

100. Beitrag zur Kenntnis des α -Antiarins.Glykoside und Aglykone, 32. Mitteilung¹⁾

von K. Doebel, E. Schlittler und T. Reichstein.

(11. II. 48.)

Der Milchsafte von *Antiaris toxicaria* Lesch (Moraceae), einem hauptsächlich auf dem malayischen Archipel²⁾ wachsenden Baum, wird von den dortigen Eingeborenen u. a. zur Pfeilgiftbereitung verwendet. Über seine Giftigkeit finden sich in der Literatur zahlreiche, teilweise recht phantastische Angaben³⁾. Das Pfeilgift wurde unter dem Namen „Upas antiar“, „Ipoe siren“ oder „Ipoe badjakah“ bekannt und ist schon sehr früh chemisch untersucht worden⁴⁾. Seine Wirksamkeit verdankt es vor allem dem Gehalt an Herzgiften.

Aus einer mit Alkohol konservierten Milchsafprobe isolierte *Mulder*⁵⁾ als erster ein herzwirksames Prinzip in kryst. Form (3,5% des Trockenrückstandes) und nannte es „Antiarin“. *De Vry* u. *Ludwig*⁶⁾ wiederholten die Isolierung aus Milchsafte, gaben richtige Analysen und zeigten, dass Antiarin ein Glykosid ist. *Seligmann*⁷⁾ isolierte kryst. „Antiarin“ aus „Ipoh“, gab gute Analysen, fand aber kleine Unterschiede im Vergleich zu den Angaben *Mulders* und vermutete, dass sein Antiarin nicht mit dem von *Mulder* identisch sei⁸⁾. Sehr eingehend ist der Milchsafte von *Kiliani*^{a)}b)c)d)9) untersucht worden; weitere Arbeiten über die Antiarine stammen besonders von *Tschesche* u. *Haupt*^{e)}. Neben 3,4,5-Trimethoxy-phenol („Antiarol“^{a)}), sowie dem schon von *de Vry* u. *Ludwig* beobachteten kryst. Antiarisharz^{a)}¹⁰⁾ und einem „kryst. Eiweisstoff“, erhielt *Kiliani* zwei isomere^{c)} Glykoside, die er α -Antiarin und β -Antiarin nannte^{b)}. Da beide keine merkbare spez. Drehung besitzen und nur geringe Unterschiede im Smp. zeigen, bildet die Krystallform und der Krystallwassergehalt nach *Kiliani* das beste Unterscheidungsmerkmal. Manche Milchsafteproben gaben nur eines der beiden Isomeren. Ein weiteres über die Gerbsäureverbindung isoliertes amorphes Produkt nannte er γ -Antiarin. Nach *Tschesche* u. *Haupt*^{e)}, denen *Kiliani* einige Gramm β -Antiarin und wenig α -Antiarin überliess, besitzen die Antiarine die Bruttoformel $C_{28}H_{42}O_{11}$. Nach *Kiliani* liefern beide Antiarine bei der sauren Hydrolyse dasselbe „Antiarigenin“, das nach *Tschesche* u. *Haupt*^{e)} als Dianhydro-antiarigenin zu bezeichnen ist und die Formel $C_{23}H_{28}O_5$ besitzt. Es zeigte im Ultraviolett zwischen 230 und 280 m μ keine selektive Absorption, nahm bei der Hydrierung 4 Mol Wasserstoff auf und gab bei der Benzoylierung ein kryst. Monobenzoat^{e)}. *Kiliani* nahm

¹⁾ 31. Mitteilung, vgl. *P. Speiser, T. Reichstein, Helv. 31, 622 (1948)*.

²⁾ Nach *L. Santesson, Skand. Arch. f. Physiol. 70, 111 (1930)* ist er in Celebes häufig, in Java dagegen fast ganz ausgerottet.

³⁾ Vgl. *L. Lewin, Gifte und Vergiftungen (4. Aufl., Berlin 1929), S. 777*, sowie *L. Lewin, Die Gifte in der Weltgeschichte (Springer, Berlin 1920), S. 552*.

⁴⁾ Die frühe Literatur ist von *Mulder*⁵⁾ zitiert.

⁵⁾ *G. J. Mulder, J. pr. 15, 419 (1838), A. 28, 304 (1838)* referiert nach Bl. des Sciences phys. et natur. de Néerlande 1838, 49.

⁶⁾ *J. E. de Vry, E. Ludwig, J. pr. 103, 253 (1868)*, ref. nach Sitzungsber. d. Wiener Akad. LVII, 1868.

⁷⁾ *C. S. Seligmann, J. of Physiol. 29, 39 (1903)*.

⁸⁾ Möglicherweise lag vorzugsweise β -Antiarin vor; seine Krystalle waren Nadeln oder flache Platten.

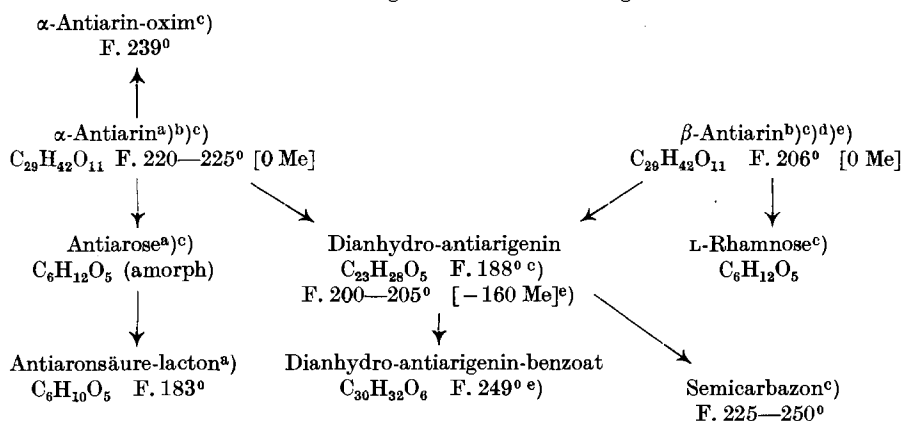
⁹⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

¹⁰⁾ Nach *A. Windaus und A. Welsch, Arch. Pharm. 246, 504 (1908)* handelt es sich um α -Amyrin-zimtsäure-ester.

daher an, dass sich die beiden kryst. Antiarine nur im Zuckeranteil voneinander unterscheiden. Bei der sauren Hydrolyse des β -Antiarins konnte er kryst. L-Rhamnose isolieren. Aus α -Antiarin erhielt er einen isomeren, aber syrupösen Zucker, den er „Antiarose“ nannte. Er lieferte bei der Oxydation mit Bromwasser ein gut kryst. Lacton $C_6H_{10}O_5$, aus dem sich weitere kryst. Derivate erhalten liessen. Die Antiarine besitzen nach *Kilian*^{c)} eine Oxogruppe, da er aus α -Antiarin ein kryst. Oxim und aus dem Dianhydro-antiarigenin ein Semicarbazon erhalten konnte. Da β -Antiarin eine positive *Legal*-Reaktion gibt^{1)e)} und bei der Hydrierung mit PtO_2 in Eisessig 2 Mol Wasserstoff aufnimmt^{e)}, so nehmen *Tschesche* u. *Haupt*^{e)} an, dass es ausser der Oxogruppe nur eine Doppelbindung in einem ungesättigten Lactonring, ähnlich wie andere bekannte Herzgifte der Digitalis- und Strophantus-gruppe, besitzt.

Schon *Windaus*²⁾ sprach die Vermutung aus, dass die Antiarine zur Gruppe der steroiden Glykoside gehören, und nach *Tschesche* u. *Haupt* besteht die Möglichkeit, dass das damals noch unbekannte Aglykon der Antiarine sich von Strophanthidin lediglich durch den Mehrgehalt an einer tertiären (?) HO-Gruppe unterscheidet.

Die bisher bekannten Umsetzungen wären dann wie folgt zu formulieren:



Über die Giftigkeit der Antiarine für Frosch und Katze orientiert die folgende Tabelle, in der die Resultate von *Chen*³⁾⁴⁾⁵⁾ verwendet sind:

	Katze geometr. Mittel der letalen Dosis in mg/kg	Frosch Minimale syst. Dosis in mg/kg
Convallatoxin .	0,08 ± 0,002	0,21
β -Antiarin . .	0,10 ± 0,004	0,39
Ouabain . . .	0,12 ± 0,002	0,50
α -Antiarin . .	0,1164 ± 0,0043	0,50
Cymarin . . .	0,13 ± 0,003	0,60

1) W. A. Jacobs, H. Hoffmann, J. Biol. Chem. **74**, 788 (1927).

2) A. Windaus u. A. Welsch, Arch. Pharm. **246**, 504 (1908).

3) K. K. Chen, A. Ling Chen u. Robert C. Anderson, J. Amer. Pharmac. Ass. **25**, 579 (1936).

4) K. K. Chen, Robert C. Anderson u. E. Brown Robbins, J. Amer. Pharmac. Ass. **26**, 214 (1937).

5) K. K. Chen, Robert C. Anderson u. E. Brown Robbins, J. Amer. Pharmac. Ass. **27**, 113 (1938).

Durch die Freundlichkeit der *CIBA Aktiengesellschaft* kamen wir in den Besitz von 4 Proben „Ipoe“ (total 308,1 g). Aus einem dieser Präparate (48 g) liess sich kein Antiarin, hingegen reichlich Alkaloide, hauptsächlich Strychnin isolieren. Aus den anderen 3 Proben (total 260,1 g) konnte in Anlehnung an die Aufarbeitungsvorschrift von *Rosenthaler*¹⁾ total 6,48 g rohes, kryst. Antiarin in drei Fraktionen gewonnen werden, von denen die eine bei 224—226°, die zweite bei 216—224° (korr.) schmolz, während der Rest (0,621 g) ein unreineres Präparat aus Mutterlaugen darstellte. Für hier nicht erwähnte Versuche wurden 1,5 g der reinsten Fraktion verwendet, so dass für die folgenden Untersuchungen total 4,36 g Krystalle, sowie 0,621 g aus Mutterlaugen zur Verfügung standen.

Zur Vorreinigung wurde dieses Material in Wasser gelöst und die Lösung mit Chloroform, sowie mit Chloroform-Alkohol (9 : 1) ausgeschüttelt, wodurch sich eine kleine Menge eines Nebenproduktes abtrennen liess, das aus Methanol in Tetraedern vom Smp. 178—182° krystallisierte, aber nicht weiter untersucht wurde. Das Antiarin liess sich aus wässriger Lösung auch durch Ausschütteln mit Chloroform-Alkohol (2 : 1) nur sehr langsam entziehen, daher wurde auf diese Reinigungsmethode verzichtet und das durch sukzessives Einengen der wässrigen Phase abgeschiedene Material durch wiederholte Krystallisation aus Methanol u. Methanol-Wasser gereinigt. Schlechter schmelzende Mutterlaugen wurden aus Methanol-Äther oder Aceton-Äther vorgereinigt, dann wieder aus Methanol und zuletzt aus Methanol-Wasser krystallisiert. Dabei resultierten 127 mg einer Spitzenfraktion vom Smp. 242—242,5° (korr.) sowie 3,4 g vom Smp. 238—240° (korr.). Die verbliebenen Mutterlaugen (0,9 g), waren noch gut krystallisiert, schmolzen bei 220—235° und wurden zur Bereitung des Benzoates verwendet. Das so gewonnene, reine Glykosid krystallisierte aus Wasser in rautenförmigen, oder sechseckigen Blättchen, wie sie nach *Kiliani* für α -Antiarin charakteristisch sind. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{17} = -3,9^\circ \pm 2^\circ$ (c = 0,905 in Methanol). Das Glykosid gab eine positive (rote) Legalreaktion in Pyridin und seine alkoholische Lösung zeigte im Ultraviolett zwei Maxima (siehe Kurve)²⁾, eines bei ca. 305 m μ und log ϵ = ca. 1,8 und ein hohes bei 217 m μ und log ϵ = ca. 4,08. Das erste entspricht der Aldehydgruppe, das zweite einer α, β -ungesättigten Lactongruppe.

Nach *Kiliani* krystallisiert α -Antiarin aus Wasser als Tetrahydrat. Das Krystallwasser soll bei 105° sehr rasch und im Vakuum

¹⁾ *L. Rosenthaler*, Pharmaz. Zentralh. **66**, 21 (1925).

²⁾ Der langwellige Teil der Kurve (von 240 m μ an aufwärts) wurde im Mikroanalytischen Laboratorium der Eidgen. Techn. Hochschule, Zürich (Leitg. *W. Manser*) ausgemessen; den kurzwelligen Teil verdanken wir Herrn Prof. Dr. *H. Mohler*, Zürich; die Punkte dieses Teils sind durch Querstriche markiert.

über H_2SO_4 nach 24 Std. bereits bei Raumtemperatur vollständig abgegeben werden. Unser über CaCl_2 ohne Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknetes Präparat gab bei der ersten Analyse Werte, die gut auf ein Mono-hydrat passten, und das Krystallwasser wurde nach 3-stündigem Trocknen im Hochvakuum bei 100° vollständig abgegeben. Bei späteren Wiederholungen wurden nach 3-stündiger Trocknung aber fast immer zu tiefe Werte gefunden. Gut auf die Formel $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ stimmende Werte wurden erst nach ca. 15-stündiger Trocknung im Hochvakuum bei 100° oder nach 3 Std. bei 110° erhalten. Der Krystallwasserverlust schwankte dann zwischen 2 und 3 Mol. Da die Krystallform des Glykosids und vor allem die Eigenschaften des durch hydrolytische Spaltung erhaltenen Zuckers (siehe weiter unten) gut mit der Beschreibung *Kilianis* für α -Antiarin und Antiarose übereinstimmten, so dürfte unser Präparat mit *Kilianis* α -Antiarin (V) übereinstimmen. β -Antiarin, das nach *Kiliani* aus Wasser in Nadeln krystallisiert, konnten wir aus der verwendeten Droge nicht erhalten.

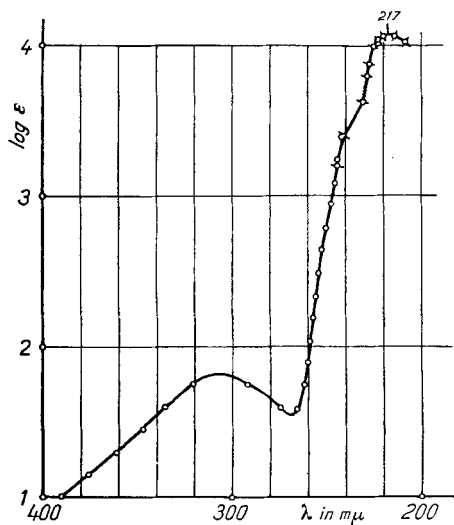


Fig. 1.
 α -Antiarin in Alkohol.

Um die Einheitlichkeit des Glykosids zu kontrollieren, wurden Derivate bereitet. Das Acetat VI konnte bisher nur in amorpher Form erhalten werden. Hingegen krystallisierte das Benzoat VII gut. Es wurde in zwei Modifikationen vom Smp. $239\text{--}241^\circ$ (aus Aceton-Äther) bzw. $198\text{--}200^\circ$ (aus Methanol) erhalten, die beide dieselbe spez. Drehung $[\alpha]_D^{24} = +2,4^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,511$ in Aceton) zeigten. Durch Animpfen liess sich die tiefer schmelzende Modifikation auch in die höher schmelzende umwandeln. Ein anderes Benzoat konnte

nicht aufgefunden werden. Die Analyse stimmte ungefähr auf ein Tribenzoat $C_{50}H_{54}O_{14}$; es sind somit wahrscheinlich nur die 3 HO-Gruppen des Zuckeranteils verestert. Dies stimmt mit der Beobachtung von *Tschesche* und *Haupt*¹⁾ überein, wonach Dianhydroantiarigenin nur ein Monobenzoat liefert; die in Formel V in unbestimmter Lage durch die Klammer angedeutete HO-Gruppe ist unter den angewandten Bedingungen also wahrscheinlich nicht benzoylierbar¹⁾. Wie erwähnt, haben *Tschesche* u. *Haupt* auf die Möglichkeit hingewiesen, dass Antiarigenin sich von Strophanthidin lediglich durch diese zusätzliche HO-Gruppe unterscheidet. Es schien nun, dass sich dies durch einen Oxydationsversuch abklären lassen sollte. Ester des Strophanthidins und der Strophanthidinglykoside werden von CrO_3 in Eisessig leicht in Carbonsäuren übergeführt²⁾³⁾⁴⁾. Falls α -Antiarin die angenommene Konstitution besitzt, so wäre die Bildung einer Carbonsäure zu erwarten; wenn jedoch die nachgewiesene Carbonylgruppe als Ketogruppe vorliegt, so wäre bei der Einwirkung von CrO_3 die Bildung eines um 2 H-Atome ärmeren Diketons möglich, falls die an der Klammer in unbestimmter Stellung sitzende HO-Gruppe sekundäre Natur besitzt. Bei der Behandlung von α -Antiarinbenzoat mit CrO_3 in Eisessig bei 18° entstanden nur spurenweise saure Produkte. Die Hauptmenge war ein schlecht krystallisierender Neutralstoff vom Smp. 206°. Die Analysenwerte lassen sich am besten mit einer Formel $C_{50}H_{52}O_{14}$ in Einklang bringen, obwohl die erhaltenen C-Werte merklich zu tief sind. Falls die Formel richtig ist, so würde dies bedeuten, dass der Neutralstoff aus dem α -Antiarinbenzoat tatsächlich unter Verlust von nur 2 H-Atomen entstanden ist. Das Resultat steht also mit der zweiten Annahme in Einklang und würde auf den ersten Blick gegen das Vorhandensein einer Aldehydgruppe sprechen und vermuten lassen, dass lediglich die HO-Gruppe in unbestimmter Lage zu einer Ketogruppe dehydriert worden ist. Uns scheint jedoch, dass das Ergebnis auch beim Vorliegen einer Aldehydgruppe leicht erklärlich wird, wenn man annimmt, dass die HO-Gruppe in unbestimmter Lage sich in γ - oder δ -Stellung von der Aldehydgruppe befindet. Der mit CrO_3 erhaltene Neutralstoff wäre dann ein Lacton I. Seine glatte Bildung würde dafür sprechen, dass die Aldehydgruppe in α -Antiarin vorwiegend nicht frei (A), sondern in cyclischer Lactol-form (B) vorliegt. Form B

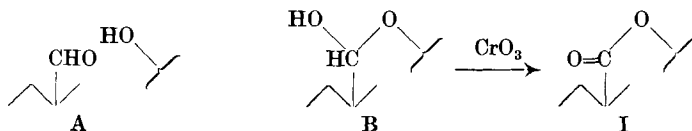
1) Eine Analyse gab jedoch einen merklich höheren C-Wert. Es ist ausserdem zu beachten, dass Antiarin in seinem Bau grosse Ähnlichkeit mit Cymarin, Convallatoxin und anderen Strophantus-glykosiden zeigt. Die Ester dieser Glykoside liefern oft zu tiefe C-Werte. Es ist daher nicht ausgeschlossen, dass beim α -Antiarinbenzoat ein Tetra-benzoat vorliegt.

2) W. Blome u. T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **22**, 235 (1947).

3) A. Katz, Pharm. acta Helv. **22**, 244 (1947).

4) H. Koechlin, T. Reichstein, Helv. **30**, 1673 (1947).

sollte fast nur Lacton, Form A daneben wahrscheinlich reichlich Keto-carbonsäure liefern.



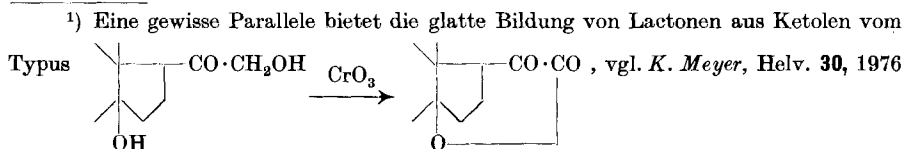
Die Beteiligung einer tertiären HO-Gruppe an C-5 oder C-14 bei einer Lactonbildung¹⁾ ist unwahrscheinlich, da die Oxydation von Strophanthidin-estern mit CrO_3 wie erwähnt vorwiegend Carbon-säuren liefert. Ein analoger Oxydationsversuch mit dem amorphen α -Antiarinacetat lieferte hauptsächlich saure Produkte, die aber nicht krystallisierten.

Ferner wurde die bereits von *Kiliani* beschriebene Bereitung des α -Antiarin-oxims wiederholt. Nach einiger Mühe konnte der Stoff aus Wasser, dann aus Methanol krystallisiert werden und schmolz dann bei 274° (Zers.). Auch seine Analyse gab etwas zu tiefe C-Werte.

Von Interesse ist ferner, dass es gelang, die vermutete Aldehyd-gruppe im α -Antiarin unter den von *Rabald* u. *Kraus*²⁾ für Strophanthidin angewandten Bedingungen mit Al-amalgam zu reduzieren; denn *Kiliani*⁴⁾ schreibt, dass er beim α -Antiarin mit diesem Reduk-tionsmittel keine Einwirkung erzielt hat. Den entstandenen Stoff nennen wir al-Dihydro- α -antiarin (VIII) da der einfachere Name „Antiarol“ von *Kiliani*⁵⁾ bereits für eine andere Verbindung ver-wendet wurde. Das al-Dihydro- α -antiarin wurde in farblosen Kry-stallen vom Smp. 211° erhalten; es zeigte im Ultraviolett noch selektive Absorption mit einem Maximum bei $217 \text{ m}\mu$ (siehe Kurve), besass also noch die intakte, ungesättigte Lactongruppierung, gab dementsprechend positive *Legal*-Reaktion und erwies sich als bio-logisch stark wirksam.

Herr Dr. K. K. *Chen* (Indianapolis) hatte die Freundlichkeit, das Präparat an der Katze zu prüfen und fand an 10 Tieren als geometrisches Mittel der letalen Dosis 0,1199 0,0062 mg/kg, innerhalb der Fehlergrenze also denselben Wert wie für α -Antiarin.

Bei der Benzoylierung lieferte das al-Dihydro- α -antiarin ein kryst. Benzoat, dessen Analyse gut auf ein Tetrabenzoat IX passte. Das al-Dihydro- α -antiarinbenzoat (IX) war ein gutes Objekt, um die Natur der in unbestimmter Lage befindlichen HO-Gruppe zu



(1947); P. Speiser, T. Reichstein, Helv. 31, 622 (1948).

²⁾ E. Rabald, J. Kraus, Z. physiol. Ch. 265, 39 (1940).

prüfen, da die ursprüngliche Carbonyl-(Aldehyd?)-gruppe des α -Antiarins hier keine Komplikationen mehr verursachen kann. Falls diese HO-Gruppe tertiäre Natur besitzt, so sollte das Tetrabenzoat von CrO_3 unter milden Bedingungen nicht verändert werden. Ist sie sekundär und isoliert, so sollte ein um 2 H-Atome ärmerer Neutralstoff (ein Keton) entstehen. Ist sie primär oder auch sekundär und einer anderen freien, sekundären HO-Gruppe benachbart, so sollte eine Carbonsäure auftreten. Die Behandlung von IX mit CrO_3 in Eisessig lieferte unter Verbrauch von ca. 1 Mol CrO_3 einen Neutralstoff vom Smp. $235\text{--}238^\circ$. Seine Analyse passte am besten auf die Formel $\text{C}_{57}\text{H}_{58}\text{O}_{15}$. Dieses Resultat spricht sehr dafür, dass die in unbestimmter Lage befindliche, nicht benzozylierbare HO-Gruppe sekundär gebunden ist.

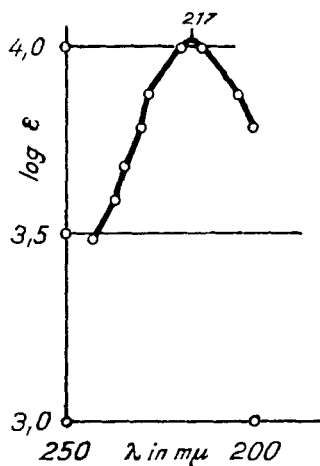


Fig. 2.

α -Dihydro- α -Antiarin in Alkohol.

Schliesslich wurde α -Antiarin auch noch der hydrolytischen Spaltung mit HCl in Aceton nach der Methode von *Mannich* u. *Siewert*¹⁾ unterworfen. Es ist dies die bisher einzige Methode, mit der es in anderen Fällen gelang, auch aus schwer hydrolysierbaren Glykosiden des Strophantustyps die intakten Aglykone zu erhalten²⁾. Beim α -Antiarin verlief die Spaltung relativ leicht, doch liess sich aus dem rohen Geninanteil nur ein kleiner Teil in Krystallen vom Smp. ca. 242° erhalten. Der Stoff gab keine Färbung mit Tetranitromethan und seine Analyse stimmte annähernd auf die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_7$. Er lieferte ferner ein Monobenzoat $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_8$ vom Smp. 305° .

¹⁾ *C. Mannich* u. *G. Siewert*, B. **75**, 737 (1942).

²⁾ Vgl. z. B. *T. Reichstein* u. *A. Katz*, Pharm. acta Helv. **18**, 521 (1943); ferner *A. Katz* u. *T. Reichstein*, Helv. **28**, 476 (1943).

In den genannten Krystallen dürfte somit wahrscheinlich das gesuchte Antiarigenin (XI) vorgelegen haben. Die reichlichen, amorphen Mutterlaugen des kryst. Genins wurden ebenfalls benzoyleiert, doch konnte hier erst nach Chromatographie eine kleine Menge eines anderen kryst. Benzoats XIV isoliert werden, das zuerst bei 227° , nach sehr oftmaligem Umkrystallisieren aber bei 265° schmolz und dessen Analyse am besten auf ein Monoanhydro- α -antiarin-tribenzoat passte. (Die Unterschiede der für ein Genindibenzoat $C_{37}H_{40}O_9$ sowie für ein Geninbenzoat $C_{30}H_{36}O_8$ berechneten C-Werte betragen aber nur ca. 1 %.)

Genau aufklären liess sich der bei der *Mannich*-Spaltung gewonnene Zuckeranteil. Er wurde durch nochmalige Hydrolyse mit heisser, wässriger H_2SO_4 vorgereinigt, worauf ein stark reduzierender Sirup resultierte, der die spez. Drehung $[\alpha]_D^{17} = -11,6^{\circ}$ (in Wasser) zeigte. Die *Keller-Kiliani*-Reaktion war negativ. Die Oxydation mit Bromwasser lieferte ein ausgezeichnet krystallisierendes Lacton, das sich im Hochvakuum unzersetzt sublimieren liess und in Übereinstimmung mit den Angaben *Kilianis* für Antiaronsäurelacton den Smp. 183° zeigte und die Zusammensetzung $C_8H_{10}O_5$ besass. Es erwies sich als methoxylfrei und zeigte die spez. Drehung $[\alpha]_D^{13} = -34,8^{\circ} \pm 4^{\circ}$ ($c = 0,517$ in Methanol). Da das von uns in nicht ganz reiner Form isolierte Osazon der Antiarose eine spez. Drehung von $[\alpha]_D^{16} = +13,8^{\circ} \pm 4^{\circ}$ (in Pyridin-Äthanol 2:3) zeigte¹⁾, so wurde auf Grund aller dieser Befunde vermutet, dass Antiarose mit D-Gulomethylose identisch sein könne. In der Tat erwies sich das oben genannte Antiaronsäurelacton nach Smp., Mischprobe und spez. Drehung als identisch mit einer nach *Levene* und Mitarb.²⁾³⁾⁴⁾ bereiteten Probe von D-Gulomethylonsäurelacton. Weiter wurde auch das von *Levene* u. *Compton*³⁾ beschriebene kryst. p-Bromphenylhydrazon der D-Gulomethylose bereitet. Aus der Antiarose konnte ebenfalls ein kryst. p-Bromphenylhydrazon erhalten werden, das nach Schmelzpunkt, Mischprobe und Drehung mit obigem identisch war.

Antiarose ist somit D-Gulomethylose, die damit zum ersten Male in einem Naturprodukt nachgewiesen worden ist.

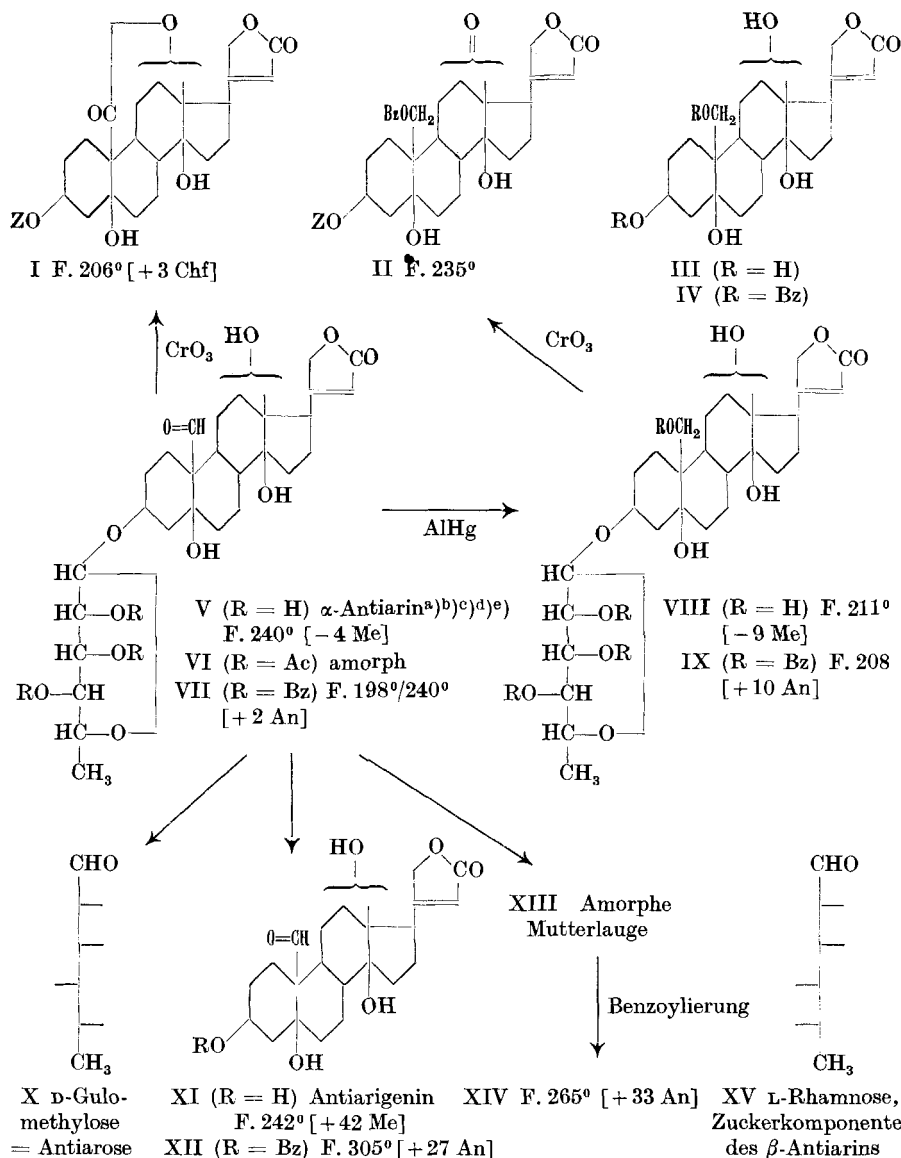
Sie unterscheidet sich von L-Rhamnose nur durch die räumliche Lage der 5-ständigen HO-Gruppe. Falls α - und β -Antiarin sich, wie *Kiliani* annimmt, wirklich von demselben Genin ableiten und falls sie, wie es wahrscheinlich ist, ihre Zucker in gleicher Weise gebunden enthalten, so unterscheiden sie sich somit ebenfalls nur in der räumlichen Lage dieser HO-Gruppe

¹⁾ Für das Osazon der D-Gulomethylose fanden *P. A. Levene* u. *J. Compton*⁴⁾ Smp. $182-183^{\circ}$ und $[\alpha]_D^{24} = +17,7^{\circ}$ in Pyridin-Alkohol (2:3). (Nach 1 Std. konstant.)

²⁾ *P. A. Levene, A. L. Raymond*, J. Biol. Chem. **102**, 317 (1933).

³⁾ *P. A. Levene, J. Compton*, J. Biol. Chem. **111**, 325 (1935).

⁴⁾ *P. A. Levene, J. Compton*, J. Biol. Chem. **111**, 335 (1935).



Ac = CH₃CO—; Bz = C₆H₅CO—; Z = Benzoyl-D-gulomethylosido-Rest. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton; Chf = Chloroform; Me = Methanol.

^{a)} H. Kiliani, Arch. Pharm. **234**, 438 (1896).

^{b)} H. Kiliani, B. **43**, 3574 (1910).

^{c)} H. Kiliani, B. **46**, 667 (1913).

^{d)} H. Kiliani, B. **46**, 2179 (1913).

^{e)} R. Tschesche, W. Haupt, B. **69**, 1377 (1936).

Schliesslich wurde auch noch das al-Dihydro- α -antiarin (VIII) der *Mannich*-Spaltung unterworfen. Es wurde dazu ein Präparat verwendet, das noch eine kleine Menge α -Antiarin enthielt. Die Spaltung verlief ganz ähnlich. Durch direkte Krystallisation konnte jedoch nur eine sehr geringe Menge α -Antiarin erhalten werden, das gesuchte Genin III liess sich nicht fassen. Die reichlichen amorphen Mutterlaugen gaben aber in kleiner Ausbeute ein kryst. Benzoat vom Smp. 260°, dessen Analyse auf ein al-Dihydroantiarigenin-dibenzoat (IV) passte.

Die hier beschriebenen Umsetzungen lassen sich unter den eingangs erwähnten Voraussetzungen wie folgt formulieren, wobei die genannten Resultate sich am besten erklären lassen, wenn man als Lage der unbestimmten HO-Gruppe 7, 11 oder 12 annimmt. Sie müsste in allen Fällen wohl β -Konfiguration haben, um eine Lactonbildung mit der aus der Aldehydgruppe entstandenen Carboxylgruppe zu ermöglichen. 11 β scheidet wahrscheinlich aus, da die HO-Gruppe dann bei der drastischen Hydrolyse mit heisser 1-proz. H_2SO_4 genau wie die zwei tertiären HO-Gruppen abgespalten werden sollte, während das Anhydro-antiarinigenin nach *Tschesche* u. *Haupt*¹⁾ eine Dianhydro-verbindung darstellt.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Drehung und Analyse wurden im Hochvakuum bei der angegebenen Temperatur getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther (oder Chloroform), Waschen mit verd. HCl (bei CrO_3 -Oxydationen mit H_2SO_4), Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen. „Schweinchen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde.

Isolierung des rohen Antiarins.

Für die Untersuchung standen uns 4 Proben zur Verfügung, die wie folgt bezeichnet waren¹⁾:

IV „Ipoe siren“ (Baum), gleicher Lieferant wie V und VI, wahrscheinlich identisch mit diesen. Erhalten 28. XII. 38. (Gewicht 150 g).

VI „Ipoe siren“ (Baum), angeblich weniger giftig. Erhalten 28. XII. 38. (Gewicht 48 g).

VII „Ipoe siren“. Gleicher Lieferant wie VI. Erhalten 28. XII. 38. (Gewicht 44,6 g).

VIII „Ipoe badjakah“. Angeblich von Schlingpflanze. 28. XII. 38. (Gewicht 65,5 g).

Jede Probe wurde für sich aufgearbeitet, doch konnte aus VI überhaupt kein Antiarin erhalten werden, wohl aber reichliche Mengen von Alkaloiden, hauptsächlich Strychnin. Die anderen 3 Proben (total 260,1 g) verhielten sich relativ gleichartig und wurden in Anlehnung an die Vorschrift von *Rosenthaler*²⁾ in zwei Varianten wie folgt behandelt:

a) 40 g des Präparates IV wurden fein gepulvert, in einer 3 L-Flasche mit 668 cm³ 95-proz. Alkohol und 1382 cm³ Wasser 72 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Anschliessend wurde durch Glaswolle filtriert. Der unlösliche Rückstand wog nach Trocknen

¹⁾ Die *CIBA Aktiengesellschaft* verdankt dies Material dem Missionsarzt Dr. *Matthias Vischer* im Zendingshospital, Te Kaeala-Kapoeas, Zuid-Borneo, der dort während des Weltkrieges sein Leben verlor.

²⁾ *L. Rosenthaler*, Pharm. Zentralhalle **66**, 21 (1925).

im Vakuum 29,5 g (= 74%). Das trübe Filtrat wurde im Vakuum bei 25° vom Alkohol befreit und die wässrige Lösung bei 0° mit verd. H_2SO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt. Der ausfallende Niederschlag wurde durch Zentrifugieren bei tiefer Temperatur entfernt, die Lösung durch Schütteln mit BaCO_3 neutralisiert und durch erneutes Zentrifugieren geklärt. Die hellbraune, stark bitter schmeckende Lösung, die auf Lackmus schwach sauer reagieren soll, wurde im Vakuum stark eingengt bis reichliche Krystallisation einsetzte. Die fast farblosen Krystalle wurden abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Durch Einengen der Mutterlauge im Vakuum liessen sich weitere Krystalle gewinnen. Total 0,95 g. Die verbleibende braune Mutterlauge schmeckte noch stark bitter, doch konnte weder durch Ausschütteln mit Chloroform-Alkohol, noch durch Adsorption mit Kohle daraus weiteres Antiarin gewonnen werden. Durch Kohle liessen sich die bitter schmeckenden Anteile zwar leicht adsorbieren, doch gelang es bisher nicht, aus dem Kohleadsorbat noch Antiarin zu eluieren.

b) In einem zweiten Versuch wurden 61,5 g des Präparates VIII fein gepulvert, mit 3 L Wasser (dest.) 72 Std. auf der Maschine geschüttelt und anschliessend filtriert. Der unlösliche Anteil wurde nochmals 24 Std. mit 3 L dest. Wasser geschüttelt. Die vereinigten Filtrate wurden direkt wie oben mit verd. H_2SO_4 angesäuert, vom Niederschlag durch Zentrifugieren befreit und mit BaCO_3 neutralisiert. Die erneut zentrifugierte Lösung wurde im Vakuum eingengt. Erhalten wurden 1,98 g rohes Antiarin.

Das restliche Material wurde nach dem Verfahren a) (also mit Alkoholzusatz) verarbeitet. Aus den 3 Präparaten IV, VII und VIII (total 260,1 g) wurden insgesamt 6,7 g rohes Antiarin erhalten; Umkrystallisieren aus Wasser gab 3,85 g farblose Blättchen, Smp. 224—226°, sowie 2,012 g ebenfalls farblose Blättchen vom Smp. 216—224°. Die verbleibenden Mutterlaugen wurden im Vakuum ganz eingedampft und der hellbraune Rückstand (0,84 g) aus wenig Methanol-Äther umkrystallisiert. Dabei resultierte noch 0,621 g leicht braun gefärbtes Krystallpulver. Von den reinsten Krystallen wurden 1,5 g für eine Anzahl von Vorversuchen verwendet, für die folgenden Untersuchungen standen daher 2,348 g Krystalle vom Smp. 224—226°, 2,012 g vom Smp. 216—224° und die 0,621 g aus Mutterlauge zur Verfügung.

Reinigung des α -Antiarins (V).

Zur Vorreinigung wurden die 2,348 g Antiarin vom Smp. 224—226° in 50 cm³ Methanol und 300 cm³ Wasser gelöst, das Methanol im Vakuum entfernt und die wässrige Lösung 2mal mit je 200 cm³ Chloroform, 3mal mit je 200 cm³ eines Gemisches von 9 Volumteilen Chloroform und 1 Volumteil Alkohol und 3mal mit je 200 cm³ eines Gemisches von 2 Volumteilen Chloroform und 1 Volumteil Alkohol ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach einen zweiten Scheidetrichter mit 20 cm³ Wasser, in dem man sie nochmals gut durchschüttelte, wurden dann über Na_2SO_4 getrocknet und bei 30° eingedampft. Erhalten wurden: 35 mg Chloroformextrakt, 150 mg Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt und 268 mg Chloroform-Alkohol-(2:1)-extrakt.

Der Chloroformextrakt (35 mg) gab mit konz. H_2SO_4 eine rote Lösung, die beim Stehen über braun (5 Min.), gelbbraun (15 Min.), gelb (30 Min.) nach ca. 1 Std. in hellgrün überging. Aus wenig Methanol liessen sich ca. 15 mg farblose Tetraeder, Smp. 178—182° erhalten. Der Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt (150 mg) gab mit H_2SO_4 eine ganz ähnliche Farbreaktion und aus wenig Methanol liess sich ebenfalls eine kleine Menge Tetraeder Smp. 178—182° abscheiden. Der Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt (286 mg) gab mit H_2SO_4 eine gelbe Lösung, die beim Stehen über rötlichgelb (5 Min.), gelboliv (15 Min.) nach ca. 1 Std. in schmutzig grünoliv überging. (Dieselbe Färbung zeigte reines α -Antiarin.) Dieser Teil gab aus wenig Methanol oder besser aus Wasser farblose Blättchen vom Smp. 234—235° (α -Antiarin) und wurde daher später mit den Krystallen aus der Wasserphase vereinigt. Durch sukzessives Einengen der wässrigen Phase wurden die folgenden 3 Krystallisate erhalten: 1,172 g Smp. 236—237°; 0,365 g Smp. 236—237°; 0,180 g Smp. 237—239°; 0,172 g letzte Mutterlaugen. Diese wurden mit wenig Aceton stehen gelassen, das ausfallende Material aus wenig Methanol-Äther vorgereinigt und

die Krystalle einmal aus Methanol-Wasser durch Einengen umkrystallisiert, wobei sich noch etwas reine Krystalle vom Smp. 236—237° erhalten liessen.

Genau gleich wurden die 2,012 g Antiarin vom Smp. 216—224° vorgereinigt. Hier resultierten 32 mg Chloroformextrakt und 51 mg Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt, aus denen sich ca. 6 mg Tetraeder vom Smp. 178—182° erhalten liessen. Auf ein Ausschütteln mit Chloroform-Alkohol-(2:1) wurde verzichtet. Sukzessives Eindampfen der Wasserphase gab die folgenden 2 Krystallisate: 1,260 g farblose, rautenförmige Platten Smp. 216—218°; 0,515 g farblose Krystalle derselben Form, Smp. 232—234°; 0,166 g letzte Mutterlaugen, die wie oben gereinigt wurden.

Auch die 0,621 g hellbrauner Restkrystalle wurden ebenso vorgereinigt. Hier resultierten 13 mg Chloroformextrakt und 12 mg Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt. Die wässrige Phase lieferte beim Einengen 0,3 g Krystalle vom Smp. 240—240,5° sowie 0,297 g Mutterlaugen, die wie oben gereinigt, nochmals gute Krystalle gaben.

Anfangs schien es, dass die bei 216—218° schmelzenden Krystalle einen besonderen Stoff enthielten. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus Methanol, Methanol-Äther, sowie bei Mutterlaugen gelegentlich aus Aceton, wurden wieder viele bei 238° schmelzende Fraktionen erhalten. Das tiefer schmelzende Material zeigte bei Krystallisation aus Wasser auch immer denselben Habitus (rhomboedrisch, oder sechseckig begrenzte Blättchen) und lieferte nach erneutem Umkrystallisieren aus wenig Methanol immer mehr von der hochschmelzenden Form. Die bei 237° oder wenig darüber schmelzenden Krystalle wurden zum Schluss aus Methanol-Wasser durch Wegkochen des Methanols bei leichtem Vakuum umkrystallisiert. Es resultierten dabei 0,127 g einer Spitzenfraktion, Smp. 242—242,5°, sowie 3,4 g vom Smp. 238—240°. Die Restmutterlaugen (0,9 g) waren noch vollständig krystallisiert und schmolzen bei 220—235°. Sie dienten zur Bereitung des Benzoats (siehe unten). Das reine Material wurde über CaCl_2 ohne Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. $[\alpha]_D^{17} = -3,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,905$ in Methanol).

45,05 mg Subst. zu 4,977 cm^3 ; $l = 2$ dm; $\alpha_D^{17} = -0,07^\circ \pm 0,02^\circ$

Das über CaCl_2 ohne Vakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Präparat war völlig methoxylfrei und gab bei der Verbrennung die folgenden Werte:

3,752 mg Subst. gaben 8,18 mg CO_2 und 2,34 mg H_2O (*F. W.*)

3,821 mg Subst. gaben 8,32 mg CO_2 und 2,40 mg H_2O (*F. W.*)

$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{11} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (584,47) Ber. C 59,56 H 7,62%

Gef. „ 59,50 „ 6,98%

„ „ 59,42 „ 7,00%

Für die folgenden Verbrennungen wurde im Hochvakuum während der angegebenen Zeit und bei der angegebenen Temperatur getrocknet und im Schweinchen eingewogen:

3,418 mg Subst. (3 Std. 100°) gaben 7,70 mg CO_2 und 2,32 mg H_2O (*F. W.*)

3,579 mg Subst. (3 Std. 100°) gaben 7,99 mg CO_2 und 2,52 mg H_2O (*F. W.*)

3,734 mg Subst. (6 Std. 100°) gaben 0,118 mg = 3,16% Gewichtsverlust

3,616 mg Subst. (6 Std. 100°) gaben 8,040 mg CO_2 und 2,475 mg H_2O (*ETH*)

3,923 mg Subst. (15 Std. 100°) gaben 8,82 mg CO_2 und 2,64 mg H_2O (*H. G.*)

3,818 mg Subst. (15 Std. 100°) gaben 8,62 mg CO_2 und 2,60 mg H_2O (*H. G.*)

3,690 mg Subst. (48 Std. 20° über P_2O_5) gaben 0,290 mg = 7,85% Gewichtsverl.

3,400 mg Subst. (48 Std. 20°) gaben 7,636 mg CO_2 und 2,296 mg H_2O (*ETH*)

3,699 mg Subst. (2 Std. 100°) gaben 0,137 mg = 3,70% Gewichtsverlust

3,562 mg Subst. (2 Std. 100°) gaben 7,712 mg CO_2 und 2,443 mg H_2O (*ETH*)

3,702 mg Subst. (2 Std. 100°) gaben 0,241 mg = 6,52% Gewichtsverlust

3,461 mg Subst. (2 Std. 110°) gaben 7,722 mg CO_2 und 2,412 mg H_2O (*ETH*)

4,111 mg Subst. (2 Std. 110°) gaben 0,289 mg = 7,05% Gewichtsverlust

3,822 mg Subst. (2 Std. 110°) gaben 8,614 mg CO_2 und 2,575 mg H_2O (*ETH*)

3,580 mg Subst. (3 Std. 110°) gaben 0,232 mg = 6,48% Gewichtsverlust

3,348 mg Subst. (3 Std. 110°) gaben 7,532 mg CO_2 und 2,268 mg H_2O (*ETH*)

$C_{29}H_{42}O_{11}$ (566,63)	Ber. C 61,47	H 7,47%
Trocknung 3 Std. 100°	Gef. „ 61,48	„ 7,60% (F. W.)
Trocknung 3 Std. 100°	„ „ 60,92	„ 7,88% (F. W.)
Trocknung 6 Std. 100°	„ „ 60,68	„ 7,66% (ETH)
Trocknung 15 Std. 100°	„ „ 61,36	„ 7,53% (H. G.)
Trocknung 15 Std. 100°	„ „ 61,61	„ 7,62% (H. G.)
Trocknung 48 Std. 20° über P_2O_5	„ „ 61,29	„ 7,56% (ETH)
Trocknung 2 Std. 100°	„ „ 59,08	„ 7,67% (ETH)
Trocknung 2 Std. 110°	„ „ 60,89	„ 7,81% (ETH)
Trocknung 2 Std. 110°	„ „ 61,51	„ 7,54% (ETH)
Trocknung 3 Std. 110°	„ „ 61,39	„ 7,57% (ETH)

Um wasserfreie Präparate zu erhalten, ist also im Hochvakuum bei 100° 15 Std. oder bei 110° mindestens 3 Std. zu trocknen. Die sehr unterschiedlichen Werte bei der Krystallwasserbestimmung können wir uns nur so erklären, dass die Präparate entweder bei der Einwaage noch aus der Luft Wasser aufnahmen, oder dass beim Trocknen Verluste durch Verspritzen eintreten.

Aus den CH-Werten ergibt sich, dass das über $CaCl_2$ ohne Vakuum getrocknete Präparat wahrscheinlich ein Monohydrat darstellt.

Das α -Antiarin gab in Pyridin eine positive (rote) *Legal*-Reaktion, die *Keller-Kiliani*-Reaktion war negativ. In konz. H_2SO_4 löste es sich goldgelb, die Färbung ging beim Stehen über rötlichgelb (5 Min.), gelboliv (15 Min.) nach ca. 1 Std. in schmutzgrünoliv über. Das UV-Absorptionsspektrum ist im theoretischen Teil wiedergegeben.

α -Antiarin-oxim¹⁾.

100 mg α -Antiarin vom Smp. 238—240° wurden mit 100 mg Hydroxylaminchlorhydrat, 210 mg Na-acetat-trihydrat, 0,1 cm³ Wasser und 1 cm³ Alkohol 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen im Vakuum wurde 3mal mit je 2 cm³ abs. Alkohol ausgekocht, vom NaCl abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (156 mg) wurde in 0,5 cm³ Wasser gelöst und bei 0° stehen gelassen. Nach 3 Wochen hatten sich farblose Nadeln abgeschieden; sie wurden abgenutscht, mehrmals mit wenig Wasser gewaschen und 3mal aus Methanol-Äther umkrystallisiert. Erhalten wurden 21 mg zu Drusen vereinigte Spiesse, Smp. 274—276° (Zers.); $[\alpha]_D^{21} = -9,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,758$ in Methanol).

7,590 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = -0,075^\circ \pm 0,02^\circ$

3,660 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 7,89 mg CO₂ und 2,47 mg H₂O (F. W.)

3,278 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 7,06 mg CO₂ und 2,15 mg H₂O (F. W.)

3,010 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 0,058 cm³ N₂ (18°; 723 mm) (F. W.)

$C_{29}H_{43}O_{11}N$ (581,64)	Ber. C 59,89	H 7,46	N 2,41%
	Gef. „ 58,82; 58,76	„ 7,55; 7,34	„ 2,15%

α -Antiarin-acetat (VI).

110 mg α -Antiarin vom Smp. 238—240° wurden in 1,8 cm³ abs. Pyridin gelöst, mit 1,2 cm³ Acetanhydrid versetzt und 2 Tage bei 20° stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform gab 128 mg farblosen Schaum, aus dem sich auch nach Chromatographie bisher keine Krystalle isolieren liessen. Bei der Chromatographie wurde die Hauptmenge der Substanz mit Benzol-Chloroform (4:1) von der Al₂O₃-Säule abgelöst.

¹⁾ H. Kiliani, B. 46, 667 (1913).

α -Antiarin-benzoat (VII).

100 mg α -Antiarin vom Smp. 238—240° wurden in 2 cm³ abs. Pyridin gelöst, unter Feuchtigkeitsausschluss bei 0° mit 0,244 cm³ reinstem Benzoylchlorid versetzt und 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Dann wurden 0,4 cm³ Methanol zugegeben und noch 2 Std. stehen gelassen. Übliche Aufarbeitung mit 60 cm³ Chloroform-Äther gab 188,5 mg Rohprodukt, nach möglichster Entfernung von Methylbenzoat im Hochvakuum bei 65°. Aus Aceton-Methanol 160 mg (= 89%) farblose Nadeln, Smp. 240—241°. Aus Aceton-Äther wurden gelegentlich auch Stäbchen vom Smp. 198—200° erhalten. Sie liessen sich durch Animpfen in die höher schmelzende Form umwandeln. Beide Formen zeigten nach Trocknung bei 65° im Hochvakuum die spez. Drehung von $[\alpha]_D^{21} = +2,40 \pm 4^0$ ($c = 0,511$ in Aceton).

5,122 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = +0,012^0 \pm 0,02^0$

3,872 mg Subst. (vom Smp. 198—200°, Trockn. 4 Std. 100°) gaben 9,70 mg CO₂ und 2,05 mg H₂O (F. W.)

3,867 mg Subst. (vom Smp. 240—241°, Trockn. 4 Std. 100°) gaben 9,72 mg CO₂ und 2,03 mg H₂O (F. W.)

3,581 mg Subst. (vom Smp. 240—241°, Trockn. 3 Std. 110°) gaben 9,072 mg CO₂ und 1,904 mg H₂O (ETH)

3,646 mg Subst. (vom Smp. 240—241°, Trockn. 4 Std. 100°) gaben 9,167 mg CO₂ und 2,024 mg H₂O (ETH)

Tetrabenzoat C ₅₇ H ₅₈ O ₁₅ (983,03)	Ber. C 69,64	H 5,94%
Tribenzoat C ₅₀ H ₅₄ O ₁₄ (878,93)	„ „ 68,32	„ 6,19%
Präp. Smp. 198°, Trockn. 4 Std. 100°	Gef. „ 68,36	„ 5,92%
Präp. Smp. 240°, Trockn. 4 Std. 100°	„ „ 68,60	„ 5,86%
Präp. Smp. 240°, Trockn. 3 Std. 110°	„ „ 69,14	„ 5,95%
Präp. Smp. 240°, Trockn. 4 Std. 100°	„ „ 68,61	„ 6,20%

Das α -Antiarin-benzoat löst sich gut in Chloroform und Aceton, sehr wenig in Alkohol, Methanol und Äther. In Wasser ist es praktisch unlöslich. In konz. H₂SO₄ gibt es ähnliche Färbungen¹⁾ wie freies α -Antiarin. Dasselbe Benzoat wurde in etwas geringerer Ausbeute auch aus den α -Antiarin-Mutterlaugen erhalten. Bei der Chromatographie liess es sich mit Chloroform von der Al₂O₃-Säule ablösen.

Neutrales Oxydationsprodukt (I?) des Antiarin-benzoats (VII).

120 mg Antiarin-benzoat vom Smp. 240—241° wurden in 18 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 0,43 cm³ 4-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung (= 17 mg CrO₃ = ca. 1,2 At. O) versetzt und 8 Std. bei 18° stehen gelassen, worauf noch etwas CrO₃ nachweisbar war. Nach weiteren 16 Std. war der Überschuss völlig verbraucht. Übliche Aufarbeitung mit Chloroform gab 137 mg neutrales Rohprodukt (noch Spur Cr-haltig), sowie aus den Sodaauszügen ca. 3 mg saure Anteile. Das neutrale Rohprodukt wurde in wenig Eisessig gelöst, mit 2 Tropfen Methanol versetzt und 16 Std. bei 18° stehen gelassen. Erneute Aufarbeitung gab 105 mg gereinigtes Material. Aus Aceton-Äther schied sich der Stoff als Gallerte ab, auch aus Aceton-Methanol konnte selbst nach Impfen mit Ausgangsmaterial keine Kristallisation erzielt werden. Daher wurde durch Chromatographie vorgereinigt, wobei die Hauptmenge, 85 mg, mit Chloroform-Methanol-Gemischen von 2—10% Methanolgehalt eluiert und nach Eindampfen als farbloser Schaum erhalten wurden. Zur Reinigung wurde mit einer Spur Aceton verflüssigt und allmählich mit Äther versetzt. Die gallertige Abscheidung wurde mit mehr Äther verrieben, abgenutscht und gut mit Äther gewaschen. Das im Vakuum getrocknete, farblose Pulver (74 mg) schmolz bei 206—208°. Es löste sich in konz. H₂SO₄ gelb, die Lösung färbte sich nach 1 Min. weinrot, nach 5 Min. violettrot und nach 45 Min. violett.

¹⁾ Beobachtet wurde nach den angegebenen Zeiten in Minuten: goldgelb (0') — sepia (5') — rotbraun (15') — olivbraun (30') — helloliv (60').

3,554 mg Subst. (Trockn. 2 Std. 100°, Schweinchen) gaben 8,81 mg CO₂ und 1,86 mg H₂O (F. W.)

3,652 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 110°, Schweinchen) gaben 9,061 mg CO₂ und 1,964 mg H₂O (ETH)

C ₅₀ H ₅₂ O ₁₄ (876,92)	Ber. C 68,48	H 5,98%
	Gef. „ 67,65	„ 5,86%
	„ „ 67,71	„ 6,02%

Das Produkt enthielt noch eine Spur Asche, was für den zu niedrigen C-Gehalt verantwortlich sein könnte. Die *Legal*-Reaktion war positiv.

al-Dihydro- α -antiarin (VIII)¹⁾.

Ca. 0,8 mm dickes Aluminiumblech (99,99% Gehalt) wurde in ca. 2×10 mm grosse Stücke geschnitten, mehrmals mit Äther, dann mit Alkohol und Wasser gewaschen und mit 2-n. NaOH kräftig angeätzt und mit dest. Wasser ausgewaschen. Dann wurde 2mal je 2 Minuten in 0,5-proz. HgCl₂-Lösung bei 18° amalgamiert, mehrmals mit Wasser gewaschen und bis zur kräftig einsetzenden H₂-Entwicklung in Wasser stehen gelassen. Dann wurde mit Alkohol abgespült und 0,5 g dieser Späne sofort in die Lösung von 0,5 g α -Antiarin vom Smp. 238—240° in 40 cm³ 95-proz. Alkohol eingetragen. Der Ansatz wurde 9 Tage auf der Maschine geschüttelt, wobei jeden Tag 0,1 cm³ (total 1 cm³) Wasser zugegeben wurde. Hierauf wurde durch ein mit Kieselgur (Hyflo-Supercel) gedichtetes Filter abgenutscht, mit Alkohol nachgewaschen und der Rückstand noch 3mal mit je 40 cm³ Alkohol ausgekocht. Die vereinigten, wasserklaren Filtrate hinterliessen beim Eindampfen 0,4 g Rückstand; aus dem Al(OH)₃-Schlamm liess sich durch Extraktion mit Alkohol im *Soxhlet* noch 0,1 g erhalten, die aber schlecht krystallisierten. Die 0,4 g erstgenanntes Rohprodukt gaben aus Methanol 325 mg farblose Platten, Smp. 208—214°. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol schmolz das Analysenpräparat bei 211—213°; $[\alpha]_D^{21} = -9,4^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,566 in Methanol).

5,678 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{21} = -0,053^\circ \pm 0,02^\circ$

3,342 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 7,31 mg CO₂ und 2,24 mg H₂O (F. W.)

3,170 mg Subst. (Trockn. 4 Std. 100°, Schweinchen) gaben 6,985 mg CO₂ und 2,304 mg H₂O (ETH)

C ₂₉ H ₄₄ O ₁₁	(568,64)	Ber. C 61,24	H 7,81%
C ₂₉ H ₄₄ O ₁₁ , CH ₃ OH	(600,68)	„ „ 59,98	„ 8,07%
C ₂₉ H ₄₄ O ₁₁ , H ₂ O	(586,66)	„ „ 59,36	„ 7,91%
		Gef. „ 59,69	„ 7,50%
		„ „ 60,13	„ 8,13%

Die Substanz ist offenbar auch schwer ganz zu trocknen, ausserdem enthielt das Präparat auch eine Spur Asche, die aber bei der Einwaage in der zweiten Verbrennung abgezogen wurde. Der Stoff gab eine positive *Legal*-Probe. Die Färbung mit konz. H₂SO₄ war fast gleich wie beim α -Antiarin. Das UV-Absorptionsspektrum ist im theoret. Teil wiedergegeben, ebenso die Toxizität für die Katze.

al-Dihydro- α -antiarin-acetat.

30 mg al-Dihydro- α -antiarin vom Smp. 208—214° wurden wie bei α -Antiarin beschrieben acetyliert. Das farblose Rohprodukt (37 mg) krystallisierte bisher nicht.

al-Dihydro- α -antiarin-benzoat (IX).

48 mg al-Dihydro- α -antiarin vom Smp. 212—214° wurden 30 Minuten im Vakuum bei 80° getrocknet und mit 1 cm³ abs. Pyridin und 0,124 cm³ Benzoylchlorid wie bei VII

¹⁾ Zur Methode vgl. E. Rabald, J. Kraus, Z. physiol. Ch. 265, 39 (1940).

beschrieben benzoyliert. Das Rohprodukt (81 mg) gab nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol 46 mg farblose, verfilzte Nadelchen, Smp. 208—209°; $[\alpha]_D^{17} = +10,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,782$ in Aceton).

7,845 mg Subst. zu $1,00293 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{17} = +0,08^\circ \pm 0,02^\circ$

3,728 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100° , Schweinchen) gaben 9,56 mg CO_2 und 1,99 mg H_2O (F. W.)

3,666 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 110° , Schweinchen) gaben 9,329 mg CO_2 und 2,022 mg H_2O (ETH)

Tetrabenzoat $\text{C}_{37}\text{H}_{50}\text{O}_{15}$ (985,05)	Ber. C 69,49	H 6,13%
Pentabenzoat $\text{C}_{64}\text{H}_{64}\text{O}_{16}$ (1089,15)	„ „ 70,57	„ 5,92%
	Gef. „ 69,98	„ 5,97%
	„ „ 69,45	„ 6,17%

Es dürfte ein Tetrabenzoat vorliegen.

Neutrales Oxydationsprodukt II aus al-Dihydro- α -antiarin-benzoat (IX).

75 mg al-Dihydro- α -antiarin-benzoat (IX) vom Smp. 204—208° wurden in Aceton gelöst, die Lösung im Vakuum eingedampft und der schaumige Rückstand in $0,55 \text{ cm}^3$ reinstem Eisessig gelöst. Nach Zusatz von $0,25 \text{ cm}^3$ 2-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung (= 5 mg $\text{CrO}_3 = \frac{2}{3}$ Mol) wurde 2 Std. bei 18° stehen gelassen, worauf das CrO_3 verbraucht war; es wurden noch $0,06 \text{ cm}^3$ und nach einer weiteren Stunde noch $0,1 \text{ cm}^3$ Lösung (= total 8,2 mg CrO_3 entspr. 1,1 Mol) zugegeben, worauf nach 16 Std. noch CrO_3 nachweisbar war. Die übliche Aufarbeitung gab 76 mg rohes Neutralprodukt. Saure Anteile wurden nicht erhalten. Das Rohprodukt wurde in Benzol gelöst und an 2,1 g Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform von 20—50% Chloroformgehalt eluierten Anteile (ca. 25 mg) gaben aus Methanol-Äther und Aceton-Äther gefiederte Nadelchen, Smp. 235—238°. 3,858 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 110° , Schweinchen) gaben 9,855 mg CO_2 und 2,038 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{57}\text{H}_{58}\text{O}_{15}$ (983,02)	Ber. C 69,64	H 5,95%
	Gef. „ 69,64	„ 5,91%

Hydrolytische Spaltung des α -Antiarins.

1 g α -Antiarin vom Smp. 238—240° wurden fein gepulvert, mit 50 cm^3 reinem Aceton und $0,5 \text{ cm}^3$ konz. HCl versetzt und bis zur völligen Lösung (ca. 30 Minuten) energisch geschüttelt. Dann wurde 16 Tage bei 18° stehen gelassen. Die hellgelbe Lösung wurde hierauf mit 50 cm^3 Wasser versetzt und das Aceton im Vakuum bei 20° völlig entfernt. Die verbleibende, saure wässrige Lösung (50 cm^3 ca. 0,1-n. Salzsäure) wurde mit 50 cm^3 Methanol versetzt und 25 Minuten unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum bei 20° auf 25 cm^3 eingengt und 10mal mit je 20 cm^3 Chloroform, 10mal mit je 20 cm^3 Chloroform-Alkohol (9:1) und 5mal mit je 10 cm^3 Chloroform-Alkohol-(2:1) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach 3 Scheidetrichter mit je 3 cm^3 Wasser, 2-n. Sodalösung und Wasser. Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen gab: 390 mg Chloroform-Extrakt; 62 mg Chloroform-Alkohol-(9:1)-Extrakt; 46 mg Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die verbleibende wässrige Phase wurde im Vakuum von Chloroform- und Alkohol-Resten befreit, bei 0° durch Schütteln mit überschüssigem Ag_2CO_3 neutralisiert und durch ein mit Ag_2CO_3 gedichtetes Filter genutscht. Das Filtrat wurde bei 0° kurz mit H_2S behandelt und durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Alkohol aufgenommen und die filtrierte Lösung im Vakuum eingedampft. Der fast farblose, sirupöse Rückstand (503 mg) schmeckte noch stark bitter (Reste Antiarin) und diente zur Isolierung des Zuckers (siehe weiter unten).

Ein weiteres Gramm α -Antiarin wurde genau gleich gespalten und gab ein ganz analoges Resultat.

Antiarigenin (XI?) und Nebenprodukte.

Da ein kleiner Vorversuch zur Chromatographie des rohen Geningemisches kein gutes Resultat ergab (die Hauptmenge blieb in der Al_2O_3 -Säule stecken), wurden die 3 Extrakte längere Zeit mit Methanol-Äther stehen gelassen (18°).

Dabei schieden sich aus den Chloroform-Alkohol-(9:1)- und -(2:1)-Extrakten langsam zu Drusen vereinigte Nadelchen ab. Total wurden 54 mg rohe Krystalle erhalten. Mehrmaliges Umkrystallisieren aus Methanol-Äther, zum Schluss aus Aceton-Äther gab ca. 9 mg farblose Nadeldrusen, Smp. 242—248° (Zers.); $[\alpha]_D^{23} = +42,30 \pm 3^\circ$ ($c = 0,805$ in Methanol).

8,061 mg Subst. zu 1,0052 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{23} = +0,34^\circ \pm 0,02^\circ$

3,390 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 8,04 mg CO_2 und 2,37 mg H_2O (F. W.)

3,530 mg Subst. (Trockn. 4 Std. 100°, Schweinchen) gaben 8,414 mg CO_2 und 2,548 mg H_2O (ETH)

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_7$ (420,49)	Ber. C 65,68	H 7,66%
	Gef. „ 64,72	„ 7,82%
	„ „ 65,05	„ 8,08%

Die Substanz gab mit konz. H_2SO_4 eine gelbe Lösung, die sich über orange (2 Min.), braunrot (8 Min.) nach 1 Std. rotbraun färbte. Die Legal-Reaktion war positiv. Die Mutterlaugen der Krystalle enthielten noch etwas freien Zucker.

Antiarigenin-benzoat (XII?).

89 mg kryst. Antiarigenin aus Mutterlaugen vom Smp. 214—248° (Zers.) wurden in 1,8 cm^3 abs. Pyridin gelöst, unter H_2O -Ausschluss bei 0° mit 0,218 cm^3 reinem Benzoylchlorid versetzt und 16 Std. bei 20° stehen gelassen. Nach Zusatz von 0,36 cm^3 Methanol weitere 2 Stunden stehen gelassen, dann wie bei VII aufgearbeitet. Rohprodukt (183 mg) in abs. Benzol gelöst und an 6 g Al_2O_3 chromatographiert. Zur Elution dienten Benzol-Chloroform-Gemische mit steigendem Chloroformgehalt, dann reines Chloroform sowie Chloroform-Methanol-Gemische bis 10% Methanolgehalt. Die mit Benzol-Chloroform von 80—90% Chloroformgehalt eluierten Anteile (ca. 30 mg) gaben aus Aceton-Methanol 16 mg farblose, kantige Spiesse, Smp. 305—307°; $[\alpha]_D^{18} = +27,20 \pm 5^\circ$ ($c = 0,4776$ in Aceton).

4,784 mg Subst. zu 1,0052 cm^3 ; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,13^\circ \pm 0,02^\circ$

3,568 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 9,01 mg CO_2 und 2,13 mg H_2O (F. W.)

$\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_8$ (524,59)	Ber. C 68,69	H 6,93%
	Gef. „ 68,91	„ 6,68%

Das Produkt löste sich in konz. H_2SO_4 zitronengelb, die Lösung färbte sich über orange (5 Min.), rotorange Zinnober (15 Min.), braunrot (20 Min.), nach $\frac{1}{2}$ —2 Std. hellrosa oder blassorange.

Benzoylierung der Antiarigenin-Nebenprodukte (XIV).

409 mg amorphe Geninfraction XIII (Chloroformextrakt sowie amorphe Anteile der Chloroform-Alkohol-Extrakte nach möglichster Abtrennung des kryst. Genins) wurden in 8,2 cm^3 abs. Pyridin und 1 cm^3 Benzoylchlorid wie bei VII beschrieben benzoyleiert und das rohe Benzoatgemisch (835 mg) in abs. Benzol gelöst und an 25 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen dienten je 80 cm^3 der in folgender Tabelle genannten Lösungsmittel:

Fraktionsnummer	Lösungsmittel	Rückstand
1	Benzol	Methylbenzoat
2	Benzol-Chloroform 10%	Spur, ätherlösl.
3	Benzol-Chloroform 20%	Spur, ätherlösl.
4	Benzol-Chloroform 20%	Gelbbraun
5	Benzol-Chloroform 40%	Gelbbraun
6	Benzol-Chloroform 40%	Viel, gelbbraun
7	Benzol-Chloroform 40%	Spur
8	Benzol-Chloroform 70%	Spur, hellgelb
9	Benzol-Chloroform 80%	Spur, hellgelb
10	Chloroform	Wenig, hell
11	Chloroform-Methanol 1%	Gelblich
12	Chloroform-Methanol 2%	Viel, gelb
13	Chloroform-Methanol 20%	Dunkel
14	Chloroform-Methanol 80%	Dunkel

Die Fraktionen 10 und 11 gaben aus einer Spur Aceton mit Methanol 28 mg farblose Krystalle, Smp. ca. 264—267° (Substanz XIV). Mehrmaliges Umkrystallisieren aus Aceton-Methanol gab zu Drusen vereinigte Plättchen oder Spiesse, Smp. 265—267°; $[\alpha]_D^{18} = +33,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0892$ in Aceton).

10,908 mg Subst. zu $1,0015 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_D^{18} = +0,36^\circ \pm 0,02^\circ$

3,590 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 9,18 mg CO_2 und 2,11 mg H_2O (F. W.)

3,604 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 110°, Schweinchen) gaben 9,112 mg CO_2 und 2,105 mg H_2O (ETH)

Anhydro- α -antiarin-tribenzoat (XIV)

$\text{C}_{50}\text{H}_{52}\text{O}_{13}$ (860,92) Ber. C 69,75 H 6,08%

Antiarigenin-monobenzoat (XII)

$\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_8$ (524,59) Ber. C 68,69 H 6,93%
 Gef. „ 69,78 „ 6,58%
 „ „ 69,00 „ 6,54%

Das Produkt gab mit konz. H_2SO_4 fast gleiche Färbungen wie α -Antiarin-benzoat¹⁾ nämlich: goldgelb (0')-braun (5')-dunkelbraun (15')-dunkel-gelbbraun (30')-helloliv (60'). Die Färbungen waren also merklich anders als bei XII. Der Stoff liess sich auch durch Impfen mit dem bei 305—307° schmelzenden Präparat XII aus Aceton-Methanol nicht auf einen höheren Smp. bringen.

In einem weiteren Versuch wurden 183,4 mg der mit Chloroform und Chloroform-Alkohol (9:1) löslichen Anteile des rohen Genins benzoiliert und das rohe Benzoat (317 mg) wieder chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-Gemischen von 75—90% Chloroformgehalt eluierbaren Anteile (162 mg) gaben aus Aceton-Methanol ca. 30 mg Krystalle, die bei 172—173° schmolzen. Nach 3-maligem Umkrystallisieren aus Aceton-methanol wurden gefiederte Nadelbüsche vom Smp. 227—228° erhalten.

¹⁾ Anhydro-Derivate geben mit H_2SO_4 meist fast gleiche Färbungen wie die Stammsubstanzen.

3,600 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 9,19 mg CO₂ und 2,03 mg H₂O (F. W.)

Anhydro- α -antiarin-tribenzoat

C ₅₀ H ₅₂ O ₁₃ (860,92)	Ber. C 69,75	H 6,08%
	Gef. „ 69,67	„ 6,31%

Nach wiederholtem Umkrystallisieren dieses Präparates stieg der Smp. plötzlich ebenfalls auf 265°.

Isolierung der Antiarose (X).

Der bei der *Mannich*-Spaltung von 1 g α -Antiarin erhaltene, wasserlösliche Sirup (502 mg) wurde zur Entfernung der Reste von unverändertem α -Antiarin mit 5 cm³ 2-proz. H₂SO₄ 3 Std. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, wobei sich gelbes Harz abschied. Nach dem Erkalten wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser und verd. Sodalösung gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Chloroformlösung hinterliess beim Eindampfen 187 mg rohes Anhydro-antiarigenin.

Die schwefelsaure Lösung wurde im Vakuum von Chloroformresten befreit, mit reinstem BaCO₃ neutralisiert, durch ein mit wenig ausgekochter Kohle gedichtetes Filter genutscht und im Vakuum bei 40° eingedampft. Der Rückstand wurde in Methanol aufgenommen, die Lösung durch Filtration von wenig Flocken befreit, im Vakuum eingedampft und getrocknet. Erhalten wurden 233 mg¹⁾ Antiarose als fast farbloser Sirup, der aus feuchtem Aceton auch beim Animpfen mit L-Rhamnose nicht krystallisierte. Die spez. Drehung einer im Hochvakuum bei 60° getrockneten Probe betrug $[\alpha]_D^{17} = -11,6^\circ \pm 1^\circ$ (c = 2,666 in Wasser), nach 1 Std. konstant.

26,775 mg Subst. zu 1,0052 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{17} = -0,30^\circ \pm 0,02^\circ$

Die *Keller-Kiliani*-Reaktion war negativ. Kryst. D-Gulomethylose schmilzt nach *Levene* und *Compton*²⁾ bei 130—131° und zeigt $[\alpha]_D^{29} = -42,3^\circ$; dieser Wert geht nach $\frac{1}{2}$ Std. zum konstanten Endwert über: $[\alpha]_D^{29} = -38,03^\circ$ (in Wasser).

Osazon der Antiarose.

75 mg Zuckersirup wurden in 2 cm³ Wasser mit 250 mg reinem Phenylhydrazin und 1 Tropfen Eisessig 2 Std. unter CO₂ auf 100° erhitzt. Dann wurde das CO₂ durch Wegkochen entfernt. Beim Abkühlen fiel das Osazon schmierig aus; es wurde mit etwas Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschene Ätherlösung wurde eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Petroläther angerieben. Das braune Pulver gab beim Anreiben mit Äther langsam Krystalle. Umkrystallisieren aus einer Spur Alkohol mit Äther durch Einengen gab ca. 8 mg hellgelbe Nadelchen, Smp. 133—135°, dann Wiedererstarren und definitives Schmelzen bei 168°; $[\alpha]_D^{16} = +13,8^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,510 in Alkohol-Pyridin 3 : 2), nach 1 Std. konstant.

5,13 mg Subst. zu 1,0052 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{16} = +0,07^\circ \pm 0,02^\circ$
 $[\alpha]_D^{16} = +26,6^\circ \pm 5^\circ$ (nach 15 Minuten); $-11,4^\circ \pm 5^\circ$ (nach 48 Std.) (c = 0,2638 in Methanol);
 2,65 mg Subst. zu 1,0052 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{16} = +0,07^\circ \pm 0,02^\circ$ (nach 15 Minuten).

Zur Analyse diente die von der Drehung regenerierte Substanz:

2,268 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 70°, Schweinchen) gaben 5,31 mg CO₂ und 1,36 mg H₂O (F. W.)
 2,316 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 70°, Schweinchen) gaben 0,331 cm³ N₂ (22°; 731 mm) (F. W.)

C ₁₈ H ₂₂ O ₃ N ₄ (342,38)	Ber. C 63,11	H 6,48	N 16,36%
	Gef. „ 63,88	„ 6,71	„ 15,91%

¹⁾ 1 g α -Antiarin-monohydrat sollten theoretisch 281 mg Antiarose liefern.

Reines D-Gulomethylosazon¹⁾ schmilzt bei 181—182° und zeigt $[\alpha]_D^{24} = +17,7^\circ$ in Alkohol-Pyridin (2:1).

Es ist möglich, dass in obigen Krystallen mit Doppelschmelzpunkt ein Krystall-isomeres vorgelegen hat; Votoček u. Benes²⁾ fanden für D-Gulomethylosazon einen Smp. 140—142° und hatten dabei möglicherweise dieselbe Form in Händen.

Antiaronsäure-lacton³⁾.

75 mg Zuckersirup in 3 cm³ Wasser mit 120 mg Brom versetzt und 45 Minuten geschüttelt, dann 24 Std. im Dunkeln stehen gelassen. Bromüberschuss im Vakuum entfernt, farblose Lösung durch Schütteln mit überschüssigem Ag₂CO₃ neutralisiert und durch ein mit Ag₂CO₃ gedichtetes Filter genutscht. Filtrat kurz mit H₂S behandelt und durch ein mit wenig Kohle gedichtetes Filter genutscht, die vorher mit verd. HCl ausgekocht und gründlich mit dest. Wasser gewaschen worden war. Klares Filtrat bei 60° im Vakuum eingedampft und ½ Std. bei 50° getrocknet. Rückstand in Methanol gelöst, filtrierte Lösung eingedampft. Krystallisiert nach 2 Tagen. Aus Methanol farblose Prismen, Smp. 181—182°. Mutterlauge im Molekularkolben bei 0,01 mm und 135° Badtemperatur destilliert. Das Destillat gab aus wenig Methanol noch weitere Krystalle derselben Reinheit. Alle Krystalle (16 mg) nochmals im Molekularkolben bei 0,01 mm und 135° Badtemperatur sublimiert und aus Methanol umkrystallisiert. Ausbeute 11 mg farblose grobe Krystalle, Smp. 182—183°; $[\alpha]_D^{13} = -34,8^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,517$ in Methanol).

5,20 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{13} = -0,18^\circ \pm 0,02^\circ$.

Die Substanz war völlig methoxylfrei.

3,648 mg Subst. (Trockn. 2 Std. 80°) gaben 5,93 mg CO₂ und 2,01 mg H₂O (F. W.).

C₆H₁₀O₅ (162,14) Ber. C 44,44 H 6,22%
Gef. „ 44,35 „ 6,17%

Synthetisches D-Gulomethylonsäure-lacton⁴⁾ zeigte nach Sublimation im Hochvakuum; Smp. 182—183°; $[\alpha]_D^{18} = -36,0^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,585$ in Methanol).

5,865 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = -0,21^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Mischprobe mit Antiaronsäure-lacton schmolz genau gleich.

p-Bromphenylhydrazon der Antiarose.

233 mg Zuckersirup und 233 mg frisch im Hochvakuum sublimiertes p-Bromphenylhydrazin wurden in 1 cm³ Methanol 10 Minuten unter Rückfluss gekocht. Nach Eindampfen und Trocknen im Vakuum bei 50° wurde in 0,3 cm³ abs. Alkohol gelöst, mit Äther nicht ganz bis zur Trübung versetzt und bei 0° mit D-Gulomethylose-p-bromphenylhydrazon⁵⁾ angeimpft. Die Krystallisation setzte sofort ein und wurde durch Stehen bei 0° und vorsichtigen Ätherzusatz möglichst vervollständigt. Abnutschen und Nachwaschen mit Alkohol-Äther gab 110 mg Krystalle, Smp. 130—134°. Aus wenig abs. Alkohol farblose Nadeln, Smp. 134—135°; $[\alpha]_D^{24} = -11,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,878$ in abs. Alkohol nach 20 Minuten).

8,79 mg zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{24} = -0,10^\circ \pm 0,02^\circ$.

Synthetisches nach Levene u. Compton²⁾ bereitetes D-Gulomethylose-p-bromphenylhydrazon schmolz bei 134—135° und zeigte $[\alpha]_D^{25} = -13,2^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,833$ in abs. Alkohol). Mischsmp. zeigte keine Depression.

8,345 mg Subst. zu 1,0052 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{25} = -0,11^\circ \pm 0,02^\circ$.

¹⁾ P. A. Levene, J. Compton, J. Biol. Chem. **111**, 335 (1935).

²⁾ E. Votoček, L. Benes, Chem. Listy, **22**, 362, 385 (1928); C. **1929** I, 1676.

³⁾ Vgl. H. Kiliāni, Arch. Pharm. **234**, 438 (1896).

⁴⁾ Bereitet nach P. A. Levene, J. Compton, J. Biol. Chem. **111**, 335 (1935).

⁵⁾ P. A. Levene, J. Compton, J. Biol. Chem. **111**, 335 (1935).

Spaltung von al-Dihydro- α -antiarin.

235 mg al-Dihydro- α -antiarin (VIII) vom Smp. 208—214° in 11,7 cm³ Aceton gelöst, mit 0,117 cm³ konz. HCl versetzt und 3 Tage bei 18°, dann noch 17 Tage bei 0° stehen gelassen. Schwach gelbe Lösung im Vakuum auf die Hälfte eingengt, mit 11,7 cm³ Wasser versetzt und Aceton im Vakuum vollständig entfernt. Dann wurden 11,7 cm³ Methanol zugegeben und 25 Minuten unter Rückfluss gekocht. Im Vakuum bei 20° auf 6 cm³ eingengt und 10 mal mit je 10 cm³ Chloroform, 10 mal mit je 10 cm³ Chloroform-Alkohol (9 : 1) und 10 mal mit je 10 cm³ Chloroform-Alkohol (2 : 1) ausgeschüttelt. Die Auszüge passierten der Reihe nach noch 2 Scheidetrichter mit 1 cm³ Wasser und 1 cm³ n. Sodalösung, in denen sie bei 0° nochmals durchgeschüttelt wurden. Sie wurden dann über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Es resultierten: a) 75 mg Chloroformextrakt; b) 42,9 mg Chloroform-Alkohol-(9 : 1)-Extrakt; c) 125,9 mg Chloroform-Alkohol-(2 : 1)-Extrakt.

Bisher lieferte nur die Fraktion c) beim Stehen in Methanol-Äther 27 mg Krystalle vom Smp. 242—245°, die sich als α -Antiarin erwiesen. Zur Charakterisierung wurde das Benzoat bereitet. Das Genin III konnte nicht erhalten werden.

al-Dihydro-antiarigenin-benzoat (IV)?

Jede der genannten Fraktionen a) und b) sowie die amorphen Anteile von c) wurde für sich benzoylet und lieferte nach üblicher Aufarbeitung (mit Chloroform): a) 112,8 mg; b) 46,3 mg; c) 203,4 mg Rohprodukt.

Das Rohprodukt war bei allen Fraktionen sehr dunkel gefärbt. Die Fraktionen wurden daher zunächst mit Aceton verflüssigt und durch sauber gewaschene Kohle filtriert, doch liessen sich auf diesem Wege nicht alle färbenden Verunreinigungen entfernen. Fraktion c) wurde an 6 g Al₂O₃ chromatographisch gereinigt. Die mit Benzol-Chloroform von 50—100% Chloroformgehalt eluierbaren Anteile (ca. 120 mg) gaben aus Aceton-Methanol eine kleine Menge Spiesse vom Smp. 258—260°, die nach nochmaligem Umkrystallisieren aus Aceton-Äther bei 262—264° schmolzen.

Beim Animpfen der methanolischen Lösung der Fraktion b) mit einer Spur der aus c) erhaltenen Krystalle wurden weitere Mengen des Stoffes vom Smp. 262° erhalten; total ca. 20 mg. Fraktion a) krystallisierte auch nach Chromatographie nicht. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{18} = +6,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1805$ in Aceton).

11,387 mg Subst. zu 1,00293 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = +0,075^\circ \pm 0,01^\circ$
3,788 mg Subst. (Trockn. 3 Std. 100°, Schweinchen) gaben 9,737 mg CO₂ und 2,219 mg H₂O (ETH)

C ₃₇ H ₄₂ O ₈ (630,70)	Ber. C 70,46	H 6,71%
C ₃₇ H ₅₈ O ₁₄ (967,02)	„ „ 70,79	„ 6,04%
	Gef. „ 70,15	„ 6,56%

Obwohl die Analyse relativ gut auf IV stimmte, ist es doch nicht ausgeschlossen, dass in Wirklichkeit ein Anhydro-aldihydro- α -antiarin-tetrabenzoat (C₅₇H₅₈O₁₄) vorlag. Der Stoff gab mit konz. H₂SO₄ eine gelbe Lösung, die über orangebraun (1 min.). Sepia (5 min.), braungelb (15 min.), fahlgelb (30 min.) in indischgelb (1 Std.) überging. Er verhielt sich dabei also fast gleich wie (IX).

Die Mikroanalysen wurden teils im Mikroanalytischen Laboratorium der CIBA (Leitung *H. Gubser*) (*H. G.*), teils im Mikroanalytischen Laboratorium der Eidgen. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *W. Manser*) (ETH), teils bei Herrn *F. Weiser*, Basel (*F. W.*) ausgeführt.

Zusammenfassung.

1. Die alkoholische Lösung des α -Antiarins zeigt im Ultraviolett selektive Absorption mit zwei Maxima, von denen dasjenige bei

217 $m\mu$ einem einfach α , β -ungesättigten Lacton entspricht, dasjenige bei ca. 308 $m\mu$ einer Carbonylgruppe.

2. α -Antiarin gab ein kryst. Tribenzoat, das bei der Dehydrierung mit CrO_3 einen kryst. Neutralstoff lieferte; trotzdem ist die Anwesenheit einer Aldehydgruppe nicht ausgeschlossen.

3. α -Antiarin liess sich mit Na-amalgam zum al-Dihydro- α -antiarin reduzieren, das im Ultraviolett noch die für α , β -ungesättigte Lactone typische Absorption besass und biologisch etwa gleich stark wirksam war wie α -Antiarin. Es lieferte ein kryst. Tetrabenzoat, das bei der Dehydrierung mit CrO_3 unter Verlust von 2 H-Atomen einen Neutralstoff lieferte. α -Antiarin enthält somit eine bei Raumtemperatur nicht benzoylierbare sekundäre HO-Gruppe.

4. Nach der hydrolytischen Spaltung von α -Antiarin mit HCl in Aceton nach *Mannich* und *Siewert* konnte eine kleine Menge eines kryst. Stoffes isoliert werden, der wahrscheinlich Antiarigenin darstellt; er lieferte ein kryst. Monobenzoat. Aus den amorphen Mutterlaugen konnte ein anderes kryst. Benzoat erhalten werden, das wahrscheinlich ein Anhydro- α -antiarin-tribenzoat war.

5. Die zuckerfreien Anteile der analogen Spaltung des al-Dihydro- α -antiarins gaben erst nach Benzoylierung Krystalle. Ihre Analyse passte auf ein al-Dihydro-antiarigenin-dibenzoat.

6. Antiarose, die Zuckerkomponente des α -Antiarins, konnte als D-Gulomethylose identifiziert werden, die damit zum ersten Male in einem Naturprodukt nachgewiesen wurde.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

101. Über eine Semimikro-*Kjeldahl*-Bestimmung des Aminosäure-Stickstoffes

von G. Frey.

(18. II. 48.)

Anlässlich des Studiums von α -Aminosäuren wurde die Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* in unserem Laboratorium neu ausgearbeitet. Für die uns gestellten Aufgaben hat sich der Semimikro-Masstab (1—2 mg N pro Destillation) als praktisch erwiesen.

Um die ursprüngliche *Kjeldahl*'sche Methodik¹⁾ und ihre apparativen Modifikationen nach *I. K. Parnas* und *R. Wagner*²⁾ den Anforderungen des Betriebes anzupassen, wurde speziell die Destillationsapparatur für eine zweckmässige Arbeitsweise umgebaut. Dabei bietet die Verwendung von Wasser mit *Tashiro*-Reagens als

¹⁾ Z. anal. Ch. **22**, 366 (1883).

²⁾ Bioch. Z. **125**, 253 (1921) und Z. anal. Ch. **114**, 261 (1938).