

In der Fig. 4 sind die Absorptionsspektren im sichtbaren Bereich der Chlorophylle a und b übereinander gelagert. Es kommt darin sehr schön zum Ausdruck, wie die Absorptionsmaxima von Chlorophyll b in die Lücken der Absorptionsmaxima von Chlorophyll a fallen, was sich für den photosynthetischen Prozess in einer vollständigeren Ausnützung des Himmelslichts auswirkt.

In der Fig. 5 sind die Spektren im Ultraviolett und im Infrarot der reinsten Chlorophylle a und b, u. W. zum ersten Male, veröffentlicht.

Beide Kristallisationen geben im übrigen alle Reaktionen der unversehrten Chlorophylle a und b, wie zum Beispiel die Phasenprobe (reingelb bei a, tiefrot bei b); ihre ätherischen Lösungen färben 20-proz. Salzsäure auch nicht in Spuren an, was die Unversehrtheit der Phytolstergruppe beweist.

Leider sind unsere Versuche, die kristallisierten Chlorophylle a und b in grösseren Ansätzen zu gewinnen, bisher erheblichen Schwierigkeiten begegnet, was wohl auf den engen Spielraum der Bedingungen und die Wachsnatur der Präparate zurückzuführen ist. Da jedoch die Kristallisation im Mikromaßstab ganz regelmässig und ohne besondere Vorsichtsmassnahmen gelingt, sollten ihrer Übertragung in grössere Maßstäbe keine unüberwindlichen Schwierigkeiten im Wege stehen.

#### SUMMARY

By careful and speedy work it has been possible to isolate the chlorophyll components a and b in such a pure and intact state that, under suitable conditions, they precipitate in well-formed crystals. The crystalline substances so obtained meet all criteria for pure chlorophylls a and b. The goal of crystallising natural chlorophylls a and b has thus been reached after several decades of endeavour.

Whereas the spectra of pure chlorophylls a and b in the visible have been previously published, this is, to the best of our knowledge, the first time that their infra-red spectra are reported.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium «SANDOZ», Basel

---

### 74. Die Glykoside der Zwiebeln von *Ornithogalum umbellatum* L. sowie Prüfung der Zwiebeln von *Ornithogalum prasinum* (LINDL.)<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglykone, 198. Mitteilung<sup>2)</sup>

von H. MROZIK, R. A. WAUD, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN

(17. II. 59)

#### *Ornithogalum umbellatum* L.

Über toxische Wirkungen verschiedener *Ornithogalum*-Arten (*Liliaceae*) ist wiederholt berichtet worden<sup>3)</sup>. Einige wurden einer genauen pharmakologischen Prüfung unterworfen<sup>4)</sup>; dabei zeigten nur Extrakte aus den Zwiebeln von *Ornithogalum*

<sup>1)</sup> Auszug aus Diss. H. MROZIK, Basel 1958.

<sup>2)</sup> 197. Mitteilung: J. M. NASCIMENTO, H. JÄGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **42**, 661 (1959).

<sup>3)</sup> Frühere Lit. siehe bei WAUD<sup>4)</sup>.

<sup>4)</sup> R. A. WAUD, J. Pharmacol. exp. Therap. **111**, 147 (1954).

*umbellatum* L. eindeutige digitalisartige Wirkung<sup>5</sup>). Am stärksten waren Pflanzen, die in Kanada gesammelt worden waren<sup>7</sup>). Versuche zur Isolierung einheitlicher Wirkstoffe gaben bisher kein eindeutiges Ergebnis<sup>8</sup>)<sup>9</sup>); wir berichten hier über eigene Resultate.

*Beschaffung des Ausgangsmaterials.* Es standen die zwei folgenden Proben zur Verfügung:

*Probe A.* 300 g Trockenpulver entspr. 1,875 kg frischen Zwiebeln. Diese wurden im Frühjahr 1955 zur Blütezeit der Pflanzen in verschiedenen Gärten in und in der Umgebung von London, Ontario, Kanada, gesammelt. Die mit Wasser gewaschenen und an der Luft getrockneten Zwiebeln wurden zerkleinert und der Brei raschmöglichst an der Luft getrocknet; Gewichtsverlust ca. 84%. Das trockene Pulver wurde im Frühjahr 1956 nach Basel geschickt, wo es in sehr gutem Zustand ankam.

*Probe B.* 23 kg Zwiebeln wurden im Frühjahr 1956 am gleichen Ort wie Probe A gesammelt. Die lufttrockenen Zwiebeln wurden im Dezember 1956 abgeschickt und kamen (wegen Eisenbahnerstreik) erst im Februar 1957 in Basel an. Die Hauptmenge war (vermutlich durch Frosteinwirkung und Erwärmung) verdorben. Es konnten 2,145 kg intakte Zwiebeln ausgelesen werden (Gewicht nach Waschen). Diese wurden sofort zermahlen und in Alkohol eingelegt.

Die botanische Bestimmung erfolgte durch Herrn Dr. JAMES H. SOPER, Professor für Botanik an der Universität Toronto. Ausserdem haben Dr. SHERWOOD FOX, Botaniker und früherer Präsident der Universität von Western Ontario, sowie Herr LESLIE LAKING, Direktor der Royal Botanical Gardens, Hamilton Ontario, die Identifizierung als *Ornithogalum umbellatum* L. bestätigt<sup>10</sup>).

*Chemische Untersuchung.* Probe A (Trockenpulver) wurde zuerst mit Wasser (in Gegenwart von wenig Toluol) geweicht, dann mit wässrigem Alkohol von steigender Alkohol-Konzentration extrahiert. Die weitere Behandlung (Reinigung mit Pb(OH)<sub>2</sub>, fraktioniertes Ausschütteln aus Wasser mit Äther, Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen) geschah nach früherer Vorschrift<sup>11</sup>). Erhalten wurden die in Tab. 1 genannten Ausbeuten. Probe B wurde genau gleich behandelt, nur dass vorher nicht mit Wasser geweicht wurde; ausserdem wurde beim fraktionierten Ausschütteln kein Äther-Extrakt bereitet, hingegen wurden zusätzliche Extrakte mit Chloroform-Alkohol-(9:1)- und -(4:1)-Gemischen bereitet, da dies eine etwas bessere Auftrennung ergab.

<sup>5</sup>) Die stärksten wirksamen Zwiebeln zeigten am Frosch und an der Katze eine Wirkung, die auf Trockengewicht berechnet 1,84mal stärker war als Standardpulver von *Digitalis purpurea*. Aus England bezogene Zwiebeln waren erheblich schwächer wirksam, aber auch die Wirksamkeit der in Kanada wachsenden Zwiebeln schwankte stark. Möglicherweise lagen verschiedene chemische Rassen oder Varianten vor<sup>6</sup>).

<sup>6</sup>) Vgl. «Über Arznei- und Nutzpflanzenkultur», Arbeitstagung Wageningen (Holland), 9.–11. September 1957. Einflüsse der Umwelt, Chemische Rassen, D. B. Centen's Uitgeversmaatschappij, Amsterdam, sowie Pharmaceutisch Weekblad **92**, 761, 817 (1957).

<sup>7</sup>) *Ornithogalum umbellatum* ist in Kanada nicht heimisch, wächst dort aber als Gartenflüchtling reichlich verwildert.

<sup>8</sup>) G. KLEIN & G. POLLAUFG, Österr. Botan. Z. **78**, 251 (1929), berichten über einen mikrochemischen Nachweis von Colchicin mit Pt-Chlorid. Positive Reaktion gaben nicht nur Extrakte ganzer Pflanzen von *Colchicum*-Arten, sondern auch *Ornithogalum umbellatum*, *O. comosum* und *O. nutans*.

<sup>9</sup>) G. R. PATERSON, M. W. ARCHIBALD, D. F. BUTT, G. R. DUNCAN, G. N. FEDYK, N. C. REYNOLDS & D. R. KENNEDY, Canadian Pharmaceut. J. Scientif. Section **90**, 674 (1957).

<sup>10</sup>) Wir möchten den genannten Herren auch hier unseren besten Dank für ihre Hilfe aussprechen.

<sup>11</sup>) J. V. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, Helv. **34**, 1821 (1951).

Tabelle 1. Ausbeute an Rohextrakten<sup>12)</sup>

Extrakt	Probe A (Trockenpulver)				Probe B (2,145 kg frische Zwiebeln)			
	35 g		257 g		35 g		257 g	
	Ausbeute in g in %	KEDDE- Reakt.	Flecke im Pchr.	Ausbeute in g in %	KEDDE- Reakt.	Flecke im Pchr.	Ausbeute in g in %	KEDDE- Reakt.
Pe-Extrakt	0,020	–		1,051	0,41		} 5,497 0,256 <sup>13)</sup>	–
Ae-Extrakt	0,057	–		0,360	0,14			–
Chf-Extrakt	0,009	–		0,090	0,035			–
Chf-Alk-(9:1)							0,608	0,028
Chf-Alk-(4:1)							0,437	0,021
Chf-Alk-(2:1)	0,005	0,014	(A) (B) C	0,453	0,176	+	0,332	0,015
Chf-Alk-(3:2)	0,041	0,117	D (E) (E') F (G)	0,221	0,086	+	2,4	0,112

<sup>12)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum exper. Teil. Einklammer = schwache Flecke.

<sup>13)</sup> Reaktion nach LIEBERMANN-BURCHARD<sup>14)</sup> positiv, Xanthylolprobe<sup>15)</sup>, SbCl<sub>5</sub>-Färbung<sup>16)</sup> und Prüfung auf Zucker<sup>17)</sup> nach KILIANI-Spaltung<sup>18)</sup> negativ. Auch die Prüfung auf Alkaloide mit verschiedenen Reagentien<sup>19)</sup> gab kein positives Resultat. Hingegen wurde bei der quantitativen Stickstoffbestimmung 0,79% N gefunden.

<sup>14)</sup> Ausführungsform von A. STOLL, E. SUTER, W. KREIS, B. B. BUSSEMAKER & A. HOFMANN, Helv. **16**, 703 (1933).

<sup>15)</sup> M. PESEZ, Ann. pharmac. franç. **10**, 104 (1952).

<sup>16)</sup> D. LAWDAY, Nature **170**, 415 (1952).

<sup>17)</sup> P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSSTEIN, Helv. **34**, 1740 (1951).

<sup>18)</sup> H. KILIANI, Ber. deutsch. chem. Ges. **63**, 2866 (1930).

<sup>19)</sup> Kalium-Wismut-Jodid (DRAGENDORFF's Reagens in der Modifikation nach R. MUNIER & M. MACHEBOEUF, Bull. Soc. biol. **33**, 846 (1957)), Kalium-Quecksilber(II)-Jodid (MAYER's Reagens)<sup>20)</sup>, Pikrinsäure (HACER's Reagens)<sup>20)</sup>, Jod-Kalium-Jodid (WAGNER's Reagens)<sup>20)</sup>, Phosphor-molybdän-säure (SONNENSCHNIG's Reagens)<sup>20)</sup> und Silicowolframsäure<sup>20)</sup>.

<sup>20)</sup> Vgl. B. T. CROMWELL, in K. PAECH & M. V. TRACEY «Moderne Methoden der Pflanzenanalyse», Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955, Bd. IV, p. 373.

Wie aus Tab. 1 ersichtlich, waren die totalen Ausbeuten an KEDDE-positiven Stoffen bei Probe A und B recht ähnlich. Die entsprechenden Extrakte zeigten im Papierchromatogramm im wesentlichen auch dieselben Flecke. Demnach scheint durch das Weichen mit Wasser kein wesentlicher fermentativer Abbau eingetreten zu sein. Von den im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 1–3) mit KEDDE-Reagens erhaltenen Flecken waren nur C, D und F stark. Wir beschränkten uns in der Folge darauf, diese drei Stoffe zu isolieren. Alle drei konnten in Kristallen erhalten werden. C war identisch mit Convallatoxin<sup>21)</sup> und F mit Convallolid<sup>22)</sup>. Subst. D konnte nicht identifiziert werden, ihre Einheitlichkeit ist nicht gesichert; vermutlich lag ein neuer Stoff vor. Wir beschreiben im folgenden die Isolierungen.

Convallatoxin liess sich aus dem Chf-Alk-(2:1)-Extrakt der Probe A nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  in Kristallen erhalten. Da dieser Stoff aus Wasser bereits mit Chf-Alk-(9:1) ausschüttelbar ist<sup>24)</sup>, wurde bei der Untersuchung von Probe B, wie erwähnt, ein solcher Extrakt bereitet. Aus diesem (Nr. 5 in Fig. 2) liess sich Convallatoxin bereits durch direkte Kristallisation isolieren.

Beispiele zur Kontrolle im Papierchromatogramm<sup>12)25)</sup>

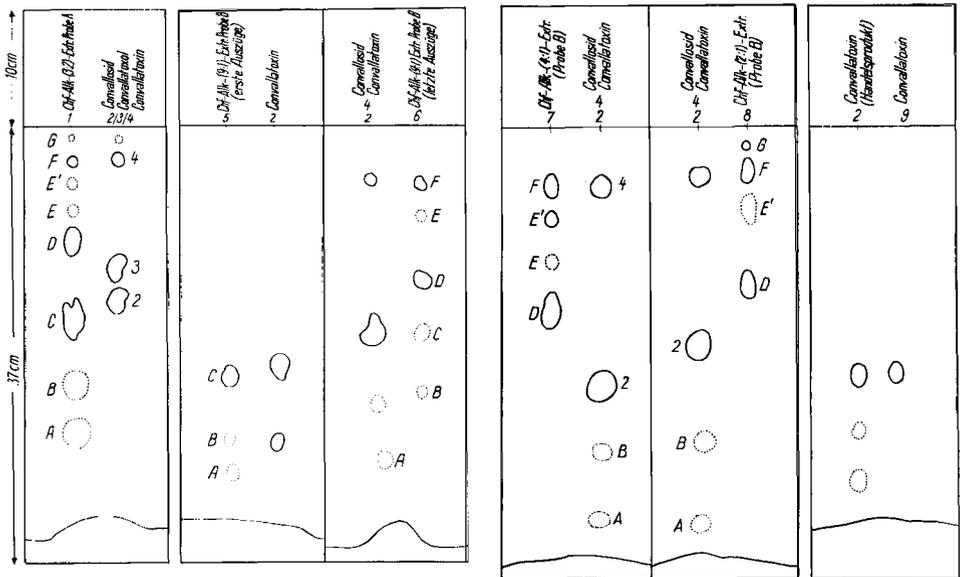


Fig. 1  
To-Bu-(1:1)/W  
8 Std.

Fig. 2  
To-Bu-(1:1)/W  
6 Std. 5 Std.

Fig. 3  
To-Bu-(1:1)/W  
5 Std. 5 Std.

Fig. 4  
To-Bu-(1:1)/W  
5 Std.

<sup>21)</sup> Erstmals isoliert aus Blättern und Blüten von *Convallaria majalis* L. von W. KARRER, Helv. 12, 506 (1929). Konstitution vgl. T. REICHSTEIN & A. KATZ, Pharmac. Acta Helv. 18, 521 (1943). Teilsynthese vgl. K. REYLE, K. MEYER & T. REICHSTEIN, Helv. 33, 1541 (1950).

<sup>22)</sup> Erstmals isoliert aus Samen von *Convallaria majalis* L.<sup>23)</sup>

<sup>23)</sup> J. SCHMUTZ & T. REICHSTEIN, Pharmac. Acta Helv. 22, 359 (1947).

<sup>24)</sup> K. MOHR & T. REICHSTEIN, Pharmac. Acta Helv. 23, 369 (1948).

<sup>25)</sup> Die Laufstrecken sind stark von der Beladung mit Wasser abhängig (vgl. Fig. 1–4). Bei Fig. 5 und 6 wurde das Papier mit 35% seines Gewichtes mit Wasser beladen. Unter diesen Bedingungen sind die Laufstrecken recht konstant. Wo keine Front eingezeichnet ist, war sie abgetropft.

Fleck F zeigte im Papierchromatogramm (Fig. 1–3) dieselbe Laufstrecke wie Convallosid (Nr. 4 in den Fig. 1–3). Ein Versuch, dieses Glykosid in Form seines gut krist. Hexa-O-acetyl-Derivats<sup>23)</sup> (aus dem Chf-Alk-(3:2)-Extrakt von Probe A) durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  zu isolieren, misslang. In den Chf-Alk-(4:1)- und -(2:1)-Extrakten aus Probe B war dieser Stoff aber stärker angereichert (vgl. Nr. 7 und 8 in Fig. 3).

Diese zwei Fraktionen wurden daher vereinigt und an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert, worauf sich krist. Convallosid in papierchromatographisch reiner Form isolieren liess. Die Mutterlaugen dieser Kristalle enthielten nach Papierchromatogramm neben weiterem F vor allem noch D sowie Spuren E und G. Dieses Material wurde durch präparative Papierchromatographie<sup>26)</sup> getrennt, wobei wir nur die D- und F-Zonen eluierten. Letztere lieferte erwartungsgemäss eine weitere Menge krist. Convallosid. Aus der D-Zone konnte aus Wasser eine kleine Menge Subst. D in Kristallen erhalten werden, die im Papierchromatogramm nur den D-Fleck gaben.

Von den schwachen Flecken A, B, E, E' und G waren die rasch wandernden Komponenten A und B spurenweise auch in einem Handelspräparat<sup>27)</sup> von Convallatoxin enthalten (vgl. Nr. 2 in Fig. 3 und 4). Fleck A zeigte im System von Fig. 2 eine Laufstrecke wie Vallarotoxin<sup>28)</sup> und Fleck B lief gleich wie Desglucocheirototoxin, das kürzlich<sup>30)</sup> auch aus *Convallaria majalis* isoliert wurde<sup>31)</sup>. Zu einer genauen Identifizierung reichten die vorhandenen Mengen nicht aus. Keiner der genannten 5 Flecke zeigte eine gleiche Laufstrecke wie Convallatoxin<sup>32)</sup> (Nr. 3 in Fig. 1 und Fig. 6). Der G-Fleck zeigte in den verwendeten Systemen nur eine sehr kleine Laufstrecke (vgl. Fig. 1 und 3); seine Einheitlichkeit ist daher unsicher.

Ob der Fleck G von Gluco-convallosid<sup>28)</sup> herrührt, konnte mangels Vergleichsmaterials nicht geprüft werden. Das Zwiebelpulver gab in Wasser keinen beständigen Schaum<sup>33)</sup>. Die Prüfung auf Alkaloide<sup>34)</sup> verlief negativ.

*Identifizierung der isolierten Stoffe.* Convallatoxin wurde nach Mischprobe, spez. Drehung, Farbreaktionen und Papierchromatogramm (vgl. Fig. 4) mit authentischem Material identifiziert. Ausserdem wurde es als Tri-O-formyl-Derivat<sup>35)</sup> sowie als Tri-O-acetyl-Derivat (Papierchromatogramm vgl. Nr. 19 und 20 in Fig. 9)

<sup>26)</sup> Ausführung nach E. v. ARX & R. NEHER, *Helv.* **39**, 1664 (1956).

<sup>27)</sup> Wir danken der HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, für die freundliche Überlassung dieses Präparates.

<sup>28)</sup> R. TSCHESCHE & F. SEEHOFER, *Chem. Ber.* **87**, 1108 (1954).

<sup>29)</sup> Wir danken Herrn Prof. R. TSCHESCHE, Hamburg, auch hier für die Überlassung einer Probe Vergleichsmaterial.

<sup>30)</sup> R. TSCHESCHE, H. J. WULFF, U. DÖLBERG & G. SNATZKE, *Naturwiss.* **46**, 109 (1959).

<sup>31)</sup> Der Vergleich wurde hier noch mit dem von R. A. F. LAUFKE, *Planta medica* **6**, 237 (1958), isolierten Kristallinat  $L_1$  vom Smp. 184–188°,  $[\alpha]_D = -10^\circ$  (Lösungsmittel?), durchgeführt, das uns freundlicherweise von Herrn Prof. R. TSCHESCHE (Brief vom 22. Januar 1958) zugesandt wurde. Es ist nach seinen Angaben identisch mit dem Stoff  $C_1$  von TSCHESCHE & SEEHOFER<sup>28)</sup>, nach TSCHESCHE und Mitarbeitern<sup>30)</sup> identisch mit Desglucocheirototoxin.

<sup>32)</sup> Synthese vgl. A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Chem. Ber.* **85**, 635 (1952). Isolierung: TSCHESCHE & SEEHOFER<sup>28)</sup>.

<sup>33)</sup> L. J. WEBB, *Pacific Science* **1955**, 430.

<sup>34)</sup> Geprüft wurde der nach W. H. TALLENT, V. L. STROMBERG & E. C. HORNING (*J. Amer. chem. Soc.* **77**, 6361 (1955)) bereitete, mit 1-proz. HCl und mit Me erhaltene Extrakt von je 1 g getrockneter Zwiebeln (Probe B) mit verschiedenen Alkaloid-Reagentien<sup>19)</sup>.

<sup>35)</sup> E. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **41**, 736 (1958).

charakterisiert. Convallosid wurde in gleicher Weise mit authentischem Material identifiziert (Papierchromatogramm vgl. Nr. 10 und 11 in Fig. 5) und als Hexa-O-acetyl-Derivat charakterisiert (Papierchromatogramm vgl. Nr. 21 und 22 in Fig. 9).

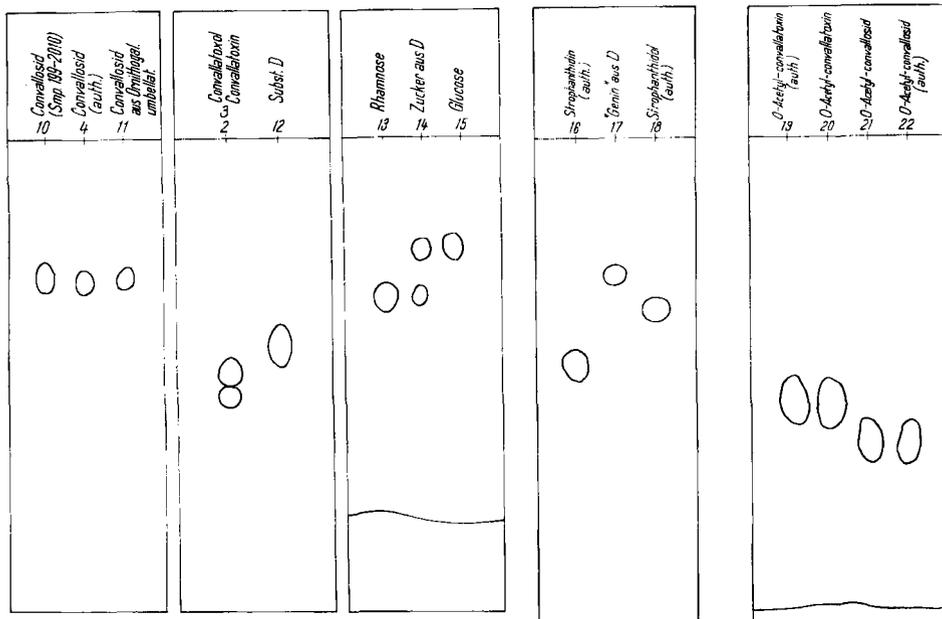


Fig. 5  
To-Bu-(1:1)/W  
(35%)  
16 Std.

Fig. 6  
To-Bu-(1:1)/W  
(35%)  
7½ Std.

Fig. 7  
Bu-Py-W  
(3:2:1,5)  
16 Std.

Fig. 8  
Chf/Fmd  
5 Std.

Fig. 9  
Xylol-Methyl-äthyl-  
keton-(2:1)/Fmd  
2½ Std.

- 1 = 0,3 mg Chf-Alk-(3:2)-Extr. aus Probe A (35 g trockene Zwiebeln) Vorversuch.
- 2 = 0,1 mg Convallatoxin authentisch.
- 3 = 0,1 mg Convallatoxin authentisch.
- 4 = 0,1 mg Convallosid authentisch.
- 5 = 0,2 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr. Ausschüttelungen Nr. 1-3 von Probe B.
- 6 = 0,2 mg Chf-Alk-(9:1)-Extr. Ausschüttelungen Nr. 10-12 von Probe B.
- 7 = 0,3 mg Chf-Alk-(4:1)-Extr. von Probe B.
- 8 = 0,3 mg Chf-Alk-(2:1)-Extr. von Probe B.
- 9 = 0,1 mg Convallatoxin, Smp. 235-241° aus *Ornithogalum umbellatum*.
- 10 = 0,1 mg Convallosid, Smp. 199-201°, aus *Ornithogalum umbellatum*.
- 11 = 0,1 mg Convallosid aus *Ornithogalum umbellatum* durch präparative Papierchromatographie isoliert.
- 12 = 0,1 mg Subst. D, Smp. 140-180°, aus *Ornithogalum umbellatum*.
- 13 = 0,1 mg L-Rhamnose.
- 14 = 0,1 mg Zucker aus Mikro-MANNICH-Spaltung von Subst. D.
- 15 = 0,1 mg D-Glucose.
- 16 = 0,05 mg Strophanthin
- 17 = 0,05 mg «Genin» aus Mikro-MANNICH-Spaltung von Subst. D.
- 18 = 0,05 mg Strophanthidol authentisch.
- 19 = 0,1 mg Tri-O-acetyl-convallatoxin authentisch.
- 20 = 0,1 mg Tri-O-acetyl-convallatoxin aus *Ornithogalum umbellatum*.
- 21 = 0,1 mg Hexa-O-acetyl-convallosid aus *Ornithogalum umbellatum*.
- 22 = 0,1 mg Hexa-O-acetyl-convallosid authentisch.

*Subst. D.* Von diesem Stoff standen nur 26 mg in Kristallen zur Verfügung. Auf eine Analyse wurde verzichtet. Die Wanderungsgeschwindigkeit im Papierchromatogramm (Fig. 6) spricht dafür, dass ein Diglykosid vorlag. Das UV.-Spektrum (vgl. Fig. 10) zeigte zwei Maxima. Das kurzwellige (218,5 m $\mu$ ) entspricht ungefähr demjenigen der Butenolidgruppe (217 m $\mu$  ist normal). Das langwellige (bei 273 m $\mu$ ) könnte von einer Verunreinigung z. B. durch ein  $\Delta^{16, 20:22}$ -Cardadienolid herrühren<sup>36)</sup>.

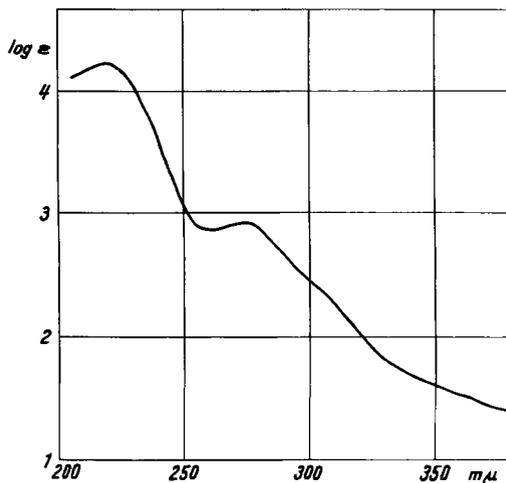


Fig. 10. UV.-Absorptionsspektrum von Subst. D in Alkohol<sup>36)</sup>  
Absorptionsmaxima bei 218,5 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ ) und bei 273 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 2,92$ )

Eine Probe von Subst. D (3 mg) wurde mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT<sup>37)</sup> hydrolysiert. Der Zuckerteil zeigte zwei Flecke mit Laufstrecken wie von Rhamnose und Glucose (vgl. Fig. 7) (dieselben Zucker enthält Convallosid). Der «Geninanteil» zeigte im Papierchromatogramm (Fig. 8) nur einen deutlichen Fleck mit *kürzerer* Laufstrecke als Strophanthidin und Strophanthidol. Dies ist auffallend, da D im Papierchromatogramm *rascher* lief als Convallosid. Subst. D ist demnach entweder doch kein Diglykosid, oder der Hauptfleck des Geninanteils entspricht nicht einem Genin, sondern einem Glykosid (oder Anhydroglykosid). Eine Identifizierung ist bisher nicht gelungen.

Tab. 2 gibt die Ausbeuten an krist. erhaltenen Stoffen an, wobei auch eine grobe Schätzung der wirklich in den Zwiebeln enthaltenen Menge vorgenommen wurde.

*Diskussion der Resultate.* Die obigen Resultate zeigen, dass die Zwiebeln von *Ornithogalum umbellatum* als cardiotonische Wirkstoffe Convalloxin und Convallosid enthalten. Sie dürften für die digitalisartige Wirkung der Extrakte in erster Linie verantwortlich sein. Ob Subst. D auch daran beteiligt ist, ist ungewiss, da sie biologisch nicht geprüft werden konnte.

<sup>36)</sup> Subst. D zeigt mit ca. 0,3 mg auf Papier im UV. keine Fluoreszenz.

<sup>37)</sup> C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

<sup>38)</sup> Aufgenommen von Herrn G. ROTZLER mit einem UNICAM-SP-500-Spektrophotometer mit Sekundär-Elektronen-Vervielfacher I P 28.

Tabelle 2. Ausbeuten an krist. Stoffen<sup>39)</sup>

Bezeichnung der Flecke	Bezeichnung des Stoffes	257 g Trockenpulver Probe A			2145 g frische Zwiebeln Probe B <sup>40)</sup>		
		Kristalle in g	in %	Geschätzter Gehalt	Kristalle in g	in %	Geschätzter Gehalt <sup>41)</sup>
C	Convallatoxin	0,058	0,022	0,04%	0,033	0,0015	0,006%
F	Convallolid	nicht isoliert		< 0,01%	0,048	0,0022	0,005%
D	Subst. D	nicht isoliert		< 0,01%	0,026	0,0012	0,004%

### Prüfung von *Ornithogalum prasinum* (LINDL.)

Herr Dr. I. B. POLE EVANS, Botaniker, sammelte für uns im August 1953 39 lbs Zwiebeln von *Ornithogalum prasinum* (LINDL.)<sup>42)</sup>. Sie wurden zerschnitten (Schnitt zuerst weiss, verfärbte sich rasch rotbraun) und die klebrige Masse an der Luft getrocknet (Gewichtsverlust 80,8%).

Wir erhielten das Material am 14. Dezember 1953 in sehr gutem Zustand. 1 kg davon<sup>43)</sup> extrahierten wir (ohne vorheriges Weichen) mit wässrigem Alkohol. Die weiter wie bei Probe A erfolgte Aufarbeitung lieferte die in Tab. 3 angegebenen Ausbeuten.

Tabelle 3. Ausbeuten an rohen Extrakten aus 1 kg trockener Zwiebeln von *Ornithogalum prasinum*

	Ae-Extr. <sup>45)</sup>	Chf-Extr. <sup>45)</sup>	Chf-Alk-(2:1) <sup>45)</sup>	Chf-Alk-(3:2)
Ausbeute in g	4,0	0,542	23,221	0,583
in %	0,4	0,054	2,32	0,058

<sup>39)</sup> Dort, wo die Isolierung nur aus einem Teil des Materials erfolgte, wurde auf die ganze eingesetzte Menge umgerechnet.

<sup>40)</sup> Enthielt ca. 84% Wasser.

<sup>41)</sup> Sehr grobe Schätzung auf Grund der erhaltenen Ausbeuten und der Stärke der Flecke im Pehr.

<sup>42)</sup> Die Pflanzen wuchsen im *Aapies River Valley*, ca. 8 Meilen vom *Aapies*-Fluss entfernt, ca. 60 Meilen nordwestlich von Pretoria (Südafrika). Im gleichen Tal hatte über 110 Jahre früher BURKE *Ornithogalum prasinum* erstmals gefunden. Sie waren Ende August gerade am Ausstreuen. Nach Angaben der dortigen Eingeborenen sind die jungen Schosse für Schafe und Ziegen sehr giftig (besonders Jungtiere sollen sich kaum erholen, während ausgewachsene Tiere die Schosse selten fressen). Zwei Stück konnten zum Blühen gebracht werden. Sie wurden im National Herbarium in Pretoria nach sehr gründlichem Studium als *Ornithogalum prasinum* LINDL. identifiziert. Ausserdem reiste Herr Dr. CODD am 6. Oktober zusammen mit Herrn Dr. POLE-EVANS nochmals an denselben Standort, wo sie die Pflanze in Blüte und fruchtend wieder fanden. Eine weitere Suche über 150 Meilen zeigte keine neuen Standorte (Brief vom 2. Oktober 1953).

<sup>43)</sup> Das Zwiebelpulver gab mit Wasser einen sehr starken Schaum<sup>33)</sup> (deutet auf Saponine). Die Prüfung auf Alkaloide<sup>44)</sup> verlief im wesentlichen negativ.

<sup>44)</sup> Geprüft wurden Extrakte aus je 1 g getrockneter Zwiebeln analog *Ornithogalum umbellatum*<sup>34)</sup> mit den angeführten Reagentien<sup>19)</sup>. Nur Phosphormolybdänsäure und Silicowolframsäure gaben positive Reaktionen.

<sup>45)</sup> Keine Absorption im UV.-Licht<sup>46)</sup>, Reaktion nach LIEBERMANN-BURCHARD<sup>14)</sup> positiv mit Chf-Extr., Xanthidrolprobe<sup>15)</sup> und SbCl<sub>3</sub>-Färbung<sup>16)</sup> negativ. Prüfung auf Zucker<sup>17)</sup> nach KILIANI-Spaltung<sup>18)</sup> positiv mit Chf- und Chf-Alk-(2:1)-Extr. Von den Alkaloidreagentien<sup>19)</sup> reagierten nur Phosphormolybdänsäure und Silicowolframsäure positiv mit dem Chf-Alk-(2:1)-Extr. Bei quantitativer N-Bestimmung der rohen Extrakte wurden folgende Werte gefunden: Ae-Extrakt: 0,19%; Chf-Extrakt: 0,59%; Chf-Alk-(2:1)-Extrakt: 0,37%. 3 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt gaben mit 1 ml W einen beständigen Schaum (Höhe 48 mm)<sup>33)</sup>.

<sup>46)</sup> R. BERNASCONI, H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, Helv. **38**, 1767 (1955).

Keiner der Extrakte zeigte mit KEDDE-Reagens eine Violettfärbung. Der in grösster Menge erhaltene Chf-Alk-(2:1)-Extrakt wurde ausserdem einer orientierenden biologischen Prüfung am isolierten Froschherz unterworfen<sup>47)</sup>. Dabei liess sich erst bei einer Konzentration von  $10^{-3}$  g pro ml eine ausgesprochene negativ inotrope Wirkung feststellen, jedoch kein digitalisartiger Effekt. Auf Grund dieser Resultate enthalten diese Zwiebeln keine oder höchstens Spuren von digitaloiden Lactonen. Die Giftigkeit der jungen Schosse dürfte demnach auch von anderen Stoffen herühren. Ausserdem ist bekannt<sup>48)</sup>, dass strophanthinartige Herzgifte bei oraler Verabreichung besonders für Pflanzenfresser relativ wenig toxisch sind.

### Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert, Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis  $200^{\circ} \pm 2^{\circ}$ , darüber etwa  $\pm 3^{\circ}$ . Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,01 Torr und 60–70° getrocknet, zur Analyse, wo nicht anders vermerkt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$ ; Einwaage im Schweinchen nur, wenn besonders vermerkt. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf-Ae-(3:1) (oder anderem Lösungsmittel, sofern angegeben), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Sodalösung bei 0° und W, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Adsorptionschromatographie nach der Durchlaufmethode<sup>49)</sup> an  $Al_2O_3$ <sup>50)</sup> oder  $SiO_2$ <sup>51)</sup>. Papierchromatographie mit Formamid<sup>52)</sup> oder Wasser<sup>53)</sup> als stationärer Phase, Entwicklung mit KEDDE<sup>54)</sup> und RAYMOND<sup>55)</sup> Reagens oder alkalischem 2,4,2',4'-Tetranitrodiphenyl<sup>56)</sup> und Ausführung der Tüpfelprobe nach früheren Angaben.

Es werden die folgenden Abkürzungen benützt:  $AcOC_2H_5$  = Essigester, AcOH = Eisessig,  $(Ac)_2O$  = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Di = Dioxan, Fmd = Formamid puriss. FLUKA, Me = Methanol, Pe = Petroläther, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser, ML = Mutterlauge sowie eingedampfte Mutterlauge, Pchr. = Papierchromatographie und Papierchromatogramm.

### Extraktion der Zwiebeln von *Ornithogalum umbellatum* L.

**Probe A.** — *Vorversuch*: 35 g lufttrockene, gemahlene Zwiebeln wurden mit 185 ml dest. W angefeigt, mit 3 ml To versetzt und 2 Tage bei 35° verschlossen stehengelassen. Nach Versetzen mit 200 ml 95-proz. Alk wurde über einer mit einer dicken Schicht Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) gedichteten Nutsche abfiltriert. Der abgehobene Drogenbrei wurde bei 60–80° mit Alk-W-Gemischen von steigendem Alk-Gehalt, zuletzt mit 95-proz. Alk, während je 30–45 Min. extrahiert. Die vereinigten W-Alk-Extrakte wurden im Vakuum bei 40–50° Badtemperatur so weit konzentriert, dass die Alk-Konzentration noch ca. 50% betrug, und hierauf nach früher gegebener Vorschrift<sup>11)</sup> mit dem aus 50 g  $Pb(OAc)_2 \cdot 3H_2O$  bereiteten  $Pb(OH)_2$  gereinigt und im Vakuum bei pH 6 auf 60 ml eingengt. Die so erhaltene wässrige Lösung gab beim Ausschütteln nach früherer Vorschrift<sup>11)</sup> die in Tab. 1 beschriebenen Ae-, Chf-, Chf-Alk-(2:1)- und Chf-Alk-(3:2)-Extrakte.

<sup>47)</sup> Wir danken der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT Basel auch hier bestens für die Ausführung der Prüfung (Brief vom 13. Juni 1957).

<sup>48)</sup> Vgl. z. B. T. SOLLMANN, «A Manual of Pharmacology», London 1942, p. 550.

<sup>49)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Trans. Farad. Soc. Nr. 7, 305 (1949).

<sup>50)</sup> Bereitet nach J. v. EUW, A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1287, p. 1292, Fussnote 2 (1944), aber nur bei 180° reaktiviert.

<sup>51)</sup>  $SiO_2$  engporig 0,15–0,30 mm gekörnt «für Chromatographie», bezogen von Dr. BENDER & Dr. HOBEIN AG., Zürich 42.

<sup>52)</sup> O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951).

<sup>53)</sup> E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954).

<sup>54)</sup> D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946, in der Ausführungsform von I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).

<sup>55)</sup> W. D. RAYMOND, Analyst 63, 478 (1938).

<sup>56)</sup> R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 40, 284 (1957).

**Hauptversuch:** 257 g derselben Droge A wurden mit 1 l Wasser angeteigt, mit 10 ml To überschichtet und 2 Tage bei 35° gehalten. Die Extraktion wurde gleich wie im Vorversuch beschrieben durchgeführt. Die mit  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  gereinigten Extrakte wurden auf 300 ml eingeeengt; dabei wurde eine dickflüssige, gelbbraun gefärbte wässrige Lösung erhalten. Um Emulsionen im Laufe des Ausschüttelns zu vermeiden, wurde direkt mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit W, 2-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ -Lösung und W wie üblich<sup>11)</sup> gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand, 2,4 g braunes Öl, wurde hierauf in 50 ml W gelöst und sechsmal mit je 70 ml Ae ausgeschüttelt. Die Ae-Lösungen wurden mit 50 ml W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Die wässrige Lösung wurde anschliessend analog sechsmal mit je 70 ml Chf und sechsmal mit je 70 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Dabei wurden die in Tab. 1 angeführten Ausbeuten an Extrakten erhalten, nachdem 1,554 g Ae-Extrakt in 1,051 g Pe- und 0,360 g gereinigten Ae-Extrakt zerlegt worden waren.

Die zuletzt mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelte wässrige Lösung wurde mit dem gleichen Volumen Me verdünnt und mit dem 5fachen Volumen abs. Alk versetzt, wobei eine reichliche Menge unlöslicher Begleitstoffe in Form einer klebrigen, teigigen Masse ausfiel. Diese wurde in einem Minimum an W gelöst und durch Zufügen von Alk erneut ausgefällt (Fällung verworfen). Die vereinigten klaren Alk-Lösungen wurden im Vakuum auf ca. 50 ml konzentriert, mit 100 ml W verdünnt, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  gesättigt und achtmal mit je 100 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit 50 ml halb gesättigter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung, die 10%  $\text{KHCO}_3$  enthielt, und mit 50 ml halb gesättigter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft (Rückstand 0,221 g, vgl. Tab. 1).

**Probe B.** — 2,145 kg frische Zwiebeln wurden grob zerkleinert, in 3 l Alk eingelegt und 1 Monat unter  $\text{CO}_2$  bei 0° aufbewahrt. Dann wurde abfiltriert und noch dreimal mit je 3 l 95-proz. Alk bei 50–70° extrahiert. Die Droge wurde hierauf bei 20° getrocknet und in der Schlagmühle fein gemahlen. Das feine Pulver wurde dann fünfmal mit 90–95-proz. Alk extrahiert und hierauf verworfen. Die vereinigten alkoholischen Auszüge wurden im Vakuum bei 50° Badtemperatur konzentriert und wie üblich mit  $\text{Pb}(\text{OH})_2$  (bereitet aus 935 g  $\text{Pb}(\text{OAc})_2$ -trihydrat) gereinigt. Die wässrige Lösung der so gereinigten Extrakte (ca. 500 ml) wurde nach üblicher Methode sechsmal mit je 500 ml Chf und Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit W (50 ml), 2-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (50 ml) und W (zweimal 100 ml) gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Dabei wurden 5,406 g Chf-Extr. (KEDDE-Reaktion negativ) und 1,422 g Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile (KEDDE-Reaktion positiv) erhalten. Dementsprechend zeigten nur die letzteren intensiv bitteren Geschmack.

Die mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelte wässrige Lösung wurde im Vakuum auf 100 ml eingeeengt, mit 100 ml gesättigter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung verdünnt und siebenmal mit je 400 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschenen und getrockneten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft; Rückstand 2,4 g (vgl. Tab. 1).

1,422 g Chf-Alk-(2:1)-lösliche Anteile wurden in 40 ml W gelöst und dreimal mit je 60 ml Chf ausgeschüttelt; die Auszüge wurden zweimal mit je 15 ml W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft; Rückst. 0,091 g (mit Chf-Extr. vereinigt). Die ausgeschüttelte wässrige Lösung wurde anschliessend zwölfmal mit je 60 ml Chf-Alk-(9:1), achtmal mit je 60 ml Chf-Alk-(4:1) und zwölfmal mit je 60 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die gleich gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben die in Tab. 1 angegebenen Ausbeuten.

**Probe A.** — *Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes:* 178 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt (entspr. 101 g getrocknetem Zwiebelpulver) wurden an 4,5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 15 ml der in Tab. 4 verzeichneten Lösungsmittel.

Die Fr. 9–12 gaben aus W 23 mg Convallatoxin in farblosen Prismen, Smp. 235–241° (Pchr. Fleck C). Aus den übrigen Fraktionen konnten keine Kristalle erhalten werden.

**Probe B.** — Die Chf-Alk-(4:1)- bzw. Chf-Alk-(2:1)-Extrakte zeigten im Pchr. (vgl. Fig. 3) beide die zwei Hauptflecke D und F stark. Geringe Unterschiede waren bei den Nebenglykosiden E, E' und G sichtbar, die nur in sehr geringer Menge vorhanden waren und auf deren Isolierung verzichtet wurde. Sie wurden deshalb vereinigt (769 mg, entsprechend 2,145 kg frischen Zwiebeln) und an 30 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 100 ml der in Tab. 5 angeführten Lösungsmittel.

Tabelle 4. *Chromatographie von 178 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt aus Ornithogalum umbellatum, Probe A, an 4,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Nr.	Lösungs- mittel	Eindampfrückstand		Habitus, bei Krist. Menge und Smp.
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	
1–5	Chf-Me-(98:2)	27,0		braunes Öl, KEDDE: negativ
6–8	(96:4)	3,5		KEDDE: positiv nicht weiter untersucht
9–12	(50:50)	74,0	(A) (B) C (E evtl. E')	23 mg Smp. 235–241°
13–14	(50:50)	10,0	(B) C	amorph
15–18	(33:66)	16,0	(B) C E' (F)	amorph
19–22	Me	13,0	(C)	amorph

Tabelle 5. *Chromatographie von 769 mg Chf-Alk-(4:1)- und -(2:1)-Extrakt aus Ornithogalum umbellatum, Probe B, an 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Frak- tions- Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand		
		roh		Kristalle
		Menge in mg	Pchr.	Menge in mg, Smp., Pchr.
1	Chf-Me-(98:2)	3	}	amorph, dunkelbraunes Öl, KEDDE-Reaktion schwach positiv; nicht weiter untersucht
2–3	„ „ (96:4)	14		
4	„ „ (94:6)	0		
5–6	„ „ (92:8)	6		
7–9	„ „ (90:10)	17		
10–12	„ „ (80:20)	30	D E'	amorph
13–15	„ „ (60:40)	113	B (D) E'	amorph
16–18	„ „ (50:50)	73	(E) F	amorph
19	„ „ (30:70)	34	}	9 mg, Smp. 173–188° 190–197° (F)
20	„ „ „	31		
21	„ „ „	25		
22–24	Chf-Me-AcOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -(1:1:1)	15	}	amorph
25–30	„ „ „ „ + 2% AcOH	291		

Die Fr. 25–30 wurden vereinigt, mit 25 ml W und 120 ml Chf-Alk-(2:1) geschüttelt und die wässrige Phase noch siebenmal mit je 75 ml Chf-Alk ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden zweimal mit je 25 ml 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dann dreimal mit je 25 ml W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (210 mg) gab aus Me-Ae nach Animpfen 39 mg krist. Convallosid, das noch gelbbraun gefärbt war. Zur Reinigung wurde zweimal aus heissem Me umkristallisiert und dabei 23 mg farblose Drusen, Smp. 199–201° erhalten (Pchr. vgl. Fig. 5).

*Aufarbeitung der Mutterlaugen der Fraktionen 25–30 durch präparative Papierchromatographie.* WHATMAN-Nr. 1-Papier (19 cm breit) wurde durch ein W-An-(1:2)-Gemisch gezogen und kurz an der Luft bei ca. 20° getrocknet, bis das An verdampft war. Dann wurden auf die Startlinie jedes Bogens gleichmässig je 5 mg der ML aus den Fr. 25–30 (Tab. 5) aufgetragen. Anschliessend wurde durch Aufhängen an der Luft bei 20° noch so lange getrocknet, bis der W-Gehalt des Pa-

piers 35–45% betrug, und dann in den Trog eingehängt. Die Chromatographie wurde im System To-Bu-(1:1)-W bei ca. 20° durchgeführt und abgebrochen, sobald die Lösungsmittelfront das untere Ende des Papiers erreicht hatte. Die Papiere wurden im Dunkeln während 15 Std. im schwachen Luftstrom bei 20° getrocknet und die Substanzen durch Besprühen von ausgeschnittenen Streifen mit KEDDE-Reagens lokalisiert. Es wurden nur die Zonen der Subst. F und D eluiert, während die Subst. E (evtl. E') und G, die nur in Spuren nachweisbar waren, verworfen wurden.

Die Eluierung wurde nach üblicher Methode<sup>28)</sup> mit Me-W-Gemischen von steigendem Me-Gehalt durchgeführt. Nach Abdestillieren des Me im Vakuum wurde die auf 30 ml konzentrierte wässrige Lösung mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> halb gesättigt und mit Chf-Alk-(3:2) erschöpfend ausgeschüttelt. Aus den Eluaten der F-Zone (25 mg) wurden nach Acetylierung und Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (vgl. Tab. 7) 5 mg krist. Hexa-O-acetyl-convallolid, Smp. 153–156°, erhalten.

Die Eluate der D-Zone (97 mg) wurden an 3,0 g SiO<sub>2</sub> chromatographiert. Zum Eluieren der Fraktionen dienten je 10 ml der in Tab. 6 angegebenen Lösungsmittel.

Tabelle 6. Chromatographie von 97 mg Eluat der D-Zone aus präp. Pchr. an 3,0 g SiO<sub>2</sub>

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand				
		roh		Kristalle		
		Menge in mg	KEDDE-Reaktion	Menge in mg	Smp.	Pchr.
1–2	Chf-Me-(98:2)	6	–	–		
3–8	„ „ -(96:4)	6	–	–		
9–14	„ „ -(90:10)	7	+	1	150–230°	
15–17	„ „ -(80:20)	60	+	5	178–181°	D
18–20	„ „ „	14	+	–		
21–23	„ „ „	2	+	–		

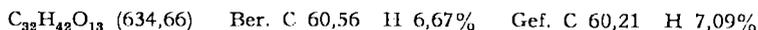
Die Fr. 15–17 gaben aus 0,3 ml W nach längerem Stehen bei 0° 5 mg farblose Körner, Smp. 178–181° (für IR.-Spektrum verwendet). Der ML-Rückstand wurde aus Isopropanol kristallisiert; durch wiederholtes Ansetzen wurden dabei noch insgesamt 5 mg farblose Körner, Smp. 186–192° und 16 mg, Smp. 140–180° (für Drehung und UV.-Spektrum verwendet) erhalten. Im Pchr. zeigten die Kristalle mit verschiedenem Smp. den gleichen Fleck D.

### Beschreibung der isolierten Stoffe

*Convallatoxin* (Subst. C). Aus An-W dünne farblose Prismen, Smp. 235–241°,  $[\alpha]_D^{25} = -0,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,054$  in Chf). Nach Mischprobe, Pchr. (vgl. Fig. 4) und Farbreaktionen mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und SbCl<sub>3</sub> identisch mit authentischem Material.

*Tri-O-acetyl-convallatoxin*: 20 mg Convallatoxin aus *Ornithogalum umbellatum* (Kristalle 2. Qual., Smp. 220–237°) wurden in 0,3 ml Py und 0,2 ml (Ac)<sub>2</sub>O 48 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 26 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 17 mg farblose Nadeln, Smp. 215–238°,  $[\alpha]_D^{25} = -5,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,962$  in Chf). Nach Pchr. identisch mit authentischem Material (vgl. Fig. 9).

*Tri-O-formyl-convallatoxin*: 31 mg Convallatoxin aus *Ornithogalum umbellatum* vom Smp. 235–241° wurden bei –20° tropfenweise mit einer 1 Std. vorher bereiteten Lösung von 2,3 ml Ameisensäure und 0,9 ml (Ac)<sub>2</sub>O unter Feuchtigkeitsausschluss versetzt und 17 Std. bei –20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Alk-(2:1) gab 21 mg neutrales Rohprodukt (ein Teil ging verloren). Aus An-Ae 14 mg dünne farblose Blättchen, Smp. 235–241° (Zcrs.),  $[\alpha]_D^{25} = -12,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,183$  in 95-proz. Di). Kein Gewichtsverlust beim Trocknen.



Die Mischprobe mit authentischem Material<sup>38)</sup> schmolz gleich.

*Convallosid* (Subst. F). Aus Me dicke farblose Spiesse, Smp. 199–201°,  $[\alpha]_D^{25} = -6,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,991$  in 80-proz. Alk). Trocknung zur Analyse im Schweinchen. Gewichtsverlust 7,2%, für 3 H<sub>2</sub>O ber. 6,9%:

C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub> + 4 H<sub>2</sub>O (784,83), nach Trocknung methoxylfrei.

C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub> + H<sub>2</sub>O (730,78) Ber. C 57,52 H 7,45% Gef. C 58,01 H 7,87%

C<sub>35</sub>H<sub>52</sub>O<sub>15</sub> + ½ H<sub>2</sub>O (721,77) Ber. „ 58,24 „ 7,40%

Mischprobe, Pchr. (vgl. Fig. 5) und Farbreaktionen mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und SbCl<sub>3</sub> gleich wie authentisches Material.

*Hexa-O-acetyl-convallosid*. 25 mg Convallosid (rohe Eluate aus Isolierung von Subst. F durch präp. Pchr., vgl. Nr. 11 in Fig. 5) wurden in 0,5 ml Py und 0,4 ml (Ac)<sub>2</sub>O 48 Std. bei 20° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 31 mg gelben Schaum. Aus An-Ae konnten nur Spuren von Kristallen, Smp. 146–152°, erhalten werden. Diese wurden zusammen mit der ML an 1,0 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten je 3 ml der in Tab. 7 angegebenen Lösungsmittel. Die Fr. 6–10 gaben aus An-Ae 5 mg Hexa-O-acetyl-convallosid in farblosen, zu Drusen vereinigten Nadeln, Smp. 153–156°. Die Mischprobe mit authentischem Material gab keine Smp.-Erniedrigung.

Tabelle 7. *Chromatographie von 31 mg rohem Hexa-O-acetyl-convallosid an 1,0 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	
		rohe Menge in mg	Habitus, bei Krist. Smp.
1–5	Be-Chf-(2:1)	11	amorph, KEDDE negativ
6–10	Be-Chf-(2:1)	13	Smp. 153–156°
11–15	Chf	3,5	amorph, nicht weiter untersucht
16–20	Chf	2	amorph, nicht weiter untersucht

22 mg ML (erhalten beim Umkristallisieren von Convallosid) wurden genau gleich acetyliert. Die übliche Aufarbeitung lieferte 28 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 7 mg farblose zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 152–154°;  $[\alpha]_D^{25} = -23,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,877$  in An). Das Produkt zeigte im Pchr. (Fig. 9) dieselbe Laufstrecke wie authentisches Hexa-O-acetyl-convallosid.

*Substanz D*. 16 mg der bei der präparativen Pchr. (aus Frakt. 15–17, Tab. 6) erhaltenen Kristalle vom Smp. 140–180° zeigten  $[\alpha]_D^{25} = -21,6^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,958$  in Me). Farbreaktion mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: zitronengelb (sofort), goldgelb (1'–5'), gelborange (10'–20'), blaugrün (40'–60'), grünlichblau (80'–2 Std.). UV.-Spektrum vgl. Fig. 1. Das IR.-Spektrum in KBr gepresst wies die für den Butenolidring charakteristischen Banden bei 5,58, 5,72 und 6,15  $\mu$  auf.

*Hydrolyse von D nach MANNICH & SIEWERT*<sup>37)</sup>: 3,0 mg D wurden in 10 ml An gelöst, mit 0,1 ml konz. HCl versetzt und 14 Tage bei 20° unter CO<sub>2</sub> stehengelassen. Hierauf wurde mit 2 ml W versetzt, das An im Vakuum abdestilliert und die verbliebene wässrige Lösung (1 ml) mit 1 ml Me versetzt und 15 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abdestillieren des Me im Vakuum wurde fünfmal mit je 1 ml Chf ausgeschüttelt. Dieser Extrakt lieferte 1,6 mg gelbes Harz («Genin», Pchr. vgl. Fig. 8). Die wässrige Phase wurde im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand (roher Zucker) diente zur Pchr. (vgl. Fig. 7).

#### Extraktion der Zwiebeln von *Ornithogalum prasinum* (LINDL.).

1000 g getrocknete Zwiebeln (grobes Pulver) wurden zunächst fünfmal mit je 1 l Alk bei 70° nach üblicher Methode<sup>11)</sup> extrahiert. Der auf der Nutsche abgepresste Rückstand wurde an der Luft getrocknet, in der Schlagmühle fein gemahlen und nochmals bei 70° dreimal mit je 1 l 50-proz. und dreimal mit je 1 l 70-proz. Alk extrahiert. Die mit 50-proz. Alk erhaltenen Auszüge wurden für sich im Vakuum bei 50° auf ca. 750 ml eingengt und lieferten einen dicken Sirup, der in Portionen mit der 10fachen Menge 95-proz. Alk versetzt wurde. Dabei konnten wesentliche Mengen eines amorphen, teigigen Materials ausgefällt werden. Die abdekantierte Lösung wurde im Vakuum konzentriert und noch einmal mit Alk ausgefällt. Die Fällungen wurden aus W-Alk dreimal umgefällt. Das ausgefallene Material zeigte mit KEDDE-Reagens keine Färbung und keine

Absorption im UV.-Licht bei ca. 300 m $\mu$ <sup>4b</sup>). Die in Alk löslichen Anteile wurden mit den Alk-W-Extrakten vereinigt und im Vakuum auf ca. 850 ml konzentriert. Die weitere Aufarbeitung (Reinigung mit Pb(OH)<sub>2</sub> und Zerlegen in verschiedene Extrakte) wurde gleich durchgeführt wie bei *Ornithogalum umbellatum* (Ausbeuten vgl. Tab. 3).

Die Analysen wurden unter der Leitung von Herrn F. THOMMEN im Mikrolabor der Organisch-chemischen Anstalt Basel ausgeführt.

### Zusammenfassung

Es wurden die Zwiebeln zweier verschiedener *Ornithogalum*-Arten, nämlich *Ornithogalum umbellatum* L. und *Ornithogalum prasinum* (LINDL.) auf digitaloide Glykoside untersucht. In *Ornithogalum prasinum* konnten in den Extrakten mit den für diese Stoffklasse üblichen Farbreaktionen keine herzwirksamen Glykoside nachgewiesen werden. Auch die biologische Testierung des Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extraktes am isolierten Froschherzen zeigte keine Wirksamkeit.

In den Extrakten der Zwiebeln von in Kanada wachsendem *Ornithogalum umbellatum* liessen sich im Papierchromatogramm mit KEDDE-Reagens 8 Substanzen A, B, C, D, E, E', F und G nachweisen. Von diesen waren die Substanzen A, B, E, E' und G nur in sehr geringer Konzentration vorhanden und wurden präparativ nicht isoliert. Die Substanzen C, D und F wurden in krist. Form erhalten. Subst. C war identisch mit Convallatoxin, Subst. F mit Convallosid. Subst. D konnte mit keinem bekannten Stoff identifiziert werden.

Faculty of Medicine, The University of Western Ontario  
Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

## 75. Beitrag zur Konstitution des Antiariogenins

Glykoside und Aglykone, 199. Mitteilung<sup>1)</sup>

von R. P. Martin und Ch. Tamm

(17. II. 59)

Der Milchsafft von *Antiaris toxicaria* LESCH (*Moraceae*) enthält ein Gemisch von mindestens sieben Cardenolidglykosiden<sup>2)3)</sup>. Die Hauptbestandteile sind  $\alpha$ -Antiarin (I) und  $\beta$ -Antiarin (IV), die beide zum ersten Male von KILIANI in reiner krist. Form isoliert worden sind<sup>4)5)6)7)</sup>.

$\alpha$ - und  $\beta$ -Antiarin sind isomer und besitzen die Formel C<sub>29</sub>H<sub>42</sub>O<sub>11</sub><sup>8)</sup>. Sie unterscheiden sich voneinander sicher im Zuckeranteil.  $\alpha$ -Antiarin enthält Antiarose, die mit D-Gulomethylose

<sup>1)</sup> 198. Mitt.: H. MROZIK, R. A. WAUD, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 683 (1959).

<sup>2)</sup> F. DOLDER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 1364 (1955).

<sup>3)</sup> N. G. BISSET, *Annales Bogorienses (Indonesia)* **2**, 211, 219 (1957).

<sup>4)</sup> H. KILIANI, *Arch. Pharmaz.* **234**, 438 (1896).

<sup>5)</sup> H. KILIANI, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **43**, 3574 (1910); **46**, 667, 2179 (1913).

<sup>6)</sup> Weitere ältere Literatur vgl. bes. bei DOEBEL *et al.*<sup>9)</sup>.

<sup>7)</sup> Manche Milchsafftproben enthalten fast ausschliesslich das eine der beiden Hauptglykoside<sup>2)5)9)</sup>.

<sup>8)</sup> R. TSCHESCHE & W. HAUPT, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **69**, 1377 (1936).

<sup>9)</sup> K. DOEBEL, E. SCHLITTLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **31**, 688 (1948).