

7. *Durchführung der Messungen.* 10 ml einer der den Puffer enthaltenden Standardlösungen mit Sr-89 vom gewünschten pH-Wert wurden mit der notwendigen Menge Phosphatlösung vom gleichen pH versetzt, dann mit so viel NaCl, wie zur Erreichung der ionalen Stärke 0,15 nötig war, und auf 50 ml aufgefüllt. Nach dem Durchmischen wurden zweimal 5 ml für den Vergleich bei der Aktivitätsmessung herauspipettiert. Zu den restlichen 40 ml wurde der Ionentauscher in einer Menge von 50–80 mg zugefügt, der Stopfen aufgesetzt, mit Zellonlack versiegelt und das Fläschchen dann im thermostatierten Wasser von $20^\circ \pm 0,05^\circ$ 4–5 Stunden lang geschüttelt. Nach dem Equilibrieren wurden erneut zweimal 5 ml Lösung herauspipettiert. Alle vier 5-ml-Proben wurden in Melaminharzschälchen unter der IR.-Lampe zur Trockne eingedampft. Zur Aktivitätsmessung wurde das Schälchen auf dem Schlitten des Bleihauses unter das Zählrohr geschoben. Die Aktivität des Standards wurde gleich 100 gesetzt und diejenige der equilibrierten Lösung in Prozenten davon angegeben. Derart findet man das Verhältnis \bar{m}/m . Zur Kontrolle wurde in einigen Fällen auch die Aktivität des Harzes ermittelt. Alle derart erhaltenen g -Werte sind in der Dissertation H. GNEFF¹¹⁾ in Tabellenform enthalten.

Der Standardfehler der radiochemischen Konzentrationsbestimmung betrug höchstens $\pm 1\%$.

Für die Unterstützung dieser Arbeit durch den SCHWEIZ. NATIONALFONDS möchten wir bestens danken.

SUMMARY

The complex formation in homogeneous solution of Sr^{2+} with various phosphates has been investigated by SCHUBERT's ion exchange method. The total concentration of the metal was 10^{-6}M and Sr-89 served as tracer. Stability constants of the following mononuclear species are given: SrPO_4^- , SrHPO_4 , $\text{SrH}_2\text{PO}_4^+$, $\text{SrP}_2\text{O}_7^{2-}$, $\text{SrP}_3\text{O}_{10}^{3-}$, $\text{SrHP}_3\text{O}_{10}^{2-}$, SrP_3O_9^- , $\text{SrP}_4\text{O}_{12}^{2-}$.

Zürich, Laboratorium für Anorganische Chemie
der Eid. Technischen Hochschule

¹¹⁾ HANS GNEFF, Phosphate als Komplexbildner für Strontium, Juris-Verlag, Zürich 1961.

141. Die Glykoside des Milchsafte von *Antiaris toxicaria* LESCH aus Malaya sowie von *Antiaris africana* ENGL. aus Kenya. Isolierungen¹⁾

Glykoside und Aglykone, 231. Mitteilung²⁾

von W. Wehrli, O. Schindler und T. Reichstein

(3. IV. 62)

Der Milchsafft von *Antiaris toxicaria* LESCH (*Moraceae*) ist sehr reich an Cardenolidglykosiden. Es handelt sich aber um eine polymorphe Art. Weder über die spezifische Abgrenzung noch über besondere Varianten existieren zuverlässige Angaben. Chemisch sind bisher besonders Pflanzen aus Indonesien (Borneo und Java) untersucht worden³⁾. Als Hauptglykoside fand KILIANI⁴⁾ α - und β -Antiarin, je nach

¹⁾ Auszug aus Diss. W. WEHRLI, Basel 1962.

²⁾ 230. Mitteilung: C. JUSLÉN, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 46 (1963).

³⁾ Die ältere Literatur vgl. bei C. WEHMER, *Die Pflanzenstoffe* I, 243 (2. Aufl., G. Fischer, Jena 1929); ferner bei KILIANI⁴⁾, DOEBEL⁵⁾, DOLDER *et al.*⁶⁾, BISSET⁷⁾, MARTIN & TAMM⁸⁾, sowie bei JUSLÉN⁹⁾.

⁴⁾ H. KILIANI, *Arch. Pharmaz.* 234, 438 (1896); *Ber. deutsch. chem. Ges.* 43, 3574 (1910); 46, 667, 2179 (1913).

⁵⁾ K. DOEBEL, E. SCHLITTLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 688 (1948).

Herkunft in wechselnden Mengen. DOLDER *et al.*⁶⁾ isolierten weitere kristallisierte Cardenolide. BISSET⁷⁾ zeigte papierchromatographisch, dass diese Substanzen in andern Proben auch anwesend sind. Er fand teilweise erhebliche Unterschiede

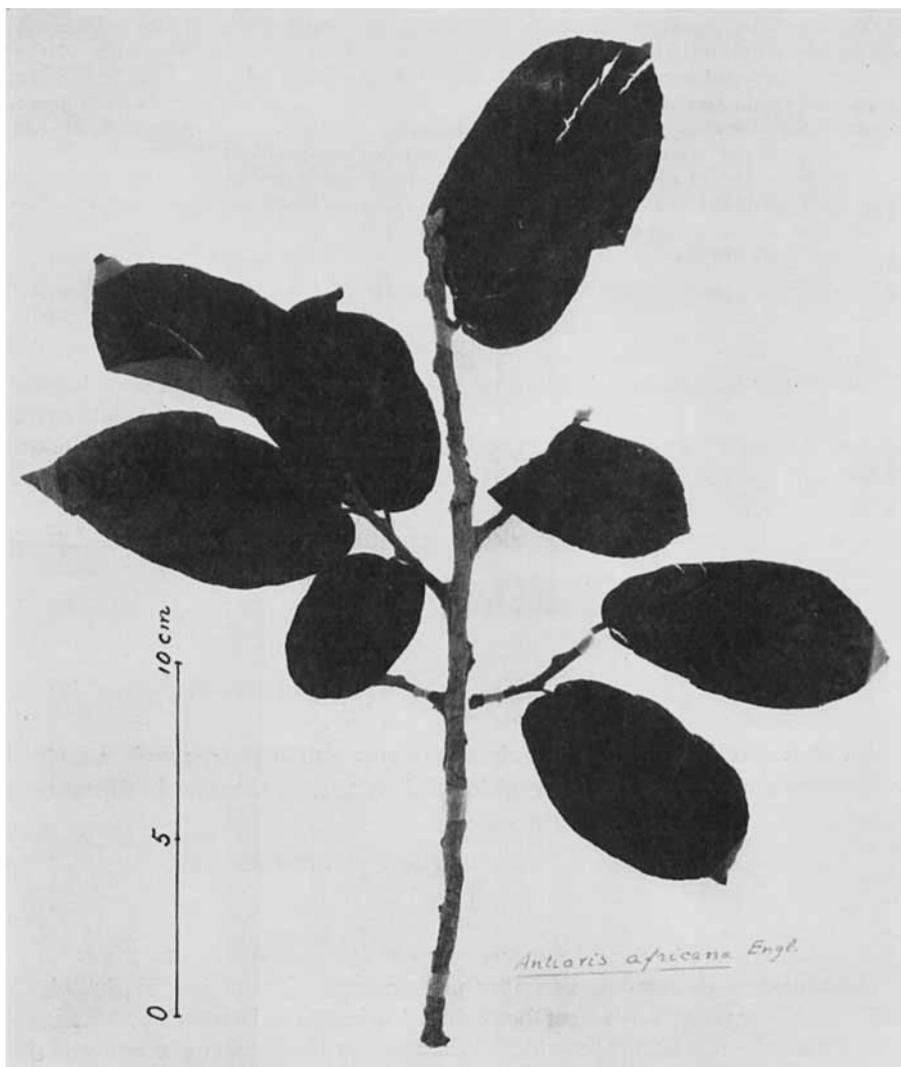


Fig. 1. *Herbarmuster von Antiaris africana ENGL.*

Collected by K. SARGENT, Divisional Forest Officer, Forest Department Mombasa, in the Shimba Hills Forest Reserve of the Kwale Forest District at an elevation of 1000 ft. In this locality such trees are numerous, growing to a height of 123 ft. with a girth (Umfang) of up to 8 ft. at 4 ft. 3 in. from ground level (cover bark). It is a tree closely associated with *Chlorophora excelsa*.

(Brief No. 15/13/2/104 vom 11. 5. 56.)

⁶⁾ F. DOLDER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 38, 1364 (1955).

⁷⁾ N. G. BISSET, *Annales Bogorienses (Indonesia)* 2, 211, 219 (1957).

zwischen einzelnen Bäumen. JUSLÉN⁹⁾ konnte aus Material von Bogor neben β -Antiarin insgesamt 10 kristallisierte Glykoside isolieren und 19 weitere papierchromatographisch nachweisen. Von diesen Stoffen konnte kürzlich die Struktur von α - und β -Antiarin sowie von Antiosid sichergestellt werden⁹⁾. Die Konstitution der übrigen KEDDE-positiven Stoffe¹⁰⁾ war bisher unbekannt.

Aus den oben genannten Gründen war es von Interesse, auch Milchsaft anderer Herkunft oder von nahe verwandten Arten zu untersuchen. Wir beschreiben im folgenden die genaue Analyse einer Probe von *Antiaris-toxicaria*-Latex aus Malaya. Ferner untersuchten wir orientierend mit Hilfe von Papierchromatogrammen eine Milchsaft-Probe von *Antiaris africana* ENGL.¹¹⁾ aus Kenya.

Beschaffung des Ausgangsmaterials. – Es standen die zwei folgenden Latex-Proben zur Verfügung:

1) 2,65 l Latex von *Antiaris toxicaria* LESCH, gesammelt vom FOREST RESEARCH INSTITUTE in Kepong Selangor (Malaya) von mehreren Bäumen im Bukis Lagong Forest Reserve am 18. 6. 1959. Der frische Saft wurde zur Konservierung mit 2,3 l 96-proz. Alkohol und 0,4 l Chloroform versetzt, wodurch teilweise Koagulation eintrat, und in zwei Blechkanistern luftdicht verschlossen versandt¹²⁾. Er erreichte uns am 20. 11. 1959 in ausgezeichnetem Zustand und wurde bis zum Beginn der Aufarbeitung (7. 12. 1959) bei 0° aufbewahrt.

2) 5,3 l Latex von *Antiaris africana* ENGL., gesammelt auf Veranlassung des FOREST DEPT., Mombasa (Kenya), im Shimba Hills Forest Reserve des Kwale Forest Districts. Zugehöriges Herbarmuster vgl. Fig. 1. Der frische Saft wurde zur Konservierung mit 5,3 l Methanol-Chloroform-(1:1) versetzt und in zwei luftdicht verschlossenen Blechkannen versandt¹³⁾. Er erreichte uns Mitte Juli 1956 in ausgezeichnetem Zustand und wurde bis zum Beginn der Aufarbeitung (28. 8. 1956) bei 0° aufbewahrt.

Extraktion und Vortrennung der Extrakte. – a) *Latex von Antiaris toxicaria aus Malaya.* Das gesamte Material (entspr. 2,65 l frischem Milchsaft) wurde zuerst im Vakuum von Chloroform befreit und die wässrig-alkoholische Suspension mit total 12,9 l 96-proz. Alkohol vermischt, wobei die unlöslichen Anteile koaguliert wurden. Die klare, wässrig-alkoholische Lösung wurde zuerst mit Petroläther extrahiert und dann ohne Pb(OH)₂-Reinigung so oft mit Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt, bis die verbleibende, wässrige Phase mit KEDDE-Reagens¹⁰⁾ keine Färbung mehr gab.

So wurden 12,5 g rohes Cardenolid-Gemisch erhalten, aus dem sich 1,488 g kristallisiertes α -Antiarin (mit einer Spur Substanz F vermischt) abtrennen liessen.

