

and coworkers to the so called isosikkimotoxin, the product of the base-catalysed epimerisation of sikkimotoxin, a new lignan lacton isolated in 1950 by the Indian group from the rhizomes of *Podophyllum sikkimensis* R. CHATTERJEE *et* MUCKERJEE, and thought to be analogous to podophyllotoxin. The properties of the synthetic, optically active picosikkimotoxin, the structure and absolute configuration of which have been established unequivocally by stereochemical correlation with picropodophyllin, and of its acetyl derivative do not agree in all respects with published data for isosikkimotoxin and acetylisosikkimotoxin. This fact gives rise to some doubt as to the correctness of the proposed structure or the purity of the compounds from natural source. A direct comparison of the synthetic and natural compounds has not been possible, due to the unavailability of authentic material.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien,  
SANDOZ AG., Basel

## 10. Die Glykoside des Milchsaftes von *Antiaris toxicaria* LESH aus Bogor (Java)<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglykone, 243. Mitteilung<sup>2)</sup>

von **CAMILLA Juslén, W. Wehrli** und **T. Reichstein**

(17. XI. 62)

Der Milchsaft von *Antiaris toxicaria* LESH aus Indonesien ist schon wiederholt untersucht worden<sup>3)</sup>. Es handelt sich aber um eine polymorphe Art. Unterschiede in der chemischen Beschaffenheit zeigen nicht nur Pflanzen aus verschiedenen Gegenden, sondern gelegentlich auch Bäume, die nahe beieinander wachsen<sup>6)</sup>. Kürzlich wurde über den Milchsaft von Pflanzen aus Malaya<sup>5)</sup> berichtet. Hier beschreiben wir die möglichst genaue Analyse eines Milchsaftes aus Bogor, der von einem einzigen kultivierten Baum stammte.

*Beschaffung des Ausgangsmaterials.* 2,27 l Kambialsaft wurden am 25. 5. 1959 von einem ca. 10 m hohen Baum von *Antiaris toxicaria* LESH im Botanischen Garten Bogor gesammelt und in passender Blechflasche zur Konservierung mit ca. 1 l Alkohol und ca. 250 ml Chloroform versetzt. Die bis zum Hals gefüllte und gut verschlossene Flasche kam am 24. 8. 1959 in ausgezeichnetem Zustand in Basel an und wurde bis zur Aufarbeitung (am 22. 9. 1959) bei + 2° aufbewahrt<sup>7)</sup>.

1) Auszug aus der Dissertation von Frl. CAMILLA JUSLÉN, Helsinki 1962.

2) 242. Mitt.: A. M. KURITZKES *et al.*, Helv. 46, 8 (1963).

3) Lit. vgl. bei DOLDER *et al.*<sup>4)</sup> und WEHRLI *et al.*<sup>5)</sup>.

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

5) a) W. WEHRLI, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 45, 1183 (1962); b) W. WEHRLI, Helv. 45, 1206 (1962).

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

7) Für die Beschaffung dieses wertvollen Materials möchten wir Herrn Ir. SOETOMO SOEROHALDOKO, Vorsteher des TREUB LABORATORY OF THE BOTANICAL GARDEN, Bogor, Indonesia, bestens danken. Ferner danken wir Herrn E. E. STECHER sowie der CIBA-AKTIENGESellschaft, Basel, auch hier nochmals für die freundliche Hilfe beim Transport. Das Material stammte von demselben Baum wie das von DOLDER *et al.*<sup>4)</sup> untersuchte.

*Extraktion und Vortrennung der Extrakte.* Die ganze vorhandene Menge Latex wurde im Vakuum von Chloroform befreit, mit viel Alkohol versetzt und das darin unlösliche Material (Gummi, Salze usw.) abgetrennt. Die Aufarbeitung der alkoholischen Lösungen geschah wie bei DOLDER *et al.*<sup>4)</sup> beschrieben, mit dem Unterschied, dass auf die Extraktion mit Äther verzichtet wurde und dass die mit Chf-Alk-(2:1)<sup>8)</sup> erhaltenen Ausschüttelungen nicht sofort vereinigt, sondern in vier Gruppen zunächst aus Methanol-Äther kristallisiert wurden. Kristalle und Mutterlaugen wurden in Papierchromatogrammen (vgl. Fig. 9–12) geprüft. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1. Ausbeuten an Extrakten und ihre Zusammensetzung<sup>8)</sup>

Extrakte	Kristallisiert aus Methanol-Äther						
	Gewicht roh in g	Kristalle			ML		
		Menge in g	Smp. Flecke im Pchr <sup>9)</sup>	Nr. in Fig.	Menge in g	Flecke im Pchr	Nr. in Fig.
Chf-	6,753	—			6,753	$\alpha_A, \alpha_B, \alpha', E, \beta$	Nr. 1 Fig. 1
Chf-Alk-(2:1)- A = Nr. 1–5	40,200	2,047	209–217° (H), ( $\zeta$ ), (K), J, (L), M, ( $\omega$ )	Nr. 22 Fig. 10 und 12	38,153	( $\alpha$ ), ( $\alpha'$ ), ( $\beta$ ), $\gamma, \delta', H, \varepsilon, \zeta, K, J, L, M, (P)$	Nr. 17 Fig. 9
B = Nr. 6–8	18,420	6,310	217–237° (H), ( $\zeta$ ), K, J, (L), M, ( $\omega$ )	Nr. 22 Fig. 10 und 12	12,110	H, $\varepsilon, \zeta, K, J, L, M, P, N$	Nr. 18 Fig. 9
C = Nr. 9–11	3,290	1,450	227–233° (J), (L), M, P, $\omega$	Nr. 23 Fig. 10 und 12	1,840	J, L, (M'), M, P, N, $\sigma, \tau, \varphi, (\omega)$	Nr. 19 Fig. 9 und 11
D = Nr. 12–14	3,310	1,430	228–237° (J), (L), M, P, $\omega$	Nr. 23 Fig. 10 und 12	1,880	J, L, (M'), M, P, N, $\sigma, \tau, \varphi, (\omega)$	Nr. 20 Fig. 9 und 11
Total	65,220	11,237			53,983		
Chf-Alk-(3:2)-	2,134	0,579	233–242° M		1,556	L, M, P, N, $\sigma, \tau, \varphi, \omega$	Nr. 25 Fig. 11

Durch papierchromatographische Kontrolle liessen sich insgesamt 29 KEDDE-positive<sup>10)</sup> Stoffe nachweisen, die mit den Buchstaben  $\alpha_A, \alpha_B, E, \beta, \beta', \gamma, \delta, \delta', H, \varepsilon, \varepsilon', \zeta, J', K, K', J, L, H'', \xi, \pi, \rho, M', M, P, N, \sigma, \tau, \varphi, \omega$  bezeichnet wurden. Dafür dienten die in den Figuren 1–12 angegebenen Systeme und Bedingungen; der Nachweis geschah teilweise erst nach präparativer Anreicherung.

<sup>8)</sup> Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

<sup>9)</sup> In Klammern gesetzte Buchstaben bedeuten schwache Flecke.

<sup>10)</sup> D. L. KEDDE, Diss. Leiden 1948; Pharmac. Weekblad 82, 741 (1947); Ausführung nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952). Mit diesem Reagens geben fast alle Butenolide blauviolette Flecke (negativ reagieren 16-Keto-cardenolide sowie gewisse Benzoylderivate bei normaler Ausführung).



- 1 = 0,25 mg Chf-Extrakt.
- 2 = 0,150 mg Gemisch der amorphen Substanzen  $\alpha$  (trennt sich in  $\alpha_A$  und  $\alpha_B$ ),  $\alpha'$  und krist. Substanz  $\beta$ .
- 3 = Laufstrecken der Stoffe  $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\delta'$ , H,  $\epsilon$ ,  $\epsilon'$ ,  $\zeta$ , J', K, J, L, M; von diesen waren  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta'$ , H,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ , J', K, J, L und M krist.;  $\alpha$  (=  $\alpha_A$  und  $\alpha_B$ ) lag als Gemisch mit  $\alpha'$  und  $\beta'$  vor;  $\delta$  als Gemisch mit H und  $\delta'$ .  $\epsilon'$  war einheitlich, aber amorph.
- 4 = Substanzen H,  $\epsilon$ ,  $\epsilon'$ ,  $\zeta$ , J', K', K, J, L, H'', M, alle kristallin ausser  $\epsilon'$  und J', die einheitlich, aber amorph waren; K' lag als Gemisch mit L vor.
- 5 = Substanzen J', K, J, L, M kristallin; K' lag als Mischkristallinat mit L vor.
- 6 = Substanz H'' kristallin,  $\xi$ ,  $\pi$ ,  $\rho$  als Gemisch.
- 7 = Substanzen  $\zeta$ , H'', J, K, L, M kristallin und K' als Mischkristallinat mit L.
- 8 = Gemisch von  $\xi$ ,  $\pi$ ,  $\rho$ , amorph.
- 9 = Substanzen H und J' kristallin.
- 10 = Krist. Substanzen  $\zeta$ , J, K, L, M; K' als Mischkristallinat mit L.
- 11 = Krist. Substanzen  $\epsilon$ , H, H'';  $\epsilon'$  und J' amorph.
- 12 = Substanzen L, M', M, P, N,  $\sigma$ ,  $\tau$ ,  $\varphi$ ,  $\omega$ ; von diesen waren L, M, P kristallin.
- 13 = Krist. Substanzen  $\zeta$ , M.
- 14 = Krist. Substanzen H und H'';  $\epsilon'$  amorph.
- 15 = Krist. Substanzen  $\epsilon$ , J, J', K, P.
- 16 = K' in Gemisch mit L, krist. Substanz N.
- 17 = 0,25 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, ML von Fr. 1-5 Gruppe A.
- 18 = 0,25 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, ML von Fr. 6-8 Gruppe B.
- 19 = 0,25 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, ML von Fr. 9-11 Gruppe C.
- 20 = 0,25 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, ML von Fr. 12-14 Gruppe D.
- 21 = Substanz  $\alpha$  (Gemisch von  $\alpha_A$  und  $\alpha_B$ ) und  $\alpha'$  amorph, krist. Substanzen  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta'$ , H, J;  $\delta$  amorph.
- 22 = 0,25 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, krist. Fr. 1-8 Gruppe A+B.
- 23 = 0,25 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, krist. Fr. 9-14 Gruppe C+D.
- 24 = Krist. Substanzen H,  $\zeta$ , K, J, L, M.
- 25 = 0,25 mg von Chf-Alk-(3:2)-Extrakt.
- 26 = Krist. Substanzen L, M, P, N.
- 27 = Krist. Substanzen L, M, P.

Bei Nr. 1, 17-20, 22, 23 und 25 (Fig. 1 und Fig. 9-12) handelt es sich also um Extrakte oder Mischfraktionen.

Wie weiter unten gezeigt wird, gelang es, die folgenden fünf Stoffe mit bekannten Glykosiden zu identifizieren: H = Convallatoxin (X), J = Antiosid (VIII), L =  $\alpha$ -Antiarin (II), M =  $\beta$ -Antiarin (III) und P = Bogorosid. L und P wurden nur papierchromatographisch identifiziert, die drei anderen nach präparativer Isolierung. Bei den übrigen 24 Substanzen dürfte es sich grösstenteils um neue Stoffe handeln.

Tabelle 2 zeigt die relativen Laufstrecken in 4 Systemen, bezogen auf J = Antiosid<sup>4)</sup> und M =  $\beta$ -Antiarin. Zum Vergleich wurden auch die Werte für k-Strophanthin- $\beta$ <sup>14)</sup> eingesetzt. Es geht daraus hervor, dass zur Unterscheidung in manchen Fällen zwei oder mehr Systeme nötig sind. So lassen sich H und H'' im System To-Bu-(1:1)/W nicht trennen. Im System Mek-To-(4:1)/W laufen L und H'' fast gleich, dagegen H'' etwa 5mal langsamer als H. Im System To-Bu-(2:1)W läuft H'' fast gleich wie H, und im System To-Bu-(1:1)/W lassen sich  $\epsilon$  und  $\zeta$  nicht trennen; die Unterscheidung gelingt aber im System Mek-To-(4:1)/W. Im letztgenannten System laufen M,  $\xi$ ,  $\pi$  und  $\rho$  gleich, lassen sich aber mit To-Bu-(2:1)/W unterscheiden. Hingegen ist die Differenzierung von L und  $\rho$ , J und J', K' und  $\xi$  ungenügend. Diese lässt sich durch Kombination mit dem System von Fig. 4 erreichen.

<sup>14)</sup> A. STOLL, J. RENZ & W. KREIS, *Helv.* 20, 1484 (1937).

Tabelle 2. Relative Laufstrecken bezogen auf  $J = \text{Antiosid } (R_J)$  und  $M_M = \beta\text{-Antiarin } (R)$  in vier verschiedenen Systemen. Vgl. Fig. 2–8<sup>8)</sup>

Substanz	Mek-To- (4:1)/W	Fig. Nr.	To-Bu- (2:1)/W <sup>15)</sup>	Fig. Nr.	To-Bu- (1:1)/W	Fig. Nr.	Bu/W	Fig. Nr.
$\alpha = (\alpha_A + \alpha_B)$	$R_J = 9,22$	2						
$\alpha'$	$R_J = 8,58$	2						
$\beta$	$R_J = 6,80$	2						
$\beta'$	$R_J = 5,29$	2						
$\gamma$	$R_J = 4,75$	2						
$\delta$	$R_J = 4,32$	2						
$\delta'$	$R_J = 3,90$	2						
H	$R_J = 3,76$	2	$R_J = 2,22$ $R_M = 20,7$	5 5	$R_J = 1,29$ $R_M = 5,25$	6 6	$R_J = 1,04$ $R_M = 1,51$	8 8
$\epsilon$	$R_J = 3,37$	3			$R_J = 1,92$ $R_M = 6,02$	6 6	$R_J = 1,09$ $R_M = 1,54$	8 8
$\epsilon'$	$R_J = 2,87$	3			$R_J = 1,08$ $R_M = 4,38$	6 6	$R_J = 0,96$ $R_M = 1,35$	8 8
$\zeta$	$R_J = 2,48$	3			$R_J = 1,91$ $R_M = 5,97$	6 6	$R_J = 1,07$ $R_M = 1,51$	8 8
J'	$R_J = 2,20$	3	$R_J = 1,04$ $R_M = 9,61$	5 5	$R_J = 0,97$ $R_M = 3,97$	6 6	$R_M = 1,45$	8
K'	$R_J = 1,47$	3	$R_J = 1,46$ $R_M = 13,5$	5 5	$R_J = 1,18$ $R_M = 4,79$	6 6	$R_J = 1,03$ $R_M = 1,50$	8 8
K	$R_J = 1,36$	3	$R_J = 0,62$ $R_M = 5,77$	5 5	$R_J = 0,64$ $R_M = 2,61$	6 6	$R_J = 0,85$ $R_M = 1,25$	8 8
J	$R_M = 1,90$	4	$R_M = 9,23$	5	$R_M = 4,01$	6	$R_M = 1,45$	8
L	$R_J = 0,72$ $R_M = 1,68$	4 4	$R_J = 0,30$ $R_M = 3,07$	5 5	$R_J = 0,49$ $R_M = 2,00$	6 6	$R_J = 0,73$ $R_M = 1,10$	8 8
H''	$R_J = 0,64$ $R_M = 1,50$	4 4	$R_J = 2,04$ $R_M = 19,0$	5 5	$R_J = 1,27$ $R_M = 5,15$	6 6	$R_J = 1,02$ $R_M = 1,50$	8 8
$\xi$	$R_J = 0,44$ $R_M = 1,03$	4 4	$R_J = 1,59$ $R_M = 13,8$	5 5	<sup>16)</sup>			
$\pi$	$R_J = 0,44$ $R_M = 1,03$	4 4	$R_J = 0,95$ $R_M = 6,35$	5 5	<sup>16)</sup>			
$\rho$	$R_J = 0,44$ $R_M = 1,03$	4 4	$R_J = 0,40$ $R_M = 3,77$	5 5	<sup>16)</sup>			
M	$R_J = 0,43$	4			$R_J = 0,24$	6	$R_J = 0,67$	8
M'					$R_M = 1,27$	7		
P					$R_M = 0,72$	7	$R_J = 0,71$ $R_M = 1,04$	8 8
N <sup>17)</sup>					$R_M = 0,61$	7	$R_M = 0,86$	8
$\sigma$					$R_M = 0,49$	7		
$\tau$					$R_M = 0,36$	7		
$\varphi$					$R_M = 0,21$	7		
$\omega$					$R_M = 0,08$	7		
k-Strophat- tin- $\beta$	$R_J = 1,05$ $R_M = 2,01$	4 4	$R_J = 1,95$ $R_M = 13,6$	5 5	$R_J = 1,09$ $R_M = 3,71$	6 6	$R_J = 0,88$ $R_M = 1,23$	8 8

<sup>15)</sup> In diesem System läuft  $\beta$ -Antiarin (= M) kaum, die  $R_M$ -Werte sind daher sehr ungenau.<sup>16)</sup> Das System ist wegen Schwanzbildung für diese Stoffe unbrauchbar.<sup>17)</sup> Dieser Stoff wurde bisher nur aus einer kleinen Probe von altem *Antiaris*-Latex isoliert. Nach papierchromatographischen Resultaten war er aber auch in dem hier beschriebenen Material vorhanden.

Substanz P (Bogorosid) läuft im System Bu/W fast gleich wie L (=  $\alpha$ -Antiarin). Um  $\alpha$ , $\beta$ -Antiarin und Bogorosid zu trennen, ist To-Bu-(1:1)/W am besten geeignet.

#### Ausführung der präparativen Trennung

Der *Chf-Extrakt* wurde noch nicht getrennt.

Die Kristalle der Gruppen A und B des *Chf-Alk-(2:1)-Extraktes* (Tab. 1, total 7,09 g nach Trocknung) lieferten nach Umkristallisation 2,751 g reines  $\beta$ -Antiarin (= M). Die Kristallmutterlaugen sowie die Rohkristalle der Gruppen C und D wurden zur Überführung in O-Acetyl-antiosid verwendet (vgl. spätere Mittg.<sup>18)</sup>). Eine genauere Trennung wurde bisher nur mit den 38,15 g eingedampfter Mutterlauge aus dem *Chf-Alk-(2:1)-Extrakt A* (Tab. 1) durchgeführt.

35,2 g von diesem Material (entspr. ca. 1,17 l Milchsaft) wurden, nach drei Vorversuchen mit zusammen 2,917 g, aus Wasser durch fraktioniertes Ausschütteln mit Chloroform-Butanol-Gemischen in 5 Substanzgruppen getrennt (vgl. Tab. 3).

Die verbleibende wässrige Phase wurde im Vakuum eingengt, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> halbgesättigt und mit Chf-Bu-(3:2) ausgeschüttelt. Diese lieferte noch 9,441 g Material, bezeichnet als Gruppe VI (enthaltend J, K, L, M', M, P, N,  $\sigma$  und  $\tau$ ). Kristallisation aus Methanol-Äther gab 1,583 g fast reines M (=  $\beta$ -Antiarin), das noch eine Spur L (=  $\alpha$ -Antiarin) enthielt. Die verbleibende Mutterlauge (7,858 g) wurde nicht weiter aufgearbeitet.

Tabelle 3. Vortrennung von 35,2 g Glykosidgemisch der ML vom *Chf-Alk-(2:1)-Extrakt A* (von Tab.1)

Auszug Nr.	Extr. mit Chf-Bu (Ver- hältnis)	Menge in g	Eindampfrückstand		
			Flecke im Pchr	Gruppe Nr.	Weitere Verarbeitung
1-4	-(9:1)	4,026	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$	I	Verteilungschrom. I (Tab. 12)
5-9	-(9:1)	3,654	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\epsilon'$ , $\zeta$ , J, L, M	II	Chrom. an SiO <sub>2</sub> gab 0,358 g H. Rest Verteilungschrom. II (Tab. 13)
10-14	-(4:1)	7,027	$\gamma$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , J' K, J, L, H'', M, P, N	III	Verteilungschrom. III (Tab. 14)
15-19	-(4:1)	3,822	$\gamma$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , J', K, J, L, H'', M, P, N	IV	Gruppe IV und V vereinigt mit 3,461 g stark polarem Material aus Verteilungschrom. III.
20-25	-(4:1)	2,529	$\zeta$ , J', K, J, L, H'', M, P, N	V	Davon 9,00 g für Verteilungschrom. IV (Tab. 15)
Total		21,058			

In gleicher Weise wurde auch der *Chf-Alk-(2:1)-Extr. B* (= Auszüge Fr. 6-8, ML von Tab. 1) in neun Gruppen vorgetrennt (vgl. Tab. 11 im exper. Teil). Die polarsten Anteile lieferten bei der direkten Kristallisation 0,498 g fast reines M. Die verbleibende Mutterlauge wurde nicht weiter getrennt.

<sup>18)</sup> C. JUSLÉN, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 2286 (1962).

Das Material der Tab. 3 wurde wie dort angegeben in vier Gruppen der Verteilungschromatographie unterworfen. Hierzu diente Wasser an Cellulose oder Hyflo-Supercel<sup>11</sup>) als ruhende und Benzol-Methyläthylketon-Gemische als bewegliche Phase. Dabei liessen sich die in Tab. 4 genannten Stoffe in reinen Kristallen isolieren. Tab. 5 gibt die Ausbeuten an kristallinen Substanzen, die aus dem *Chf-Alk-(2:1)-Extrakt A* (35,23 g ML) erhalten wurden, sowie auch für die 29 nachgewiesenen Stoffe eine Schätzung der wirklich vorhandenen Mengen. Für den ursprünglichen Milchsafte ist die Schätzung der verschiedenen Substanzen unsicher, da nur ein Teil des Materials aufgearbeitet wurde. Jedenfalls geht aus Tab. 5 hervor, dass im Milchsafte  $\beta$ -Antiarin überwiegt, ferner ist er relativ reich an den Stoffen H (= Convallatoxin), K, J (= Antiosid) und L (=  $\alpha$ -Antiarin).

Tabelle 4. Die bei vier Verteilungschromatographien der Gruppen I–V von Tabelle 3 in reiner Form isolierten Stoffe

Gruppe Nr. und Menge	Flecke im Pehr	Eluiermittel <sup>8)</sup>	In reinen Kristallen isoliert
I 4,024	$\alpha, \alpha', \beta, \gamma, \delta, \delta', H, \epsilon, \zeta,$ L, H''	Be-Mek-(1:2)	$\beta, H, \epsilon, \zeta$
II 2,399	$\alpha, \alpha', \beta, \gamma, \delta, \delta', H, \epsilon,$ $\epsilon', \zeta, J, L, H'', M, \pi, \rho$	Be-Mek-(1:2) bis Mek	$\gamma, \delta', H, H''$
III 7,027	$\alpha, \alpha', \beta', \gamma, \delta, \delta', H, \epsilon,$ $\zeta, J', K', K, J, L$	Be-Mek-(1:2) bis Mek-Bu-(4:1)	J
IV+V 9,00	$\alpha, \alpha', \gamma, \delta, \delta', H, \epsilon, \zeta,$ $J', K, J, L, H'', \xi, \pi,$ $\rho, M, P, N, \sigma, \tau, \varphi, \omega$	Be-Mek-(1:3) bis Be-Mek-Bu (1:5:3)	K, J J' (nach Ads.- Chromatographie an Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )

### Ergebnisse

Von den insgesamt 29 nachgewiesenen KEDDE-positiven Stoffen liessen sich elf in kristallisierter einheitlicher Form isolieren, nämlich  $\beta, \gamma, \delta', H, \epsilon, \zeta, J', K, J, H''$  und M. Ferner konnte  $\epsilon'$  in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form erhalten werden. Die wichtigsten Eigenschaften der krist. Stoffe sind in Tab. 6 zusammengestellt. Die Farbreaktionen mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zeigt Tab. 7. Die UV.-Spektren der neuen Stoffe sind aus den Figuren 13 und 14 ersichtlich, die IR.-Spektren der Substanzen J' und K aus Fig. 15 und 16.

Von den nicht in reinem Zustand isolierten Stoffen konnten zwei auf Grund der Laufstrecken im Papierchromatogramm mit bekannten Cardenolid-glykosiden identifiziert werden, es handelt sich um L =  $\alpha$ -Antiarin und P = Bogorosid.

### Besprechung der isolierten neuen Stoffe

*Substanz  $\beta$  und H''.* Die Substanz  $\beta$  läuft im Papierchromatogramm (System Mek-To-(4:1)/W) gleich wie das vor kurzem beschriebene Malayosid (= Cannogenin- $\alpha$ -L-rhamnosid)<sup>5b)</sup>, aber die Stoffe sind auf Grund ihrer Eigenschaften eindeutig verschieden. Dagegen zeigen die Substanzen  $\beta$  und H'' untereinander viele Ähnlich-

Tabelle 5. Ausbeuten an reinen krist. Stoffen aus 35,23 g ML vom Chf-Alk-(2:1)-Extrakt A (vgl. Tab. 1) und Schätzung der wirklich vorhandenen Menge aller darin sowie im ursprünglichen Milchsaft nachgewiesenen Stoffe

Substanz	Aus 35,23 g ML Isoliert in krist. Menge in mg	Schätzung der wirklich vorhandenen Menge		
		in 2,27 Liter Latex		
		in 35,23 g ML	in mg	in % (g/ml)
$\alpha$ (= $\alpha_A + \alpha_B$ )		180	200	0,008
$\alpha'$		430	500	0,02
$\beta$	201	950	1200	0,05
$\beta'$		40	56	0,002
$\gamma$	25	520	700	0,03
$\delta$		250	400	0,01
$\delta'$	25	400	550	0,02
H = Convallatoxin	1234	2000	3300	0,14
$\epsilon$	160	1000	1400	0,06
$\epsilon'$		400	600	0,02
$\zeta$	49	1000	1500	0,06
$J'$	18	800	1200	0,05
$K'$		370	600	0,02
K		1300	2400	0,10
J = Antiosid	696	1800	4000	0,17
L = $\alpha$ -Antiarin		1200	3000	0,13
H''	90	420	2000	0,08
$\xi$		880	2000	0,08
$\pi$		580	1500	0,06
$\rho$		580	1500	0,06
M = $\beta$ -Antiarin	1583 <sup>10)</sup>	3800	18000	0,79
M'		200	500	0,02
P = Bogorosid		420	2000	0,08
N		400	2000	0,08
$\sigma$		380	500	0,02
$\tau$		380	500	0,02
$\varphi$		180	1000	0,04
$\omega$		180	500	0,02

keiten, nur läuft H'' im Papierchromatogramm viel langsamer. Die Glykoside unterscheiden sich im Zuckeranteil. Substanz  $\beta$  enthält Rhamnose, Substanz H'' dagegen Glucose. Die praktisch gleichen Farbreaktionen mit  $H_2SO_4$  sowie die Spektren sprechen dafür, dass sie dasselbe Genin enthalten könnten. Im UV.-Spektrum (Fig. 13) zeigt Substanz  $\beta$  im kurzwelligen Gebiet ein breites Hauptmaximum bei ca. 211  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,30$ ), das von der Überlagerung der Absorption des Butenolidringes und einer isolierten Doppelbindung herrühren dürfte. Daneben ist bei 310  $m\mu$  noch eine Carbonylbande mit auffallend hoher Extinktion ( $\log \epsilon = 2,25$ ) sichtbar, die für Homokonjugation spricht. Nach dem IR.-Spektrum (fest in KBr) handelt es sich um eine Aldehydgruppe (schwache, aber deutliche Bande bei 3,68 sowie weitere Bande bei 5,83). Ein fast gleiches UV.-Spektrum zeigte Substanz H'' (Fig. 14); auch hier deutet das IR.-Spektrum auf Vorliegen einer Aldehydgruppe. Ganz ähnliche Spektren und eine sehr ähnliche Färbung mit  $H_2SO_4$  zeigt Pachygenin

<sup>10)</sup> Ausserdem lieferten die Rohkristalle (total 11,80 g, vgl. Tab. 1) sowie die polarsten Anteil. des Chf-Alk-(2:1)-Extr. B (Fr. 35-40 von Tab. 11) noch insgesamt ca. 3,828 g krist.  $\beta$ -Antiarine

Tabelle 6. *Eigenschaften der isolierten krist. Stoffe*

Bezeichnung	Identifizierung	Smp. in °C [ $\alpha$ ] <sub>D</sub> <sup>20</sup> )	Xanthylprobe <sup>20)</sup>	Fluoreszenz mit SbCl <sub>3</sub> <sup>21)</sup>	Fluoreszenz mit «Chloramin-T» nach JENSEN <sup>23)</sup>	Vermutl. weitere Gruppen nach UV. und IR.		Bewiesene oder vermutliche Bruttoformel	Gesicherter oder (in Klammern) papierchromatographischer Nachweis der Spaltstücke: Genin/Zucker <sup>25)</sup>
						CO-Gruppe	Isolierte Doppelbindung		
$\beta$	neu	181–189/ 210–211 [–6,4 Me]	–	–	gelb	+	+	C <sub>29</sub> H <sub>40</sub> O <sub>9</sub> + H <sub>2</sub> O	Genin unbekannt (L-Rhamnose)
$\gamma$	neu (XII)	263–270 [–18,9 Me]	–	–	blau	–	–	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>10</sub> <sup>28)</sup>	(Digoxigenin) (L-Rhamnose)
$\delta'$	neu	255–267 [–53,3 Di]	–	–	gelb	–	+	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub> + 1½ H <sub>2</sub> O	Genin unbekannt (L-Rhamnose)
H	Subst. A von DOLDER <i>et al.</i> <sup>4)</sup> = Convallatoxin (X)	235–242 [–1,7 Me] [–9,4 Di]	–	–	gelb	+	–	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>10</sub> nach Lit. <sup>29)</sup>	Strophanthidin, L-Rhamnose
$\epsilon$	neu	190–195 [–27,3 Me]	–	–	gelb	–	–	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>10</sub> <sup>28)</sup> + H <sub>2</sub> O	Genin unbekannt (D-Glucose)
$\zeta$	neu	257–261 [–22,8 Di]	–	–	gelb	–	–	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>11</sub> <sup>28)</sup> + 2 H <sub>2</sub> O	Genin unbekannt (D-Glucose)
J'	neu	180–187/ 244–253 [–27,7 Me]	–	–	blau	+	–	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>12</sub> <sup>28)</sup> + 4 H <sub>2</sub> O	(Antiarigenin) Zucker unbekannt
K	neu	180–184 [+19,4 Me]	–	–	blau	+	–	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>11</sub> + 3 H <sub>2</sub> O	(Antiarigenin) (L-Acofriose)
J	Subst. F von DOLDER <i>et al.</i> <sup>4)</sup> = Antiosid (VIII)	195–204/ 238–244 [–4,6 Me]	–	–	blau	–	–	C <sub>29</sub> H <sub>44</sub> O <sub>10</sub> + 3 H <sub>2</sub> O nach Lit. <sup>4)</sup>	Antigenin L-Rhamnose
H''	neu	203–207 [+13,9 Di]	–	–	gelb	+	+	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>12</sub> <sup>28)</sup> + 1½ H <sub>2</sub> O	Genin unbekannt (D-Glucose)
M	$\beta$ -Antiarin (III)	234–239 [+6,1 Me- W-(1:1)]	–	–	blau	+	–	C <sub>29</sub> H <sub>42</sub> O <sub>11</sub> + H <sub>2</sub> O nach Lit. <sup>4)</sup>	Antiarigenin L-Rhamnose

<sup>20)</sup> V. ARREGUINE & P. E. PASQUALS, *Rev. Univ. Cordoba* 32, 439 (1945); M. PESEZ, *Ann. pharmac. franç.* 10, 104 (1952).

<sup>21)</sup> Ausführung nach H. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 977 (1959). Alle 16-Hydroxy-, 16-Acetoxy- und 16-Dehydro-cardenolide geben dabei eine leuchtend blaue Fluoreszenz im UV.-Licht. Die Reaktion entspricht der Fluoreszenz mit H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> nach PESEZ<sup>22)</sup>, die aber besser im Röhrchen ausgeführt wird.

<sup>22)</sup> A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, *Bull. Soc. chim. France* [5] 77, 288 (1950); P. BELLET, *Ann. pharmac. franç.* 8, 471 (1950).

<sup>23)</sup> K. B. JENSEN, *Acta pharmacol. toxicol.* 9, 99 (1953); *Chem. Abstr.* 48, 2322b (1954). Eine blaue Fluoreszenz mit JENSEN-Reagens geben alle Cardenolide, die eine 12 $\beta$ -ständige HO-Gruppe besitzen. Nach RUSSEL *et al.*<sup>24)</sup> geben aber auch 17 $\alpha$ -Digitoxigenin und andere 17 $\alpha$ -

Tabelle 7. Farbreaktionen mit konz.  $H_2SO_4$ 

Substanz	0'	1'	5'	10'	15'	30'	45'	60'
$\beta$	braun-violett	braun-violett	braun-violett	braun-violett	braun-violett	braun	braun	braun
$\gamma$	goldgelb	goldgelb	goldgelb	goldgelb	orange	rosa	rosa	rosa
$\gamma'^{30)}$	rotorange	rotorange Rand blau	blau	blau	graugrün	grau	grau	grau
$\delta'$	gelb	grün	grün Rand lila	grün Rand lila	tintenblau	tintenblau	braun	braun
H	rot	orange	goldgelb	goldgelb	gelbgrün	grüngelb	hellgrün	hellgrün
$\epsilon$	rotorange	orange	orange Rand lila	lila	violett	violett Rand braun	violett Rand braun	violett Rand braun
$\zeta$	braunrot	braunrot	braunrot Rand violett	hellbraun- violett	lila	blasslila	hellgrau	hellgrau
J'	orange	grün- orange	gelbgrün	gelbgrün	gelbgrün	gelbgrün	gelbgrün	braun- gelb
K	goldgelb	braungelb	braungelb Rand grün	grüngelb	grüngelb	braungelb	braungelb	braun- gelb
J	grün	grün	grün	grün Rand blau	grün Rand blau	blaugrau	grünbraun	grün- braun
H''	braun- violett	braun- violett	braun	braun	braun	braun	braun	hell- braun
M	orange	gelbgrün	gelbgrün	braungelb	braungelb	braungelb	braungelb	braun- gelb

Cardenolide eine blaue Fluoreszenz, auch wenn sie an C-12 keinen Substituenten tragen. Abnormale Färbungen geben einige Glykoside, z. B. Cymarin und Cymarol (blau) und  $17\alpha$ -Cymarin (gelblich);  $17\alpha$ -Cymarol fluoresziert schwach blau.

<sup>24)</sup> J. H. RUSSEL, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **43**, 167 (1960).

<sup>25)</sup> Bei H, J und M auch Identifizierung mit bekanntem Glykosid. Nachweis der Genine nach Spaltung mit HCl in Aceton<sup>26)</sup>, der Zucker nach energischer saurer Hydrolyse mit KILIANI-Mischung<sup>27)</sup>.

<sup>26)</sup> C. MANNICH & G. SIEWERT, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **75**, 737 (1942).

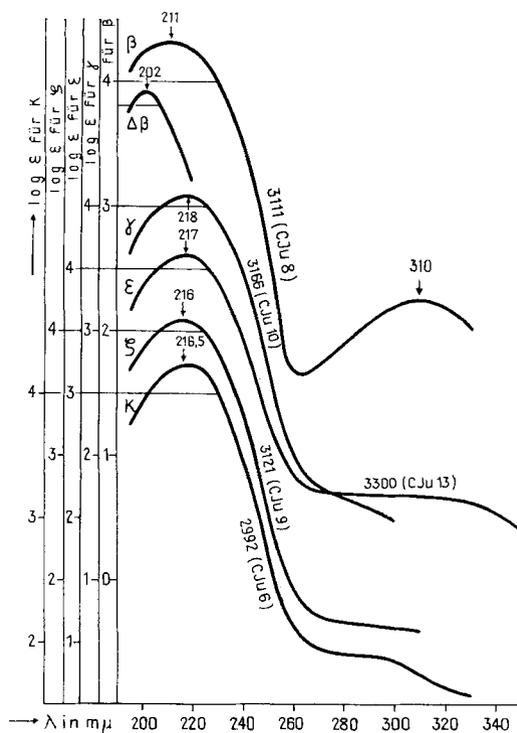
<sup>27)</sup> P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 1740 (1951).

<sup>28)</sup> Zur Analyse dienten Proben, die bei 20° und 740 Torr über  $CaCl_2$  vorgetrocknet waren. Es ist der bei weiterer Trocknung bei ca. 100° (vgl. exper. Teil) und 0,01 Torr über  $P_2O_5$  gefundene Wassergehalt angegeben. Es ist aber wahrscheinlich, dass die so getrocknete Probe immer noch fest gebundenes Kristallwasser enthielt.

<sup>29)</sup> R. TSCHESCHE & R. W. HAUPT, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **69**, 459 (1936).

<sup>30)</sup> Als Subst.  $\gamma'$  wird ein aus Convallatoxin teilsynthetisch bereitetes Präparat von Periplogenin- $\alpha$ -L-rhamnosid bezeichnet (vgl. exper. Teil dieser Arbeit). Eine gleiche Farbreaktion gibt auch Periplogenin- $\beta$ -D-glucosid<sup>31)</sup>.

<sup>31)</sup> R. C. ELDERFIELD, F. C. UHLE & J. FRIED, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 2235 (1947).

Fig. 13. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>32)</sup>

$\beta$  = Substanz  $\beta$ , Maximum bei 211  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,30$ ) und bei 310  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,25$ )  
Ber. auf  $C_{29}H_{40}O_9 + H_2O$  (550,63). Nr. 3111

$\Delta\beta$  = Differenzkurve =  $\log(\epsilon_\beta - \epsilon_{O\text{-Acetyl-digitoxigenin}})$ , Maximum bei 202  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,90$ )

$\gamma$  = Substanz  $\gamma$ , Maximum bei 218  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,09$ )

Ber. auf  $C_{29}H_{44}O_{10}$  (552,64). Nr. 3166

$\epsilon$  = Substanz  $\epsilon$ , Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,10$ ) und Schulter bei ca. 270–330  $m\mu$  ( $\log \epsilon$  ca. 2,20)

Ber. auf  $C_{29}H_{44}O_{10} + H_2O$  (570,65) Nr. 3300

$\zeta$  = Substanz  $\zeta$ , Maximum bei 216  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,08$ )

Ber. auf  $C_{29}H_{44}O_{11} + 2H_2O$  (604,67). Nr. 3121

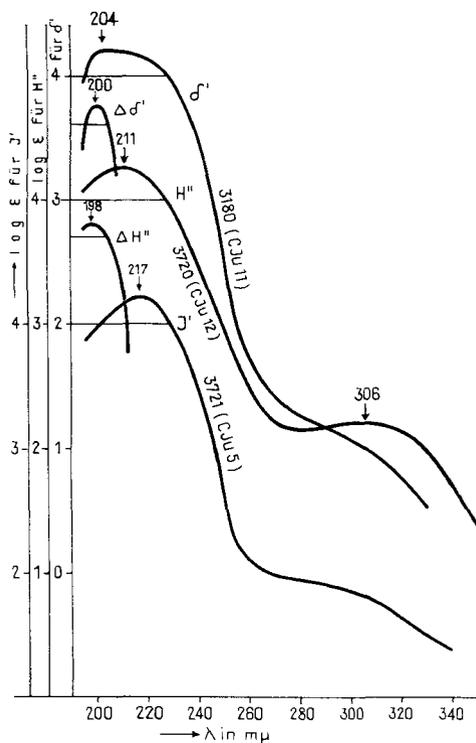
K = Substanz K, Maximum bei 216,5  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,22$ )

Ber. auf  $C_{30}H_{46}O_{11} + 3H_2O$  (636,71). Nr. 2992

(XVI)<sup>33)</sup>. Hydrolytische Spaltung nach MANNICH<sup>26)</sup> im Mikromaßstab und papierchromatographische Prüfung der Genine gab für Subst.  $\beta$  und Subst. H'' dasselbe Resultat (vgl. Fig. 19). Ausser einem langsam laufenden Fleck (= Ausgangsmaterial) und einem fast mit der Front wandernden Produkt (= Anhydrogenin) wurde ein

<sup>32)</sup> Aufgenommen von Herrn R. BÜHRER mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK 2. Der kurzwellige Teil des Spektrums bei Subst.  $\beta$  und Subst.  $\delta'$  und die Differenzkurven  $\Delta\beta$  und  $\Delta\delta'$  sind im Januar und März 1960 aufgenommen worden und vermutlich mit einem grösseren Fehler behaftet, da der Apparat damals im kurzwelligen Gebiet viel Streulicht zeigte. Bei H'' und  $\Delta H''$  (Aufnahme vom Febr. 1962) dürften die Werte erheblich genauer sein.

<sup>33)</sup> a) W. SCHMID, H. P. UEHLINGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 72 (1959); b) L. F. FIESER, T. GOLAB, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 102 (1960).

Fig. 14. UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>32)</sup>

$\delta'$  = Substanz  $\delta'$ , Maximum bei 204  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,19$ ) sowie Schulter bei ca. 216  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,19$ )

Ber. auf  $C_{29}H_{42}O_{10} + 1\frac{1}{2} H_2O$  (577,64). Nr. 3180

$\Delta\delta'$  = Differenzkurve =  $\log(\epsilon_{\delta'} - \epsilon_{O\text{-Acetyl-digitoxigenin}})$ , Maximum bei 200  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,77$ )

$H''$  = Substanz  $H''$ , Maximum bei 211  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,25$ ) und bei 306  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 2,22$ )

Ber. auf  $C_{29}H_{42}O_{12} + 1\frac{1}{2} H_2O$  (609,64). Nr. 3720

$\Delta H''$  = Differenzkurve =  $\log(\epsilon_{H''} - \epsilon_{O\text{-Acetyl-digitoxigenin}})$ , Maximum bei 198  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3,81$ )

$J'$  = Substanz  $J'$ , Maximum bei 217  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,23$ )

Ber. auf  $C_{30}H_{48}O_{12} + 4 H_2O$  (672,74). Nr. 3721

dazwischen liegender Fleck (vermutlich Genin) beobachtet der gleich lief wie Pachygenin. Es ist jedoch trotzdem sehr unwahrscheinlich, dass es sich bei  $\beta$  und  $H''$  um das L-Rhamnosid und das D-Glucosid des Pachygenins handelt. Diese Stoffe müssten eine viel stärkere Linksdrehung zeigen. Ausserdem ist das  $\beta$ -D-Glucosid des Pachygenins (= Pachomonosid XVII)<sup>33a)</sup> bereits bekannt und nach Smp., Drehung und Papierchromatogramm (vgl. Fig. 25) von  $H''$  eindeutig verschieden. Bis jetzt gelang es nicht, die Struktur von  $\beta$  und  $H''$  aufzuklären.

Substanzen  $\epsilon$  und  $\zeta$ . Auch diese zwei Stoffe besitzen untereinander grosse Ähnlichkeit. Sie enthalten aber beide denselben Zucker (D-Glucose) und laufen im Papierchromatogramm trotzdem deutlich verschieden, sollten also sehr wahrscheinlich verschiedene Geneine enthalten. Auch ist  $\zeta$  in Methanol viel schwerer löslich als das schwer kristallisierbare  $\epsilon$ . Im UV.-Spektrum ist in beiden Fällen nur das Maximum

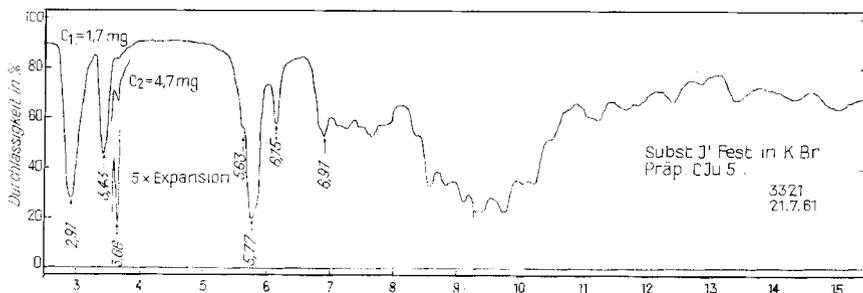


Fig. 15. IR.-Absorptionsspektrum von Substanz J' (Präp. CJu 5), fest in KBr<sup>33</sup>, C<sub>1</sub> mit 1,7 mg pro Pastille (ca. 300 mg), C<sub>2</sub> mit 4,7 mg pro Pastille

Das 3,6- $\mu$ -Gebiet ist auch noch mit 5facher Expansion der Ordinate aufgenommen, um die schwache Bande bei 3,66  $\mu$  deutlich hervortreten zu lassen

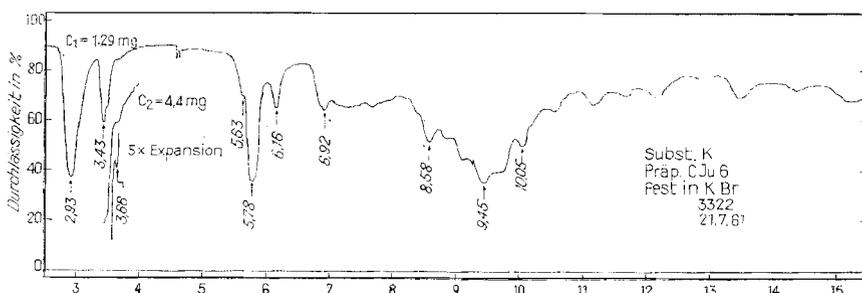


Fig. 16. IR.-Absorptionsspektrum von Substanz K (Präp. CJu 6), fest in KBr<sup>34</sup>, C<sub>1</sub> mit 1,29 mg pro Pastille (ca. 300 mg), C<sub>2</sub> mit 4,4 mg pro Pastille

Expansion des 3,6- $\mu$ -Gebietes wie bei Fig. 15

des Butenolidringes sichtbar und keine zusätzliche isolierte Doppelbindung nachweisbar. Bei fermentativer Spaltung mit Pilzamyase<sup>35</sup>) lieferte  $\epsilon$  ein Genin, das im Papierchromatogramm (Fig. 17) genau gleich lief wie Xysmalogenin (XVIII)<sup>34a</sup>)<sup>36</sup>). Eine Identität ist aber ausgeschlossen, da  $\epsilon$  keine isolierte Doppelbindung enthält. Die fermentative Hydrolyse von  $\zeta$  lieferte ein Genin, das im Papierchromatogramm (Fig. 17) viel langsamer lief als Xysmalogenin und ein wenig schneller als Periplogenin (XIII). Auch Subst.  $\zeta$  läuft im Papierchromatogramm ein wenig schneller als Periplogenin- $\beta$ -D-glucosid (XV)<sup>31</sup>) und die Farbreaktionen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sind völlig verschieden. Die Fluoreszenzreaktion mit SbCl<sub>3</sub><sup>21</sup>) sowie mit H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> nach PESEZ<sup>22</sup>) ist bei  $\epsilon$  und  $\zeta$  negativ, und beide geben bei der JENSEN-Reaktion<sup>23</sup>) eine gelbe Fluoreszenz. Sie sollten demnach Genine enthalten, die weder in 12- noch in 16-Stellung substituiert sind. Auch hier wurde die Struktur noch nicht abgeklärt.

<sup>34</sup>) Aufgenommen von den Herren R. BÜHRER und K. LIEBL in einem PERKIN-ELMER-Doppelstrahl-IR.-Spektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prisma.

<sup>35</sup>) Ein technisches Fermentpräparat aus *Aspergillus oryzae*, bezogen von der SCHWEIZERISCHEN FERMENT AG., Basel.

<sup>36</sup>) J. POLONIA, A. KURITZKES, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1437 (1959).

*Substanz  $\gamma$*  zeigte eine sehr ähnliche Drehung und lief im Papierchromatogramm fast gleich wie Periplogenin- $\alpha$ -L-rhamnosid (XIV), das zum Vergleich durch Teilsynthese aus Convallatoxin (X) bereitet wurde. In den Figuren ist es als  $\gamma'$  bezeichnet. Es war aber von Subst.  $\gamma$  eindeutig verschieden (Smp., Farbreaktionen). Inzwischen ist festgestellt worden, dass Subst.  $\gamma$  mit Subst. E aus dem Latex von Malaya<sup>5a</sup>) identisch ist. Für diesen Stoff kommt die Struktur eines Digoxigenin- $\alpha$ -L-rhamnosids (XII) in Frage<sup>5a</sup>). In Übereinstimmung damit gab Subst.  $\gamma$  bei der JENSEN-Reaktion<sup>23</sup>) eine blaue Fluoreszenz und bei der MANNICH-Spaltung im Mikromaßstab neben den üblichen rasch wandernden Anteilen (Anhydroderivate usw.) einen Fleck, der in zwei Systemen (Fig. 18 und 20) dieselbe Laufstrecke zeigte wie Digoxigenin (XI)<sup>37</sup>)<sup>38</sup>).

*Substanzen K und J'*. Subst. K ist nach  $\beta$ -Antiarin (M) (III), Convallatoxin (H) (X) und Antiosid (J) (VIII) einer der Hauptstoffe des *Antiaris*-Milchsafte. Sie ist schwer zu isolieren und wurde bei der Verteilungschromatographie immer in Gemischen erhalten, im besten Fall nur mit J' oder J vermischt. Im IR.-Spektrum (Fig. 15 und 16) zeigten sowohl K als J' die Bande einer Aldehydgruppe; Acetoxygruppen waren in beiden Fällen abwesend. K und J' zeigten mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sehr ähnliche Färbungen wie  $\alpha$ - und  $\beta$ -Antiarin. Sie unterscheiden sich aber stark in der spez. Drehung. Bei der energischen sauren Hydrolyse mit KILIANI-Mischung gaben sowohl K wie J' einen Zucker mit demselben Rf-Wert wie L-Acofriose. Auch bei der Mikro-MANNICH-Spaltung gaben beide Glykoside ein gleiches Resultat. In beiden Fällen wurde ein Genin erhalten, das im Papierchromatogramm gleich lief wie Antiarigenin (I). Da K und J' sicher verschieden sind, ist es kaum wahrscheinlich, dass sie beide dasselbe Genin und denselben Zucker enthalten. Die spez. Drehung würde am ehesten dafür sprechen, dass Subst. K ein Acofriosid des Antiarigenins (also 3'-O-Methyl- $\beta$ -antiarin IV) darstellt. Da die MANNICH-Spaltung sehr langsam verlief und nur wenig Material zur Verfügung stand, war es bisher nicht möglich, die Struktur von J' und K sicher abzuklären.

*Substanz P (= Bogorosid)*<sup>4</sup>)<sup>39</sup>). Bogorosid (P) und  $\beta$ -Antiarin (M) zeigen im Papierchromatogramm sehr ähnliche Laufstrecken, lassen sich aber im System von Fig. 12 deutlich unterscheiden. Beide enthalten als Zucker L-Rhamnose. Bogorosid gibt wie  $\beta$ -Antiarin bei der JENSEN-Reaktion<sup>23</sup>) eine blaue Fluoreszenz, was für eine HO-Gruppe in 12 $\beta$ -Stellung spricht. Ferner zeigt es im UV.-Spektrum die Absorption einer Aldehydgruppe bei 303  $\mu$ . Bei der MANNICH-Spaltung wurde ein Genin erhalten, das im Papierchromatogramm langsamer läuft als Antiarigenin (I)<sup>40</sup>) und Calotropagenin<sup>41</sup>) und schneller als *al*-Dihydroantiarigenin (V)<sup>40</sup>) und Ouabagenin (XIX)<sup>26</sup>)<sup>42</sup>). Das Genin von Bogorosid ist vermutlich neu.

<sup>37</sup>) S. SMITH, J. chem. Soc. 1930, 508, 2478.

<sup>38</sup>) S. PATAKI, K. MEYER & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 1295 (1953).

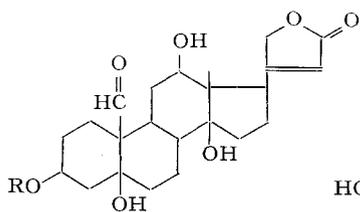
<sup>39</sup>) Bogorosid ist aus diesem Milchsafte nicht kristallin isoliert worden. Für die Hydrolyseversuche diente die alte von DOLDER<sup>4</sup>) isolierte Probe.

<sup>40</sup>) R. P. MARTIN & CH. TAMM, Helv. 42, 696 (1959).

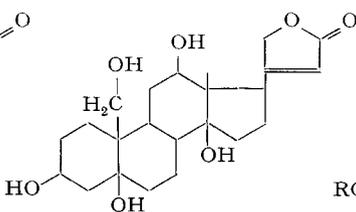
<sup>41</sup>) G. HESSE & F. REICHENEDER, Liebigs Ann. Chem. 526, 252 (1936), und G. HESSE, L. J. HEUSSER, E. HÜTZ & F. REICHENEDER, *ibid.* 566, 130 (1950); C. H. HASSALL & K. REYLE, Chemistry & Ind. 1956, 487.

<sup>42</sup>) G. VOLPP & CH. TAMM, Helv. 42, 1408 (1959); G. VOLPP, G. BAUMGARTNER & CH. TAMM, Helv. 42, 1418 (1959).

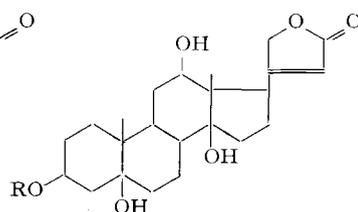
Formelschema<sup>43)</sup>



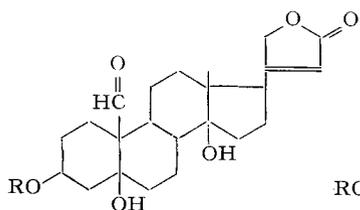
I (R = H) Antiarigenin  
 II (R = Gu)  $\alpha$ -Antiarin  
 III (R = Rh)  $\beta$ -Antiarin  
 IV (R = Acf) Subst. K?



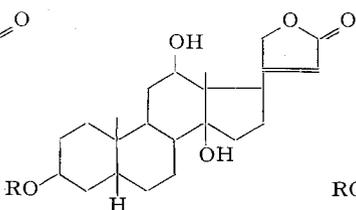
V *al*-Dihydroantiarigenin



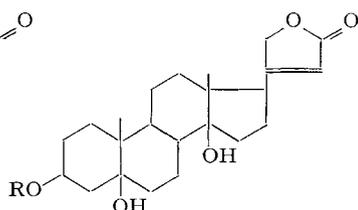
VI (R = H) Antiogenin  
 VII (R = Gu)  $\alpha$ -Antiosid  
 VIII (R = Rh) Antiosid



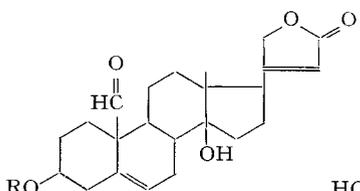
IX (R = H) Strophanthidin  
 X (R = Rh) Convallatoxin



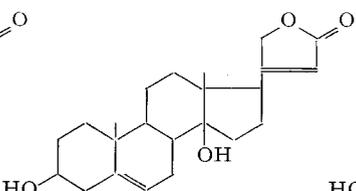
XI (R = H) Digoxigenin  
 XII (R = Rh) Subst.  $\gamma$



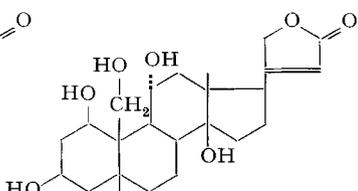
XIII (R = H) Periplogenin  
 XIV (R = Rh) Subst.  $\gamma'$   
 XV (R = Glu) Periplogenin- $\beta$ -D-glucosid



XVI (R = H) Pachygenin  
 XVII (R = Glu) Pachomonosid



XVIII Xysmalogenin



XIX Ouabagenin

Gu = D-Gulomethylose, Rh = L-Rhamnose, Acf = L-Acofriose, Glu = D-Glucose.

Diskussion der Resultate

Die vorliegende Untersuchung hat bestätigt, dass der Milchsaft von *Antiaris toxicaria* aus Bogor ein kompliziertes Gemisch von Cardenolid-Glykosiden enthält. Wir glauben, dass mit dem Nachweis der 29 genannten Stoffe die wesentlichen Komponenten erfasst sind. Die Trennung war zeitraubend und schwierig, da gewöhnliche Adsorptionschromatographie nicht genügte und auch Verteilungschromatographie keine vollständige Trennung gab. Es konnte daher nur ein Teil des Materials untersucht werden. Die von DOLDER<sup>4)</sup> früher aus gleichem Material isolierten Substanzen D und E ließen sich in diesem Milchsaft nicht nachweisen.

<sup>43)</sup> Endgültiger Beweis für die Formeln I–VIII vgl. Diss. C. JUSLÉN<sup>1)</sup> sowie C. JUSLÉN *et al.*<sup>18)</sup>.

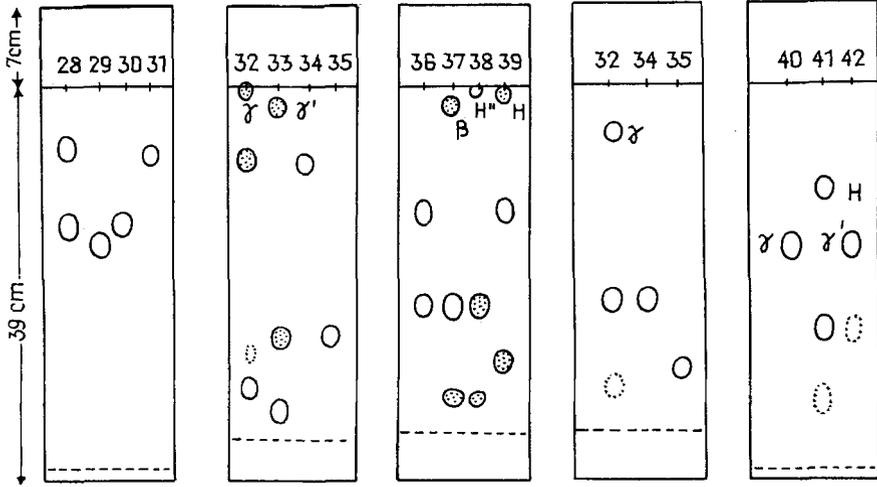


Fig. 17  
Be-Chf-  
(7:5)/Fmd  
3 Std.  
40 Min.

Fig. 18  
Chf/Fmd  
2 Std.  
45 Min.

Fig. 19  
Chf/Fmd  
2 Std.  
45 Min.

Fig. 20  
Mek-To-  
(1:1)/W  
1 Std.  
45 Min.

Fig. 21  
Mek-To-  
(4:1)/W  
2 Std.

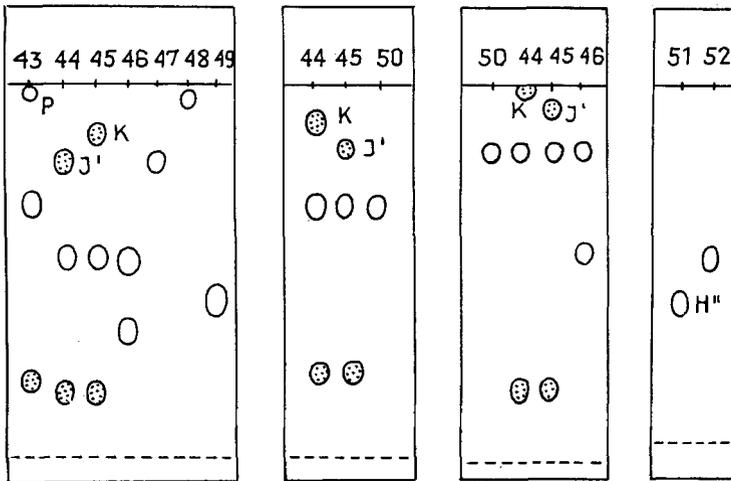


Fig. 22  
Mek-To-  
(4:1)/W  
1 Std.  
45 Min.

Fig. 23  
To-Bu-  
(2:1)/W  
 $4\frac{1}{2}$  Std.

Fig. 24  
To-Bu-  
(4:1)/W  
 $3\frac{1}{2}$  Std.

Fig. 25  
To-Bu-  
(1:1)/W  
6 Std.

Fig. 17–25 sind Beispiele für weitere Papierchromatogramme  
Durchführung wie bei Fig. 1–12

Nr. 28 Periplogenin und Xysmalogenin	Nr. 41 Umsatz von Substanz H mit Pdt
„ 29 Uzarigenin	„ 42 Entschweflungsprodukt aus Mercaptal von H, roh
„ 30 Genin von Substanz $\epsilon$	„ 43 MANNICH-Spaltung von Substanz P
„ 31 Genin von Substanz $\zeta$	„ 44 MANNICH-Spaltung von Substanz J'
„ 32 MANNICH-Spaltung von Substanz $\gamma$	„ 45 MANNICH-Spaltung von Substanz K
„ 33 MANNICH-Spaltung von Substanz $\gamma'$	„ 46 Antiogenin und Antiarigenin
„ 34 Digoxigenin	„ 47 <i>al</i> -Dihydro-antiarigenin
„ 35 Periplogenin	„ 48 Ouabagenin
„ 36 Strophanthidin und Pachygenin	„ 49 Calotropagenin
„ 37 MANNICH-Spaltung von Substanz $\beta$	„ 50 Antiarigenin
„ 38 MANNICH-Spaltung von Substanz H''	„ 51 Substanz H''
„ 39 MANNICH-Spaltung von Substanz H	„ 52 Pachomonosid
„ 40 Substanz $\gamma$	

Die isolierten Stoffe sind alles Monoglykoside und enthalten als Zucker entweder L-Rhamnose, L-Acofriose oder D-Glucose. Auffallenderweise enthielt dieser Milchsaft nur ein einziges Derivat der D-Gulomethylose, das  $\alpha$ -Antiarin, das zudem nur papierchromatographisch nachgewiesen werden konnte. Die Substanzen  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  und H'' enthalten, soweit papierchromatographisch festgestellt werden konnte, vermutlich unbekannte Genine.

Im Milchsaft aus Malaya hat WEHRLI<sup>5)</sup> 27 Cardenolide nachgewiesen. Von diesen waren nur Digoxigenin- $\alpha$ -L-rhamnosid (hier als Subst.  $\gamma$  bezeichnet), Convallatoxin (H), Antiosid (J),  $\alpha$ -Antiarin (L) und  $\beta$ -Antiarin (M) mit hier nachgewiesenen Stoffen identisch. Dies zeigt, wie gross der Unterschied im Vergleich zu dem hier untersuchten Material war. Das Material aus Malaya enthielt mehr Derivate der D-Gulomethylose (Desgluco-cheirotoxin und  $\alpha$ -Antiosid, auch bedeutend mehr  $\alpha$ -Antiarin).

Die eine von uns (C. J.) dankt dem SVENSKA VETENSKAPLIGA CENTRALRADET, SVENSKA KULTURFONDEN, Helsingfors Universität, sowie der VEREINIGUNG DER FREUNDE FINNLANDS IN DER SCHWEIZ für Stipendien, die ihr die Ausführung dieser Arbeit in Basel gestatteten. Ferner danken wir dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten sowie Herrn H. KAUFMANN für seine Hilfe bei der Korrektur.

### Experimenteller Teil

1. *Einleitung.* Smp., Trocknung zur Analyse, Chromatographie an Mg-Silikat und Ausführung der Acetylierungen wie bei DOLDER *et al.*<sup>4)</sup> Ausserdem benützte man zur Adsorptionschromatographie  $Al_2O_3$  WOELM (neutral, Akt. I, wenn nicht anders angegeben ist), Silicagel BENDER-HOBBIN, Korngrösse 0,15–0,3 mm, und Kieselgel MERCK, Korngrösse 0,05–0,20 mm. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in org. Phase, Waschen mit 2N HCl, 2N  $Na_2CO_3$  und Wasser, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum. Die Substanzproben für die Drehungsbestimmung wurden  $\frac{1}{2}$  Std. bei 0,01 Torr und ca. 50° getrocknet. Für die Spektren wurde bis zur Gewichtskonstanz bei ca. 740 Torr und 20° über  $CaCl_2$  getrocknet. Der bei der Analyse durch scharfe Trocknung über  $P_2O_5$  hierauf bestimmte Gewichtsverlust wurde als Wasser gerechnet.

Es werden folgende Abkürzungen benützt: AcOH = Eisessig,  $(Ac)_2O$  = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, An = Aceton, Alk = Äthanol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, Di = Dioxan, Fr = Fraktionen, Smp. = Schmelzpunkt, Isp = Isopropanol, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, ML = eingedampfte Mutterlauge, Pe = Petroläther, Pdt = Propandithiol-(1,3), Pgl = Propylenglykol, Py = Pyridin, Tgl = Thiodiäthylenglykol, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser, Pchr = Papierchromatogramm(e) und Papierchromatographie. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina, wenn nicht anders angegeben ist.

Papierchromatographie<sup>10) 11)</sup>. Zur Imprägnierung wurden die gewogenen Papiere (Wh Nr. 1) durch An-W-(3:1) gezogen und an der Luft so lange hängen gelassen, bis der Wassergehalt genau 35% des ursprünglichen Gewichtes betrug. Beim Imprägnieren mit Fmd, Pgl oder Tgl als sta-

tionäre Phase wurden die Papiere durch eine Lösung von An-Fmd-(1:4), An-Pgl-(1:4) resp. An-Tgl-(1:4) durchgezogen. Ausführung der Dünnschichtchromatographie nach früheren Angaben<sup>44)</sup>.

2. *Energetische Hydrolyse im Mikromaßstab.* 2 mg Glykosid wurden mit 0,1 ml KILIANI-Mischung<sup>27)</sup> 1 Std. auf 100° erwärmt. Dann wurde mit 0,2 ml W versetzt, im Vakuum bei 30° auf ca. 0,05 ml eingengt, mit 0,2 ml W verdünnt und 4mal mit 4 ml Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Auszüge wurden mit wenig W gewaschen. Die vereinigten Wasserphasen wurden im Vakuum von den Chf-Resten befreit, mit möglichst wenig Kationenaustauscher (Amberlit IR 4B) in OH-Form so weit neutralisiert, dass das Kongopapier nicht mehr gebläut, aber Lackmus noch gerötet wurde. Zuletzt wurde die filtrierte Lösung eingedampft. Ein Teil des Rückstandes wurde für die papierchromatographische Zuckerprüfung verwendet<sup>45)</sup>, wobei PARTRIDGE-Lösung als Sprühreagenz diente<sup>46)</sup>.

3. *Extraktion des Milchsaftes und Vortrennung der Extrakte*<sup>47) 48)</sup>. 3,490 Liter der Latex-Chf-Alk-Mischung wurden im Vakuum bei 50° Badtemperatur auf 2 l eingengt, dann mit 4 l Alkohol versetzt und 16 Std. bei 0° stehengelassen. Dann wurde abgenutscht und der unlösliche klebrige Rückstand in 1,7 l Alk durchgeknetet, 45 Min. geschüttelt und wieder durch dasselbe Filter abgenutscht. Dies wurde mit dem jeweils verbliebenen Rückstand 7mal mit 250 ml Alk wiederholt. Der zuletzt verbliebene klebrige in Alk unlösliche, hellbraune Rückstand (377,8 g) war KEDDE-negativ, gab aber mit BARTON-Reagens<sup>49)</sup> auf Phenole eine starke Blaufärbung. Er wurde nicht weiter untersucht. In den alkoholischen Lösungen fiel beim Stehen 1,652 g farbloses Pulver aus (KEDDE-Reaktion negativ, Smp. 160–177°), wahrscheinlich  $\alpha$ -Amyrin, und 26,2 g einer gummiartigen Substanz, KEDDE-negativ, nicht weiter untersucht. Das Filtrat (5,58 l) wurde im Vakuum auf 2 l eingengt und mit dem frisch aus 300 g Pb(OAc)<sub>2</sub>-trihydrat bereiteten Pb(OH)<sub>2</sub>, das in 1 Liter 80-proz. Alkohol suspendiert worden war, versetzt und 15 Min. geschüttelt. Dann wurde abgenutscht und mit 2 l 80-proz. Alkohol gewaschen. Die klaren Filtrate wurden mit 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf pH 6 eingestellt und unter Kontrolle des pH auf 370 ml eingengt. Es wurde mit 100 ml W verdünnt und 1mal mit 750 ml Chf, dann 6mal mit je 500 ml Chf und anschließend 14mal mit je 500 ml Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die im Gegenstrom mit 100 ml W, 80 ml 2N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2mal), 100 ml W und 70 ml W gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben die in Tab. 1 (theor. Teil) genannten Ausbeuten.

Die wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum auf 50 ml eingengt und in dünnem Strahl unter Rühren mit 500 ml Alk versetzt, wobei ein gelber, zäher, nicht weiter untersuchter Niederschlag ausfiel (40,5 g), der mit Alkohol angeknetet wurde. Nach Einengen der alkoholischen Lösung fiel noch ein farbloses Pulver aus (ca. 1,55 g), das abfiltriert wurde. Es war KEDDE-negativ, die BARTON-Reaktion<sup>49)</sup> auf Phenole fiel auch negativ aus. Man untersuchte es nicht weiter.

Die vereinigten alkoholischen Lösungen wurden im Vakuum auf 50 ml eingengt, mit 10 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> halbgesättigt und 3mal mit je 500 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Gewaschen wurde mit halbgesättigter Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung und etwas 2N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ebenfalls halbgesättigt mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Trocknen und Eindampfen gab 2,134 g Chf-Alk-(3:2)-Extrakt. Aus Me-Ae 579 mg M ( $\beta$ -Antiarin) in Platten, Smp. 233–242°, nach Pchr rein. Die vier Gruppen des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes A, B, C, D (vgl. Tab. 1) wurden ebenso aus Me-Ae kristallisiert und gaben die in Tab. 1 genannten Kristalle, die aber alle Gemische darstellten. Die Kristalle der Gruppen A und B wurden vereinigt (nach Trocknung 7,09 g). Sie gaben aus Me mit ein wenig Ae 2,751 g reines M (=  $\beta$ -Antiarin), Smp. 228–233°, nach Pchr einheitlich. Die Kristallmutterlauge, 4,339 g, wurde zur Herstellung von O-Acetyl-antiosid verwendet<sup>18)</sup>.

#### *Vortrennung der ML des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes A*

*Vorversuch a)* 2,0 g ML des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes A (Tab. 1) wurden in 30 ml W gelöst und 27mal mit je 10 ml der folgenden Chf-Alk-Gemische ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten zwei Scheidetrichter mit 10 ml W, wurden dann über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Die

<sup>44)</sup> E. STAHL, *Angew. Chem.* 73, 646 (1961).

<sup>45)</sup> M. T. KRAUSS, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *J. Chromatogr.* 3, 63 (1960).

<sup>46)</sup> S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 443 (1949).

<sup>47)</sup> P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 45 (1952).

<sup>48)</sup> J. v. EUW, H. HESS, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1821 (1951).

<sup>49)</sup> C. M. BARTON, R. S. EVANS & J. A. F. GARDNER, *Nature* 170, 249 (1952).

zuletzt verbleibenden wässrigen Phasen wurden mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  halbgesättigt und 10mal mit je 20 ml Chf-Alk-(3:2) ausgeschüttelt. Das Ergebnis ist aus Tab. 8 ersichtlich.

*Vorversuch b*) 0,461 g desselben Materials wurde in 15 ml W gelöst und 33mal mit je 10 ml Chf-Bu-Gemisch ausgeschüttelt. Dieses passierte zwei Scheidetrichter mit 10 ml W, wo es nochmals geschüttelt wurde. Zuletzt wurde die verbleibende wässrige Phase mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  halbgesättigt und 8mal mit je 20 ml Chf-Bu-(3:2) ausgeschüttelt. Ergebnisse vgl. Tab. 9.

*Vorversuch c*) 0,456 g gleiches Material wurde genau wie b) mit Chf-Isopropanol-Gemisch ausgeschüttelt. Ergebnis vgl. Tabelle 10.

Wie ersichtlich gab Vorversuch b) das beste Resultat. Daher wurde die Hauptmenge ähnlich getrennt.

*Hauptversuch.* 35,23 g ML des Chf-Alk-(2:1)-Extraktes A (Tab. 1) wurden in 1134 ml W gelöst und 25mal mit je 760 ml Chf-Bu-Gemisch (von 10–20% Bu-Gehalt) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten jeweils noch 2 Scheidetrichter mit je 760 ml W. Das Ergebnis ist aus Tabelle 3 ersichtlich (theor. Teil). Die verbliebenen wässrigen Phasen wurden im Vakuum auf 70 ml eingengt, mit 14 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  halbgesättigt und 6mal mit je 250 ml Chf-Bu-(3:2) ausgeschüttelt. Diese gaben 9,441 g Material. Aus Me-Ae 1,583 g farblose Prismen, Smp. 227–234°, nach Pchr M mit einer Spur von L. Die ML enthielt J, K, L, M', M, P, N,  $\sigma$ ,  $\tau$  und wurde nicht getrennt.

Tabelle 8. Ausbeute und Zusammensetzung der Extrakte aus Vorversuch a)

Fr. Nr.	Organische Phase	Extrahiertes Material	
		Menge in mg	Flecke im Pchr. 250 $\gamma$
1–5	Chf-Alk-(9:1)	13,2	( $\alpha$ ), $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H
6–7	Chf-Alk-(9:1)	6,5	( $\alpha$ ), ( $\alpha'$ ), $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H
8–12	Chf-Alk-(4:1)	277,9	$\beta$ , $\gamma$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, H'', M, P
13–17	Chf-Alk-(4:1)	480,1	$\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, H'', M, P
18–22	Chf-Alk-(2:1)	328,7	H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, H'', M, P
23–27	Chf-Alk-(2:1)	202,1	H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, H'', M, P
28–34	Chf-Alk-(3:2)	152,8	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, H''
	Chf-Alk-(3:2)		M, P
35–37	Nach Zusatz von $\text{Na}_2\text{SO}_4$	22,3	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, H'', M, P
Total		1,483	

Tabelle 9. Ausbeute und Zusammensetzung der Extrakte aus Vorversuch b)

Fr. Nr.	Organische Phase	Extrahiertes Material	
		Menge in mg	Flecke im Pchr. 250 $\gamma$
1–5	Chf-Bu-(9:1)	59,6	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$
6–11	Chf-Bu-(9:1)	65,1	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L
12–16	Chf-Bu-(4:1)	83,8	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\gamma$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L
17–23	Chf-Bu-(4:1)	81,9	H, $\zeta$ , (K), J, L, M
24–28	Chf-Bu-(2:1)	70,9	(K), J, L, M
29–33	Chf-Bu-(2:1)	35,0	(K), J, L, M', M, P, N
	Chf-Bu-(3:2)		
34–41	Nach Zusatz von $\text{Na}_2\text{SO}_4$	48,9	J, L, M, P, N
Total		445,2	

Vortrennung der ML des Chf-Alk-(2:1)-Extr. B (Tab. 1)

Die 12,0 g ML des Chf-Alk-(2:1)-Extr. B wurden in 390 ml W gelöst und 40 mal mit je 260 ml Chf-Bu-Gemisch ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden im Gegenstrom 2mal mit je 260 ml W geschüttelt. Ergebnis vgl. Tab. 11.

Tabelle 10. Ausbeute und Zusammensetzung der Extrakte aus Vorversuch c)

Fr. Nr.	Organische Phase	Extrahiertes Material	
		Menge in mg	Flecke im Pchr. 250 $\gamma$
1-5	Chf-Isp-(9:1)	35,5	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J
6-11	Chf-Isp-(9:1)	81,4	$\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , $\delta'$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L
12-16	Chf-Isp-(4:1)	85,3	( $\alpha$ ), ( $\alpha'$ ), ( $\beta$ ), $\delta$ , H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, M
17-21	Chf-Isp-(4:1)	53,4	$\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L, M
22-26	Chf-Isp-(2:1)	95,9	K, J, L, M, P, N
27-31	Chf-Isp-(2:1)	30,6	K, J, L, M, P, N
32-36	Chf-Isp-(3:2)	44,5	K, J, L, M, P, N, $\tau$
	Nach Zusatz von $\text{Na}_2\text{SO}_4$		
Total		426,6	

Tabelle 11. Ausbeute und Zusammensetzung der Extrakte aus der ML vom Chf-Alk-(2:1)-Extrakt B

Fr. Nr.	Organische Phase	Extrahiertes Material		
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	Kristalle aus Me-Ae
1-4	Chf-Bu-(9:1)	418,6	$\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ , ( $\delta'$ ), H, ( $\epsilon$ ), (K), (J)	
5-9	Chf-Bu-(9:1)	387,1	( $\beta$ ), $\gamma$ , $\delta$ , ( $\delta'$ ), H, ( $\epsilon$ ), $\zeta$ , K, J	
10-14	Chf-Bu-(4:1)	1204,7	( $\delta$ ), ( $\delta'$ ), H, $\epsilon$ , $\zeta$ , K, J, L	
15-19	Chf-Bu-(4:1)	1081,1	( $\epsilon$ ), ( $\zeta$ ), K, J, L, (M)	
20-24	Chf-Bu-(4:1)	927,8	( $\epsilon$ ), ( $\zeta$ ), K, J, L, (M)	
25-29	Chf-Bu-(2:1)	2138,9	J, K, L, M', M	
30-34	Chf-Bu-(2:1)	1202,7	J, K, L, M', M	
35-37	Chf-Bu-(3:2)	891,9	J, K, L, M', M, (P)	0,197 g M, (L), (J), Smp. 222-227°
38-40	Chf-Bu-(3:2)	1990,0	K, L, (M'), M, P, N und kürzer laufende	0,301 g M, (L), (N), Smp. 233-237°
	Nach Zusatz von $\text{Na}_2\text{SO}_4$			
Total		10.242		

4. Verteilungschromatographien. - Verteilungschromatographie I. 1,625 kg gewaschenes und getrocknetes Cellulosepulver wurden in einer Mischung von 34% An, 46% Chf und 20% *n*-Pentanol<sup>50</sup> suspendiert und in ein Chromatographierrohr (Nr. 4)<sup>11</sup> eingefüllt. Nachdem das Pulver in das Rohr gefüllt war, wurde eine Lösung von 613 ml W in 5268 ml An, 695 ml *n*-Pentanol und 1598 ml Chf durchfließen gelassen. Die durchgeflossene Lösung wurde noch zweimal auf die Säule gegeben. Zuletzt wurde so lange mit Mek-Be-(2:1) mit W gesättigt gewaschen, bis die abtropfende Lösung dasselbe spezifische Gewicht wie die Lösung zeigte. Hierauf wurden 4,024 g Material (Gruppe I, Tab. 3 theor. Teil) in 15 ml Me gelöst, mit 13 g gereinigtem Kieselgur vermischt, im Vakuum getrocknet, in Mek-Be-(2:1) auf die Säule gebracht und wie üblich chromatographiert. Laufgeschwindigkeit 235 ml pro Std.  $t = 15-18^\circ$ . Fraktionen je 250 ml. Bewegliche Phase hier durchgehend Mek-Be-(2:1) mit W gesättigt. Das Resultat ist aus Tabelle 12 ersichtlich.

Nach Abtrennung von Fr. 80 diente dieselbe Säule zur Trennung von Gruppe II.

Verteilungschromatographie II. Die 3,654 g Gruppe II (Tab. 3) wurden an 135 g  $\text{SiO}_2$  chromatographiert<sup>51</sup>). Dabei liessen sich zunächst ca. 50 mg KEDDE-negatives Material abtrennen. Die mit Chf-Me-(94:6) eluierten Anteile (1,207 g) gaben aus Me-Ae 0,358 g krist. Substanz H (= DOLDER's Substanz A) in farblosen Prismen, Smp. 226-232°, nach Pchr nur H. Von den ML und allen amorphen KEDDE-positiven Fraktionen (die letzten eluiert mit Chf-Me-(3:1)), total 2,651 g, wurden

<sup>50</sup>) C. H. TRABERT, Arzneimittel-Forsch. 10, 197 (1960).

<sup>51</sup>) Nach Eluierung mit Chf-Me-(3:1) blieben auf der  $\text{SiO}_2$ -Säule noch ca. 595 mg zurück. Daher wurde bei den anderen Gruppen von einer Vortrennung an  $\text{SiO}_2$  abgesehen.

Tabelle 12. Verteilungschromatographie I von 4,024 g Gruppe I (Tab. 3)

Fr. Nr.	Eindampfdruckstand						
	roh			Kristalle			
	Menge in mg	Flecke im Pchr.	System Nr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	System Nr.
1-7	115,9	KEDDE-neg.					
8-13	134,8	$\alpha, \alpha'$	2				
14-23	129,3	$(\alpha'), \beta, \gamma$	2				
24-25	33,5	$\beta, (\gamma)$	2				
26-30	401,1	$\beta, (\gamma)$	2	201,7	178-185°	$\beta$	2
31-33	214,2	$\beta, \gamma, \delta, H$	2				
34-35	147,9	$(\beta), \gamma, \delta', H$	2	19,0	217-224°	$\delta', (H)$	2
36-37	161,1	$(\gamma), \delta', H$	2				
38-46	865,0	$(\gamma), \delta', H, (\epsilon)$	2,3	579,2	227-232°	H	2,3
47-51	398,8	H, $\epsilon, \zeta$	3				
52-54	235,7	(H), $\epsilon, \zeta$	3	93,5	179-182°	$\epsilon, H$	3
55-60	426,4	$\epsilon, (\zeta)$	3	160,0	184-186°	$\epsilon$	3
61-62	134,4	$\epsilon, (\zeta)$	3				
63-66	213,8	$\epsilon, \zeta$	3	49,0	232-243°	$\zeta$	3
67-70	65,0	$\zeta, L, H''$	3,5				
71-80	99,1	L, H''	3,5				
Total	3776,0						

Tabelle 13. Verteilungschromatographie II von 2,399 aus Gruppe II (Tab. 3)

Fr. Nr.	Bewegliche Phase	Eindampfdruckstand						
		roh			Kristalle			
		Menge in mg	Flecke im Pchr.	System Nr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	System Nr.
1-10	Be-Mek-(1:2)	60,3	$\alpha, \alpha'$	2				
11-14	Be-Mek-(1:2)	40,3	$(\alpha), (\alpha'), \beta, \gamma$	2				
15-30	Be-Mek-(1:2)	83,1	$\gamma, (\delta)$	2				
31-38	Be-Mek-(1:2)	66,5	$\gamma, (\delta)$	2	25,3	261-269°	$\gamma$	2
39-48	Be-Mek-(1:2)	58,4	$\gamma, \delta, H$	2				
49-54	Be-Mek-(1:2)	114,5	$\delta, \delta', H$	2	25,0	239-248°	$\delta'$	2
55-67	Be-Mek-(1:2)	429,7	$(\delta'), H, (\epsilon), \epsilon'$	2,3	297,0	211-230°	H	2,3
68-69	Be-Mek-(1:2)	46,8	H, $\epsilon, \epsilon'$	2,3				
70-81	Be-Mek-(1:2)	365,8	H, $\epsilon, \epsilon'$	2,3				
82-109	Be-Mek-(1:2)	221,3	$(\epsilon), \epsilon'$	2,3				
110-113	Be-Mek-(1:2)	14,2	$\epsilon'$	3				
114-121	Be-Mek-(1:4)	41,9	$\epsilon'$	3				
122-134	Be-Mek-(1:4)	87,3	$\zeta$	3				
135-137	Be-Mek-(1:4)	59,4	$\zeta, J$	3				
138-154	Be-Mek-(1:4)	145,4	$\zeta, L, J$	3,5				
155-171	Be-Mek-(1:6)	164,0	$\zeta, L, J$	3,5				
172-174	Be-Mek-(1:6)	101,3	L, H'', J	3,5				
175-178	Be-Mek-(1:6)	162,8	(J), (L), H''	3,5	90,2	205-222°	H''	3,5
179-199	Be-Mek-(1:6)	242,1	H'', M, $\pi, \rho$	4,5				
200-207	Mek	51,8	H'', M, $\pi, \rho$	4,5				
Total		2556,9						

2,399 g mit 7 g gereinigtem Kieselgur auf die Säule gegeben und entsprechend Tabelle 13 chromatographiert. Laufgeschwindigkeit ca. 235 ml pro Std.; Fraktionen je 510 ml.

*Verteilungschromatographie III.* Eine frische Säule aus Cellulose (trocken 1,427 kg) wurde mit An-Chf-Pentanol wie früher bereitet. Nach Packung der Säule wurde eine mit W gesättigte Mischung aus 9,2% *n*-Pentanol, 69,7% An und 21% Chf durchfließen gelassen. Das abfließende Gemisch wurde erneut mit W gesättigt und wieder auf die Säule gebracht, bis insgesamt 500 ml W aufgenommen waren. Hierauf wurde wie bei der Verteilungschromatographie I verfahren und dann 7,027 g Gruppe III in 22 g Kieselgur aufgetragen. Die Trennung erfolgt wie aus Tabelle 14 ersichtlich.

Tabelle 14. *Verteilungschromatographie III von 7,027 g Gruppe III*

Fr. Nr.	Bewegliche Phase	Volumen ml	Eindampfrückstand							
			roh			Kristalle				
			Menge in mg	Flecke im Pchr.	System Nr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	System Nr.	
1-10	Be-Mek-(1:2)	3000	32,1	KEDDE-						
11-19	Be-Mek-(1:2)	4200	102,4	$\alpha, \alpha', \beta', (\gamma), (\delta)$	2					
20-25	Be-Mek-(1:2)	3300	24,6	$(\alpha), (\alpha'), \gamma$	2					
26-28	Be-Mek-(1:2)	2400	42,3	$\gamma, \delta, (H)$	2					
29-33	Be-Mek-(1:2)	1800	107,9	$(\gamma), \delta, \delta', H$	2	36,2	240-247°	$(\gamma), \delta', H$	2	
34-36	Be-Mek-(1:2)	1650	189,2	$\delta', (H), \epsilon, \zeta, J'$	2,3	59,1	238-249°	$\delta', H$	2	
37-40	Be-Mek-(1:2)	2200	354,9	$\epsilon, \zeta, J', K, L$	3,5	67,2	226-232°	$K, J', \epsilon, \zeta$	3,5	
41-52	Be-Mek-(1:2)	6600	1273,9	$J, J', K', K, L$	3,5					
53-56	Be-Mek-(1:2)	2200	220,1	$K', J, L$	3,5	61,8	180-193°	$K', L$	3,5	
57-61	Be-Mek-(1:2)	2750	129,7	$K', J, L$	3,5					
62-66	Be-Mek-(1:2)	3300	52,5	$J, L$	3,5					
67-75	Be-Mek-(1:4)	8800	146,8	$J, L$	3,5	186,1	191-204°			
76-85	Be-Mek-(1:6)	5500	167,6	$J, L$	3,5		238-247°	$J$	3,5	
86-92	Mek	3850	35,2	$J, L$	3,5					
93-96	Mek-Bu-(4:1)	2200	65,4	$J, L$	3,5					
97-101	Mek-Bu-(4:1)	2750	3461,8	Für Verteilungschromatogr. IV verwendet						
Total			6406,4							

*Verteilungschromatographie IV.* Hierfür wurden 1,7 kg gereinigtes Kieselgur mit 1,7 l W homogenisiert in Be-Mek-(1:3) suspendiert und in die Säule eingefüllt. Die Substanz, 3,822 g der Gruppe IV, 2,529 g der Gruppe V, sowie 2,649 g der Fr. Nr. 97-101 (siehe Tab. 14), zusammen 9,0 g, wurde mit 15 g Kieselgur vermischt, auf die Säule aufgetragen und entsprechend Tab. 15 chromatographiert.

5. *Beschreibung der isolierten kristallinen Substanzen.* Farbreaktionen nach JENSEN und PESEZ vgl. Tabelle 6, Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  vgl. Tabelle 7, Laufstrecke im Pchr. vgl. Fig. 1-12. Nachweis der Zucker vgl. Tabelle 6; UV.-Spektren vgl. Fig. 13 und 14, IR.-Spektren vgl. Fig. 15 und 16. Hydrolytische Spaltung nach MANNICH oder Zuckerabspaltung mit Pilzamyrase<sup>85</sup>) vgl. Fig. 17-20 und 22-24.

*Substanz  $\beta$ .* Die 201,7 mg Kristalle aus Fr. 26-30 von Verteilung I (Tab. 12) gaben aus Me-Ae 181,9 mg farblose Säulen, Smp. 181-189°, 201-211°,  $[\alpha]_D^{25} = -6,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,96$  in Me). Trocknung zur Analyse 20 Std. über  $P_2O_5$  bei 0,01 Torr und 110° (Schweinchen) gab 3,44% Gewichtsverlust.  $C_{29}H_{40}O_9 + H_2O$  (550,63) Ber.  $H_2O$  3,27%.

$C_{29}H_{40}O_9$  (532,61) Ber. C 65,39 H 7,57% Gef. C 65,60 H 7,83%

Die Substanz war methoxylfrei. Laufstrecke im System Mek-To-(4:1)/W gleich wie Malayosid<sup>61</sup>).

Substanz  $\gamma$ . Die 25,3 mg Kristalle aus Fr. 31–38 von Verteilung II (Tab. 13) gaben aus Me-Ac 7,1 mg kleine farblose Prismen, Smp. 263–270°,  $[\alpha]_D^{26} = -18,9^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,68$  in Me). Trocknung zur Analyse 36 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab keinen Gewichtsverlust.

$C_{29}H_{44}O_9$  (536,64) Ber. C 64,90 H 8,26% Gef. C 63,58 H 8,58%

Tabelle 15. Verteilungschromatographie IV von 9,0 g Material

Fr. Nr.	Bewegliche Phase	Volumen ml	Eindampfrückstand						
			roh			Kristalle			
			Menge in mg	Flecke im Pchr.	System Nr.	Menge in mg	Smp.	Flecke im Pchr.	System Nr.
1–8	Be-Mek-(1:3)	4140	320,5	$\alpha, \alpha'$	2				
9–14	Be-Mek-(1:3)	2760	190,7	$\alpha, \alpha', \gamma, \delta$	2				
15–23	Be-Mek-(1:3)	3910	138,9	$\alpha, \alpha', \gamma, \delta, \delta', H$	2				
24–26	Be-Mek-(1:3)	1380	45,1	H, ( $\epsilon$ ), $\zeta$	2,3				
27–35	Be-Mek-(1:5)	4310	296,2	$\epsilon, \zeta, (J')$	2,3				
36–38	Be-Mek-(1:5)	990	124,1	$J'$	3,5				
39–41	Be-Mek-(1:5)	990	134,7	$J', K$	3,5				
42–52	Be-Mek-(1:5)	3300	507,3	$J', K, (J)$	3,5				
53–59	Be-Mek-(1:5)	2310	513,6	K, (J)	3,5	28,8	179–187°	K	3,5
60–61	Be-Mek-(1:5)	660	143,6	K, J	3,5				
62–64	Be-Mek-(1:5)	990	165,3	K, J	3,5	46,2	189–195°	K, J	3,5
65–69	Be-Mek-(1:5)	1650	334,4	(K), (L), J, $\xi$	4,5	368,8	192–200°/ 237–243°	J	4,5
70–73	Be-Mek-(1:5)	1320	307,9	J, (L), ( $\xi$ )	4,5				
74–77	Be-Mek-(1:5)	990	317,7	J, L, $\xi$	4,5	141,7	192–201°	J	4,5
78–87	Be-Mek-(1:5)	3520	522,5	J, L, H'', $\xi$	4,5				
88–91	Be-Mek-(1:5)	1640	153,7	(H''), $\xi, \pi, \rho$	4,5				
92–95	Be-Mek-(1:5)	1480	123,6	$\xi, \pi, \rho$	4,5				
96–99	Be-Mek-(1:5)	1480	150,9	$\xi, \pi, \rho, (M)$	4,5				
100–130	Be-Mek-(1:5)	15630	911,4	$\xi, \pi, \rho, M$	4,5				
131–140	Be-Mek-Bu-(1:5:3)	9775	2967,2	$\xi, \pi, \rho, M, P, N, \sigma, \tau, \varphi, \omega$	4, 5, 7				
Total			8369,3						

Substanz  $\delta'$ . Die 25 mg Kristalle aus Fr. 49–54 von Verteilung II (Tab. 13) gaben aus Me-Ac 16,8 mg farblose viereckige Prismen, Smp. 255–267°,  $[\alpha]_D^{26} = -53,3^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,68$  in Di). Trocknung zur Analyse 36 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab 4,86% Gewichtsverlust.  $C_{29}H_{42}O_{10} + 1\frac{1}{2}H_2O$  (577,64) Ber.  $H_2O$  4,67%.

$C_{29}H_{42}O_{10}$  (550,63) Ber. C 63,25 H 7,69% Gef. C 63,68 H 8,16%

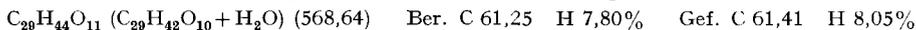
Substanz H (Substanz A von DOLDER = Convallatoxin). Die 579 mg Kristalle aus Fr. 38–48 von Verteilung I (Tab. 12) gaben aus Me-Ac 401 mg farblose Säulen, Smp. 235–242°;  $[\alpha]_D^{22} = -1,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,65$  in Me),  $[\alpha]_D^{25} = -9,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,72$  in Di). Nach Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen und Pchr identisch mit DOLDERS Substanz A<sup>4</sup>).

Substanz  $\epsilon^{52}$ . Die 160 mg Kristalle aus Fr. 55–60 von Verteilung I (Tab. 12) waren gelblich gefärbt. Sie wurden an Silicagel chromatographiert, und die mit Chf-Me-Gemischen von 6–12% Me-Gehalt eluierten Anteile, zusammen 133,6 mg, gaben nach mehrmaliger Umkristallisation aus Me-W 49,4 mg gelbliche Prismen, Smp. 190–195°,  $[\alpha]_D^{26} = -27,3^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,87$  in Me). Trocknung zur Analyse 16 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab 3,75% Gewichtsverlust.  $C_{29}H_{44}O_{10} + H_2O$  (570,65) Ber.  $H_2O$  3,15%.

$C_{29}H_{44}O_{10}$  (552,64) Ber. C 63,02 H 8,03% Gef. C 62,20 H 8,21%  
 $C_{29}H_{42}O_{10}$  (550,63) Ber. C 63,25 H 7,69%

*Zuckerabspaltung mit Pilzamyrase*<sup>35</sup>). 4,7 mg Substanz  $\epsilon$ , Smp. 190–195°, wurden in 1 ml W mit 10 mg Pilzamyrase versetzt, ein paar Tropfen Toluol zugegeben und 5 Tage bei 37° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung und Prüfung von Chf-Extrakt im Pchr (System Be-Chf-(7:5)/Fmd) gab einen Fleck mit demselben Rf-Wert wie Xysmalogenin (vgl. Fig. 17). Als Zucker wurde Glucose papierchromatographisch nachgewiesen.

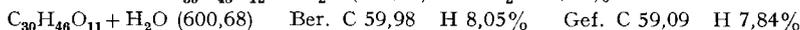
*Substanz  $\zeta$* <sup>52</sup>). Die 49,0 mg Kristalle aus Fr. 63–66 von Verteilung I (Tab. 12) gaben nach zweimaliger Umkristallisation aus Me-Ae 10,1 mg farblose Nadeln, Smp. 257–261°,  $[\alpha]_D^{25} = -22,8^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,78$  in Di). Trocknung zur Analyse 6 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab 5,33% Gewichtsverlust.  $C_{29}H_{44}O_{11} + 2H_2O$  (604,67) Ber.  $H_2O$  5,95%.



Die Substanz war schwerlöslich in Me und An.

*Zuckerabspaltung mit Pilzamyrase*. 5 mg (Kristalle zweiter Qualität) wurden analog wie für Subst.  $\epsilon$  mit Pilzamyrase behandelt. Prüfung des Chf-Extraktes im Pchr (Nr. 31 in Fig. 17) im System Be-Chf-(7:5)/Fmd gab nur einen Fleck mit Rf-Wert ähnlich wie Periplogenin. Im Pchr System Mek-To-(4:1)/W wanderte Substanz  $\zeta$  ein wenig schneller als synthetisch hergestelltes Periplogenin- $\beta$ -D-glucosid<sup>31</sup>). Letzteres gab eine völlig andere Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  (vgl. theor. Teil).

*Substanz J'*. Die Fr. 36–38 von Verteilung IV (vgl. Tab. 15) wurden an  $Al_2O_3$  gereinigt, gaben aber keine Kristalle. Die folgenden Fr. 39–41 und 42–52 wurden vereinigt und 604 mg davon auf 18 g  $Al_2O_3$  WOELM chromatographiert. Die mit 2% Me in Chf eluierten Anteile (Fr. 1–6, zusammen 72,5 mg) gaben aus An-Ae 18,2 mg reines J' in Kristallen, Smp. 180–192°. Die Fr. 7–19, zusammen 245 mg, gaben aus An-Ae 141 mg Kristalle, Smp. 175–185°. Pchr (System Mek-To-(4:1)/W) zeigte ein Mischkristallisat von K und J'. Die einheitlichen Kristalle von Substanz J' wurden aus An-W umkristallisiert und gaben 7,1 mg farblose Nadeln, Smp. 180–187°,  $[\alpha]_D^{25} = -27,7^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,55$  in Me). Trocknung zur Analyse 6 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab 9,73% Gewichtsverlust.  $C_{30}H_{48}O_{12} + 4H_2O$  (672,74) Ber.  $H_2O$  10,71%.



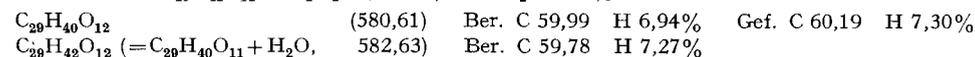
Die Substanz war leicht löslich in Me, schwer in An. Zuckerbestimmung von Substanz J' im System Bu/W und Mek-Bu-(1:1)/Boratpuffer<sup>45</sup>) gab einen Fleck mit demselben Rf-Wert wie L-Acofriose.

*Substanz K*. Die 28,8 mg Kristalle aus Fr. 53–59 von Verteilung IV (Tab. 15) wurden aus W umkristallisiert und gaben 25,8 mg farblose Blättchen, Smp. 180–184°,  $[\alpha]_D^{25} = +19,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,69$  in Me). Trocknung zur Analyse 48 Std. bei 0,01 Torr und 65° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab 8,08% Gewichtsverlust.  $C_{30}H_{46}O_{11} + 3H_2O$  (636,71) Ber.  $H_2O$  8,48%.

$C_{30}H_{46}O_{11}$  (582,67) Ber. C 61,84 H 7,96  $OCH_3$  5,32% Gef. C 61,58 H 7,71  $OCH_3$  5,42%  
Die Substanz war leicht löslich in Me, schwer in An. Zuckerbestimmung von Substanz K im System Bu/W und Mek-Bu-(1:1)/Boratpuffer<sup>45</sup>) gab L-Acofriose.

*Substanz J* (= Antiosid). 79,6 mg aus Verteilung III Fr. 62–96 gaben aus An-Ae 51,2 mg farblose Nadeln, Smp. 195–204°/238–244°,  $[\alpha]_D^{25} = -4,6^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,72$  in Me). Nach Mischprobe, Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$ , Drehung und Pchr identisch mit authentischem Material. Eine Probe (25 mg) wurde nach Vorschrift acetyliert. Das neutrale Rohprodukt (30,0 mg) gab aus An-Ae 14,5 mg farblose Nadeln, Smp. 235–237°,  $[\alpha]_D^{25} = +4,0^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,77$  in Chf). Nach Mischprobe, Drehung, Farbreaktionen und Pchr identisch mit authentischem Material<sup>44</sup>).

*Substanz H''*. Die 90,2 mg Kristalle aus Fr. 175–178 der Verteilung II (Tab. 13) gaben aus Me-Ae 60,7 mg farblose kleine Prismen, Smp. 203–207°,  $[\alpha]_D^{25} = +13,9^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,78$  in Di). Trocknung zur Analyse 13 Std. bei 0,01 Torr und 100° über  $P_2O_5$  (Schweinchen) gab 4,59% Gewichtsverlust.  $C_{29}H_{42}O_{12} + 1\frac{1}{2}H_2O$  (609,64) Ber.  $H_2O$  4,43%.



Die Substanz war schwer löslich in Me und An.

*Substanz M* (=  $\beta$ -Antiarin). Die 2,751 g Kristalle (gewonnen aus den rohen Kristallen der Chf-Alk-(2:1)-Extrakte A und B Tab. 1) gaben aus Me mit wenig Ae farblose Platten, Smp. 234–

<sup>52</sup>) Die Substanzen  $\epsilon$ ,  $\zeta$  und  $H''$  enthalten als Zucker Glucose und lassen sich nur schwer vollständig trocknen.

239°,  $[\alpha]_D^{25} = +6,1^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,71$  in Me-W-(1:1)). Nach Mischprobe, Drehung, Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  und Pchr identisch mit authentischem Material<sup>4</sup>).

6. *Teilsynthese von Periplogenin- $\alpha$ -L-rhamnosid-〈1,5〉* (= Subst.  $\gamma'$ ). 56,7 mg von Substanz H, Smp. 227–232°, wurden mit 1,1 ml Propandithiol-(1,3) und 27,5 ml einer Lösung von 0,5 Gewichtsproz. trockenem Chlorwasserstoff in Me versetzt und 2 Tage stehengelassen (vgl. Angaben bei Reduktion von  $\beta$ -Antiarin<sup>18</sup>). Die Aufarbeitung gab 73,8 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt. Das Rohprodukt wurde in 3 ml Di gelöst und eine Suspension von ca. 2,8 g RANEY-Nickel in Di zugegeben. Papierchromatographische Kontrolle nach 1 Std. zeigte im System Mek-To-(4:1)/W neben den zwei schnell laufenden Schwefelverbindungen (Schwarzfärbung mit  $HgCl_2$  in Me, schwächerer Fleck Rf-Wert = 0,83, stärkerer Fleck Rf-Wert = 0,65) noch einen langsamer laufenden Fleck mit Rf-Wert gleich wie Substanz  $\gamma$  (vgl. Fig. 21). Übliche Aufarbeitung nach 3 Std. gab 54 mg Chf-Alk-(2:1)-Extrakt, der an 1,5 g Kieselgel MERCK chromatographiert wurde. Die mit Chf-Me-(95:5) eluierbaren Anteile (31,4 mg) gaben aus Me-Ae 23,4 mg Kristalle, Smp. 157–168°/220–230°. Umkristallisation aus Me-Ae gab 9,8 mg farblose Körner, Smp. 169–174°/220–227°,  $[\alpha]_D^{25} = -19,4^\circ$  ( $c = 0,66$  in Me); Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$ , vgl. Tabelle 7.

*Acetylierung*. 14,5 mg von  $\gamma'$  gab nach Acetylierung und üblicher Aufarbeitung 16,2 mg Rohprodukt. Durch Kristallisation aus An-Pe wurden 13,2 mg farblose Prismen erhalten, Smp. 230–234°. Umkristallisation aus An-Pe gab 10,1 mg Kristalle, Smp. 229–237°,  $[\alpha]_D^{25} = -21,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,74$  in Chf).

*MANNICH-Spaltung im Mikromaßstab*. 2,3 mg von Substanz  $\gamma'$  wurden in 0,5 ml An, das mit 1% konz. HCl versetzt war, gelöst. Pchr nach 2 Tagen im System Be-Chf-(7:5)/Fmd und To-Mek-(1:1)/W zeigte, neben Ausgangsmaterial und rasch wandernden Anhydroprodukten, einen Fleck mit demselben Rf-Wert wie Periplogenin (vgl. Nr. 33 in Fig. 18).

Die Elementaranalysen wurden von Herrn E. THOMMEN im Mikrolaboratorium des Institutes ausgeführt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Bei einer erneuten Analyse des Milchsafte von *Antiaris toxicaria* LESCH (*Moraceae*) aus Bogor wurden 29 KEDDE-positive Substanzen papierchromatographisch nachgewiesen. Davon liessen sich 11 Stoffe ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta'$ , H,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ , J', K, J, H'' und M) in Kristallen, ein weiterer ( $\epsilon'$ ) in amorpher, aber papierchromatographisch reiner Form isolieren. Die Substanzen  $\gamma$ , H, J und M waren identisch mit Digoxigenin- $\alpha$ -L-rhamnosid, Convallatoxin (= Subst. A von DOLDER), Antiosid und  $\beta$ -Antiarin. Bei K könnte es sich um ein Antiarigenin- $\alpha$ -L-acofriosid handeln. Die anderen krist. Stoffe stellten vermutlich unbekannte Cardenolide dar. Alle isolierten Stoffe erwiesen sich als Monoglykoside und enthielten als Zucker L-Rhamnose, D-Glucose oder L-Acofriose. Die Zuckerkomponente in J' konnte nicht sicher identifiziert werden. Die Teilsynthese von Periplogenin- $\alpha$ -L-rhamnosid-〈1,5〉 wurde beschrieben; dieses Glykosid konnte im untersuchten Milchsafte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel