

Ein Beitrag zur Kenntnis von Lanatosid D

Im Rahmen von Untersuchungen über Nebenglykoside, die im natürlichen Lanatosid-Komplex spurenweise vorhanden sind, haben wir im vorigen Jahr eine einheitliche Fraktion gewonnen, die nach der Kristallisation aus wässrigem Methanol eine Substanz vom Smp. 246,2–248,0°C korr. (Zers.) ergab, deren Zusammensetzung mit der Formel $C_{49}H_{76}O_{31}$ übereinstimmte. Diese Werte und das papierchromatographische Verhalten des Präparates sowie der spätere unmittelbare Vergleich haben gezeigt, dass der in unseren Versuchen isolierte Stoff mit dem von ANGLIKER *et al.*¹ kürzlich beschriebenen Lanatosid D identisch ist².

Nun wurde eine präparative Methode ausgearbeitet, die uns ermöglichte, eine grössere Menge von Lanatosid D (1,04 g) in reinster Form zu gewinnen. Aus dem rohen Lanatosid-C-Präparat wurde durch Gegenstromverteilung im System Chloroform-Dichlorethan-Methanol-Wasser (4:1:3:2) eine an stärker polare Kardenolide relativ reiche Fraktion abgetrennt. Aus diesem Gemisch wurde dann durch Verteilungschromatographie an einer Kieselsäuresäule (Wasser als stationäre, wassergesättigtes Chloroform mit 4–6% Butanol als mobile Phase) Lanatosid D in einheitlicher Form isoliert.

Im Zusammenhang mit diesen Versuchen wurde auch durch milde Verseifung der Acetylgruppe mittels $KHCO_3$ ³ kristallinisches Desacetyllanatosid D vom Smp. 249,7 bis 253,4°C korr. (Zers.) dargestellt.

Zur besseren Beurteilung der ständigen Lanatosid-C-Begleitsubstanz wurden eingehende pharmakologische Untersuchungen von Lanatosid D herangezogen, denn unseres Wissens wurde bisher nur seine Toxizität an der Katze nach der modifizierten Hatterschen Methode bestimmt¹. Aus der Reihe von Versuchen, die wir mit unserem Lanatosid D vorgenommen haben, können hier kurz einige Resultate referiert werden.

Am isolierten, mit elektrischem Strom gereizten Katzenpapillarmuskel nach CATTELL und GOLD⁴ wirkt Lanatosid D in einer Konzentration von 10^{-7} . Im Vergleich mit Lanatosid C beträgt dessen Wirksamkeit 85%, mit Verlässlichkeitsgrenzen 65–105%. Die an Meerschweinchen bestimmte, mittlere letale Dosis bei der Infusionsgeschwindigkeit 0,01 mg/min war $1,976 \pm 0,04$ mg/kg, die letale Dosis von Lanatosid C war $0,757 \pm 0,02$ mg/kg. Subkutan verursacht Lanatosid D in der Dosis von 2,4 mg/kg eine 100%ige Mortalität innerhalb von 60 bis 70 min.

In einem weiteren Versuch wurde Lanatosid D Meerschweinchen subkutan in einer Menge, die 15% der intravenösen, das heisst 12,5% der sicher letalen subkutanen Dosis entspricht, während 5 Tagen injiziert. Am 6. Tage wurde die mittlere letale Dosis bestimmt; es konnte keine statistisch auswertbare Kumulation nachgewiesen werden wie bei Lanatosid C. Die enterale Resorption war unzuverlässig, da 4 h nach intraduodenaler Verabreichung der intravenösen letalen Dosis nur 10% resorbiert wurden.

Der chronische Versuch wurde in drei Gruppen mit je 5 Tieren eingeteilt. Die Meerschweinchen erhielten 23

Tage lang dreimal wöchentlich subkutan 36, bzw. 18 oder 9% der intravenösen letalen Dosis, was 30, bzw. 15 und 7,5% der sicher letalen subkutanen Dosis entspricht. Nach den höchsten Dosen wurde 1 h nach der Injektion Muskelschwäche und Zittern beobachtet, das bis 4 h lang andauerte. Nur in dieser Gruppe starb nach der 10. Injektion ein Tier. Der Gewichtsanstieg war in allen Gruppen etwas geringer als bei den Kontrolltieren. Auf Grund des Vergleichs mit den Resultaten von SUTTER⁵ und ROTHLIN⁶, bei welchen die Katzen durchschnittlich 4,7 Injektionen der 36%igen Hatcher-Dosis und 4,7 Injektionen der 28,6%igen letalen Dosis von Lanatosid C überlebten, scheint es uns, dass im chronischen Versuch Lanatosid D weniger toxisch wirkt.

Die bisherigen Untersuchungen zeigen, dass die Eigenschaften von Lanatosid D im Tierversuch erfolversprechend sind.

ALENA KOVAŘIKOVÁ, J. PITRA und Z. ČEKAN

Forschungsinstitut für Heilpflanzen in Prag (Tschechoslowakei), 13. Oktober 1958.

Summary

A preparative method for the isolation of lanatoside D has been developed, and fundamental pharmacological characteristics of the pure compound have been established.

The genuine glycoside has been converted to desacetyllanatoside D.

¹ E. SUTER, E. ROTHLIN und E. BIRCHER, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 7, 1 (1949).

⁶ E. ROTHLIN und E. BIRCHER, *Ergebn. inn. Med.* 5, 457 (1954).

Production of Spinal Curvatures in Rats by Chemically Dissimilar Substances¹

Severe kyphoscoliosis is a prominent feature of osteolathyrism² produced in weanling rats by feeding diets containing sweet peas (*Lathyrus odoratus*), β -aminopropionitrile (BAPN), or aminoacetonitrile. Pertinent references are given in recent reviews²⁻⁴. Recently it has been demonstrated that β -mercaptoethylamine⁵⁻⁷, cystamine⁶, semicarbazide^{8,9}, and acetone semicarbazone⁹, when fed to weanling rats, produce skeletal and aortic lesions resembling those of osteolathyrism. All these substances

¹ This investigation was supported in part by Research Grant A-1427 from the National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases, National Institutes of Health, U. S. Public Health Service. The authors also gratefully acknowledge generous gifts of BAPN acid fumarate by Dr. D. V. FROST of Abbott Laboratories, North Chicago, Ill. – These results were presented in part at the annual meeting of the American Institute of Nutrition, April 1958: W. DASLER and R. V. MILLISER, *Fed. Proc.* 17, 474 (1958).

² H. SELVE, *Rev. canad. Biol.* 16, 1 (1957).

³ W. DASLER, *Chicago Med. School Quart.* 18, 1 (1957).

⁴ F. M. STRONG, *Nutrition Rev.* 14, 65 (1956).

⁵ W. DASLER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N. Y. 88, 196 (1955).

⁶ W. DASLER and R. V. MILLISER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, N. Y. 98, 759 (1958).

⁷ P. RAMAMURTI and H. E. TAYLOR, *Amer. Med. Assoc. Arch. Path.* 66, 270 (1958).

⁸ W. DASLER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 97, 112 (1958).

⁹ R. V. MILLISER and W. DASLER, *Amer. Med. Assoc. Arch. Path.*, In press.

¹ E. ANGLIKER, F. BARFUSS, W. KUSSMAUL und J. RENZ, *Liebigs Ann.* 607, 131 (1957).

² Wir danken noch an dieser Stelle Herrn Dr. ANGLIKER für den liebenswürdigst ausgeführten Beweis durch Vergleich beider Präparate.

³ T. REICHSTEIN und J. VON EUW, *Helv. chim. Acta* 21, 1181 (1938).

⁴ McK. CATTELL und H. GOLD, *J. Pharmacol. exper. Therap.* 71, 14 (1941).