⁸⁾ R. P. MARTIN & CH. TAMM, Helv. 42, 696 (1959).

⁹⁾ C. JUSLÉN, Diss. Helsinki, die demnächst erscheint, sowie ²⁾.

¹⁰⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leiden, 1946; Pharmac. Weekblad 82, 741 (1947); ausgeführt nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952). Diese Reaktion ist bei fast allen Herzglykosiden positiv. Nach R. TSCHESCHE & G. GRIMMER, Ber. 93, 1477 (1960), versagt sie bei 16-Ketocardenoliden, ferner nach O. RENKONEN *et al.*, Helv. 42, 160 (1959), auch bei gewissen Benzoylderivaten. Diese Beobachtung hat sich bei dem hier beschriebenen Tetra-O-benzoyl- α -antiosid bestätigt.

¹¹⁾ Botanische Beschreibung vgl. D. PRAIN, Flora of Tropical Africa VI/2, 223 (L. Reeve & Co, London 1917).

¹²⁾ Wir danken Herrn N. G. BISSET, Dept. of Chemistry, Jalan Sultan, Petaling Jaya, Selangor (Malaya), auch hier für die freundliche Vermittlung dieses Materials.

¹³⁾ Wir danken Herrn P. R. O. BALLY, Botaniker, damals am Coryndon Museum, Nairobi, sowie dem Forest Department, Mombasa (Kenya), bestens für die Beschaffung und Sendung des Materials.

Die eingedampften Mutterlaugen wurden wie früher beschrieben¹⁴⁾ aus wässriger Phase durch fraktioniertes Ausschütteln mit Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen getrennt. Über das Resultat orientiert Tab. 1. Dort sind zum Vergleich auch die Werte von JUSLÉN für einen Latex aus Bogor⁹⁾ eingesetzt.

Tabelle 1. Ausbeute an Rohextrakten von *Antiaris-toxicaria*-Latex aus Malaya und Bogor sowie papierchromatographische Zusammensetzung¹⁶⁾

Erste Kristallisate und Extrakte	2,65 l Latex aus Malaya			2,27 l Latex aus Bogor ¹⁷⁾		
	Menge ¹⁸⁾		Flecke im Pchr	Menge ¹⁸⁾		Flecke im Pchr ¹⁹⁾
	in g	in %		in g	in %	
Kristallinat	1,488	0,056	T, (F)	—	—	$\alpha_A, \alpha_B, \alpha', E_J, \beta$ $\alpha, \alpha', \beta, \gamma, \delta, H_J, \epsilon$ $\zeta, K_J, J_J, L_J, M_J, M'$ $P_J, N_J, \sigma, \tau, \varphi, \omega$ $L_J, M_J, P_J, N_J, \sigma, \tau, \varphi, \omega$
Chf-Extr.	1,250	0,047	A-C	6,75	0,297	
Chf-Alk-(2:1)-Fr 1-12	5,790	0,218	A"-T	65,42	2,880	
-Extr. Fr 13-28	2,058	0,078	J-Y			
Chf-Alk-(3:2)-Extr. . .	0,193	0,007	Q-Y	2,13	0,094	

b) *Latex von Antiaris africana aus Kenya*¹⁵⁾. Das gesamte Material (entspr. 5,3 l frischem Milchsaff) wurde in zwei Portionen mit je 6 l 96-proz. Alkohol vermischt, wobei die unlöslichen Anteile koaguliert wurden. Die klare, wässrig-alkoholische Lösung wurde nach starkem Einengen im Vakuum und Abtrennung von 35 g KEDDE-negativen Kristallen mit Petroläther extrahiert und dann mit Pb(OH)₂ gereinigt. Anschliessend wurde die eingedampfte, wässrige Lösung wie früher beschrieben¹⁴⁾ durch fraktioniertes Ausschütteln mit Chloroform und Chloroform-Alkohol-Gemischen getrennt. Über das Resultat orientiert Tab. 2.

Tabelle 2. Ausbeute an Rohextrakten von *Antiaris-africana*-Latex aus Kenya und papierchromatographische Zusammensetzung

5,3 l Latex aus Kenya					
Extrakte	Menge ¹⁸⁾		Flecke im Pchr ²⁰⁾		
	in g	in %			
Chf-Extr.	2,1	0,040	A, A', A'', evtl. C		
Chf-Alk-(2:1)-Extr. . .	62,4	1,178	H, evtl. C, + weitere z.T. undeutliche Flecke ²¹⁾ KEDDE-negativ		
Chf-Alk-(3:2)-Extr. . .	13,5	0,255			

¹⁴⁾ J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1821 (1951).

¹⁵⁾ Diese Extraktion wurde vom 28. 8. bis 8. 9. 1956 von Herrn J. v. Euw ausgeführt.

¹⁶⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum exper. Teil.

¹⁷⁾ Resultate von JUSLÉN⁹⁾.

¹⁸⁾ In % bezogen auf frischen Milchsaff.

¹⁹⁾ Die von JUSLÉN⁹⁾ mit lateinischen Buchstaben bezeichneten Stoffe wurden hier, um Verwechslungen zu vermeiden, mit einem Index j versehen. Identifizierung mit den hier erwähnten Substanzen, soweit durchgeführt, vgl. Tab. 4.

²⁰⁾ Keiner der angegebenen Stoffe wurde isoliert. Die Substanzen sind deshalb nicht sicher identifiziert. Substanz C aus dem Latex von Malaya und von Kenya läuft im Papierchromatogramm (Systeme Fig. 2 und 3) gleich wie Substanz β aus dem Latex von Bogor. Diese zwei Stoffe sind aber verschieden.

²¹⁾ Der Chf-Alk-(2:1)-Extrakt enthält viel KEDDE-negatives Material.

Papierchromatogramme¹⁹⁾

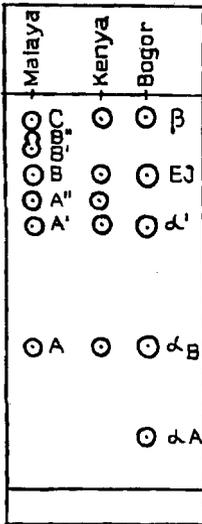


Fig. 2
Chf/Fmd
3 Std.

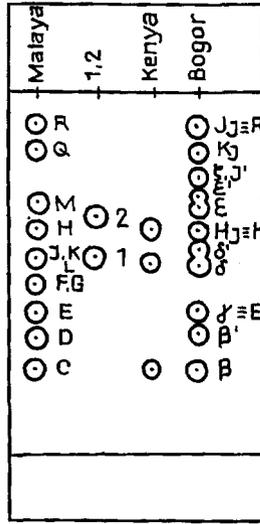


Fig. 3
Mek-To-(4:1)/W
2 1/2 Std.

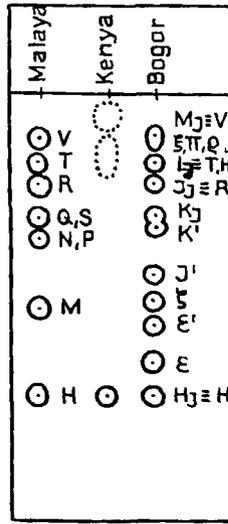


Fig. 4
Mek-To-(4:1)/W
7 Std.

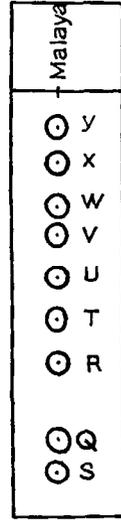


Fig. 5
24 Std.

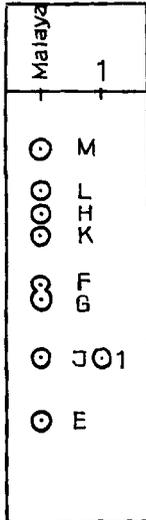


Fig. 6
To-Bu-
(4:1)/W
11 Std.

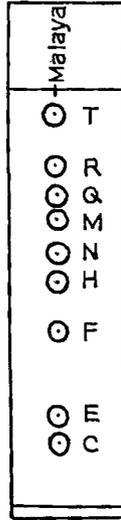


Fig. 7
To-Bu-
(2:1)/W
4 1/2 Std.

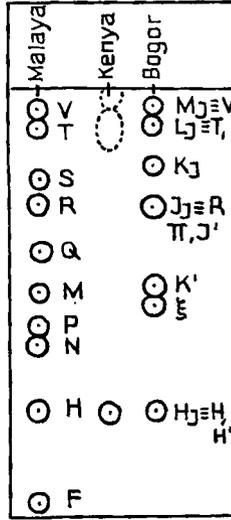


Fig. 8
To-Bu-
(2:1)/W
10 Std.

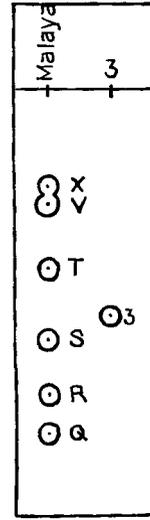


Fig. 9
To-Bu-
(1:1)/W
15 Std.

1 = *al*-Dihydromalayosid 2 = Desglucocheirotaxol 3 = *al*-Dihydro-M

Fig. 2-9 sind Beispiele für Papierchromatogramme, schematisiert, aber massgetreu. Ausführung absteigend nach frühern Angaben²³⁾. Beladung des Papiers mit 35% Wasser²⁴⁾, bzw. 50% Formamid. Wo man das Lösungsmittel nicht abtropfen liess, ist die Front eingezeichnet. Entwicklung mit KEDDE-Reagens¹⁰⁾.

Aus Tab. 1 geht deutlich hervor, dass vor allem die Zusammensetzung des Milchsaftes aus Bogor ganz wesentlich von dem malayischen abweicht, obwohl sich die beiden Arten botanisch nicht unterscheiden sollen.

Die Extrakte des Milchsaftes aus Kenya sind noch nicht in die einzelnen Komponenten aufgetrennt worden. Im Papierchromatogramm prüfte man die rohen Auszüge, wobei sich natürlich nur die Hauptsubstanzen feststellen liessen, um so mehr als alle Extrakte noch viel KEDDE-negatives Material enthielten.

Für die genaue papierchromatographische Kontrolle dienten die in den Fig. 2–9 angegebenen Systeme und Bedingungen. Die Figuren zeigen die Laufstrecken der aus dem malayischen Milchsaft isolierten Substanzen in 5 Lösungsmittelsystemen. Wie weiter unten gezeigt wird, gelang es, die folgenden 8 Stoffe mit bekannten Glykosiden zu identifizieren (vgl. Tab. 4 und 5):

A = Evomonosid	E = Substanz γ von JUSLÉN ⁹⁾
F = Desglucocheirototoxin	H = Convallatoxin
P = Convallatoxol	R = Antiosid
T = α -Antiarin	V = β -Antiarin

Ferner liess sich die Struktur von C (= Malayosid) und Q (= α -Antiosid) aufklären²²⁾.

In den Fig. 2–4 und 8 sind zum Vergleich die Laufstrecken der im Milchsaft aus Bogor sowie in demjenigen von *Antiaris africana* aus Kenya gefundenen Substanzen angegeben. Über die Identifizierung einiger der hier beschriebenen Stoffe mit den von JUSLÉN⁹⁾ aus dem Milchsaft von Bogor isolierten Substanzen orientiert Tab. 4.

Tab. 3 zeigt die relativen Laufstrecken in 5 verschiedenen Systemen, bezogen auf Substanz A' = Evomonosid, Substanz R = Antiosid und Substanz H = Convallatoxin. Es geht daraus hervor, dass zur Unterscheidung von Substanzen oft mehrere Systeme nötig sind. Z. B. lassen sich P und S im System Mek-To-(4:1)/W nicht von N bzw. Q trennen (Fig. 4), dagegen gelingt dies im System To-Bu-(2:1)/W (Fig. 8). Substanz F lässt sich im System To-Bu-(4:1)/W von J, K und L leicht trennen, während dies im System Mek-To-(4:1)/W nicht gelingt. In diesem System lässt sich dagegen Substanz M besonders gut von Begleitsubstanzen trennen.

Insgesamt liessen sich 27 KEDDE-positive Stoffe nachweisen, die in Reihenfolge zunehmender Polarität mit folgenden Buchstaben bezeichnet wurden: A, A', A'', B, B', B'', C, D, E, F, G, J, K, H, L, M, N, P, Q, R, S, T, U, V, W, X und Y. Ferner fand man noch stärker polare Stoffe, die z. T. durch die Aufarbeitung entstandene Zersetzungsprodukte sein dürften. Durch die weiter unten beschriebenen Trennungen liessen sich 12 Substanzen in Kristallen isolieren. Es sind dies A'', C, E, F, H, M, N, P, Q, R, T und V. Ausserdem wurden 6 Stoffe, nämlich A, A', D, K, L und S in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form isoliert; diese Präparate enthielten teilweise noch KEDDE-negative Verunreinigungen. Die folgenden 9 Stoffe sind nur papierchromatographisch in Gemischen nachgewiesen: B, B', B'', G, J, U, W, X und Y.

²²⁾ Vgl. die folgende Mitteilung.

²³⁾ O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951); H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953).

²⁴⁾ B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 43, 1570 (1960).

Tabelle 3. *Relative Laufstrecken, bezogen auf A'' (= Evomonosid) (R_E), H (= Convallatoxin) (R_H) und R (= Antiosid) (R_R), in 5 verschiedenen Lösungsmittelsystemen*

Substanz	Chf/l'md	Fig. Nr.	To-Mek- (1:4)/W	Fig. Nr.	To-Bu- (4:1)/W	Fig. Nr.	To-Bu- (2:1)/W	Fig. Nr.	To-Bu- (1:1)/W	Fig. Nr.
A	$R_E = 2,50$	2								
A'	$R_E = 1,21$	2								
A''	$R_E = 1,00$	2								
B	$R_E = 0,76$	2								
B'	$R_E = 0,60$	2								
B''	$R_E = 0,40$	2								
C	$R_E = 0,22$	2	$R_H = 2,02$	3	$R_H = 4,90$	6	$R_H = 1,99$ $R_R = 4,60$	7		
D			$R_H = 1,82$	3						
E			$R_H = 1,59$	3	$R_H = 2,88$	6	$R_H = 1,78$ $R_R = 4,12$	7		
F			$R_H = 1,38$	3	$R_H = 1,68$	6	$R_H = 1,32$ $R_R = 3,10$	7		
G			$R_H = 1,38$	3	$R_H = 1,80$	6				
H			$R_R = 3,38$	4			$R_R = 2,30$	8		
J			$R_H = 1,11$	3	$R_H = 2,30$	6				
K			$R_H = 1,11$	3	$R_H = 1,16$	6				
L			$R_H = 1,11$	3	$R_H = 0,85$	6				
M			$R_H = 0,70$	4	$R_H = 0,47$	6	$R_H = 0,70$ $R_R = 1,64$	8		
N			$R_R = 2,40$				$R_H = 0,92$	8		
			$R_H = 0,45$	4			$R_R = 2,15$			
P			$R_R = 1,56$				$R_H = 0,81$	8		
			$R_H = 0,45$	4			$R_R = 1,88$			
Q			$R_H = 0,40$	5			$R_H = 0,60$ $R_R = 1,40$	8	$R_R = 1,13$	9
			$R_R = 1,36$				$R_H = 0,43$	8		
R			$R_H = 0,29$	5			$R_H = 0,33$	8	$R_R = 0,82$	9
S			$R_H = 0,41$	5			$R_R = 0,77$			
			$R_R = 1,43$				$R_H = 0,15$ $R_R = 0,35$	8	$R_R = 0,59$	9
T			$R_H = 0,24$	5						
			$R_R = 0,82$							
U			$R_R = 0,71$	5						
V			$R_R = 0,54$	5			$R_H = 0,01$ $R_R = 0,21$	8	$R_R = 0,39$	9
W			$R_R = 0,43$	5						
X			$R_R = 0,25$	5					$R_R = 0,34$	9
Y			$R_R = 0,14$	5						

Ausführung der präparativen Trennung. – *Chloroform-Extrakt.* 1,250 g Chloroform-Extrakt (vgl. Tab. 1) wurden zuerst an Al_2O_3 vorgereinigt. Dabei erhielt man Substanz C in reinen Kristallen und Substanz A amorph mit KEDDE-negativem Material verunreinigt. Die Mutterlaugen, die noch A', A'', B, B', B'' und C sowie im Papierchromatogramm sehr ähnlich laufende, KEDDE-negative Substanzen enthielten, wurden an einer SiO_2 -Säule nach DUNCAN²⁵⁾ getrennt. Man erhielt so A'' in Kristallen, sowie A' und C amorph mit KEDDE-negativen Substanzen verunreinigt. B, B' und B'' liessen sich nicht vollständig voneinander trennen.

²⁵⁾ G. R. DUNCAN, J. Chromatogr. (im Druck).

Chloroform-Alkohol-Extrakte. Die Fraktionen 1-12 des Chf-Alk-(2:1)-Extrakts (Tab. 1) wurden mit Chf-Alk-(9:1), -(4:1), -(2:1) und -(3:2) ausgeschüttelt. Das Resultat zeigt Tab. 9 (Exp. Teil). Aus dem Chf-Alk-(9:1)-Extrakt kristallisierte nach Chromatographie an Silicagel Substanz C (Malayosid), aus dem Chf-Alk-(3:2)-Extrakt Substanz T (α -Antiarin). Sämtliche übrigen KEDDE-positiven Chf-Alk-Extrakte sowie die Mutterlaugen der Chf-Alk-(9:1)- und -(3:2)-Extrakte waren Gemische. Sie wurden deshalb vereinigt und durch eine Verteilungschromatographie im System Mek-Be-(3:1)/W an Cellulose getrennt²⁶⁾. Hierauf liessen sich die Substanzen C, E, H, M, N, Q, R und T in reiner, kristallisierter Form fassen. Die Trennung

Tabelle 4. Ausbeute der aus dem Latex von *Antiaris toxicaria* aus Malaya in Kristallen oder in amorph, papierchromatographisch reiner Form isolierten Cardenolide. Identifizierung soweit durchgeführt und Schätzung der im Latex wirklich vorhandenen Mengen

Substanz	Identifiziert mit ²⁸⁾	Stoff von JUSLÉN ⁹⁾	Isolierte Menge in mg		Geschätzte Totalmenge in 2,65 l Milchsaft		% -Gehalt bezogen auf die rohe Totalcardenolidmenge (12,50 g)
			krist.	amorph	in mg	in ‰	
A					10	0,004	0,1
A'					10	0,004	0,1
A''	Evomonosid		2		20	0,008	0,2
B					10	0,004	0,1
B'					10	0,004	0,1
B''					10	0,004	0,1
C	(neu:) Malayosid		260		400	0,151	3,2
D				4	10	0,004	0,1
E		γ	45		80	0,032	0,6
F	Desglucocheirototoxin . . .		42		80	0,032	0,6
G					10	0,004	0,1
H	Convallatoxin ²⁹⁾	H	127		250	0,094	2,0
J	(<i>al</i> -Dihydro-malayosid) . . .				20	0,008	0,2
K				10	20	0,008	0,2
L				14	20	0,008	0,2
M			553		1500	0,566	12,0
N			56		100	0,038	0,8
P	Convallatoxol		4		20	0,008	0,2
Q	(neu:) α -Antiosid		248		400	0,151	3,2
R	Antiosid	J	49		120	0,045	1,0
S	³⁰⁾			15	30	0,011	0,2
T	α -Antiarin	L	2467		3500	1,320	28,0
U					10	0,004	0,1
V	β -Antiarin	M	91		200	0,075	1,6
W	(<i>al</i> -Dihydro- α -antiarin) . . .				20	0,008	0,2
X	(<i>al</i> -Dihydro- β -antiarin) . . .				20	0,008	0,2
Y					10	0,004	0,1

²⁶⁾ C. H. TRABERT, *Arzneimittel-Forsch.* 10, 197 (1960).

²⁸⁾ In Klammern: nur auf Grund von Papierchromatogrammen.

²⁹⁾ H = Substanz A von DOLDER *et al.*⁶⁾.

³⁰⁾ S vermutlich = Substanz D von DOLDER *et al.*⁶⁾.

einzelner Fraktionen durch präparative Papierchromatographie und Chromatoblock²⁷⁾ ergab schliesslich noch die Substanzen C, E, F, N, P, Q, R, T und V in kristalliner, und D, K, L und S in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form.

In Tab. 4 sind die Ausbeuten der in Kristallen sowie der in amorpher, papierchromatographisch reiner Form erhaltenen Substanzen zusammengestellt. Ferner zeigt die Tabelle eine Schätzung der Substanzmengen, die im ursprünglichen Milchsaft vorhanden waren.

Identifizierung der isolierten Stoffe. – Die wichtigsten Eigenschaften der 12 in Kristallen isolierten Stoffe sind in Tab. 5 zusammengestellt. Von den Substanzen C, E, F, M, N und Q zeigen die Tabellen 6 und 7 die Farbreaktionen mit 84-proz. und konz. Schwefelsäure, Fig. 10 die UV.-Spektren (ausser für E und F; UV.-Spektrum von Subst. E vgl. JUSLÉN⁹⁾).

8 von den kristallinen Stoffen liessen sich nach Schmelzpunkt, Mischprobe, Drehung (ausser A'' und P), Farbreaktionen mit Schwefelsäure und Papierchromatogrammen mit bekannten Glykosiden identifizieren, nämlich A'' mit Evomonosid³¹⁾, E mit Substanz γ von JUSLÉN⁹⁾, F mit Desglucocheirototoxin³²⁾, H mit Convallatoxin³³⁾ (= Substanz A von DOLDER *et al.*⁶⁾ = Substanz H von JUSLÉN⁹⁾), P mit Convallatoxol³⁴⁾, R mit Antiosid⁶⁾, T mit α -Antiarin^{5) 6)} und V mit β -Antiarin^{5) 6)}. Über die Konstitutionsermittlung von C = Malayosid und Q = α -Antiosid wird in der folgenden Mitteilung berichtet. Die Resultate sind bereits in Tab. 5 enthalten.

Von den nicht in Kristallen isolierten Stoffen haben folgende im Papierchromatogramm eine ähnliche Laufstrecke wie schon beschriebene Cardenolide: J wie *al*-Dihydro-malayosid²²⁾, S wie Substanz D von DOLDER⁶⁾, W wie *al*-Dihydro- α -antiarin⁵⁾ und X wie *al*-Dihydro- β -antiarin⁶⁾.

Tabelle 4a. *Ergebnisse der biologischen Prüfung (vgl. S. 1194)*

Substanz	Zahl der verwendeten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg Katze
Malayosid	10	0,1070 \pm 0,0065
α -Antiosid	10	0,1424 \pm 0,0047
Evomonosid		0,2784 \pm 0,0148 ³⁵⁾
Desglucocheirototoxin	10	0,0964 \pm 0,0063 ³²⁾
Convallatoxin	23	0,0789 \pm 0,0023 ³⁴⁾
Convallatoxol	10	0,0869 \pm 0,0061 ³⁴⁾
Antiosid	10	0,1253 \pm 0,0068 ⁶⁾
α -Antiarin	20	0,1164 \pm 0,0043 ⁵⁾
β -Antiarin	10	0,10 \pm 0,004 ⁵⁾

²⁷⁾ E. v. ARX & R. NEHER, *Helv.* 39, 1664 (1956). Wir danken den Autoren auch hier für ihre Ratschläge und die Überlassung eines Blocks.

³¹⁾ CH. TAMM & J. P. ROSSELET, *Helv.* 36, 1309 (1953).

³²⁾ N. M. SHAH, K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Pharmac. Acta Helv.* 24, 113 (1949).

³³⁾ R. TSCHESCHE & W. HAUPT, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 69, 459 (1936).

³⁴⁾ A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Chem. Ber.* 85, 635 (1952).

³⁵⁾ F. ŠANTAVÝ & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 1655 (1948).

Tabelle 5. *Eigenschaften der in Kristallen isolierten Stoffe*

(Nach Lit. bedeutet, dass hier keine Bestimmung durchgeführt, sondern nur der Literatur-Wert eingesetzt wurde)

Bezeichnung	Identifiziert mit	Smp. in °C [$[\alpha]_D$ in Methanol]	Xanthrydrol- probe ³⁸⁾	Fluoreszenz mit H_2PO_4 ³⁷⁾ nach PESZ ³⁷⁾	Fluoreszenz mit Chloramin T ³⁸⁾ nach JENSEN ³⁸⁾	Bewiesene oder vermutliche Bruttoformel	Maxima im UV ⁴⁰⁾ λ in $m\mu$ (log ϵ)	Gesicherter oder (in Klammern) papierchromato- graphischer Nach- weis der Spalt- stücke: Genin/Zucker ⁴¹⁾
A''	Evomonosid ³¹⁾	232-234° [-30,9 \pm 2 nach Lit. ⁴⁴⁾]	—	—	gelb	$C_{39}H_{44}O_8$ nach Lit. ³¹⁾		Digitoxigenin Rhamnose
C	neu: Malayosid ²²⁾	220-230° [-44,2 \pm 2]	—	—	gelb	$C_{39}H_{42}O_9$ + 2H ₂ O	216 (4,16) 283 (1,85) Sch 300 (1,80) Sch	Cannogenin (Rhamnose)
E	γ von JUSLÉN ⁹⁾	272° Zers. [-23,9 \pm 3]	—	—	blau	nach Lit. ⁹⁾ $C_{39}H_{44}O_9$	217 (4,09) nach Lit. ⁹⁾	(Digoxigenin) (Rhamnose)
F	Desglucocheirotoxin ³²⁾	180-186° [-3,5 \pm 2]	—	—	blau 45)	$C_{39}H_{42}O_{10}$ + 4H ₂ O	217 (4,12) 300 (ca. 1,5)	Strophantidin Gulomethyllose
H	A von DOLDER ⁶⁾ Convallatoxin ³³⁾	232-238° [+1,1 \pm 2]	—	—	gelb	nach Lit. ⁶⁾ $C_{39}H_{42}O_{10}$ + 3H ₂ O	217 (4,20) 299 (1,75) nach Lit. ⁶⁾	Strophantidin Rhamnose
M	neu	220-234° [-42,6 \pm 2]	—	—	blau	$C_{39}H_{42}O_{10}$ + H ₂ O	217 (4,16) 299 (1,48)	Genin unbekannt (Rhamnose)
N	neu	212-222° [-37,7 \pm 2]	—	—	gelb	$C_{39}H_{42}O_{11}$ + 2H ₂ O	217 (4,14) 276 (2,12) Sch	Genin unbekannt (Rhamnose)
P	Convallatoxin ³⁴⁾	174-180° [-10,0 \pm 2 nach Lit. ³⁴⁾]	—	—	gelb	nach Lit. ³⁴⁾ $C_{39}H_{44}O_{10}$ + 1 1/2 H ₂ O	217 (4,23) nach Lit. ³⁴⁾	Strophanthidol Rhamnose

Tabelle 5 (Fortsetzung)

Bezeichnung	Identifiziert mit	Smp. in °C [$[\alpha]_D$ in Methanol]	Xanthrydrol- probe ³⁸⁾	Fluoreszenz mit H ₃ PO ₄ nach PESEZ ³⁷⁾	Fluoreszenz mit Chloramin T nach JENSEN ³⁸⁾	Bewiesene oder vermutliche Bruttoformel	Maxima im UV, ⁴⁰⁾ λ in m μ (log ϵ)	Gesicherter oder (in Klammern) papierchromato- graphischer Nach- weis der Spalt- stücke: Genin/Zucker ⁴¹⁾
Q	neu: α -Antiosid ²²⁾	192-202° [-15,3 \pm 2]	—	—	blau	C ₂₉ H ₄₄ O ₁₀ + 4H ₂ O	218 (4,12)	Antigenin Gulomethyllose
R	Antiosid ⁶⁾	192-202° 247-257° [-9,8 \pm 2]	—	—	blau	nach Lit. ⁶⁾ C ₂₉ H ₄₄ O ₁₀ + 3H ₂ O	218 (4,19) nach Lit. ⁶⁾	Antigenin Rhamnose
T	α -Antiarin ⁵⁾	242-247° [-6,5 \pm 2]	—	—	blau	nach Lit. ⁵⁾ C ₂₉ H ₄₂ O ₁₁ + H ₂ O		Antiarigenin Gulomethyllose
V	β -Antiarin ⁵⁾	244-249° [+2,9 \pm 3 in Me-W-(1:1)]	—	—	blau	nach Lit. ⁶⁾ C ₂₉ H ₄₂ O ₁₁ + H ₂ O	218 (4,25) 301 (1,46) nach Lit. ⁶⁾	Antiarigenin Rhamnose

³⁸⁾ V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, Rev. Univ. nac. Cordoba 32, 439 (1945); M. PESEZ, Ann. pharmac. franç. 10, 104 (1952).

³⁷⁾ A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, Bull. Soc. chim. France [5] 17, 288 (1950); P. BELLET, Ann. pharmac. franç. 8, 471 (1950). Diese Reaktion ist positiv bei Gitoxigeninderivaten.

³⁸⁾ Nach K. B. JENSEN³⁸⁾ gibt Digitoxigenin bei dieser Reaktion eine gelbe, Gitoxigenin eine blaue Fluoreszenz. Eine solche wurde von uns bei allen Cardenoliden beobachtet, die eine 12 β -ständige HO-Gruppe besitzen. Nach J. H. RUSSEL, O. SCHINDLER & T. REICHSSTEIN, Helv. 43, 167 (1960), geben auch 17 α -Digitoxigenin und andere 17 α -Cardenolide eine blaue Fluoreszenz. Abnormale Färbungen geben einige Glykoside, z. B. Cymarin und Cymarol (blau) und 17 α -Cymarin (gelblich). 17 α -Cymarol fluoresziert schwach blau.

³⁹⁾ K. B. JENSEN, Acta pharmacol. toxicol. 9, 99 (1953); Chem. Abs. tr. 48, 2322b (1954).

⁴⁰⁾ Vgl. Fig. 10; Sch = Schulter.

⁴¹⁾ Nachweis: a) durch Identifizierung mit bekanntem Stoff, b) Gene nach Spaltung mit HCl in Aceton⁴²⁾, und Zucker nach energischer saurer Hydrolyse⁴³⁾.

⁴²⁾ C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. 75, 737 (1942).

⁴³⁾ P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSSTEIN, Helv. 34, 1740 (1951).

⁴⁴⁾ A. MEYRAT & T. REICHSSTEIN, Pharm. Acta Helv. 23, 135 (1948).

⁴⁵⁾ Bei authentischem Desglucochreitoxin gelb. Hier wird die blaue Fluoreszenz wahrscheinlich durch eine Verunreinigung mit der im Papierchromatogramm sehr ähnlich laufenden Substanz G verursacht.

Von den 29 KEDDE-positiven Substanzen, die JUSLÉN⁹⁾ in dem von ihr untersuchten Milchsafte aus Bogor fand, liessen sich im Malaya-Milchsafte mit Sicherheit nur die Substanzen E (= Subst. γ), H (= Convallatoxin), R (= Antiosid), T (= α -Antiarin) und V (= β -Antiarin) nachweisen.

Biologische Wirksamkeit. Herr Dr. CHEN⁴⁶⁾ hatte die Freundlichkeit, die zwei neuen Substanzen Malayosid (C) und α -Antiosid (Q) an der Katze biologisch zu prüfen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 4a. Zum Vergleich wurden auch die früher gefundenen Werte der in dem hier untersuchten Milchsafte identifizierten Stoffe eingesetzt.

Es zeigt sich deutlich, dass die Giftigkeit der Stoffe, die Rhamnose enthalten, grösser ist, als wenn der Zucker Gulomethylose ist.

Tabelle 6. Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 ⁴⁷⁾

Zeit	Substanz C	Substanz E	Substanz F	Substanz M	Substanz N	Substanz Q
1''	hellgelb	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
1'	goldgelb	blassgelb	gelb	hellgelb	goldgelb	gelborange
5'	goldgelb	blassgelb	gelb	orange	gelborange	braunoliv
10'	gelborange	blassgelb	braungelb	hellrot	gelborange	braunoliv
15'	gelborange	fahlbraun	braungelb	ziegelrot	gelborange	braunoliv
30'	gelborange	braunrot	braungelb	ziegelrot	orange	braunviolett
1 h	braunorange	himbeerrot	braungelb	rotbraun	braungelb	purpur
3 h	braunorange	himbeerrot	braungelb	braunrot	hellbraun	purpur
5 h	hellbraun	himbeerrot	braungelb	braunrot	hellbraun	purpur
18 h	hellbraun	blassgelb	grün	hellbraun	blassbraun	braun

Tabelle 7. Farbreaktionen mit konz. H_2SO_4 ⁴⁷⁾

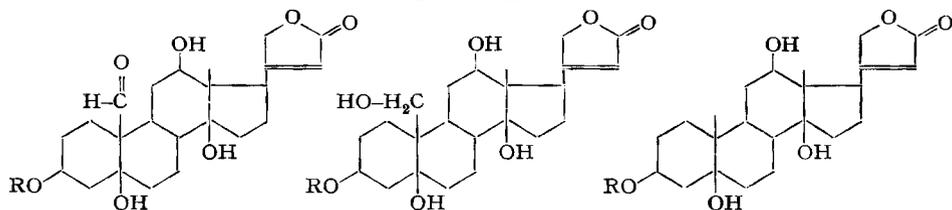
Zeit	Substanz C	Substanz E	Substanz F	Substanz M	Substanz N	Substanz Q
1''	gelb	gelb	blutrot	farblos	farblos	gelborange
1'	braungelb	gelb	braungelb	braunrot	hellbraun	grün
5'	braungelb	gelbbraun	braungelb	braunrot	gelbbraun	dunkelgrün
10'	braunorange	gelbbraun	braungelb	braunrot	braungelb	dunkeloliv
15'	braunorange	gelbbraun	braungelb	braunrot	braungelb	dunkeloliv
30'	braunorange	gelbbraun	braungelb	braunrot	braungelb	braunoliv
1 h	braunorange	gelbbraun	braungelb	braunrot	braungelb	braunoliv
3 h	dunkelorange	fahlbraun	gelbbraun	braun	braun	braunoliv
5 h	dunkelorange	himbeerrot	gelbbraun	braun	braun	braunoliv
18 h	grauoliv	blassrot	braungrün	hellbraun	fahlbraun	braun

Diskussion der Ergebnisse. – Die Trennung und Isolierung war recht schwierig, da die gewöhnliche Adsorptionschromatographie an Al_2O_3 oder Silicagel versagte und weil viele Substanzen nur in sehr kleinen Mengen im Milchsafte vorhanden und zudem oft noch mit schwer abtrennbarem KEDDE-negativem Material verunreinigt waren. Die Tatsache, dass viel mehr und andere Komponenten gefunden wurden

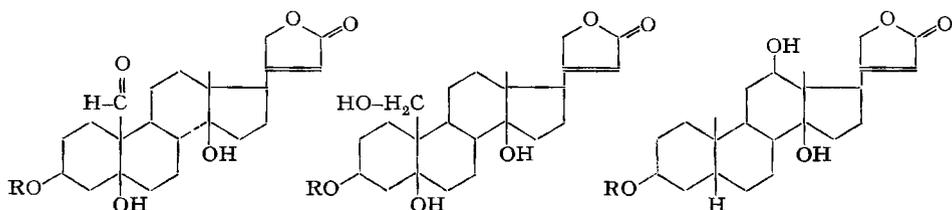
⁴⁶⁾ Wir danken Herrn Dr. K. K. CHEN, Indianapolis, Ind., USA, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate.

⁴⁷⁾ J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 883 (1948).

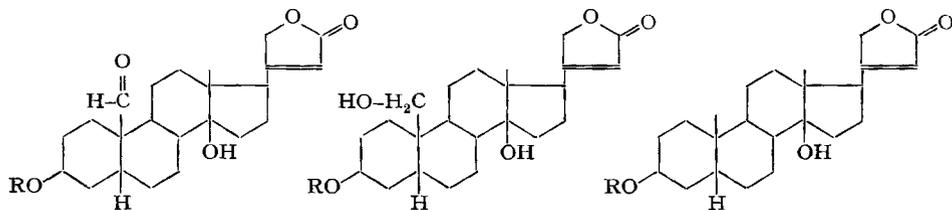
Formelschema



- | | | |
|-----------------------------|--|-----------------------------|
| (R = H) Antiarigenin | (R = H) <i>al</i> -Dihydro-
antiarigenin | (R = H) Antiogenin |
| (R = Gu) α -Antiarin | (R = Gu) <i>al</i> -Dihydro-
α -antiarin | (R = Gu) α -Antiosid |
| (R = Rh) β -Antiarin | (R = Rh) <i>al</i> -Dihydro-
β -antiarin | (R = Rh) Antiosid |



- | | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|--|
| (R = H) Strophanthidin | (R = H) Strophanthidol | (R = H) Digoxigenin |
| (R = Gu) Desgluco-
cheirotoxin | (R = Gu) Desgluco-
cheirotoxol | (R = Rh) Substanz E
(= Subst. γ
von JUSLÉN) |
| (R = Rh) Convallatoxin | (R = Rh) Convallatoxol | |



- | | | |
|------------------------------------|---|-----------------------|
| (R = H) Cannogenin | (R = H) Cannogenol | (R = H) Digitoxigenin |
| (R = Rh) Malayosid
(Substanz C) | (R = Rh) <i>al</i> -Dihydro-
malayosid | (R = Rh) Evomonosid |

Gu = Gulomethylse

Rh = Rhamnose

als bei frühern Untersuchungen des Milchsafte, ist zum Teil den inzwischen erheblich verbesserten Nachweismethoden zuzuschreiben. Zudem scheinen die einzelnen Bäume von *Antiaris toxicaria* nicht dasselbe Glykosidgemisch zu produzieren. Herr N. G. BISSET teilte uns bei einem Besuch mit, dass im botanischen Garten von Bogor (Java) einzelne Bäume α -Antiarin, aber kein β -Antiarin produzieren, andere wieder nur β -Antiarin. Da der von uns untersuchte Milchsaft von mehreren Bäumen stammte, ist es unsicher, ob jeder dieser Bäume alle in dem untersuchten Gemisch nachgewiesenen Stoffe enthielt.

Im Hinblick auf die Biogenese der Glykoside ist es sehr aufschlussreich, dass neben Derivaten des Antiarigenins auch Glykoside mit den Geninen Antiogenin, Strophanthidin, Strophanthidol, Cannogenin, Digitoxigenin, sowie sehr wahr-

scheinlich auch Digoxigenin, Cannogenol und *al*-Dihydro-antiarigenin gefunden wurden. Die genannten Genine (vgl. Formelschema) leiten sich ja alle von Antiarigenin ab durch sukzessive Reduktion der Aldehydgruppe sowie Entfernung der HO-Gruppen an C-5 und C-12.

Die Genine sind vorwiegend mit zwei Zuckern, der L-Rhamnose oder der D-Gulomethylose, verbunden.

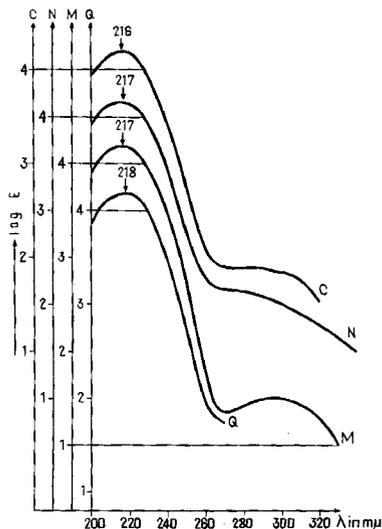


Fig. 10. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol⁴⁸⁾

C = Substanz C (Malayosid), Maximum bei 216 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,16$),
Schultern bei 283 $m\mu$ ($\log \epsilon = 1,85$) und 300 $m\mu$ ($\log \epsilon = 1,80$).

Ber. auf $C_{29}H_{42}O_9 + 2H_2O$ (570,65). (Nr. 3159)

M = Substanz M. Maxima bei 217 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,16$) und 299 $m\mu$ ($\log \epsilon = 1,48$).

Ber. auf $C_{29}H_{42}O_{10} + H_2O$ (568,64). (Nr. 3215)

N = Substanz N. Maximum bei 217 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,14$) und Schulter bei 276 $m\mu$ ($\log \epsilon = 2,12$).

Ber. auf $C_{29}H_{42}O_{11} + 2H_2O$ (602,65). (Nr. 3408)

Q = Substanz Q (α -Antiosid). Maximum bei 218 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,12$).

Ber. auf $C_{29}H_{44}O_{10} + 4H_2O$ (624,72). (Nr. 3515)

Einige Bemerkungen zu den verwendeten Trennmethode. – 1. *Chromatoblock*. v. ARX & NEHER²⁷⁾ verwendeten als stationäre Phase Formamid. Mit Wasser als stationärer Phase war der Chromatoblock auch für die hier beschriebenen, polaren Glykoside brauchbar. Die Laufstrecken der Substanzen im Block waren gleich wie bei einem gewöhnlichen Papierchromatogramm; aber nahe beieinanderliegende Flecke liessen sich im Block schärfer trennen. Andererseits war die absolute Laufstrecke bei den einzelnen Papieren in einem Block oft etwas verschieden. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, dass nicht alle Papiere denselben Wassergehalt hatten, was wegen der Flüchtigkeit von Wasser schwer zu erreichen ist (vgl. exp. Teil). Allgemein ist das Trennverfahren etwas zeitraubend und langwierig, und deshalb nur mit genügend Hilfskräften rationell.

⁴⁸⁾ Aufgenommen von den Herren R. BÜHRER und R. GÖSCHKE mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK 2.

2. *Präparative Papierchromatographie mit dem Kartonpapier* SCHLEICHER-SCHUELL 2071⁴⁹⁾. Mit Wasser als stationärer Phase lassen sich auf ein Papier mit der Nutzbreite von 16 cm bis zu 50 mg Substanz auftragen, wobei die Trennung der Substanzen gleich gut wie bei einem gewöhnlichen Papierchromatogramm ist. Die Lage der Zonen lässt sich leicht und rasch feststellen (vgl. exp. Teil). Für polare Substanzen ist die Trennmethode einfach und relativ rasch. Der Nachteil besteht darin, dass aus dem Papier zusammen mit der Substanz viele Verunreinigungen extrahiert werden, die dann auch durch Chromatographie an Silicagel oft nur schwer entfernt werden können. Durch Vorreinigen der Papiere in einem SOXHLET-Apparat könnte dem eventuell abgeholfen werden.

Mit Formamid als stationärer Phase erhielten wir keine brauchbaren Resultate.

3. *Verteilungschromatographie an Wasser auf Cellulose*. TRABERT²⁶⁾ verwendete Formamid als stationäre Phase. Wir erhielten mit Wasser als stationärer Phase eine recht gute Trennung der hier untersuchten polaren Herzglykoside. Die polarsten Substanzen liessen sich mit dem hier gewählten Gemisch der mobilen Phase (Mek-Be-(3:1)) nicht mehr gut eluieren, da die Cellulose aus dem mit Wasser gesättigten Lösungsmittel zu viel Wasser aufgenommen hatte. Es ist deshalb von Vorteil, dem Lösungsmittel nur soviel Wasser beizufügen, wie aus der Säule wieder eluiert wird.

4. *Säulenchromatographie mit Kieselgel MERCK nach DUNCAN*²⁵⁾. Das Prinzip dieser Methode ist die Übertragung der Dünnschichtchromatographie auf eine Säule. Substanzen, die sich auf einer Dünnschichtplatte trennen lassen, können so praktisch ohne Mischfraktionen rasch und quantitativ aufgetrennt werden.

Der Grossteil der im hier beschriebenen *Antiaris*-Milchsaft gefundenen Substanzen war so polar, dass sich auf der Dünnschichtplatte kein brauchbares System finden liess. Dagegen konnte der Chloroform-Extrakt auf diese Weise befriedigend getrennt werden.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit. Ferner standen zur Beschaffung der Latexe auch Mittel aus dem ARBEITSBESCHAFFUNGSKREDIT DES BUNDES ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG zur Verfügung, für die auch hier bestens gedankt sei.

Experimenteller Teil

Smp., Trocknung zur Drehung und Chromatographie an Mg-Silicat wie bei DOLDER *et al.*⁶⁾. Ausserdem verwendete man zur Adsorptionschromatographie Al₂O₃ WOELM neutral, Silicagel BENDER-HOBEIN, Korngrösse 0,15–0,3 mm, und Kieselgel MERCK, Korngrösse 0,05–0,20 mm. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in Chf-Ae-(1:3) (Acetate und Benzoate) oder Chf-Alk-(2:1), Waschen mit 2N HCl, 2N Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen. Die Substanzproben für Spektren und Analysen wurden bis zur Gewichtskonstanz (ca. 48 Std.) bei ca. 750 Torr und 20° über CaCl₂ getrocknet. Der bei der Analyse durch scharfe Trocknung über P₂O₅ bei 100° und 0,01 Torr hierauf bestimmte Gewichtsverlust wurde als Wasser gerechnet. Ausführung der Papierchromatographie^{23) 24) 50)} und der Tüpfelreaktionen mit PARTRIDGE⁵¹⁾- und KEDDE¹⁰⁾-Reagens nach frühern Angaben. Bestimmung der Zucker nach KRAUSS *et al.*⁵²⁾.

Es wurden folgende Abkürzungen benützt: AcOH = Eisessig, Ac₂O = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, An = Aceton, Alk = Äthanol, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform,

⁴⁹⁾ I. M. HAIS & K. MACEK, Handbuch der Papierchromatographie I, 97, G. Fischer, Jena 1958.

⁵⁰⁾ E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 37, 680 (1954).

⁵¹⁾ S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 443 (1949).

⁵²⁾ M. T. KRAUSS, H. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *J. Chromatogr.* 3, 63 (1960).

Cy = Cyclohexan, Eg = Essigester, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, PeAe = Petroläther, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser; ferner: Pchr = Papierchromatogramm, Papierchromatographie, ML = eingedampfte Mutterlauge, Fr = Fraktionen, F., Smp. = Schmelzpunkt.

Energetische Hydrolyse im Mikromaßstab. 2 mg Glykosid wurden in einem kleinen Reagensglas (1×10 cm) mit 0,1 ml KILIANI-Mischung⁴⁾ (3,5 ml AcOH, 5,5 ml W und 1 ml konz. HCl) 1 Std. auf 100° erhitzt. Dann dampfte man unter Schütteln bei 30° vollständig ein, kochte den Rückstand in 0,2 ml W auf, liess abkühlen und schüttelte 4mal mit je 0,5 ml Chf aus (Kapillarpipette)^{4b)}. Die wässrige Lösung wurde im Vakuum von Chf befreit und mit ca. 50 mg Anionenaustauscher (Amberlite IR-4B) in OH-Form neutralisiert. Dann wurde die filtrierte Lösung eingedampft. Der im Rückstand enthaltene Zucker wurde durch Pchr identifiziert⁵²⁾.

Chromatoblock. Man benützte die Methode von v. ARX und NEHER²⁷⁾ mit folgenden Unterschieden: Als stationäre Phase verwendete man Wasser. Man imprägnierte pro Minute ein Papier mit An-W-(3:1) und liess es dann genau 15 Min. (Stoppuhr!) an der Luft hängen, bevor man es in den Block einlegte. Der Wassergehalt des Papiers betrug ca. 35%. Die zu trennende Substanz wurde vor dem Einlegen der Papiere in den Block aufgetragen. Als mobile Phase benützte man Mek-To-(4:1) mit W gesättigt. Pro Block verwendete man 30–100 Papiere, pro Papier trug man 1,2–2 mg Substanz auf. Die Lage der Zonen wurde am UV.-Fluoreszenzschirm bestimmt. Die in die Zonen zerschnittenen Papiere wurden im Turmix zerkleinert, 3mal mit wässrigem Me ausgepresst, der Extrakt eingedampft, mit Chf-Alk-(2:1) aufgenommen, wie üblich aufgearbeitet und an Mg-Silicat chromatographiert.

Präparative Trennung mit SCHLEICHER-SCHUELL-2071-Papieren^{4b)}. Im Vergleich mit der gewöhnlichen präparativen Pchr ergaben sich folgende Unterschiede: Zur Imprägnierung verwendete man reines dest. W. und quetschte die Papiere anschliessend zwischen Filterpapier aus. Dann liess man sie in einem trockenen Luftstrom solange hängen, bis der Wassergehalt 50% betrug. Auf einen 18 cm breiten Papierstreifen brachte man 30–60 mg Substanz, die in Me gelöst auf beiden Seiten des Streifens gleichmässig auf die Startlinie aufgetragen wurde. In den untern Rand des Papierstreifens wurden grobe Zacken geschnitten, um ein gleichmässiges Abtropfen zu ermöglichen. Die Laufzeit war etwa doppelt so lang wie bei WHATMAN-Nr. 1-Papieren. Die Lage der Zonen stellte man durch einzelne zu den Substanzonen senkrechte Federstriche mit KEDDE-Reagens fest⁵³⁾, das bei der gleich wie beim Chromatoblock durchgeführten Aufarbeitung nicht störte.

Extraktion und Vortrennung. – a) *Milchsaft von Antiaris toxicaria aus Malaya.* Zur Verfügung standen 2 Blechkannen mit total 2,65 l Milchsaft, der mit ca. 2,3 l 96-proz. Alk und ca. 400 ml Chf versetzt war. Der Kanneninhalt war eine braune bis schwarze Flüssigkeit mit zähem, klebrigem Bodensatz.

Die gesamte Mischung befreite man im Vakuum bei 50° Badtemperatur von Chf und gab 10,4 l 96-proz. Alk dazu, wobei noch mehr hellbrauner Niederschlag ausfiel. Man filtrierte ab und erhielt nach gründlichem Waschen mit Alk 420 g braunes, KEDDE-negatives Pulver, das nicht weiter untersucht wurde. Die alkoholischen Lösungen dampfte man auf ca. 1 l ein, wobei ein weisser käsiger Niederschlag ausfiel. Man gab nun weitere 2,5 l 96-proz. Alk dazu, wobei noch mehr Niederschlag ausfiel, filtrierte und erhielt nach Waschen nochmals 24,9 g gelbbraunes, KEDDE-negatives und nicht weiter untersuchtes Pulver. Die Lösung dampfte man im Vakuum auf ca. 400 ml ein und gab 200 ml W dazu. Dann schüttelte man 3mal mit je 600 ml PeAe aus, wobei man 39,0 g hellgelben, zähflüssigen Rückstand erhielt, der KEDDE-negativ war und nicht weiter untersucht wurde. Die wässrige Phase schüttelte man nun 15mal mit 600 ml Chf-Alk-(2:1) aus, bis die wässrige Lösung KEDDE-negativ war. Die Extrakte wusch man im Gegenstrom einmal mit 60 ml W, 2mal mit je 60 ml 2N Soda und 2mal mit 50 ml W, trocknete über Na₂SO₄ und dampfte zur Trockne ein. Man erhielt so 12,50 g stark KEDDE-positiven Rohextrakt. Die Ausbeute betrug somit 0,47%, bezogen auf 2,65 l Milchsaft. Die 12,50 g Rohextrakt löste man in 80 ml W, wobei 1,488 g Kristalle (Prismen, Smp. 232–240°) zurückblieben. Sie erwiesen sich als α -Antiarin, vermischt mit einer Spur Substanz F. Die wässrige Lösung schüttelte man wie früher beschrieben¹⁴⁾ 4mal mit je 80 ml Chf, 28mal mit je 90 ml Chf-Alk-(2:1) und 6mal mit je 60 ml Chf-Alk-(3:2) aus. Das Resultat zeigt Tab. 1 (Theor. Teil, Seite 1186).

⁵³⁾ Privatmitteilung von Herrn H. L. SENTI, für die wir auch hier bestens danken.

b) *Milchsaft von Antiaris africana aus Kenya*¹⁵). Zur Verfügung standen zwei Blechkannen mit insgesamt 5,3 l Milchsaft, der mit je ca. 2,6 l Me und Chf versetzt war. Die Kannen enthielten eine braune, stark lackmussaure Lösung mit einem hellbraunen, klebrigen Niederschlag.

Dieses Material wurde in zwei Portionen mit je 6 l 96-proz. Alk versetzt und die entstandene dicke, klebrige Fällung abfiltriert. Nach gründlichem Waschen mit 75-proz. Alk erhielt man ca. 1000 g braunes, KEDDE-negatives Material, das nicht weiter untersucht wurde. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum stark eingedampft, wobei allmählich Kristalle ausfielen. Nach Abfiltrieren erhielt man 35 g rohe, KEDDE-negative Kristalle vom Smp. 95–110°, die leicht löslich waren in PeAe, Ae, An, schwerer in Alk. Man untersuchte sie nicht weiter. Das Filtrat (4 l) wurde 2mal mit je 1 l PeAe ausgeschüttelt, wobei man 8,5 g Rückstand erhielt, der KEDDE-negativ war und nicht weiter untersucht wurde. Die wässrige Phase wurde nun mit Bleihydroxid (aus 1 kg Bleidiacetat-trihydrat) wie üblich¹⁴) gereinigt. Die klare Lösung (1,3 l) schüttelte man wie früher beschrieben¹⁴) 5mal mit je 600 ml Chf, 22mal mit je 500 ml Chf-Alk-(2:1) und 4mal mit je 500 ml Chf-Alk-(3:2) aus. Das Resultat zeigt Tab. 2 (Theor. Teil, Seite 1186).

Aus den Chf-Alk-Extrakten liessen sich durch fraktionierte Kristallisation 21,0 g einer Substanz I und 16,7 g einer Substanz II kristallisieren. *Substanz I* gab nach Umkristallisieren aus An-Ae prismatische Stäbchen vom Zersetzungspunkt ca. 275°. Die Substanz enthielt N, aber kein S, war KEDDE-negativ und in wässriger Lösung deutlich alkalisch (Lackmus). Ansäuern der wässrigen Lösung mit HCl gab rasche Abscheidung von Nadeln mit einem Smp. von 250° (Zers.).

Substanz II gab nach Umkristallisieren aus An-Alk Prismen, bei langsamem Eindunsten aus Alk-An grobe, sehr grosse Kristalle mit einem Zersetzungspunkt von 238–240°. Die Substanz enthielt weder N noch S, war KEDDE-negativ und in wässriger Lösung neutral. Die Substanzen I und II wurden nicht weiter untersucht.

Im folgenden wird nur die Verarbeitung der Extrakte von *Antiaris toxicaria* aus Malaya beschrieben.

Präparative Trennung. – *Trennung des Chf-Extraktes.* Der ganze Chf-Extrakt (1,250 g, vgl. Tab. 1) wurde an 36 g Al₂O₃ (Akt. IV) vorgereinigt. Dadurch liessen sich 0,712 g KEDDE-negatives Material abtrennen. Aus den die Substanz C enthaltenden Fr. kristallisierten total 117 mg Substanz C in Nadeln vom Smp. 202–211°. Die Fr., welche die im Pchr relativ rasch laufende Substanz A enthielten (vgl. Fig. 2, Seite 1187), total 252 mg, wurden nochmals an 8 g Al₂O₃ (Akt. IV) chromatographiert, wobei sich Substanz A mit Be-Chf-(1:1) quantitativ abtrennen liess (total 19 mg), allerdings noch stark mit KEDDE-negativem Material verunreinigt. Sämtliche Fr. und ML mit den Substanzen A', A'', B, B', B'' und C wurden vereinigt (total 300 mg) und an Kieselgel

Tabelle 8. *Chromatographie nach DUNCAN*²⁵) von 190 mg Chf-Extrakt an 190 g Kieselgel

Fr.-Nr.	ml pro Fr.	Menge in mg	KEDDE-Reaktion oder Flecke im Pchr
1–16	22	110	negativ
17–24	11	45	A' + gelbe, KEDDE-negative Substanz
25–31	11	35	A' + B
32–38	11	30	A' (Spur) + B + B'
39–43	11	19	A'' + B (Spur)
44–53	11	30	A'' + B
54–56	22	20	A'' + B + C (Spur)
57–60	22	29	B + C
61–65	22	30	B (Spur) + B'' + C
66–90	55	176	B'' + C

chromatographiert, wobei sich 104 mg KEDDE-negatives Material abtrennen liess, die KEDDE-positiven Substanzen aber nur als Gemisch erhalten wurden. Deshalb chromatographierte man sie nach der Methode von DUNCAN²⁵) an 190 g Kieselgel. Der innere Durchmesser der Säule betrug 2,5 cm, die Nutzhöhe 56 cm. Man verwendete das System Chf-Alk-(9:1). Das Kieselgel wurde in kleinen Portionen in die mit Lösungsmittel gefüllte Säule gegeben und mit einem MARTIN-Packer

(Durchmesser 2 cm) so stark wie möglich gepresst. Die Laufgeschwindigkeit betrug 11 ml pro Stunde. Das Ergebnis der Chromatographie zeigt Tabelle 8.

Sämtliche Fr. waren noch stark mit KEDDE-negativem Material, teilweise aus dem Kieselgel stammend, verunreinigt. Fr. 39–43 wurden an 0,6 g Al_2O_3 (Akt. II) chromatographiert. Mit Chf-Me-Gemischen eluierte man insgesamt 6 mg Substanz A'' und erhielt aus Me-Ae 2 mg Nadeln vom Smp. 232–234°. Die übrigen Fr. wurden nicht weiter getrennt. Die Resultate erlauben aber eine Schätzung der im Gemisch vorhandenen Mengen.

Trennung der Chf-Alk-Extrakte. Die Fr. 1–12 des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes (5,790 g, vgl. Tab. 1) löste man in 70 ml W und schüttelte je 5mal mit je 60 ml Chf-Alk-(9:1), -(4:1), -(2:1) und -(3:2) aus. Jede Fr. wusch man 4mal mit je 20 ml W. Das Resultat zeigt Tab. 9.

Tabelle 9. *Trennung des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes, Fr. 1–12, durch Ausschütteln mit verschiedenen Chf-Alk-Gemischen*

Extrakt	roh		Kristalle		
	Menge in g	Flecke im Pchr	Menge in g	Flecke im Pchr	Fig. Nr.
Chf-Alk-(9:1)	0,600	C, F	0,079	C	3
Chf-Alk-(4:1)	2,416	E, F, G, H, J, K, L, M, N, P, Q	—		
Chf-Alk-(2:1)	2,094	M, N, P, Q, R, S, T, U, V, W, X	—		
Chf-Alk-(3:2)	0,595	M, N, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y	0,190	T	5

Aus dem Chf-Alk-(9:1)-Extrakt erhielt man nach Chromatographie an Silicagel 79 mg Substanz C (Nadeln, Smp. 220–230°). Aus dem Chf-Alk-(3:2)-Extrakt kristallisierten direkt 190 mg Substanz T (= α -Antiarin) in Plättchen, Smp. 242–247°.

Verteilungschromatographie an Wasser auf Cellulose. Sämtliche aus der Extraktion erhaltenen amorphen und KEDDE-positiven Substanzgemische (ausgenommen der Chf-Extrakt Tab. 1), total 7,210 g, wurden zusammen an W auf einer Cellulosesäule verteilt. Man benützte dabei die Methode nach TRABERT²⁶) mit folgenden Unterschieden: Man wusch die Cellulose gründlich mit Alk, W (je 8 l), Me und An (je 4 l). Als stationäre Phase diente W. Deshalb änderte man die APC-Mischung wie folgt: 510 ml An, 200 ml Pentanol, 290 ml Chf, was eine Dichte von 0,993 ergibt. Einschlüssen der Säule: Man füllte ein ca. 150 cm hohes Chromatographierohr (Lichtweite 6,5 cm) halb mit APC-Mischung und gab in ca. 6 Portionen 1,5 kg trockenes Cellulosepulver dazu. Man rührte jedesmal solange mit einem MARTIN-Packer, bis keine Luftblasen mehr aufstiegen, liess absetzen und presste dann die aufgebrauchte Cellulose. Auf die fertig gepackte Säule brachte man durch Sättigung der APC-Mischung mit 6% W total 400 ml W (27% bezogen auf die trockene Cellulose). Als mobile Phase verwendete man Mek-Bc-(3:1) zu 80% mit W gesättigt. Die Tropfgeschwindigkeit betrug 165 ml pro Std.

Aufbringen der Substanz: die 7,210 g Substanz löste man in 20 ml W, gab 20 g trockene Cellulose dazu und, mit Mek-Bc-(3:1) zu einem dickflüssigen Brei angerührt, brachte man das ganze auf die Säule. Den Kopf der Säule bedeckte man mit zwei Rundfiltern. Das Resultat der Verteilung zeigt Tab. 10.

Während des Eluierens nahm die Cellulose viel Wasser auf, so dass sich die ganz polaren Stoffe nicht auftrennen liessen. Man zerschnitt die Cellulosesäule in zwei Teile, einen obern, braun gefärbten (ca. 15 cm Säulenlänge) und einen untern (ca. 110 cm Säulenlänge). Man extrahierte die beiden Teile getrennt mit Me und erhielt aus dem obern 568 mg Material, das neben wenig W, X und Y noch polarere Stoffe enthielt und nicht untersucht wurde. Aus dem untern Teil extrahierte man 1278 mg Substanz, die T, U, V, W und X enthielt und durch präparative Papierchromatographie teilweise getrennt wurde.

Weitere Verarbeitung einzelner Fr. der Verteilungschromatographie an Wasser auf Cellulose (vgl. Tab. 10). – 1) *Trennung von Fr. 2 mit Chromatoblocks.* – *Chromatoblock 1:* Auf 30 Blatt verteilt brachte man 45 mg ML, gelöst in 3 ml Me, und entwickelte 5 Std. Wassergehalt

Tabelle 10. Verteilungschromatographie an Wasser auf Cellulose

Frakt.- Nr.	ml Lösungs- mittel	Eindampfückstand						weitere Verarbeitung		
		roh		Kristalle						
		Menge in mg	Flecke im Pchr	Fig. Nr.	Menge in mg	Smp. in °C	Flecke im Pchr		Fig. Nr.	
1	2500	176	A", B, B', B", C, D	3	40	222-225	C	3	Trennung durch Chromatoblock Trennung der ML durch präparative Pchr an SS 2071	
2	500	353	C, D, E, F	3	113	212-227	C, E	3		
3	500	383	E, F, G, K, L	6	22	252-262	E	3		
4	500	178	F, J, H, K, L	6	5	217-227	H	3		
5	500	398	F, J, H, L, M	6	122	217-232	H	3		
6	500	424	H, M	4	40	212-220	H, M	4		
7-9	1500	1795	M	4	553	220-234	M	4		
10	500	110	M	4	—	—	—	—		
11	500	109	M, N, P, Q	8	—	—	—	—		
12	500	178	N, P, Q	8	62	188-203	Q	8		Trennung der ML durch präparative Pchr an SS 2071
13-16	1000	427	N, P, Q, R, S	8	225	192-220	N, Q	8		
17	250	58	N, P, Q, R, S	8	16	214-219	N	8		
18	250	42	N, P, Q, R, S	8	8	202-212	Q	8		
19	250	32	N, P, Q, R, S	8	6	220-225	N	8		
20-22	750	108	N, P, Q, R, S, T	8	45	182-202	R	8		
23	250	57	R, T	5	18	224-232	T	5		
24-32	2500	775	T	5	441	232-242	T	5		
33-40	4000	215	T, U, V	5	73	235-247	T	5		
41-70	20000	349	T, U, V	5	—	—	—	—		
Total eluiert		6167								
Säulenextrakt, oberer Teil		568	W, X, Y und polare Subst.	5					nicht getrennt	
Säulenextrakt, unterer Teil		1278	T, U, V, W, X	5	173	239-243	T	5	Trennung der ML durch präparative Pchr an SS 2071	

der Papiere 50%. Es entstanden 4 Zonen, die den Substanzen C, D, E und F entsprachen. Aber die einzelnen Zonen waren ineinander verzahnt und die absolute Laufstrecke auf den einzelnen Papieren nicht gleich, so dass sich die Zonen durch Zerschneiden nicht sauber trennen liessen.

Chromatoblock 2: Auf 70 Blatt brachte man 150 ml Mutterlauge in 7 ml Me gelöst. Laufzeit 3 Std., Wassergehalt der Papiere 35%. Alle 4 Zonen liessen sich durch Zerschneiden trennen und extrahieren. Nach Reinigung an Silicagel erhielt man folgende Rohprodukte: 54 mg Substanz C, 30 mg Substanz D, 22 mg Substanz E und 10 mg Substanz F. Alle Rohprodukte waren noch stark mit KEDDE-negativem Material verunreinigt, so dass nur von Substanz E 6 mg unreine Kristalle vom Smp. 191–242° erhalten werden konnten.

Chromatoblock 3: Auf 100 Blatt brachte man 113 mg Kristalle, die hauptsächlich Substanz C und wenig Substanz E enthielten. Nach gleicher Behandlung wie in Chromatoblock 2 erhielt man roh 81 mg Substanz C und 50 mg Substanz E. Daraus kristallisierten 24 mg Substanz C vom Smp. 204–211° und 11 mg Substanz E vom Smp. 272° (Zers.). Die schlechte Ausbeute ist auf die leichte Zersetzlichkeit von Substanz C zurückzuführen.

2) *Trennung von Fr. 3 durch präparative Pchr mit SS 2071-Papieren.* 325 mg ML, die die Substanzen E, F, G, K und L enthielt, wurden auf 9 Blätter SS 2071 im System To-Bu-(4:1)/W, Laufzeit 33 Std., in 5 Zonen (1–5) getrennt. Als Zone 1 wird das nach dieser Zeit abgetropfte Material bezeichnet. Das Resultat ist aus Tab. 11 ersichtlich.

Tabelle 11. *Trennung von 325 mg ML Fr. 3 der Verteilung durch präparative Pchr*

Zonen-Nr.	roh		Kristalle nach Chromatographie an Mg-Silicat		
	Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp. in °C	Flecke im Pchr
1	200	E	6	272 (Zers.)	E
2	170	F, G	24	183–195	F
3	150	F, G	18	183–188	F
4	89	K	—		K
5	60	L	(10 amorph)		
			(14 amorph)		L

3) *Trennung der Fr. 12–19 durch fraktionierte Kristallisation und präparative Pchr mit SS 2071-Papieren.* Aus Fr. 17 kristallisierten aus An-Ae nebeneinander 8 mg Substanz Q in grossen Prismen vom Smp. 202–212° und 16 mg Substanz N in ganz feinkörnigen Kristallen vom Smp. 214–219°. Man trennte das Kristallgemisch durch Auslese. Aus Fr. 13–16 kristallisierten dann aus An-Ae durch Impfen total 105 mg Substanz Q vom Smp. 192–202° und 34 mg Substanz N vom Smp. 212–219°. Die ML von Fr. 12–18 sowie Fr. 19 enthielten neben Q und N noch die Substanzen P, R und S. 344 mg von diesem Material wurden auf 18 Blättern SS 2071 im System

Tabelle 12. *Trennung von 344 mg ML Fr. 12–18 und Fr. 19 der Verteilung durch präparative Pchr*

Zonen-Nr.	roh		Kristalle nach Chromatographie an Mg-Silicat		
	Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp. in °C	Flecke im Pchr
1	80	N, P			
2	40	P	4	175–181	P
3	153	Q	73	197–208	Q
4	42	R	4	249–257	R
5	63	S			

To-Bu-(2:1)/W, Laufzeit 32 Std., durch präparative Pchr in 5 Zonen (1–5) getrennt. Das Resultat zeigt Tab. 12.

4) *Trennung des untern Teils des Säulenextrakts (vgl. Tab. 10) durch präparative Pchr mit SS 2071-Papieren.* Beim Lösen des Extrakts in Me kristallisierten 173 mg Substanz T vom Smp. 240–244°. Die ML enthielt noch die Substanzen T, V, X neben wenig U und W. 938 mg von diesem Material wurden auf 16 Blättern SS 2071 im System Mek-To-(9:1)/W, Laufzeit 36 Std., in drei Zonen (1–3) getrennt. Das Resultat zeigt Tab. 13.

Tabelle 13. *Trennung von 938 mg ML des untern Teils des Säulenextrakts durch präparative Pchr*

Zonen-Nr.	roh		Kristalle nach Chromatographie an Mg-Silicat		
	Menge in mg	Flecke im Pchr	Menge in mg	Smp. in °C	Flecke im Pchr
1	300	T, Spur U und V	84	234–239	T
2	267	V, Spuren von T, U und W	91	244–249	V
3	90	V, W, X u. a.			

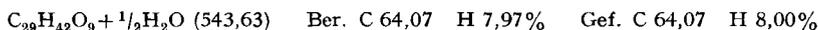
Zone 3 enthielt eine zersetzliche Substanz, da im Pchr plötzlich noch schneller laufende Flecke auftraten.

Beschreibung der in Kristallen isolierten Stoffe. – Farbreaktionen mit H_2SO_4 vgl. Tab. 6 und 7, UV.-Spektren vgl. Fig. 10, relative R_x -Werte Fig. 2–9 und Tab. 3. Nachweis der Zucker siehe Tab. 5.

Substanz A'' (= Evomonosid). Aus dem Chf-Extrakt (Tab. 1) erhielt man total 2 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae Nadeln vom Smp. 232–234°. Nach Pchr, Smp., Mischprobe und Schwefelsäureprobe waren sie identisch mit Evomonosid³¹.

*O-Acetyl-evomonosid*³⁶. 2 mg Kristalle und ML von A'' wurden in 0,1 ml abs. Py und 0,08 ml Ac_2O 2 Tage bei 38° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 2 mg Rohprodukt, das nach Laufstrecke auf einer Dünnschichtplatte (System Eg-Cy-(7:3)) identisch mit authentischem O-Acetyl-evomonosid war.

Substanz C (= Malayosid). Aus dem Chf-Extrakt (Tab. 1), aus dem Chf-Alk-(9:1)-Extrakt der Vortrennung (Tab. 9), aus Fr. 1 und nach präparativer Pchr auch aus Fr. 2 der Verteilung auf Cellulose (Tab. 10) erhielt man total 260 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Nadeln, Smp. 220–230°, $[\alpha]_D^{25} = -44,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,043$ in Me). Trocknung zur Analyse (35 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 (Schweinchen)) gab 5,68% Gewichtsverlust. $C_{29}H_{42}O_9 + 2H_2O$ (570,66), Ber. $2H_2O$ 6,3%.



Der Stoff war methoxylfrei.

Acetylierung. 15 mg Substanz C vom Smp. 220–230° wurden in 0,5 ml abs. Py gelöst und 0,4 ml Ac_2O zugefügt. Man liess 48 Std. bei 38° stehen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 11 mg Pchr-einheitliches Rohprodukt, das sich aber nicht kristallisieren liess.

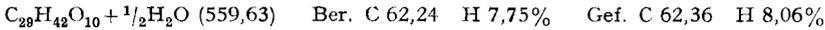
*Benzoylierung*⁵⁴. 13,5 mg Substanz C vom Smp. 220–230° wurden 1 Std. im Hochvakuum bei 60–65° getrocknet, in 0,3 ml abs. Py gelöst, bei 0° 0,04 ml reines Benzoylchlorid zugegeben und unter Feuchtigkeitsausschluss 1 Std. bei 0° und 22 Std. bei 23° stehengelassen. Dann gab man 0,02 ml Me zu und liess weitere 2 Std. stehen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 21 mg Pchr-einheitliches Rohprodukt, das auch nach Chromatographie nicht kristallisierte.

Substanz E. Aus Fr. 3 und nach präparativer Pchr auch aus Fr. 2 der Verteilung (Tab. 10) erhielt man total 45 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Prismen, Smp. 272–276°, $[\alpha]_D^{25} = -23,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,718$ in Me). Nach Pchr, Smp., Mischprobe, Schwefelsäureprobe und Drehung waren sie identisch mit Substanz γ von JUSLÉN⁹). Die Probe mit Chloramin T³⁰) ergab eine blaue Fluoreszenz, was auf ein in 12-Stellung hydroxyliertes Genin hinweist.

⁵⁴) W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 36, 434 (1953).

MANNICH-Spaltung im Mikromaßstab. 2 mg Substanz E wurden in 0,5 ml An, das mit 1% konz. HCl versetzt war, gelöst. Man liess 24 Std. unter CO₂ im Dunkeln stehen. Danach zeigte sich im Pchr (Systeme Chf/Fmd und Be-Chf-(7:5)/Fmd) ein Fleck mit derselben Laufstrecke wie Digoxigenin.

Substanz F (= Desglucocheirototoxin). Nach präparativer Pchr erhielt man aus Fr. 3 der Verteilung (Tab. 10) total 42 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Plättchen vom Smp. 180–186°, $[\alpha]_D^{25} = -3,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,993$ in Me). Trocknung zur Analyse (17 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P₂O₅ (Schweinchen)) gab 10,5% Gewichtsverlust. C₂₉H₄₂O₁₀ + 4H₂O (622,69), Ber. 4H₂O 11,6%.



Nach Pchr, Smp., Mischprobe, Schwefelsäureprobe, Zuckerbestimmung (Gulomethylose!), Drehung und IR.-Spektrum war die Substanz identisch mit Desglucocheirototoxin³²).

Desglucocheirototoxol. 5 mg Substanz F ML wurden in 0,4 ml 80-proz. Alk gelöst. Bei -19° gab man 2 mg NaBH₄ in 0,1 ml 80-proz. Alk gelöst dazu und brachte die Lösung mit 0,004 ml 6-proz. AcOH in 80-proz. Alk auf pH 8. Man hielt 4 $\frac{1}{2}$ Std. bei 0° und pH 8. Dann gab man 0,004 ml 2N H₂SO₄ zu (H₂-Entwicklung), so dass die Lösung eben kongosauer war. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 4 mg Rohprodukt. Es lief im Pchr ein wenig schneller als Substanz M (vgl. Fig. 3), aber deutlich langsamer als Substanz H. Im Milchsaff war der entsprechende Fleck nicht vorhanden.

Substanz H (= Convallatoxin). Aus Fr. 4 und 5 der Verteilung (Tab. 10) erhielt man total 127 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Nadeln vom Smp. 232–238°, $[\alpha]_D^{25} = +1,08^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,950$ in Me). Nach Pchr, Smp., Mischprobe, Schwefelsäureprobe, Drehung und IR.-Spektrum waren sie identisch mit Substanz A von DOLDER⁶) und mit Convallatoxin³³).

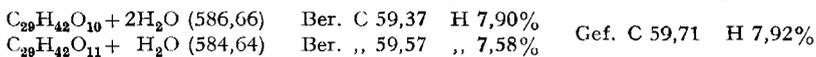
Convallatoxol aus Substanz H. 30 mg Substanz H vom Smp. 232–238° wurden analog Substanz F reduziert. Man erhielt 28 mg Rohprodukt. Nach Chromatographie an Al₂O₃ (Akt. IV) erhielt man mit Chf-Me-Gemischen 11 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae längliche Plättchen vom Smp. 172–176°, die nach Pchr, Smp., Mischprobe und Schwefelsäureprobe mit Convallatoxol³⁴) sowie mit Subst. P identisch waren.

Substanz M. Aus Fr. 7–9 der Verteilung (Tab. 10) erhielt man 553 mg Kristalle. Diese zersetzten sich zum Teil schon beim Umkristallisieren aus An-Ae, wie aus Pchr hervorging. Die Kristalle waren farblose Säulen mit einem Smp. von 220–234°, $[\alpha]_D^{25} = -42,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,124$ in Me). Die Probe mit Trichloressigsäure-Chloramin T³⁰) gab eine blaue Fluoreszenz, was auf ein in 12-Stellung hydroxyliertes Genin hinweist. Trocknung zur Analyse (15 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P₂O₅ (Schweinchen)) gab 3,09% Gewichtsverlust. C₂₉H₄₂O₁₀ + H₂O (568,64), Ber. H₂O 3,17%. C₂₉H₄₂O₁₀ (550,63) Ber. C 63,30 H 7,68% Gef. C 63,43 H 7,99%

Acetylierung. 3 mg Substanz M vom Smp. 220–234° wurden in 0,1 ml abs. Py und 0,08 ml Ac₂O gelöst und 40 Std. bei 45° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man ein Gemisch, das im Pchr mindestens 3 Flecke zeigte.

al-Dihydro-M. 6 mg Substanz M ML wurden analog Substanz F reduziert. Man erhielt 4 mg Rohprodukt, das im Pchr nur einen Fleck zeigte. Die Laufstrecke im System To-Bu-(1:1)/W war ein wenig kürzer als die von Substanz S, aber deutlich schneller als die von Substanz T.

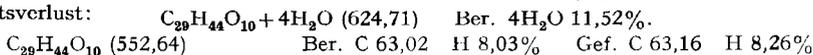
Substanz N. Aus den Fr. 13–18 der Verteilung (Tab. 10) erhielt man total 56 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus An-Ae feine, farblose Plättchen vom Smp. 212–222°, $[\alpha]_D^{25} = -37,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,992$ in Me). Trocknung zur Analyse (12 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P₂O₅ (Schweinchen)) gab 4,2% Gewichtsverlust. C₂₉H₄₂O₁₁ + 2H₂O (602,66), Ber. 1H₂O 3,0%.



Substanz P (= Convallatoxol). Nach präparativer Pchr erhielt man aus den Fr. 12–19 der Verteilung (Tab. 10) aus Me-Ae total 4 mg farblose Prismen vom Smp. 175–180°. Nach Pchr, Smp., Mischprobe und Schwefelsäureprobe waren sie identisch mit Convallatoxol³⁴).

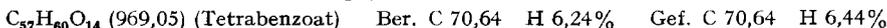
Substanz Q (= α-Antiosid). Aus den Fr. 12–19 und nach präparativer Pchr auch aus Fr. 18 und 19 der Verteilung (Tab. 10) erhielt man 248 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus

An-Ae + wenig W farblose Stäbchen vom Smp. 193–202°, $[\alpha]_D^{25} = -15,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,945$ in Me). Trocknung zur Analyse (25 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 (Schweinchen)) gab 12,07% Gewichtsverlust:



Acetylierung. Man liess 21 mg Substanz Q vom Smp. 193–202° mit 0,7 ml abs. Py und 0,56 ml Ac_2O 40 Std. bei 45° stehen. Übliche Aufarbeitung gab 22 mg Rohprodukt, das sich auch nach Chromatographie an Al_2O_3 nicht kristallisieren liess.

Benzoylierung. 25 mg Substanz Q vom Smp. 193–202° wurden analog Substanz C benzoiliert. Man erhielt 26 mg Rohprodukt, und nach Chromatographie an Al_2O_3 aus Chf-Ae 21 mg farblose Nadeln vom Smp. 242–244°, $[\alpha]_D^{25} = +27,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,865$ in Chf). Trocknung zur Analyse (9 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5) ergab 0,8% Gewichtsverlust.



Substanz R (= Antiosid). Aus den Fr. 20–22 und nach präparativer Pchr auch aus den ML von Fr. 12–19 der Verteilung (Tab. 10) erhielt man 49 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Nadeln mit einem Doppel-Smp.: 193–202°/248–258°, $[\alpha]_D^{25} = -9,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,925$ in Me). Nach Pchr, Smp., Mischprobe, Schwefelsäureprobe und Drehung waren sie identisch mit Antiosid⁶⁾.

Substanz T (= α -Antiarin). Man erhielt Substanz T direkt aus dem Rohextrakt des Milchsaftes, aus dem Chf-Alk-(3:2)-Extrakt bei der Vortrennung (Tab. 9), aus den Fr. 23–40 der Verteilung und nach präparativer Pchr aus dem Säulenextrakt (unterer Teil, Tab. 10), insgesamt 2,467 g. Nach Umkristallisieren aus Me-Ae erhielt man farblose Plättchen vom Smp. 243–248°, $[\alpha]_D^{25} = -6,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,001$ in Me). Nach Pchr, Smp., Mischprobe, Schwefelsäureprobe, Drehung und Zuckerbestimmung (Gulomethylose!) war der Stoff identisch mit α -Antiarin.

Substanz V (= β -Antiarin). Nach präparativer Pchr des Säulenextrakts (unterer Teil, Tab. 10) erhielt man 91 mg Kristalle, und nach Umkristallisieren aus Me-Ae farblose Plättchen vom Smp. 245–250°, $[\alpha]_D^{25} = +2,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,680$ in Me-W-(1:1)). Nach Pchr, Smp., Mischprobe, Schwefelsäureprobe und Drehung war die Substanz identisch mit β -Antiarin⁶⁾.

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

ZUSAMMENFASSUNG

Aus dem Milchsaft von *Antiaris toxicaria* LESCH liessen sich neben den daraus schon früher isolierten Glykosiden Antiosid, α -Antiarin, β -Antiarin, sowie den Substanzen A von DOLDER⁶⁾ und γ von JUSLÉN⁹⁾, noch weitere 7 Glykoside (A'', C, F, M, N, P und Q) in Kristallen isolieren und 15 KEDDE-positive Substanzen im Papierchromatogramm nachweisen. Von den kristallisierten Stoffen liessen sich die folgenden 4 mit bekannten Cardenoliden identifizieren: Substanz H = Substanz A von DOLDER = Convallatoxin, A'' = Evomonosid, F = Desglucocheirototoxin und P = Convallatoxinol. Die Substanzen C (= Malayosid) und Q (= α -Antiosid) sind neue Stoffe. Ihre Konstitutionsermittlung wird in der folgenden Mitteilung beschrieben. Die Struktur der Stoffe M und N ist bis jetzt noch unbekannt.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel