VIII auftrennen. Das Isomere VII lieferte bei der nun folgenden CrO_3 -Oxydation die Verbindung IX. Ihre Analyse zeigte überraschen-

¹⁾ L. H. Sarett, Am. Soc. **70**, 1454 (1948).

²⁾ K. Meier, Helv. **32**, 1993 (1949).

derweise auch hier den Verlust der Methoxygruppe an. Der Körper XII liess sich unter Aufnahme von 2 Mol H_2 hydrieren. Das Hydrierungsprodukt XV zeigte den gleichen Smp. wie die Verbindung IX, der Misch-Smp. zeigte jedoch eine Depression von 30° .

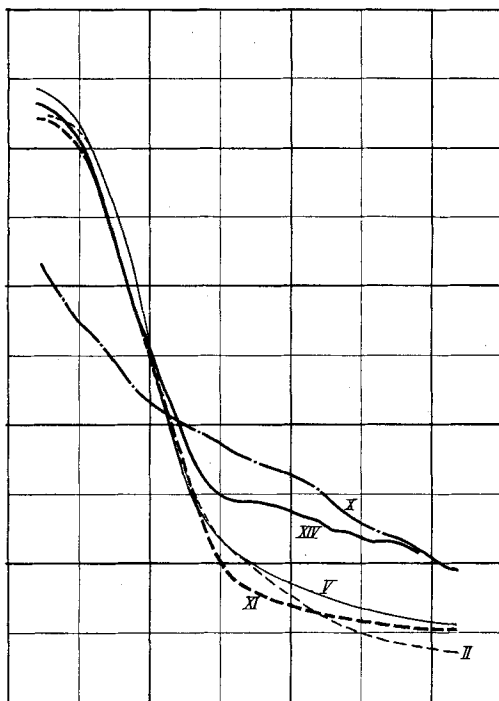
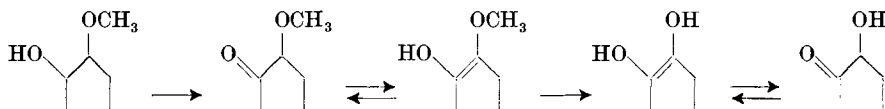
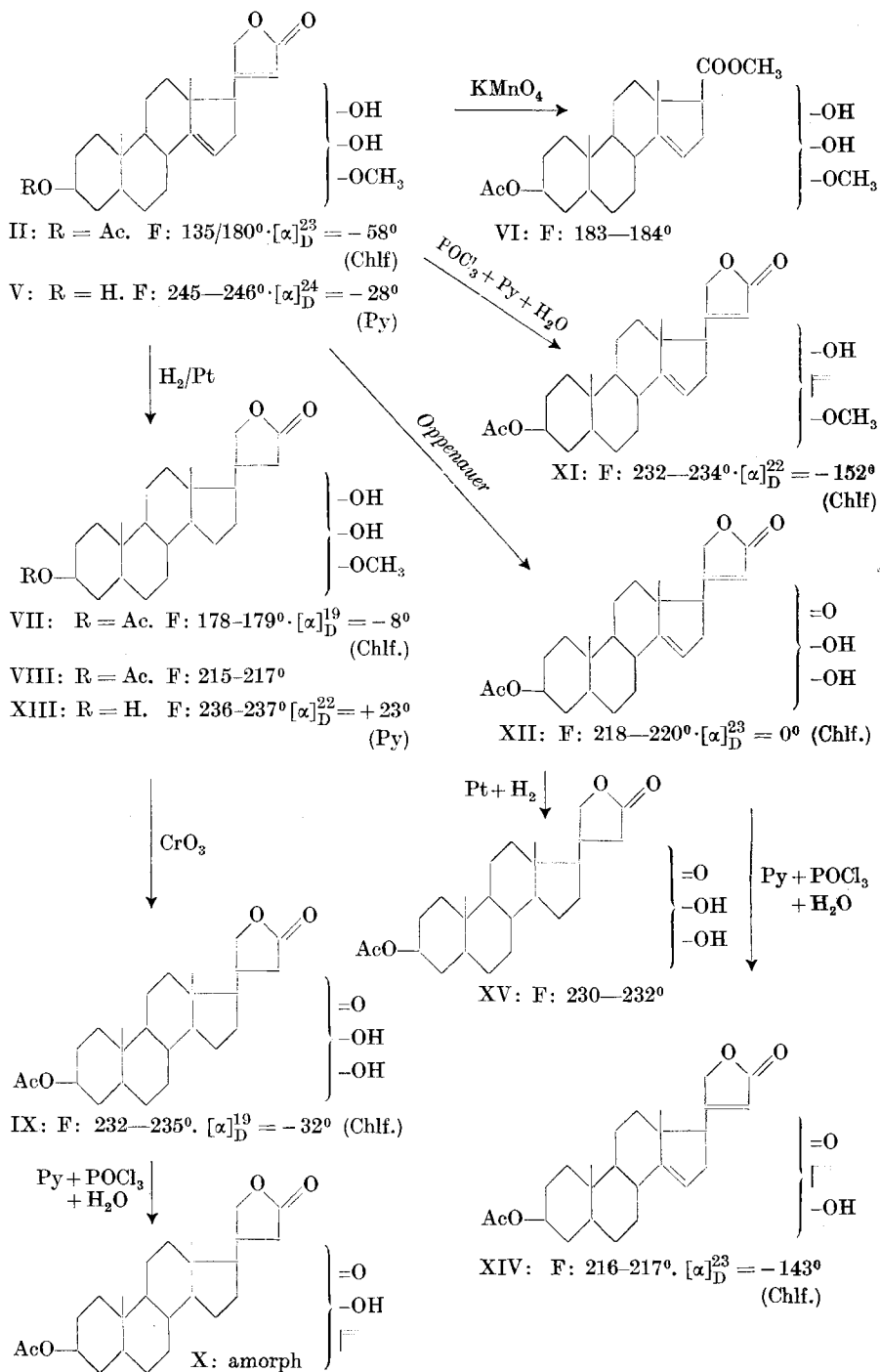


Fig. 3.

UV.-Spektren der Subst. II, V, X, XI, und XIV in Alkohol.

Durch Kombination der Resultate der Acetylierung und der Oxydation kommt man zum Schluss, dass die eine der beiden im Acetat II vorhandenen Hydroxylgruppen sekundär und schwer acetylierbar sein muss. Ob man der zweiten Hydroxylgruppe sekundären oder tertiären Charakter zusprechen soll, können wir noch nicht entscheiden. Für das Verschwinden der für Herzglykosidgenine ganz ungewöhnlichen Methoxygruppe ist eine Erklärung nur schwer zu finden. Wir haben daran gedacht, dass die oxydierbare Hydroxyl- und die Methoxyfunktion benachbart stehen könnten, und dass es bei der Oxydation nach folgendem Schema zur Ausbildung einer intermediären, leicht spaltbaren Enolfunktion kommen könnte; allerdings ist diese Idee völlig unbewiesen:





Ein derartiges Produkt hätte unter Wasserabspaltung in ein α - β -ungesättigtes Keton übergehen müssen. Die UV.-Spektren der entsprechenden Wasserabspaltungsprodukte X und XIV schlossen jedoch das Vorliegen eines solchen Ketons aus.

γ) *Das Acetat III*: Dieses Anhydrogeninderivat enthält auf Grund der Analyse und des UV.-Spektrums eine Carbonylgruppe. Trotz des mangelnden Reduktionsvermögens gegenüber Silberdiammin und fuchsinschwefliger Säure dachten wir an eine Aldehydgruppe in 10-Stellung. Eine CrO_3 -Oxydation lieferte aber grösstenteils unverändertes Ausgangsmaterial, die Säurerefraktion war sehr klein, der daraus hergestellte Methylester war amorph. Ob es sich beim Acetat III um ein acetyliertes Anhydrostrophanthidin handelt oder nicht, lässt sich vorläufig noch nicht sagen.

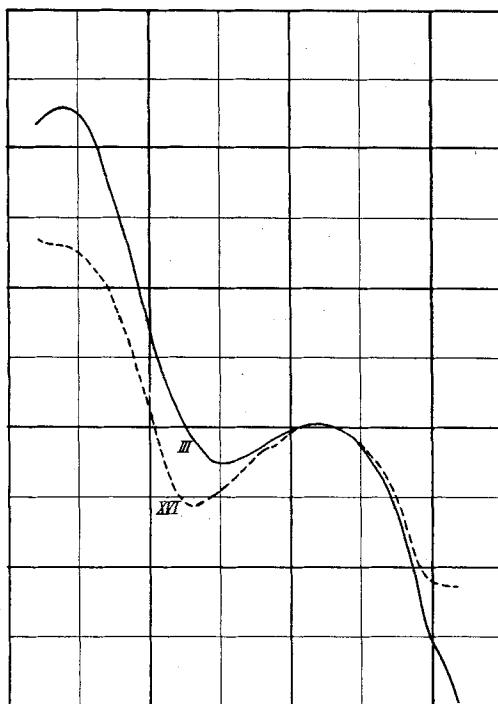


Fig. 4.

UV.-Spektren von Acetat III und Hydrierungsprodukt XVI
in Alkohol.

Nach der Analyse ist neben 2 Acetylgruppen eine einzige Hydroxylgruppe vorhanden. Durch Phosphoroxchlorid und Pyridin unter Zusatz einer Spur Wasser lässt sich diese nicht entfernen. Bei der Hydrierung nimmt das Acetat III 2 Mol H_2 auf, das Spektrum des

Tetrahydroprodukts XVI zeigt immer noch die unveränderte Carbonylbande bei 300 $m\mu$.

Ich danke Herrn Prof. Dr. *Schlittler* für das stets gezeigte Interesse und für die jederzeit gewährte Hilfe bei der Ausführung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil.

A. Extraktion der Rinde.

Die gut gemahlene, trockene Rinde wurde in einer *Soxhlet*-Apparatur mit Petroläther von Fetten und Wachs befreit. Dann füllte man jeweils 8—10 kg in einen V2A-Perkolator ein und liess 48 Std. maserieren. Daraufhin liess man mit einer Tropfgeschwindigkeit von 1—2 Tropfen pro Sekunde perkolieren. Dies wurde jeweils so lange fortgesetzt, bis eine Probe des Extraktes auf der Zunge nicht mehr bitter schmeckte. Man erhielt auf diese Weise 50 l Methanolextrakt. Davon gingen jeweils die ersten 20 l zur Weiterverarbeitung, die nachlaufenden 30 l wurden zur frischen Füllung des nächstfolgenden Perkolators benützt. Die ersten 20 l wurden in Portionen von 10 l im Vakuum auf total ca. 5—6 l eingengt, wobei die Innentemp. 20—25° nicht überstieg (Aussentemp. 40—50°). Derart liessen sich ca. 70% des Methanols regenerieren. Die erhaltenen Konzentrate wurden im Anschluss daran mit Bleihydroxyd behandelt.

In einer 15-l-Flüssigkeitsflasche wurde obige konzentrierte methanolische Lösung (5—6 l) mit einer Aufschlammung von $Pb(OH)_2$ (erhalten durch Fällen aus 10 kg Bleiacetat) in 3 l 70-proz. Methanol 15 Std. auf der Maschine geschüttelt. Man trennte darnach mit einer Korbzentrifuge von der Bleifällung ab und schlammte den Rückstand noch dreimal mit je 2 l 80-proz. Methanol auf. Das auf diese Weise erhaltene gelbe Filtrat wurde mit H_2SO_4 auf ein pH von 5—6 gestellt. Dies führte jeweils zu einer Aufhellung mit gleichzeitiger Trübung der Lösung, die durch Filtration mit einem Faltenfilter geklärt wurde.

Die resultierende helle, klare Lösung engte man im Vakuum bei einer Innentemp. von 20—30° bis auf 2 l ein. Das so erhaltene wässrige Konzentrat war ausserordentlich stark bitter und zeigte eine sehr starke *Legal*-Färbung. Nun behandelte man die wässrige Lösung der Gesamtglykoside, die wenig einer unlöslichen Substanz enthielt, wie folgt. Im 5-l-Scheidetrichter schüttelte man nacheinander mit folgenden Lösungsmitteln aus:

1. Dreimal mit je 1 l Äther (die ungelösten Bestandteile gingen dabei in Lösung).
2. Dreimal mit je 1 l Chloroform.
3. Zehnmal mit je 1 l eines Gemisches von Chloroform-Alkohol (2:1)¹⁾.

Die auf diese Art aus 120 kg Rinde erhaltenen Extrakte lieferten nach dem Trocknen mit Natriumsulfat und nach Eindampfen und Trocknen im Hochvakuum folgende Ausbeuten:

1. Ätherextrakt = Extrakt A, 59 g braunschwarzes Öl entspr. 0,49‰.
2. Chloroformextrakt = Extrakt B, 29 g brauner Schaum entspr. 0,24‰.
3. Chloroform-Alkoholextrakt = Extrakt C, 1641 g hellgelbes Pulver entspr. 1,37%.

In einer Probe wurde noch festgestellt, dass jeweils vom Extrakt C durchschnittlich 2,35% der Ausbeute in der Sodalösung und im Waschwasser verloren ging, was auf die Gesamtausbeute einen Verlust von ca. 42 g ausmacht.

B. Chromatographieren der Fraktion C.

1. Aus Rinde von Kumasi. 88 g der Glykoside wurden in Chloroform-Alkohol (9:1) gelöst auf eine in Chloroform erstellte Säule aus 1800 g Floridin XXS gegeben. Man entwickelte mit demselben Gemisch.

¹⁾ Wobei jeder Auszug hintereinander 150 cm^3 eiskalte Sodalösung und 150 cm^3 Wasser passieren musste.

Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	mg	Beobachtungen
0	4 l Vorlauf		1000	gelbrotes Öl, verworfen
1	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	10	amorpher Firnis
2	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	500	Fette oder Wachse (petroläther-löslich)
3	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	100	Fette oder Wachse (petroläther-löslich)
4	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	730	brauner Schaum mit arom. Geruch
5	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	1120	brauner Schaum mit arom. Geruch
6	Chloroform-Alkohol (9:1)	1000	3670	hellgelber amorpher Schaum, mit MeOH spontane Kristallisation
7	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	2350	heller Schaum
8	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	2700	heller Schaum
9	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	1750	heller Schaum
10	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	1950	heller Schaum
11	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	2090	heller Schaum
12	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	2360	heller Schaum
13	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	2380	heller Schaum
14	Chloroform-Alkohol (4:1)	1000	5300	heller Schaum
15	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	4240	heller Schaum
16	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	4250	heller Schaum
17	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	4260	heller Schaum, mit MeOH Kristalle
18	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	3820	heller Schaum, mit MeOH Kristalle
19	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	2880	heller Schaum, mit MeOH Kristalle
20	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	1920	heller Schaum
21	Chloroform-Alkohol (4:1)	1000	2120	heller Schaum
22	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	430	heller Schaum
23	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	260	heller Schaum
24	Chloroform-Alkohol (1:1)	1000	1000	heller Schaum, mit MeOH Gallerte
25	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	810	heller Schaum, mit MeOH Gallerte
26	Chloroform-Alkohol + Alkohol	500	1130	heller Schaum, mit MeOH Gallerte
27	Alkohol	1000	1830	heller Schaum, in MeOH gut löslich
28	Alkohol	500	1130	heller Schaum, in MeOH gut löslich
29	Alkohol	500	840	heller Schaum
30	Alkohol + MeOH	500	1810	heller Schaum
31	MeOH	500	4390	heller Schaum
32	MeOH	500	4180	heller Schaum
33	MeOH	500	4180	heller Schaum
34	MeOH	500	2690	heller Schaum
35	MeOH	500	1290	heller Schaum
36	MeOH	500	1030	gelbroter Schaum
37	MeOH	500	780	heller Schaum
38	MeOH	500	620	heller Schaum
39	MeOH	500	520	heller Schaum
40	MeOH	500	350	heller Schaum
41	MeOH	500	330	heller Schaum
42	MeOH	500	260	heller Schaum, mit MeOH + Äther
43	MeOH	2000	850	heller Schaum, Gallerte
44	MeOH	2000	830	heller Schaum
Total eluierbar			82,64 g	

Mansonin A: Aus den Fraktionen 4—6 erhielt man ein sehr schön in Nadeln kristallisierendes Produkt, das nach wiederholtem Umkristallisieren bei 162—163° schmilzt (nach vorangehendem Sintern bei 150°).

Zur Analyse trocknete man das Präp. 14 Std. bei 30° im Hochvakuum. Man erhielt aber erst nach Trocknen im Schiffchen bei 0,02 mm Hg und 100° während 2 Std. oder nach Trocknen beim Smp. konstante C,H-Werte.

C ₃₁ H ₄₆ O ₁₁ (594,678)	Ber. C 62,61	H 7,80%
Trocknet 14 Std./50°/i.H.V.	Gef. ,, 61,22; 60,89;	„ 7,76; 7,69%
Im Schiffchen i.H.V. 0,02 mm/100°/2 Std.	Gef. ,, 62,44; 62,40;	„ 7,86; 8,08%
Geschmolzen bei 165° i.H.V.	Gef. ,, 62,59%	„ 7,80%
2-OCH ₃	Ber. 10,44%	Gef. 10,67; 10,21%
	Äquiv.-Gew. Gef. 610; 664 (Lactontitration)	

$$[\alpha]_D^{24} = +22^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,937/\text{Pyridin})$$

Mansonin B: Aus den Fraktionen 17—18 konnten 300 mg eines kristallinen Produktes gewonnen werden. Aus Methanol, in welchem es nicht sehr gut löslich ist, kristallisiert es in feinen, seidigen Nadeln. Smp. 260—262° unter starker Zers. (sintert bei 252°). Zur Analyse trocknete man das Präp. 2 Std. bei 100° im Schiffchen.

1. 0,02 mm Hg/100°/2 Std.	Gef. C 61,55	H 8,14	OCH ₃ 7,83%
2. 0,01 mm Hg/100°/2 Std.	„ 61,34	„ 7,88	
Äquiv.-Gew.	Gef. 471		

$$[\alpha]_D^{25} = -26^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,955/\text{Pyridin})$$

Mansonin C: Aus den Fraktionen 24—27 erhielt man eine Gallerte, die durch Kochen in Methanol in ein mikrokristallines Pulver überging. Total 850 mg. Man reinigte durch Kristallisation aus Methanol. Smp. 258—259°. Zur Analyse trocknete man das Präp. 14 Std. bei 80° im Hochvakuum.

C ₂₉ H ₄₂ O ₁₀ (550,626)	Ber. C 63,25	H 7,69%	
	Gef. ,, 63,13; 63,58;	„ 7,55; 7,49	OCH ₃ 0,0% Äquiv.-Gew. 550
	[α] _D ²² = -30° ± 4° (c = 1,11/Pyridin)		

Mansonin D: Aus Fraktion 30 erhielt man eine kristalline Substanz, die aus MeOH in feinen, verfilzten Nadeln anfällt. Smp. 254—255°. Zur Analyse trocknete man das Präp. 14 Std. bei 80° im Hochvakuum.

C ₃₅ H ₅₄ O ₁₄ (698,782)	Ber. C 60,15	H 7,79%
C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄ (696,766)	Ber. ,, 60,33	„ 7,52%
	Gef. ,, 60,05; 59,98;	„ 7,71; 7,47%
Im Schiffchen 2 Stunden/120°/0,02 mm	Gef. ,, 60,15%	„ 7,99%
Gef. —OCH ₃ 0,0%	Äquiv.-Gew. Ber. 699	Gef. 650
	[α] _D ²² = -40° ± 4° (c = 0,62/Alkohol); -33° ± 4° (c = 0,54/Pyridin)	

Mansonin E: Aus Fraktion 34 erhielt man 50 mg einer Substanz, die aus wässrigem Methanol in feinen Nadelchen kristallisiert. *Legal*-Probe positiv. Smp. 243—244° u. Z. nach Sintern bei 239°. Zur Analyse trocknete man 4 Std. bei 90° und 0,05 mm, und dann 2 Std. bei 100° und 0,01 mm im Schiffchen.

C ₃₅ H ₅₂ O ₁₄ (696,766)	Ber. C 60,33	H 7,52%	Gef. C 60,32	H 7,62%
	[α] _D ²³ = -30° ± 4° (c = 0,905/Pyridin)			

2. Aus Rinde von Man. 100 g des Extraktes C wurden in Chloroform-Alkohol (9:1) gelöst und auf eine in Chloroform erstellte Säule von 3 kg Floridin gegeben. Man entwickelte mit demselben Lösungsmittelgemisch.

Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	g	Beobachtungen
1	Chloroform-Alkohol (9:1)	1000		sehr wenig Fett
2	Chloroform-Alkohol (9:1)	500		sehr wenig Fett
3	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,060	sehr wenig Fett
4	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,050	gelbbrauner amorpher Firnis
5	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,130	gelbbrauner amorpher Firnis
6	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,160	gelbbrauner amorpher Firnis
7	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,050	gelbbrauner amorpher Firnis
8	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,180	gelbbrauner amorpher Firnis
9	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,160	braune amorphe Schmierer, die nach 14 Tagen noch keine Tendenz zum Kristallisieren zeigten kein Mansonin A
10	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,150	
11	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,080	
12	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,160	
13	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,150	
14	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,110	
15	Chloroform-Alkohol (9:1)	500	0,250	
16	Chloroform-Alkohol (9:1)	1000	0,470	gelber Schaum
17	Chloroform-Alkohol (9:1)	1000	0,685	gelber Schaum
18	Chloroform-Alkohol (9:1)	1000	0,850	gelber Schaum
19	Chloroform-Alkohol (9:1)	1000	0,750	gelber Schaum
20	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	0,400	heller Schaum
21	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	0,470	heller Schaum
22	Chloroform-Alkohol (4:1)	600	0,670	heller Schaum
23	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	3,240	heller Schaum
24	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	3,430	weisser Schaum
25	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	1,720	weisser Schaum
26	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	1,530	weisser Schaum, Mansonin B
27	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	3,040	weisser Schaum, Mansonin B
28	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	2,570	weisser Schaum, Mansonin B
29	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	3,460	weisser Schaum, Mansonin B
30	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	2,290	weisser Schaum
31	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	1,820	weisser Schaum
32	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	1,030	weisser Schaum
33	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	0,890	weisser Schaum
34	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	0,700	weisser Schaum
35	Chloroform-Alkohol (4:1)	1000	1,910	Kristalle mit MeOH
36	Chloroform-Alkohol (4:1)	1000	2,640	Kristalle, Mansonin C
37	Chloroform-Alkohol (4:1)	500	1,370	Kristalle, Mansonin C
38	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	2,150	Kristalle, Mansonin C
39	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	2,840	Kristalle, Mansonin C
40	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	2,850	Kristalle, Mansonin C
41	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	3,540	Kristalle, Mansonin C
42	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	10,900	z. T. Kristalle
43	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	12,220	z. T. Kristalle
44	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	11,730	Gallerte, mit MeOH krist.
45	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	7,370	Gallerte, Mansonin D

Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	g	Beobachtungen
46	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	2,810	Gallerte, Mansonin D
47	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	1,470	Gallerte, Mansonin D
48	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	0,830	Gallerte, Mansonin D
49	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	0,180	Gallerte, Mansonin D
50	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	0,150	Gallerte, Mansonin D
51	Chloroform-Alkohol (1:1)	500	0,100	Gallerte, mit MeOH krist.
52	Alkohol	500	0,120	Gallerte, mit MeOH krist.
53	MeOH	500	0,160	braun, kristallin
54	MeOH	1000	1,440	kristallin, Mansonin E
55	MeOH	1000	0,400	kristallin, Mansonin E
56	MeOH	3000	0,180	kristallin, Mansonin E
Total eluiert			98 g	

C. Acetylierung des Extraktes C.

100 g der rohen Glykoside wurden in 600 cm³ abs. Pyridin gelöst und mit 500 cm³ reinem Acetanhydrid versetzt. Nach 2—3 Min. trat leichte Erwärmung auf. Man liess gut verschlossen 5 Tage stehen. Dann engte man auf dem Wasserbade i. V. möglichst gut ein und nahm den Rückstand in Benzol auf. Die braunrote Lösung wurde dann mit 2-n. HCl ausgeschüttelt. Dabei fielen aus der benzolischen Lösung braune Schmierer aus. Man trennte durch Abgiessen. Die Schmierer lösten sich gut in Chloroform. Die beiden Lösungen arbeitete man getrennt auf.

Nach dem Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen hinterliessen die Benzol-lösung 50,31 g hellen Schaum, die Chloroformlösung 95,27 g gelben Schaum; total 145,58 g. Man liess beide Fraktionen in wenig abs. Alkohol stehen. Nach 30 Tagen war noch keine Kristallisation eingetreten.

Die beiden Fraktionen wurden nun getrennt chromatographiert. Die benzollösliche Fraktion (50,31 g) wurde an 1,5 kg neutralem Al₂O₃ adsorbiert. Keine der 52 eluierten Fraktionen konnte kristallisiert werden. Die chloroformlöslichen Fraktionen chromatographierte man an 2,85 kg Flodidin XXS. Aus keiner der 77 Fraktionen konnten Kristalle gewonnen werden.

Die Fraktionen wurden gesammelt und vorderhand nicht weiter verarbeitet.

D. Hydrolyse der Glykoside (Zuckerspaltungen).

1. *Mannich*-Spaltung von Mansonin A und C: a) *Mansonin A*. 490 mg rohes Mansonin A wurden in 25 cm³ Aceton gelöst und mit 0,25 cm³ konz. HCl versetzt. Dann liess man 14 Tage bei Zimmertemp. stehen. Im Anschluss daran versetzte man mit 25 cm³ Wasser und engte i. V. bei 35° ein, bis alles Aceton entfernt war. Dann gab man 10 cm³ MeOH zu und vertrieb dieses kalt i. V. Hierauf versetzte man das Gemisch mit 25 cm³ MeOH und erwärmte den Kolbeninhalt 30 Min. am Rückfluss auf dem Wasserbad. Dann entfernte man i. V. das Methanol und schüttelte den wässrigen Rückstand wie folgt aus:

Einmal mit 30 cm³ Chloroform und neunmal mit je 10 cm³ Chloroform. Die Auszüge passierten hintereinander 1) 3 cm³ H₂O, 2) 3 cm³ 2-n. Soda und 3) 3 cm³ H₂O. Die vereinigten Chloroformauszüge trocknete man mit Natriumsulfat und dampfte sie ein. Nach dem Trocknen i. V. erhielt man 170 mg eines amorphen, hellgelben Firnis.

Die ursprüngliche wässrige Lösung wurde hierauf noch zehnmal mit je 10 cm³ Chloroform-Alkoholgemisch (2:1) ausgezogen. Die Auszüge passierten ebenfalls die obigen Lösungen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 310 mg weissen Schaum, der noch

mit MeOH und Kohle behandelt und filtriert wurde. Nach Trocknen i. V. verblieben noch 250 mg eines farblosen amorphen Firnis, den man nicht zur Kristallisation bringen konnte.

Die wässrige, zuckerhaltige Phase wurde mit frisch gefällttem Silbercarbonat bei 0° geschüttelt und durch ein mit Ag_2CO_3 gedichtetes Filter gesaugt. Darauf liess man bei Zimmertemp. H_2S einwirken, gab Norit zu und filtrierte. Dann wurde i. V. bei 30° eingedampft. Den amorphen, trockenen Rückstand nahm man mit abs. Alkohol auf und filtrierte durch ein Glasfilter. Nach dem Eindampfen i. V. blieben 45 mg eines farblosen Öles zurück, welches auch nach langem Stehen keine Kristalle zeigte.

b) *Mansonin C*. 400 mg des Glykosides wurden in 30 cm³ Aceton aufgeschlämmt und mit 0,2 cm³ konz. HCl bei Zimmertemp. versetzt. Man liess hierauf unter öfterem Umschütteln stehen. Der Kolbeninhalt blieb milchig trübe. Nach 3, 6 und 18 Tagen wurden je 5 cm³ MeOH zugegeben. Nach 22 Tagen begann man mit der Aufarbeitung. Durch Ausschütteln wie oben wurden je 50 mg im Chloroformauszug und im Chloroform-Alkohol-Auszug erhalten. Den wässrigen Anteil versuchte man nun durch Zugabe von 5 cm³ 2-n. H_2SO_4 und Erwärmen auf dem Wasserbade energischer zu verseifen. Durch Aufnehmen mit Chloroform erhielt man daraus 40 mg amorphes Produkt. Der wässrige Rückstand wurde i. V. bis zur Trockene eingedampft. Man erhielt so ein weisses Pulver, das aus MeOH in Nadeln kristallisierte. Smp. 265° u. Z.

2. Hydrolyse der Glykoside C mit H_2SO_4 : 100 mg des Extraktes C wurden in 2,5 l Methanol gelöst und nach Zugabe von 2,5 l 0,1-n. H_2SO_4 1 Std. auf dem Wasserbade am Rückfluss erhitzt. Im Anschluss daran engte man i. V. auf 1,5 l ein. Diese Lösung wurde nun sechsmal mit je 1 l Chloroform ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten jeweils 3 Scheidetrichter mit 200 cm³ Wasser, 200 cm³ eiskalter Soda und 200 cm³ Wasser. Die vereinigten Auszüge trocknete man mit Natriumsulfat und dampfte sie ein. Den Rückstand, einen gelben amorphen Firnis, trocknete man im Hochvakuum. Ausbeute 4,5 g.

Die wässrige Mutterlauge schüttelte man sechsmal mit je 1,2 l eines Gemisches von Chloroform-Alkohol (2:1) aus. Nach dem Trocknen der vereinigten Auszüge wurden 77 g des Ausgangsmaterials als heller Schaum zurückgewonnen. *Legal*-Probe positiv, sehr bitterer Geschmack.

3. *Mannich*-Spaltung der rohen Glykoside: Man löste 200 g des hellgelben amorphen Extraktes C in 4 l Aceton und versetzte die Lösung bei Zimmertemperatur mit 100 g konzentrierter HCl. Der gut verschlossene Kolben wurde bei Zimmertemp. im Dunkeln stehengelassen. Schon nach 1 Tage setzte Kristallisation in harten kleinen Drusen ein. Nach 10 Tagen waren schon reichlich Kristalle in prachtvollen Drusen vorhanden. Nach 29 Tagen wurde von den Kristallen abgesaugt und diese gut mit Aceton gewaschen. Ausbeute an Acetonverbindung 38,78 g. Das Filtrat engte man auf einen Drittel des ursprünglichen Volumens ein und liess es erneut bei Zimmertemp. im Dunkeln stehen. Es trat wiederum Kristallisation ein. Man trennte wieder ab und vereinigte die erhaltenen 3,8 g mit obigem Material. Fraktion 1 = Acetonverbindung: 42,58 g.

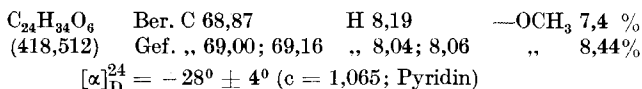
Die Acetonmutterlauge engte man nun i. V. kalt ein, bis kein Aceton mehr vorhanden war. Dann versetzte man den braunschwarzen Rückstand mit 2 l Methanol und erwärmte das Gemisch eine Std. am Rückfluss. Hierauf wurde das Methanol bei niedriger Temp. i. V. entfernt und der Rückstand in 3 l Chloroform aufgenommen. Bei Zugabe von Wasser fällt aus der Chloroformlösung eine weisse kristalline Substanz aus, die sowohl in Wasser als auch in reinem Chloroform unlöslich ist. Fraktion 2: 12 g weisses krist. Pulver.

Die Chloroformlösung wäscht man noch mit Wasser bis zur neutralen Reaktion, trocknet sie mit Natriumsulfat und engt sie ein. Man erhielt einen teerartigen Rückstand, der einen angenehmen heuartigen Geruch aufweist. Man behandelte diesen Rückstand mit heissem Petroläther. Der unlösliche Rückstand wurde in möglichst wenig Methanol gelöst. Nach einiger Zeit trat Kristallisation in feinen Nadeln ein. Fraktion 3: 6,4 g harte Nadeln.

Die verbleibende Mutterlauge trocknete man im Hochvakuum. Es verblieben 83 g eines braunschwarzen Schaumes. Man versuchte durch Chromatographieren an Floridin XXS noch weiteres kristallines Material zu erhalten. Es fielen aber nur ca. 400—500 mg an.

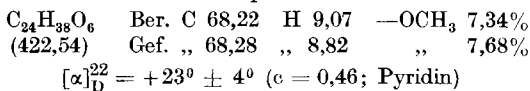
Mansonin F: Die wässrige Mutterlauge schüttelte man zur Zurückgewinnung unverseifter Glykoside dreimal mit je 1 l Chloroform-Alkohol (2:1) aus. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 6,59 g einer kristallinen Substanz, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol den konstanten Smp. 266—268° zeigte.

a) *Untersuchung von Fraktion 1 aus der Mannich-Spaltung*: 41 g der Aceton-Verbindung wurden in 4 l Äthanol gelöst, mit 10 cm³ konz. HCl versetzt und 1/2 Std. auf dem Wasserbade am Rückfluss erhitzt. Dann engte man i. V. ein und liess erkalten. Man versuchte durch Kristallisation zu reinigen. Nach 16maliger Kristallisation erhielt man 1 g weisse Nadelbüschel mit dem konstanten Smp. 247—249° (Genin V). Dieses Produkt löst sich nicht mehr gut in Chloroform. Man trocknete das Präparat 10 Std. bei 70° im Hochvakuum. Ausserdem trocknete man die Verbrennungsprobe 2 Std. bei 120° und 0,01 mm.



Tetrahydrogenin XIII: 1,75 g Substanz aus den Mutterlauge des Genins V wurden in Eisessig in Gegenwart von 100 mg Platin unter Wasserstoff geschüttelt. Die Aufnahme verlief sehr langsam und blieb bei der theoretischen Menge stehen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man ein kristallines Produkt, das bei 135° Lösungsmittel abgab und bei 220° schmolz. Man reinigte durch Chromatographie und Kristallisation aus MeOH und erhielt sehr schöne, derbe prismatische Nadeln. Nach dem Trocknen i. V. bei 70° schmolz das Produkt bei 236—237°. Ausbeute: 1,1 g.

Zur Analyse trocknete man das Präparat i. HV. bei 70° 12 Std.



Acetat II: 0,715 g des Genines aus Fraktion 1 wurden in 8 cm³ Pyridin gelöst und mit 8 cm³ Acetanhydrid versetzt. Dann liess man gut verschlossen bei Zimmertemp. stehen. Nach 24 Std. dampfte man die Lösung i. V. weitgehend ab und gab den flüssigen Rückstand auf Eis. Die ausgefallene feste Substanz nahm man in Chloroform-Äther (1:4) auf. Man wusch nun hintereinander mit H₂O, 2-n. HCl, eiskalter Sodalösung, 2-n. HCl und zum Schluss mit Wasser. Nach dem Trocknen und Eindampfen der erhaltenen Lösung hinterblieben 970 mg weisser Schaum. Beim Stehenlassen in Methanol kristallisierte das Acetat II in derben Drusen. Man reinigte durch Adsorption an 30 g Al₂O₃ in Benzol.

Mit Chloroform-Äther (1:1) eluierte man 100 mg Acetat, das man erst nach Dehydratisierung kristallisieren konnte und das mit dem später beschriebenen Anhydroacetat XI vom Smp. 232—234°, das aus dem Acetat II gewonnen werden kann, identisch ist.

Mit Chloroform eluierte man 670 mg des Acetates II, das bei 125° zu sintern anfängt und bei 135° einen festen Tropfen bildet, der bei 175—180° zerfliesst. Dieses Produkt ist identisch mit dem Acetat, das aus Fraktion 3 gewonnen werden konnte.

Aus den Mutterlauge des Genins V isolierte man 1 g schöne Nadeln vom konst. Smp. 215—220°. Man löste in 10 cm³ Pyridin, versetzte mit 10 cm³ Acetanhydrid und liess 24 Std. stehen. Nach Giessen auf Eis und üblicher Aufarbeitung erhielt man 1,13 g eines weissen Schaumes, den man an 40 g Al₂O₃ chromatographierte. Mit den Äther- und Chloroform-Ätherfraktionen eluierte man 600 mg des Acetates II vom Smp. 135/180°. Daneben erhielt man noch ölige, bisher nicht kristallisierbare Produkte.

Sämtliche Mutterlauge der Fraktion 1 wurden nun vereinigt und im Vakuum zur Trockene verdampft. Den gut pulverisierten Rückstand nahm man in Chloroform auf, schüttelte bei Zimmertemperatur 1 Std. und filtrierte vom ungelösten Material ab. Chloroformlöslicher Teil: 13 g; chloroformunlöslicher Teil: 16 g.

Chloroformlöslicher Teil aus Fraktion 1: 13 g Substanz wurden bei Zimmertemp. in 130 cm³ Pyridin gelöst und mit 130 cm³ Ac₂O versetzt. Man liess 24 Std. stehen. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man 14 g eines farblosen Schaumes, den man an 420 g Al₂O₃ chromatographierte.

Aus den Äther- und den Chloroform-Äther-Fractionen erhielt man 3 g des Acetates II. Die nicht kristallisierbaren Mutterlaugen wurden gesammelt und aufbewahrt.

Chloroformunlöslicher Teil aus Fraktion 1: 16 g Substanz wurden in 160 cm³ Pyridin gelöst und bei Zimmertemp. mit 160 cm³ Ac₂O versetzt. Dann liess man 24 Std. stehen. Nach der üblichen Aufarbeitung erhielt man 16 g farblosen Schaum. Man chromatographierte diese Substanz an 450 g Al₂O₃. Aus den Benzol-Ätherfraktionen kristallisierte ein Gemisch, das sich mechanisch trennen liess. Die schwerlösliche Komponente kristallisierte in feinen verfilzten Nadeln, Smp. 214—217°. Die leichter lösliche Substanz fiel in harten Kristalldrüsen an, die bei 135/180° schmolzen und mit dem früher erhaltenen Acetat II identisch waren. Die Ätherfraktionen zeigten dasselbe Bild. Neben den verfilzten Nadeln vom Smp. 209—213° erhielt man das Acetat II mit dem Smp. 135/180°. Auch die Chloroform-Äther-Fractionen erwiesen sich als Gemisch dieser beiden Komponenten. Die Substanzen die man mechanisch vom Acetat II trennen konnte, chromatographierte man nochmals, wodurch 2 g des Acetates III gewonnen wurden.

Aus den Benzol-Ätherfraktionen erhielt man 1,5 g des Acetates I, das man durch Chromatographie reinigte. Aus Methanol kristallisierte das Produkt in feinen verfilzten Nadeln vom Smp. 212—214°. Die Analysen wurden nach Trocknen bei 80° während 6 Std. bei 0,1 mm ausgeführt. Vor der Verbrennung trocknete man im Schiffchen bei 120° und 140° bei 0,01 mm Hg.

C ₂₉ H ₃₈ O ₈	Ber. C 67,68	H 7,44	—OCH ₃ 0,0%
(514,594)	Gef. „ 67,94; 67,92	„ 7,48; 7,37	„ 0,7%
Verseif.-Äquiv.	Ber. 129	Gef. 144	

$$[\alpha]_D^{23} = 0^{\circ} \text{ (Chloroform)}$$

Ausbeuten aus Fraktion 1: Acetat I 1,5 g; Acetat II 5 g; Acetat III 2 g.

b) *Untersuchung von Fraktion 2 aus Mannich-Spaltung (Acetate III und IV): Acetylierung:* 25, 53 g wurden 12 Std. im Hochvakuum bei 65° getrocknet, dann in 150 cm³ abs. Pyridin aufgenommen und mit 150 cm³ Acetanhydrid bei Zimmertemperatur versetzt. Dann liess man die Mischung gut verschlossen bei Zimmertemperatur stehen. Die Substanz war nicht vollständig in Lösung gegangen, und nach 12 Std. trat eine zunehmende Kristallausscheidung auf. Nach 24 Std. wurde der Kolbeninhalt in einem Scheidetrichter auf 4 kg Eis gegossen und das Gemisch gut gerührt. Es fiel dabei ein weisses Pulver aus. Dann wurden 4 l Chloroform zugefügt und gut geschüttelt. Den erhaltenen Chloroformauszug behandelte man nacheinander mit 2-n. HCl, 2-n. eiskalter Sodalösung und zuletzt mit Wasser bis zur neutralen Reaktion. Nach dem Trocknen und Eindampfen hinterblieben 31 g eines grauweissen, schuppigen Produktes. Beim Übergiessen mit Chloroform erwiesen sich 11 g als unlöslich; diese unlösliche Fraktion wurde abgesaugt und das Filtrat in 2 Hälften chromatographiert.

Mit Benzol-Chloroform (1:2) eluierte man das Acetat III. Es wurde bis zum konstanten Smp. aus Methanol umkristallisiert; man erhielt 790 mg sehr schöne, harte Nadeln, Smp. 266—267°.

Zur Analyse trocknete man das Präparat 5 Std. bei 70° und 0,1 mm. Die Verbrennungsprobe wurde noch im Schiffchen bei 0,01 mm bei 120° 2 Std. getrocknet.

C ₂₇ H ₃₄ O ₈	Ber. C 66,65	H 7,04	—OCH ₃ 0%
(486,542)	Gef. „ 66,71; 66,48; 66,56	„ 7,25; 6,90; 6,87%	„ 0%
	Verseif.-Äquiv. Ber. 161	Gef. 153;	

$$[\alpha]_D^{22} = -128^{\circ} \pm 4^{\circ} \text{ (} c = 0,727; \text{ Pyridin)}$$

Mit den ersten Fraktionen, unmittelbar vor dem Acetat III, isolierte man 2,93 g des Acetates IV, das in seidigen, verfilzten Nadeln kristallisierte. Man kristallisierte aus MeOH bis zum konstanten Smp. 229—233°. Im Papierechromatogramm erwies sich die

Substanz als einheitlich. Zur Analyse trocknete man das Präparat 5 Std. bei 70° und 0,1 mm. Die Verbrennungprobe wurde noch im Schiffchen bei 0,01 mm bei 120° 2 Std. getrocknet.

$C_{29}H_{38}O_8$	Ber. C 67,68	H 7,44	$-OCH_3$ 0%
(514,594)	Gef. „ 67,64; 67,45	„ 7,24; 7,54	„ 0%
	Verseif.-Äquiv. Ber. 128	Gef. 147	

$$[\alpha]_D^{23} = +19^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 0,732; \text{Chloroform})$$

Mit Chloroform eluierte man 10 mg feiner Nadeln, die bei 228—232° schmelzen. Dieses Produkt wurde nicht untersucht. Das Chromatogramm der zweiten Aliquote zeigte das analoge Resultat.

11 g der in Benzol-Chloroform (1:2) unlöslichen Substanz wurden aus MeOH umkristallisiert. Sie lieferten so 9 g Acetat III vom Smp. 264—270°.

Hydrierung des Acetates III: 234,2 mg Acetat wurden in 25 cm³ Eisessig mit 50 mg Platin hydriert. In 2 deutlichen Stufen werden 21,5 cm³ H₂ aufgenommen (Theorie: 21,5 cm³). Nach dem Filtrieren und Eindampfen i. V. erhielt man 280 mg eines Schaumes, der nach Verflüssigung mit Methanol spontane Kristallisation zeigte. Es wurde durch Chromatographieren an Aluminiumoxyd gereinigt. Mit Chloroform-Äther (1:1) eluierte man 120 mg feine Nadelchen, die nach dem Umkristallisieren aus MeOH den konstanten Smp. 228—230° u. Z. zeigten: XVI.

Zur Analyse wurde das Präparat 10 Std. bei 70° im HV. getrocknet. Vor der Verbrennung wurde überdies 2 Std. bei 120° im Schiffchen getrocknet.

$C_{27}H_{38}O_8$ (490,574)	Ber. C 66,10	H 7,81%	Gef. C 66,28	H 7,57%
-----------------------------	--------------	---------	--------------	---------

$$[\alpha]_D^{21} = -152^\circ \pm 4^\circ \quad (\text{Chloroform})$$

c) *Untersuchung von Fraktion 3*: Man reinigte die 6,4 g des rohen Genins durch Kristallisieren aus MeOH und erhielt in den ersten 3 Fraktionen 4,55 g Nadeln vom Smp. 222—224°.

Acetat II: Man löste die 4,55 g in 20 cm³ Pyridin, versetzte mit 20 cm³ Acetanhydrid bei Zimmertemp. und liess das Gemisch 24 Std. stehen. Nach dieser Zeit waren noch einige Kristalle vorhanden. Man liess noch 2 Tage stehen und gab dann das Gemisch unter gutem Rühren auf Eis. Dann nahm man das ausgefallene feste Acetat in Chloroform auf, trocknete die Lösung mit Natriumsulfat und engte ein. Man erhielt als Rückstand 5,4 g weissen Schaum. Aus dem obigen wässerigen Filtrat konnten durch Extraktion mit Chloroform noch 100 mg desselben Produktes gewonnen werden. Man reinigte durch Chromatographie an 200 g Al₂O₃. Man erhielt 3,5 g Kristalle vom Smp. 135/180°. Die Substanz löst sich in Äther, woraus sie in feinen Nadeln kristallisiert. Aus Methanol wird sie in derben prismatischen Nadeln erhalten. Ihr Smp. ist ein doppelter. Nach Sintern bei 125° bildet sich bei 135° ein fester Tropfen, der bei zunehmender Temperatur erweicht, um bei 180° zu zerfließen. Im Papierchromatogramm erwies sich die Substanz als einheitlich. Zur Analyse trocknete man das Präparat 6 Std. bei 50° und 0,3 mm. Das Produkt kristallisiert mit Lösungsmittel, und nur beim Trocknen bei 135° im geschmolzenen Zustande erhält man konstante Analysenresultate.

$C_{26}H_{34}O_7$	Ber. C 67,80	H 7,88	$-OCH_3$ 6,73%
(460,548)	Gef. „ 67,97; 67,92	„ 7,71; 7,71	„ 7,36%
	Äquiv.-Gew.	Gef. 439	

$$[\alpha]_D^{23} = -58^\circ \pm 4^\circ \quad (c = 1,05; \text{Chloroform})$$

*Energische Acetylierung*¹⁾: 100 mg des Acetates II wurden in 0,6 cm³ Acetanhydrid und 1 cm³ Pyridin 8 Std. am Rückfluss erhitzt. Dann engte man im Vakuum zur Trockne ein, nahm mit Äther-Chloroform (4:1) auf, trocknete mit Natriumsulfat und engte auf dem Wasserbade ein. Den amorphen Rückstand chromatographierte man an 3 g Al₂O₃. Man eluierte quantitativ unverändertes Acetat II.

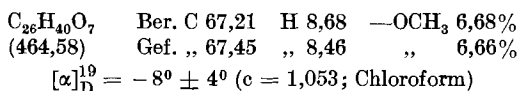
¹⁾ T. Reichstein & B. Alther, Helv. 25, 814 (1932).

Hydrierung des Acetates II: 960 mg Acetat wurden mit 100 mg in Eisessig vorhydriertem Platin unter Wasserstoff geschüttelt. Die theoretisch berechnete Menge für 2 Mol H_2 , beträgt 93,2 cm³. Aufgenommen waren nach 1³/₄ Std. 94,8 cm³. Man saugte vom Platin ab und engte das Filtrat i. V. ein. Rückstand: 1,17 g. Das Produkt löst sich sehr schlecht in Äther. Kristallisationsversuche scheiterten. Man chromatographierte an 30 g Al_2O_3 .

Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	mg	Beobachtungen
1	Benzol-Hexan (1:1)	50	40	amorph, farbloser Schaum
2	Benzol	50	150	amorph, farbloser Schaum
3	Benzol	50	60	amorph, farbloser Schaum
4	Benzol	50	20	amorph, farbloser Schaum
5	Benzol-Chloroform (1:1)	50	520	amorph, farbloser Schaum
6	Benzol-Chloroform (1:1)	50	100	amorph, farbloser Schaum
7	Benzol-Chloroform (1:1)	50	nicht wägbar	
8	Chloroform	50	20	

Mit Äther versetzt lieferten sämtliche Fraktionen Kristalle.

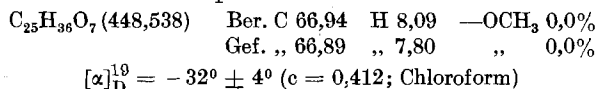
Aus Fraktion 2 und 3 erhielt man Nadeln mit einem Smp. 178–179°. Zur Analyse trocknete man das Produkt 12 Std. bei 70° im Vakuum bei 0,1 mm und 1 Std. bei 130°/0,01 mm im Schiffchen.



Fraktion 6 lieferte Kristalle mit dem Smp. 215–217°. Fraktion 5 kristallisierte nur sehr schlecht. Durch Chromatographie konnte man noch 200 mg des tiefschmelzenden Acetates gewinnen. Das hochschmelzende Produkt wurde zur Analyse aus Äther umkristallisiert. Man trocknete das Produkt im Schiffchen 2 Std. bei 0,01 mm und 100°.



Oxydation des tiefschmelzenden Hydrierungsproduktes mit CrO_3 ($\rightarrow IX$): 100 mg des reinen Hydrierungsproduktes wurden in 2 cm³ reinem, über CrO_3 stabilisiertem Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur mit 2 cm³ einer 2-proz. CrO_3 -Eisessiglösung versetzt. Dann liess man bei Zimmertemperatur über Nacht stehen. Die anfänglich ausgefallene braunrote Fällung ging nach ca. 15 Min. wieder in Lösung. Anderntags war der Kolbeninhalt durchsichtig grün. Man engte hierauf i. V. bei einer Badtemp. von 20° zur Trockene ein. Der Rückstand kristallisierte spontan. Man nahm in 100 cm³ Chloroform auf und spülte den Kolben mit Wasser gut nach. Anschliessend wurde die Lösung mit verd. H_2SO_4 , eiskalter Sodalösung, wenig HCl und Wasser bis zur neutralen Reaktion geschüttelt. Die mit Natriumsulfat getrocknete Lösung wurde i. V. eingengt. Sie hinterliess 95 mg eines aus Chloroform-Pentan kristallisierenden Produktes. Nach Reinigung durch Chromatographie erhielt man 80 mg eines aus Äther sehr schön in harten Drusen kristallisierenden Produktes. Smp. 232–235° u. Zers. Der Misch-Smp. mit dem Hydrierungsprodukt aus der *Oppenauer*-Oxydation auf S. 551 ergab eine Depression von 30°. Zur Analyse trocknete man das Präp. 2 Std. bei 100° im Hochvakuum.



Dehydratisierung des CrO_3 -Oxydationsproduktes ($\rightarrow X$): 100 mg reines Oxydationsprodukt wurden in 1 cm³ Pyridin gelöst und mit 0,5 cm³ reinem $POCl_3$ bei Zimmertemperatur versetzt. Es trat sofort leichte Erwärmung mit Kristallabscheidung ein. Darauf ver-

setzte man unter Eiskühlung mit 20 mg Wasser und liess 48 Std. stehen. Dann dampfte man i. V. bei Zimmertemperatur zur Trockene ein. Als Rückstand erhielt man 100 mg farblose amorphe Substanz, die man durch Chromatographieren reinigte. Benzol eluierte ein farbloses amorphes Produkt, von dem keine Kristalle erhalten werden konnten. Man filtrierte mit Chloroform faserfrei und erhielt nach dem Eindampfen i. V. einen schnee-weissen Schaum, den man zur Analyse 4 Std. bei 60° im Hochvakuum trocknete.

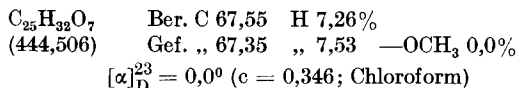
$C_{25}H_{34}O_6$ (430,522) Ber. C 69,74 H 7,96% Gef. C 69,60 H 7,91%

Das UV.-Spektrum siehe im theoret. Teil, Fig. 3.

Oppenauer-Oxydation des Acetates II (\rightarrow XII): 1,04 g des reinen Acetates wurden über Nacht bei Zimmertemperatur im Hochvakuum getrocknet. Nach 12 Std. gab man 100 cm³ abs. Toluol und 15 cm³ frisch destilliertes Cyclohexanon zu. Dann erhitzte man zu gelindem Sieden, wobei 30 cm³ des Inhaltes abdestillierten. Jetzt liess man aus einem Tropfrichter 1 g Al-isopropylat in 20 cm³ Toluol innerhalb von 30 Min. zutropfen. Im Anschluss daran liess man noch 30 Min. unter stetigem langsamem Abdestillieren des Toluols sieden. Nach dem Erkalten nahm man in einen Scheidetrichter auf, in welchem sich 200 cm³ 2-n. HCl befanden, und verdünnte mit viel Äther. Nach gutem Durchschütteln trennte man ab, wusch gut mit Wasser nach und trocknete die farblose Lösung mit Natriumsulfat. Den Eindampfrückstand liess man über Nacht im Hochvakuum stehen. Das ölige, nach Cyclohexanon riechende Produkt reinigte man durch Chromatographieren an 40 g Al₂O₃.

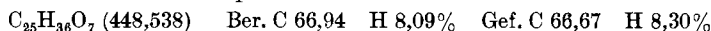
Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	mg	Beobachtungen
1	Benzol-Hexan (1:1)	40	3330	Cyclohexanol, löslich in Pentan
2	Benzol-Hexan (1:1)	50	100	Öl, farblos, löslich in Pentan
3	Benzol-Hexan (1:1)	50	20	Öl, farblos, löslich in Pentan
4	Benzol-Hexan (1:1)	50	10	Öl, farblos, löslich in Pentan
5	Benzol-Hexan (2:1)	50	20	Öl, farblos, löslich in Pentan
6	Benzol-Hexan (2:1)	50	—	Öl, farblos, löslich in Pentan
7	Benzol	50	—	Öl, farblos, löslich in Pentan
8	Benzol	50	10	Öl, farblos, löslich in Pentan
9	Benzol + wenig Äther	50	50	amorpher Firnis
10	Benzol-Äther (1:1)	50	40	
11	Benzol-Äther (1:1)	50	85	weisser Schaum, mit MeOH krist. Smp. 140—160°
12	Benzol-Äther (1:1)	50	100	weisser Schaum
13	Benzol-Äther (1:1)	50	90	weisser Schaum
14	Benzol-Äther (1:1)	50	80	weisser Schaum, F = 208—212° u. Z.
15	Benzol-Äther (1:1)	50	30	weisser Schaum
16	Äther	50	10	weisser Schaum
17	Äther-Chloroform (1:1)	50	280	weisser Schaum, F = 198—204° u. Z.
18	Äther-Chloroform (1:1)	50	30	weisser Schaum
19	Chloroform	50	15	weisser Schaum
20	Chloroform	50	10	weisser Schaum
21	Chloroform	50	20	weisser Schaum
22	Chloroform-Alkohol (1:1)	50	10	weisser Schaum

Aus den Fraktionen 10—21 erhielt man 600 mg einheitliches Produkt, welches nach einmaliger Kristallisation aus Methanol den konstanten Smp. 218—220° zeigte. Zur Analyse trocknete man das Präparat 2 Std. bei 100° im Hochvakuum.



Die Substanz lieferte weder ein Semicarbazon noch ein Oxim.

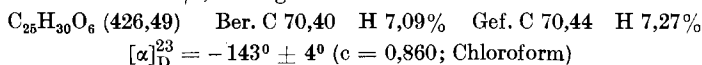
Hydrierung des Oppenauer-Oxydationsproduktes (\rightarrow XV): 100 mg des gereinigten Oxydationsproduktes XII wurden in Feinsprit mit 30 mg Platin bis zur Aufnahme von 2 Mol H_2 hydriert. Nach Filtration und Eindampfen i. V. erhielt man 100 mg weissen Schaum, der beim Verflüssigen mit Äther spontan kristallisierte. Zur Analyse reinigte man durch Umkristallisieren aus Äther. Man erhielt feine Nadeln vom Smp. 229—230°. Mit dem CrO_3 -Oxydationsprodukt IX resultiert eine Smp.-Depression von 25—30°. Zur Analyse trocknete man das Präp. über Nacht bei 80° im H.V.



Dehydratisierung des Oppenauer-Oxydationsproduktes (\rightarrow XIV): 280 mg eines aus Mutterlaugen erhaltenen Oxydationsproduktes löste man in 2,8 cm³ Pyridin und versetzte bei Eiskühlung mit 1,4 cm³ POCl_3 . Es trat sofort Kristallbildung ein. Man liess 5 Min. stehen, gab dann unter Eiskühlung 40 mg Wasser zu und liess im Anschluss daran über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann engte man i. V. zur Trockene ein, versetzte mit Eis und nahm mit 1 Tl. Chloroform auf. Dann versetzte man im Scheidetrichter mit 4 Tl. Äther und schüttelte nacheinander mit Soda, HCl und Wasser aus. Als Rückstand erhielt man 260 mg farbloses Öl, das auf Zusatz von Äther hin spontan kristallisierte. Man reinigte durch Chromatographieren.

Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	mg	Beobachtungen
1	Benzol	15	80	Öl, mit Äther krist.
2	Benzol	15	50	Öl, mit Äther krist.
3	Benzol	15	20	Öl, mit Äther krist.
4	Benzol	15	220	Öl, mit Äther krist.
5	Äther	15	20	Öl, mit Äther krist.
6	Äther	15	60	Öl, mit Äther krist.
7	Äther	15	10	Öl, mit Äther krist.

Die Fraktionen 1—4 lieferten aus Methanol feine Nadeln vom Smp. 216—217° u. Z. Sie wurden 12 Std. bei 70°/0,1 mm getrocknet.



UV.-Spektrum siehe theor. Teil, Fig. 3.

Abbau des Acetats II mit KMnO_4 in Aceton (\rightarrow VI): 1 g Acetat wurde in 50 cm³ frisch stabilisiertem Aceton mit 1 g pulv. KMnO_4 während 1 Std. geschüttelt, wobei die violette Farbe verschwand. Bei 20° dampfte man i. V. zur Trockene ein und versetzte den Kolbeninhalt unter Eiskühlung bis zur kongoblauen Reaktion mit 2-n. Schwefelsäure. Man schüttelte hierauf 3mal mit einem Chloroform-Äthergemisch (1:4) aus, wusch mit eiskalter Sodalösung und mit wenig Wasser bis zur neutralen Reaktion. Nach dem Trocknen und Eindampfen erhielt man 0,450 g neutralen Rückstand.

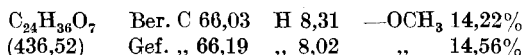
Dieser wurde erneut, wie beschrieben, in 30 cm³ Aceton und mit 0,450 g KMnO_4 1 Std. geschüttelt und aufgearbeitet. An Neutralteilen erhielt man noch 0,150 g. Es wurde nochmals zur Oxydation angesetzt, wobei nicht mehr alles KMnO_4 verbraucht wurde und noch 26 mg Neutrales verblieben. Die jeweils unter Eiskühlung angesäuerten Sodalösungen schüttelte man dreimal mit Chloroform-Äthergemisch aus.

An Säuren erhielt man total 0,510 g weissen Schaum, den man in Äther bei 0° mit Diazomethan veresterte und anschliessend chromatographierte. 0,515 g Substanz

wurden dazu in total 17,5 cm³ abs. Benzol gelöst, mit Pentan bis eben zur Trübung versetzt und auf eine mit Pentan bereitete Säule Al₂O₃ gegeben und chromatographiert:

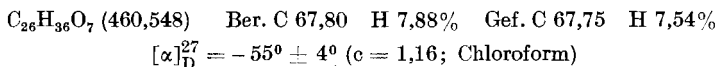
Fraktion	Lösungsmittel	cm ³	Rohgew. mg	Beobachtungen
1-2	Pentan	25 je	--	
3-4	Pentan/Benzol 4:1	25 je	—	
5-6	Pentan/Benzol 4:1	25 je	---	
7-9	Pentan/Benzol 3:2	25 je	Spuren	farbloses Öl
10-11	Pentan/Benzol 1:1	25 je	21	farbloses Öl
12-13	Pentan/Benzol 1:2	25 je	Spuren	farbloses Öl
14-23	Benzol abs.	25 je	61	farbloses Öl
24-27	Benzol/Äther 1:1	25 je	—	
28-29	Äther abs.	25 je	Spuren	farbloses Öl
30-36	CHCl ₃ /Äther 1:1	25 je	36	farbloses Öl
37-43	Chloroform abs.	25 je	110	farbloses Öl
44-50	CHCl ₃ /MeOH 1:1	25 je	50	farbloses Öl
51-52	MeOH abs.	25 je	—	
53-54	Aceton abs.	25 je	—	
55-56	Essigester	25 je	—	

Die Fraktionen 7—23 kristallisierten auf Zugabe von wenig Äther spontan. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Äther und wenig Pentan schmolzen die derben, klaren Drusen bei 183—184°.



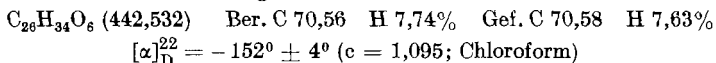
Die übrigen Fraktionen waren auf keine Weise zum Kristallisieren zu bringen.

Wasserabspaltung aus Acetat II (→XI): 1. Versuch. 7,40 mg des rohen Acetates löste man in 10 cm³ Pyridin und versetzte mit 1,5 cm³ POCl₃ bei Zimmertemperatur. Daraufhin liess man 24 Std. stehen, gab vorsichtig auf Eis und schüttelte mit Chloroform gut aus. Nach dem Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Soda und Wasser trocknete man die farblose Lösung mit Natriumsulfat. Nach dem Eindampfen und Trocknen im Vakuum erhielt man 720 mg eines farblosen Schaumes, den man nur durch Chromatographieren zur Kristallisation bringen konnte. Das Präparat schmolz bei 135/180° und zeigte mit dem Ausgangsmaterial keine Schmelzpunktsdepression. Zur Analyse kristallisierte man eine Probe aus Äther um. Das im geschmolzenen Zustande getrocknete Produkt gab genaue Analysenwerte für das unveränderte Acetat.



2. Versuch. 1,0 g des aus MeOH gereinigten Acetates wurden in 12 cm³ Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 5 cm³ POCl₃ versetzt. Dann gab man unter Eiskühlung zweimal 100 mg Wasser zu und liess bei 25—30° 25 Std. stehen. Dann engte man den Kolbeninhalt i. V. zur Trockene ein und versetzte mit Eis. Nun nahm man in 1 Tl. Chloroform auf, versetzte im Scheidetrichter mit 4 Tl. Äther und schüttelte nacheinander mit Soda, HCl und Wasser aus, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte im Vakuum ein. Als Rückstand erhielt man 660 mg eines farblosen Schaumes. Nach dem Versetzen mit wenig Methanol kristallisiert das Produkt spontan in prachtvollen rechteckigen Tafeln. Man reinigte durch Chromatographieren und Kristallisation aus Methanol. Smp. 232—234°. Die *Legal*-Probe war sehr schön positiv; mit Tetranitromethan zeigte sich positive Reaktion, während das Ausgangsmaterial negativ reagierte. Zur Analyse trocknete man

das Präparat 12 Std. bei 70° und 0,1 mm. Die Verbrennungsprobe wurde noch 2 Std. bei 100° und 0,01 mm im Schiffchen getrocknet.



Im Papierchromatogramm zeigt sich die Substanz als einheitl. Produkt. UV.-Spektren siehe theor. Teil, Fig. 3.

Hydrierung des Anhydroacetates: 50 mg des Anhydroproduktes wurden in 25 cm³ Eisessig mit 20 mg Platin hydriert. Nach 50 Min. war die für 3 Doppelbindungen theoretisch notwendige Menge aufgenommen. Man filtrierte vom Platin ab und engte i. V. ein. Den Rückstand liess man mit wenig Methanol stehen. Auch nach längerer Zeit war keine Kristallisation eingetreten, so dass man das Produkt durch Chromatographieren zu reinigen versuchte, was nur zu amorphen Produkten führte.

Die Analysen, Drehungen und UV.-Spektren wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Herrn Dr. *Gysel* durchgeführt.

Zusammenfassung.

Aus der Rinde von *Mansonia altissima* A. Chev. konnten durch Chromatographieren der wasserlöslichen Glykosidfraktion die kristallisierten, schwach wirksamen Mansonine A, B, C, D und E neben hochwirksamen amorphen Fraktionen gewonnen werden. Durch hydrolytische Spaltung nach der Methode von *Mannich-Siewert* wurden 4 Anhydrogenine in Form ihrer Acetate erhalten. Aus den wässrigen Mutterlaugen isolierte man überdies das Mansonin G, das sehr wahrscheinlich ein teilweise abgebautes Glykosid ist.

Forschungslaboratorien der *CIBA Aktiengesellschaft*, Basel,
Pharmazeutische Abteilung.

72. Das Lab und seine Wirkung auf das Casein der Milch. V¹). Analytische Untersuchungen an kristallisiertem Lab

von H. Schwander, P. Zahler und Hs. Nitschmann.

(25. I. 52.)

Einleitung.

Trotzdem die Kristallisation des Labfermentes schon vor mehreren Jahren von zwei verschiedenen Autoren (*C. L. Hankinson*²); *N. J. Berridge*³), beschrieben worden ist, liegen über kristallisiertes Lab noch heute sehr wenig analytische Daten vor. *Hankinson* gibt die Elementaranalyse seines Präparates und den isoelektrischen Punkt an, während *Berridge* sein Präparat nur dem Löslichkeitstest

¹) Nr. IV dieser Reihe: *Helv.* **34**, 1421 (1951).

²) *C. L. Hankinson*, *J. of Dairy Science* **26**, 53 (1943).

³) *N. J. Berridge*, *Biochem. J.* **39**, 179 (1945).