

424. W. Voss und G. Vogt: Über Convallamarin.

[Aus d. Organ.-chem. Institut d. Universität u. d. Techn. Hochschule Breslau.]

(Eingegangen am 12. September 1936.)

Über die glykosidischen Inhaltsstoffe des Maiglöckchens, *Convallaria majalis*, ist in chemischer Beziehung verglichen mit den bekannten Herzgiften anderer Pflanzen recht wenig bekannt. In der Therapie spielt die *Convallaria* bisher auch kaum eine Rolle, obwohl sie ein altes Volksmedikament ist. Erst in letzter Zeit ist das Interesse etwas größer geworden¹⁾, besonders nachdem es W. Karrer²⁾ gelungen war, aus Blüten als herzwirksame Substanz das Convallatoxin krystallin zu gewinnen. Durch eine Arbeit von R. Tschesche und W. Haupt³⁾ sind wir über den chemischen Aufbau dieser an Wirksamkeit alle bisher bekannten Stoffe weit überragenden Substanz näher unterrichtet.

Wir haben uns seit einiger Zeit näher mit den Inhaltsstoffen aus *Convallaria majalis* und *Adonis vernalis* beschäftigt und berichten zunächst über unsere Ergebnisse beim Convallamarin, einem an und für sich auf das Herz nicht wirksamen Glykosid. Daß ähnlich wie bei der Digitalis auch bei der *Convallaria* glykosidische Begleitstoffe zum Teil von Saponin-Charakter neben dem Convallatoxin vorkommen, haben ältere Untersuchungen⁴⁾ schon gezeigt. Erwähnt werden ein Convallamarin und ein Convallarin⁵⁾, die sich in der pharmakologischen Wirkung und auch im chemischen Verhalten unterscheiden. Die Einheitlichkeit der zu den jeweiligen Untersuchungen verwandten Produkte ist z. Tl. aus den Angaben nicht deutlich ersichtlich oder bei anderen erkennbar nicht vorhanden, so daß sich kein klares Bild ergibt. Starkes Schäumen der wäßrigen Lösungen und starke Hämolyse sind vorzugsweise bei den als Convallarin bezeichneten Stoffen gefunden worden, während sogenanntes Convallamarin diese Eigenschaften schwächer zeigte. Ob die ebenfalls nur beim Convallarin gefundene Herzwirksamkeit der Substanz selbst eigen ist oder nur auf beigemengtes Convallatoxin zurückgeht, kann erst die nähere Untersuchung zeigen.

Wir haben aus dem käuflichen Convallamarin-Merck, das nach Mitteilung der Firma Merck aus Wurzeln gewonnen ist, ein einheitliches Produkt gewinnen können, für das wir mit Rücksicht auf die bisherige Literatur, auf Grund seiner Eigenschaften und weil es den Hauptbestandteil des Handelsproduktes ausmacht, den Namen Convallamarin beibehalten haben. Bei der Isolierung des Produktes sind verschiedene Verfahren nacheinander zur Anwendung gekommen, wobei bei dem Entmischungsverfahren durch Verteilung zwischen Butanol und Wasser die größere Löslichkeit von Begleitstoffen in Wasser ausgenutzt wurde, und bei der anschließenden partiellen Adsorption an A-Kohle die geringere Oberflächenaktivität des Convallamarins

¹⁾ K. Fromherz u. A. Welsch, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **1931**, 161, 266; B. Welker, Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **1932**, 168, 731; W. Straub, Münch. med. Wchschr. **10**, 386 [1936].

²⁾ Helv. chim. Acta **12**, 506 [1929].

³⁾ B. **69**, 459 [1936].

⁴⁾ s. dazu die Literaturübersicht bei E. Hirschberg, Beiträge zur Kenntnis der Pharmakologie des Maiblümchens in R. Kobert, Neue Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen, Stuttgart 1917, II, S. 56.

⁵⁾ s. Merck's Index, 6. Aufl. [1929], S. 132.

maßgebend war. Bei der fraktionierten Fällung aus Methanol mit Äther wurde die geringere Löslichkeit in Äther verwandt.

Es wurde dabei ein Produkt mit konstanter spezifischer Drehung erhalten, das aber bis jetzt noch nicht krystallin zu gewinnen war. Zur Prüfung auf Einheitlichkeit wurde so vorgegangen, daß von einem Produkt durch Fällung aus Methanol mit Äther zum Unterschied von der Anwendung des Verfahrens bei der Gewinnung nur ein geringer Anteil (8%) abgeschieden wurde und dann die spezif. Drehungen des Ausgangsproduktes, des durch Fällung erhaltenen Anteils und schließlich die des Rückstandes miteinander verglichen wurden. Bei einer anderen Probe wurde aus einer methanolischen Lösung mit A-Kohle die Hauptmenge adsorbiert und die spezif. Drehung des nicht adsorbierten Restes (etwa $\frac{1}{4}$) mit der des Ausgangsproduktes verglichen. In allen Fällen ergaben sich aber keine außerhalb der Fehlergrenzen liegenden Unterschiede der Drehwerte. Bei der pharmakologischen Prüfung⁶⁾ ergab sich eine so geringe Herzwirksamkeit, daß sie praktisch vernachlässigt werden kann. Nimmt man an, daß der gefundene Wert von nur 1250 F.D./g⁷⁾ auf etwa noch beigemengtes Convallatoxin zurückgeht, so würde sich aus dem von W. Karrer⁸⁾ mitgeteilten Wert von 3000—3500 F.D./mg ein Gehalt von 0.04% ergeben. Wir nehmen weiter auch nicht an, daß die für das reine Convallamarin noch gefundenen Werte der Hämolyse und Schaumzahl der Substanz selbst zukommen, sondern daß sie einen Restgehalt an Convallarin, des eigentlichen Saponins der Convallaria, anzeigen. Veranlaßt werden wir zu der Annahme, daß Hämolyse und Schaumzahl des Ausgangsmaterials (Convallamarin-Merck) und der gereinigten Substanz auf die gleiche Komponente zurückgehen, durch die angenäherte Konstanz des Koeffizienten von hämolytischem Index und Schaumzahl. Eine Überschlagsrechnung auf Grund der Hämolyse zur Ermittlung des vermuteten Restgehalts an Convallarin im Convallamarin ist etwas unsicher, da hämolytische Wertbestimmungen für reinstes Convallarin noch nicht vorliegen. Aus den von E. Hirschberg angegebenen Werten für vorgereinigtes Convallarin würde sich für das gereinigte Convallamarin ein Saponingehalt von etwa 0.3% ergeben. Man würde somit für das Convallamarin einen Reinheitsgrad von etwa 99.5% anzunehmen haben. Wieweit durch die geringe Menge an Beimengungen eine Beeinflussung des Drehwertes erfolgt, läßt sich nicht sagen, da der Drehwert von reinem Convallarin noch nicht bekannt ist; Convallatoxin ist nach R. Tschesche und W. Haupt optisch inaktiv.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der pharmakologischen Prüfung ist der Legal-Test negativ⁹⁾ und keine Lactongruppe vorhanden, auch war mit Cholesterin keine Verbindung zu erhalten. Aus den Werten der Elementaranalyse ergibt sich für das Convallamarin die Formel $C_{44}H_{70}O_{19} + 3H_2O$ ¹⁰⁾ mit einer durch Hydrierung bestimmten Doppelbindung im Molekül. Als Zucker sind 2 Mol. *l*-Rhamnose und 1 Mol. *d*-Glucose enthalten. *l*-Rham-

⁶⁾ Diese Versuche sind von Hrn. Prof. Dr. E. Hesse, Breslau, durchgeführt, dem wir zu großem Dank verpflichtet sind.

⁷⁾ F. D. = Frosch-Dosis (kleinste Substanz-Menge, die bei subcutaner Injektion auf 1 g Frosch tödlich wirkt). ⁸⁾ Helv. chim. Acta **12**, 506 [1929].

⁹⁾ W. A. Jacobs u. A. Hoffmann, Journ. biol. Chem. **74**, 787 [1927].

¹⁰⁾ Zum Wassergehalt von Rhamnosiden: M. Bridel u. C. Charaux, Compt. rend. Acad. Sciences **191**, 1374 [1930]; A. Robertson u. R. B. Waters, Journ. chem. Soc. London **1931**, 1881.

nose ist nach R. Tschesche und W. Haupt auch die Zuckerkomponente des Convallatoxins, und in dem Scillaren aus der Meerzwiebel, die wie Mairglöckchen ebenfalls zu der Pflanzenfamilie der Liliaceen gehört, haben A. Stoll¹¹⁾ und Mitarbeiter ein Mol. *l*-Rhamnose und 1 Mol. *d*-Glucose gefunden.

Die Abspaltung der Zucker mit wäßrigen Säuren ist beim Convallamarin nicht empfehlenswert. Diese Erfahrung ist mehrfach schon bei anderen Rhamnosiden gemacht worden, so z. B. beim Ouabain¹²⁾. Entweder wird das primär gebildete Aglykon im Laufe der Hydrolyse sekundär so verändert, daß aus dem entstandenen Gemisch krystalline Produkte nicht oder nur schwierig zu gewinnen sind oder partiell entzuckerte Produkte mit geringer Löslichkeit werden von wasserunlöslichen Aglykanteilen adsorptiv mitgerissen. Auch R. Tschesche und W. Haupt haben bei der Spaltung des Convallatoxins mit wäßrig-alkoholischer Säure das Convallatoxigenin nur als Benzoat krystallin gewinnen können. Bei der Hydrolyse des Convallamarins in der meist üblichen Konzentration an Glykosid und Säure ist die abgespaltene Zuckermenge unzureichend, das angefallene rohe Aglykon noch kohlehydrathaltig, seine Menge dementsprechend auch zu hoch. Das durch Hydrolyse gewonnene Convallamaretin krystallin zu gewinnen, gelang auch nicht, selbst nachdem Impfkristalle aus anderer Darstellung zur Verfügung standen. Man ist aber trotzdem nicht berechtigt, auf eine schwere Spaltbarkeit des Convallamarins zu schließen, denn wenn man in sehr verdünnter Lösung (etwa 20-fach) arbeitet, gelingt die quantitative Abspaltung der Zucker in einer Operation, die Aufarbeitung wird durch die größeren Mengen aber erschwert.

Einen Hinweis auf das günstigste Spaltungsverfahren hat aber eine Beobachtung gebracht, die im Laufe der zahlreichen Vorversuche zur Ausarbeitung eines Trennverfahrens für das Roh-Convallamarin gemacht wurde. Gelegentlich wurde eine schon reine Probe vom Convallamarin in Äthylalkohol der gewöhnlichen Handelsqualität gelöst und nach Rückgewinnung der Substanz eine Änderung der spezifischen Drehung beobachtet, die auf eine Spaltung des Glykosids durch Alkoholyse hindeutete, besonders nachdem im verwendeten Alkohol ein geringer Säuregehalt festgestellt war und diese Drehwertsänderungen in säurefreiem Alkohol ausblieben. In einer Mitteilung von W. Voss und W. Wachs¹³⁾ ist an Modellsubstanzen gezeigt worden, daß die Alkoholyse von glykosidischen Bindungen¹⁴⁾ gelegentlich über 100-mal so schnell verlaufen kann als die Hydrolyse.

¹¹⁾ Helv. chim. Acta **16**, 703 [1933].

¹²⁾ A. Jacobs u. Bigelow, Journ. biol. Chem. **99**, 647 [1932].

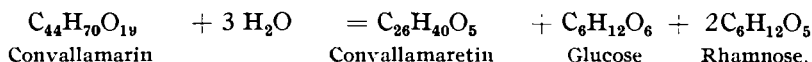
¹³⁾ A. **522**, 240 [1936].

¹⁴⁾ In der 2. Veröffentlichung über Glykosid-spaltungen in nichtwäßrigen Medien von W. Voss u. Mitarbeitern (A. **522**, 261 [1936]) war bei der Erörterung einer Arbeit von F. Micheel und O. Littmann (A. **466**, 115 [1926]) als Ansicht der beiden letzteren Autoren die Annahme von freien reduzierenden Zuckern als primären Produkten bei der Alkoholyse von Disacchariden angeführt worden. Hr. Prof. Micheel, Münster, teilt dazu mit: „daß W. Voss und Mitarbeiter in einen aus unserer Arbeit zitierten Satz einen Sinn hineinlegen, der, wie aus dem Zusammenhange hervorgeht, in unserer Mitteilung keineswegs enthalten ist. Wie aus unserer Mitteilung, S. 120, unterster Absatz, ohne weiteres zu entnehmen ist, ist mit „Tetramethyl-galaktose“ nichts anderes als der Tetramethyl-galaktose-Rest gemeint. Es handelt sich um eine vielleicht nicht ganz korrekte, aber durchaus übliche Ausdrucksweise, ähnlich, wie man z. B. bei einer alka-

Wir möchten an dieser Stelle darauf aufmerksam machen, welche Bedeutung eine sicher bisher unterschätzte Alkoholyse der glykosidischen Bindung bei der Gewinnung von natürlichen Glykosiden aus pflanzlichem Material haben kann, besonders wenn das Arbeitsziel auf die Gewinnung genuiner Produkte gerichtet ist. Man hat, sobald z. B. Methanol oder Äthanol als Extraktionsmittel oder Lösungsmittel im Laufe von Reinigungsoperationen verwandt werden, nicht nur auf die Säurefreiheit des verwendeten Alkohols zu achten, sondern auch für eine Bindung der u. a. freigelegten Pflanzensäuren durch einen geeigneten Zusatz zu sorgen.

Als bestes Spaltungsverfahren für das Convallamarin hat sich ein mehrtägiges Stehenlassen in 2-proz. methanolischer Salzsäure bei 35° erwiesen, wobei eine quantitative Abspaltung der Zucker als Methylglykoside erfolgt und auch gleichzeitig das Aglykon geschont wird, so daß z. B. keine zu einer neuen Doppelbindung führende Wasser-Abspaltung dabei auftritt und eine Gewinnung von krystallinem Convallamaretin möglich ist¹⁵⁾.

Das Convallamaretin besitzt wie das Convallamarin nur eine Doppelbindung. Bei der Bestimmung von aktivem Wasserstoff nach Zerewitinoff waren auch bei höherer Temperatur nur 2 Hydroxylgruppen nachzuweisen; Carbonylgruppen fehlten. Mol.-Gew. nach Rast: etwa 400. Die bisherigen Analysenwerte stimmen am besten auf die Formel $C_{26}H_{40}O_5$ (432.3), die auch den Berechnungen im Versuchsteil zu Grunde gelegt ist. Es besteht weiter Übereinstimmung mit der Formel des Convallamarins, dessen Spaltung durch die folgende Bruttogleichung darzustellen ist:



Neben der Formel mit 26 C-Atomen wären noch in Betracht zu ziehen $C_{25}H_{38}O_5$ (418.3) und $C_{27}H_{42}O_5$ (446.3). Entsprechende Formeln mit nur 4 O-Atomen, die wegen anderer Umstände vielleicht zu erwägen wären, scheiden wegen der abweichenden Kohlenstoffwerte aus. Es steht aber fest, daß das keinen Lactonring führende Convallamarin ein höheres Molgewicht und eine größere Zahl von C-Atomen aufweist als das herzwirksame Convallatoxin, das nach R. Tschesche und W. Haupt ebenfalls wie das Digitoxin 23 C-Atome besitzt. Ähnlich wie R. Tschesche beim Convallatoxin wird man beim Convallamarin als Arbeitshypothese eine gewisse Analogie mit der Digitonin-Gruppe annehmen können, trotzdem die bestehenden Unterschiede (Hämolyse, Schaumzahl) nicht übersehen werden dürfen. Bei einem Cyclo-

lischen Verseifung von der gebildeten Säure und dem Alkohol sprechen kann, ohne immer ausdrücklich zu sagen, daß diese als Salz bzw. Alkoholat vorliegen. Der von W. Voss angenommene Sinn tritt dann erst ein, wenn man die Wortendung „galaktose“ kursiv setzt, wie er es tut, als er uns zitiert, obgleich es an der sonst wörtlich zitierten Stelle unserer Arbeit nicht so steht (S. 120, Zeile 2 von unten). Wir wollten, wie ich ausdrücklich betonen muß, und wie es aus dem ganzen übrigen Inhalte auch hervorgeht, nicht die Bildung eines freien Zuckers als Zwischenstoffe fordern.“ Nach dieser Mitteilung von Hrn. Prof. Micheel sind die auf S. 265 der Arbeit von W. Voss, H. Heisig und W. Wachs, im 2. und 3. Abschnitt angeführten Erörterungen über die Annahme von freien Zuckern hinfällig geworden.

¹⁵⁾ Das Verfahren hat sich ebenfalls bei der Uronsäure enthaltenden Glycyrrhizinsäure bewährt und beim Adonidin, das eine Desoxy-pentose enthält. Die Einzelheiten werden demnächst mitgeteilt werden.

pentano-perhydrophenanthren-Skelett ergeben sich, sobald ebenfalls wie im Digitonin 2 am Phenanthrenteil haftende quartäre C-Atome angenommen werden, gewisse Schwierigkeiten für die Unterbringung der restlichen 3 O-Atome. Bisher ist z. B. beim Digitogenin und Gitogenin an der am Cyclopentanring haftenden Kette mit 7 C-Atomen eine Kombination von 2 Oxydringen¹⁶⁾ beobachtet worden. 3 Oxydringe wären völlig neu und führen auch zu gewissen Schwierigkeiten, besonders natürlich bei einer Formel mit nur 25 C-Atomen. Dazu kommt, daß bei 3 Oxydringen von den Formeln der gesättigten Grenzkohlenwasserstoffe immer 16 H-Atome in Abzug zu bringen wären, was zu den Formeln $C_{25}H_{36}O_5$, $C_{26}H_{38}O_5$ und $C_{27}H_{40}O_5$ führen würde, die von den Werten der Elementaranalyse zu weit abweichen. Eine genaue Festlegung der Formel des Convallamaretins ist durch das Fehlen einer Carboxylgruppe erschwert, eine Klärung muß dem Studium von Abbaustoffen vorbehalten bleiben. Auf Grund der bisherigen Ergebnisse bevorzugen wir die benutzte Formel $C_{26}H_{40}O_5$ und nehmen dabei an, daß nur 2 Oxydringe vorhanden sind. Die übrigen 3 O-Atome liegen in Form von Hydroxylgruppen vor, von denen aus bisher unbekanntem Gründen bei der Bestimmung nach Zerewitinoff nur 2 in Reaktion getreten sind.

Beschreibung der Versuche.

Das Ausgangsmaterial Convallamarin-Merck ist ein schwach gelbliches Pulver. Gut löslich in Wasser, Methanol und Äthanol; wenig löslich in *n*-Butanol, Essigester und Aceton; kaum löslich in Chloroform und Äther. Beim Trocknen im Vakuum bei 80° über P_2O_5 etwa 6% Abnahme. $[\alpha]_D^{20}$: —48 bis —49° in Methanol. Wäßrige Lösungen schäumen stark. Schaumzahl nach L. Kofler¹⁷⁾: 1:20000. Hämolyse an gewaschenen Hammelblutkörperchen: 1:4000 komplett; 1:8000 keine Hämolyse. Herzwirksamkeit: 125000 F.D./g.

Trennungsgang zur Gewinnung eines einheitlichen Glykosids.

A) Entmischung mit Butanol/Wasser: Eine 2-proz. wäßr. Lösung des Handelsproduktes wurde mit dem gleichen Volumen *n*-Butanol gründlich durchgeschüttelt, die abgetrennte Butanolschicht 2-mal mit dem gleichen Volumen Wasser behandelt, die wäßr. Lösungen vereinigt und diese Lösung wieder 2-mal mit dem gleichen Volumen an frischem Butanol ausgeschüttelt. Butanolauszüge dann ebenfalls vereinigt. Beim Durchschütteln der wäßr. Lösungen mit Butanol bilden sich besonders am Anfang Emulsionen, die sich nur langsam in 2 Schichten trennen. Durch Zugabe einer sehr geringen Menge Aceton kann die Trennung beschleunigt werden, erfordert aber noch mehrere Stunden.

Der Rückstand der wäßr. Lösung mit der spezif. Drehung $[\alpha]_D^{19}$: —28.0° wurde nicht weiter untersucht.

Der Rückstand aus Butanol mit $[\alpha]_D^{20}$: —52.1° wurde in Methanol gelöst und die etwa 5-proz. methanolische Lösung mit Petroläther (50—70°) zur Entfernung von Fettstoffen ausgeschüttelt. Aus Petroläther etwa 1% Fettstoffe.

B) Behandlung mit Aktivkohle: Die methanolische, noch Reste Petroläther enthaltende Lösung wurde zur Entfernung des Petroläthers im

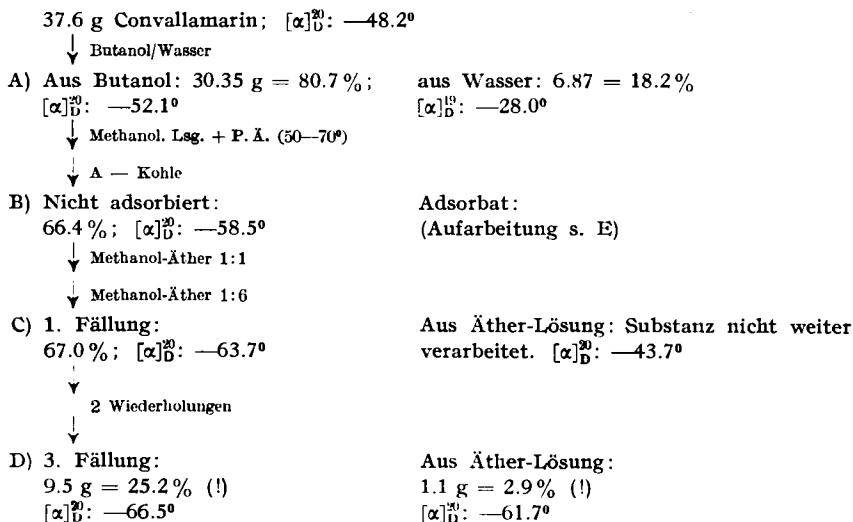
¹⁶⁾ H. Lettré u. H. H. Inhoffen: Über Sterine, Gallensäuren usw., Stuttgart 1936, S. 156.

¹⁷⁾ Die Saponine [1927], S. 53.

Vakuum bei niedriger Temperatur eingeengt und das Konzentrat durch Zugabe von Methanol auf einen Substanzgehalt von 2% gebracht. Zur Adsorption von niedrigdrehenden Anteilen wurde bei Zimmertemperatur A-Kohle (Supranorit) in einer Menge von etwa 70% der gelösten Substanz eingerührt. Nach 3 Stdn. Filtration zeigte der im Methanol verbliebene und nicht adsorbierte Anteil $[\alpha]_D^{20}$: -58.5° .

C) Umfällung aus Methanol/Äther: Die auf etwa 2% Substanzgehalt gebrachte methanolische Lösung von B wurde mit dem gleichen Volumen Äther versetzt. Die wenigen Substanzflocken mit Spuren von Tierkohleresten wurden nach dem Filtrieren verworfen. Nach Zugabe weiterer Äthermengen (6:1) rein weiße Fällung ($[\alpha]_D^{20}$: -63.7°). Der im Methanol-Äthergemisch verbliebene Anteil hatte die spezif. Drehung $[\alpha]_D^{20}$: -43.7° . Nach weiterem 2-maligen Umfällen der ersten Fällung aus Methanol/Äther, wobei die Lösungsmittelmengen der noch vorhandenen Substanzmenge angepaßt wurden, stieg die spezif. Drehung der Fällung auf $[\alpha]_D^{20}$: -66.5° ; eine weitere Steigerung war nicht möglich. Die Menge der aus den Fällungsmutterlaugen gewinnbaren Anteile fiel dabei ständig, nach der 3. Fällung auf etwa 10% des mit Äther gefällten Anteils, die spezif. Drehungen stiegen ständig an und hatten nach der 3. Fällung mit $[\alpha]_D^{20}$: -61.7° schon weitgehend den Wert des gefällten Anteils $[\alpha]_D^{20}$: -66.5° erreicht.

D) Schema der Aufarbeitung für 40.0 g Convallamarin-Merck (die unter Berücksichtigung der enthaltenen Feuchtigkeit 37.6 g wasserfreier Substanz entsprachen): Die angegebenen Prozentzahlen der Ausbeuten sind an bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Produkten ermittelt worden. Mit Ausnahme der für die Endprodukte angegebenen Ausbeuten, die auf das Ausgangsmaterial bezogen sind, geben die Zahlen die bei den jeweiligen Operationen wieder erhaltenen Mengenanteile an. Bei mehrfachen Wiederholungen mit z. Tl. größeren und auch kleineren Ansätzen ergaben sich nur sehr geringe Unterschiede; so wurden ausgehend von 60 g Roh-Convallamarin 15.14 g (26.8%) Endprodukt mit $[\alpha]_D^{20}$: -66.4° erhalten.



E: 60 g A-Kohle, die zur Adsorption aus Methanol benutzt waren (s. unter B) wurden 4 Tage im Soxhlet heiß mit Methanol extrahiert. Dabei

extrahiert 9 g, die etwa 27% der von der Kohle vorher adsorbierten Menge ausmachten. Die regenerierte Menge wurde nach dem angegebenen Schema (bei B beginnend) aufgearbeitet. Erhalten 4.38 g Reinprodukt mit $[\alpha]_D^{20}$: -67.1° . Auf eine entsprechende Ausgangsmenge von etwa 90 g Convallamarin bezogen also 4.9%, so daß sich eine Gesamtausbeute an einem einheitlich drehenden Glykosid von etwa 30% ergab.

F) Spaltung in Äthylalkohol als störende Nebenreaktion: a) 14.5 g eines im Laufe von Fraktionierungsversuchen erhaltenen Produktes mit $[\alpha]_D^{20}$: -64.0° waren in 725 ccm 96-proz. Äthylalkohol der handelsüblichen Qualität heiß gelöst und die Lösung auf die Hälfte eingeeengt worden. Beim Abkühlen schied sich ein Teil der Substanz amorph an der Gefäßwand ab. Lösung abgossen und im Vakuum abgedampft. Amorphe Abscheidung nach dem Trocknen: 5.2 g; $[\alpha]_D^{20}$: -57.8° in Methanol. Aus alkohol. Lösung: 9.1 g; $[\alpha]_D^{20}$: -52.5° .

b) 0.5 g Convallamarin, $[\alpha]_D^{20}$: -64.0° , wurden 2-mal im Vakuum mit je 25 ccm des gleichen Äthylalkohols abgedampft: $[\alpha]_D^{20}$: -54.7° .

c) 0.5 g Convallamarin, $[\alpha]_D^{20}$: -64.0° , zeigten nach 4-maligem Abdampfen mit je 25 ccm Äthylalkohol $[\alpha]_D^{20}$: -52.3° . Rückstand nicht mehr vollständig in Methanol löslich.

d) Der verwandte Äthylalkohol gab mit fuchsinschweflicher Säure eine schwache Rosafärbung und bei Titration mit wäßr. Alkali einen geringen Gehalt an Säure. Bei Wiederholung der Versuche unter b) und c) mit säurefreiem Alkohol wurde keine Herabsetzung der Drehwerte mehr beobachtet.

Convallamarin.

Da Versuche zur Krystallisation ohne Erfolg blieben, wurde das nur schwach gelbliche amorphe Pulver verwendet, dabei aber nur Produkte, die die Mindestdrehung $[\alpha]_D$: -66° zeigten. Geschmack süß mit schwachem bitteren und adstringierendem Beigeschmak. Gut löslich in Wasser, Methanol, Eisessig, löslich in Äthylalkohol, weniger leicht löslich in Butanol, Essigester, kaum löslich in Chloroform, Aceton, Äther, vollkommen unlöslich in Benzol und Petroläther. Das amorphe Produkt ist hygroskopisch und hält Reste von Wasser und Methanol sehr fest. Eine aus Methanol erhaltene Substanz gab auch beim Trocknen im Hochvakuum bei 78° festgehaltenes Methanol nicht völlig ab, so daß bei der Methoxylbestimmung ein Gehalt von 2% vorgetäuscht wurde. Erst nach mehrmaligem Abdampfen mit reinem destilliertem Wasser im Vakuum bei 60° und anschließender Trocknung erfolgte ein Absinken des Methoxylwertes auf 0.6%.

30.609, 30.37 mg Sbst.: 62.45, 61.62 mg CO_2 , 22.15, 21.28 mg H_2O .

$\text{C}_{44}\text{H}_{70}\text{O}_{19} + 3 \text{H}_2\text{O}$ (956.59). Ber. C 55.20, H 8.01.

Gef. „ 55.64, 55.34, „ 8.10, 7.84.

Prüfungen auf Einheitlichkeit.

a) Partielle Fällung mit Äther: 0.4 g Convallamarin, $[\alpha]_D^{20}$: -66.5° in 20 ccm Methanol und Fällung mit 20 ccm Äther. Gewicht der Fällung: 0.032 g = 8%; $[\alpha]_D^{20}$: -66.7° ($\alpha = 0.67^\circ$, 1 dm, $c = 1.005$). Aus der Lösung: 0.36 g = 90%. $[\alpha]_D^{20}$: -66.2° ($\alpha = -2.17^\circ$, 2 dm, $c = 1.64$).

b) Unvollständige Adsorption an Aktivkohle: 0.5 g, $[\alpha]_D^{20}$: -66.5° , in 25 ccm Methanol und 3 Stdn. mit 1 g Supranorit durchgerührt. Aus filtrierter Lösung als Rückstand: 0.12 g = 24%; $[\alpha]_D^{20}$: -66.4° ($\alpha = -2.75^\circ$, 2 dm, $c = 2.07^\circ$).

Reaktionen: Mit Bleiacetat und bas. Bleiacetat keine Fällung; mit verd. Mineralsäuren in der Kälte Rotfärbung, nach Erwärmen mit Säuren

positive Fehling-Probe. Bialsche Orcin-Probe auf Pentosen stark positiv, bei der Reaktion nach Keller-Kiliani Rotfärbung des Eisessigs. Legal-Test negativ. Mit Cholesterin auch bei weitgehender Variation der Bedingungen keine Verbindung zu erhalten. Schaumzahl: 1:1000. Herzwirksamkeit fehlt praktisch, am gefensternten Frosch wurde ein Wert von 1250 F. D./g ermittelt. Hämolyse an gewaschenen Hammelblutkörperchen: Bei 1:500 Beginn, bei 1:250 nach 24 Stdn. komplett.

Bei Lacton-Titrationen kein Verbrauch an Alkali.

Bei der katalytischen Hydrierung mit Platinoxid (25 mg) in 7 ccm Eisessig nahmen 0.1011 g Subst. in 15 Stdn. 2.45 ccm Wasserstoff auf (16.5°, 747 mm), gleich 0.96 Mol. H₂ ber. bei einem Mol.-Gew. von 956.59.

Spaltung des Convallamarins.

a) Hydrolyse: 6.42 g Convallamarin wurden in 200 ccm 2-proz. wäbr. Salzsäure auf dem Wasserbade erwärmt. Nach 5 Min. trübte sich die rote Lösung und später setzte sich an der Kolbenwand eine zähhaftende Abscheidung ab. Nach 8 Stdn. wurde abfiltriert und das Genin gut mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über P₂O₅ bei 80°: 3.49 g = 54.3% (ber. 45.2%). Spaltung nicht vollständig, da nach Erwärmen mit konz. Salzsäure positive Fehling-Reaktion. Restgehalt an Kohlehydrat wird nicht adsorbiert sein, da die Geninmenge erheblich zu hoch.

Die wäbr. Lösung der abgespaltenen Zucker wurde nach der Zugabe des Waschwassers mit Silbercarbonat entsäuert. Beim Einengen des klaren, farblosen Filtrats im Vakuum Bildung von kolloidalem Silber und später tief schwarze Abscheidungen. Lösung mit Schwefelwasserstoff entsilbert, Schwefelwasserstoff in der üblichen Weise entfernt. Nach Abdampfen und Trocknen im Vakuum: 2.35 g = 36.6% eines zähen Sirups, der später glasig hart wurde.

b) Alkoholyse: 10 g Convallamarin wurden in 150 ccm 2-proz. methanolischer Salzsäure 8 Tage bei 35° im Brutschrank stehengelassen. Aus der roten Lösung waren dabei 200 mg rein weiße Kryställchen ausgefallen, die nach Waschen mit kaltem Methanol zwischen 239 und 240° (unkorr.) schmolzen. Spaltungsflüssigkeit mit Silbercarbonat entsäuert, das hellgelbe Filtrat konzentriert und in die 10-fache Menge Wasser gegossen. Das Genin wurde nach mehrstündigem Stehen durch Zentrifugieren abgetrennt: 4.2 g (93%), Die wäbr.-alkohol. Lösung im Vakuum zu einem hellgelben Sirup konzentriert, der nach 14-tägigem Aufbewahren vollständig durchkrystallisierte.

Nachweis von *d*-Glucose und *l*-Rhamnose.

Einen Hinweis auf Anwesenheit von Pentosen in dem durch Hydrolyse erhaltenen Sirup gab die Bialsche Probe. Vergärbare Hexosen wurden durch einen Versuch mit frischer Preßhefe im Einhornschen Apparat angezeigt.

a) Als Osazone: 0.5 g Zuckersirup aus der Hydrolyse mit 1.5 g Phenylhydrazin-Hydrochlorid und 2.5 g Natriumacetat in 10 ccm Wasser auf dem Wasserbade erwärmt. Nach 24 Stdn. wurde der gelbe Osazonbrei abgetrennt, mit Wasser gewaschen und aus 40-proz. Äthylalkohol umkrystallisiert. Mit kleinen Mengen Aceton mehrere Male extrahiert und den in Aceton unlöslichen Anteil in 96-proz. Äthylalkohol aufgenommen. Aus der heißen alkohol. Lösung durch Zugabe von wenig Wasser hellgelbe Nadeln, deren Schmelzp.

nach 2-maligem Umkrystallisieren bei 210—211° lag. Mischprobe mit Glucosazon: 210—211°.

7.805 mg Sbst.: 1.075 ccm N₂ (39°, 751 mm).

C₁₆H₂₂O₄N₄. Ber. N 15.64. Gef. N 15.91.

Aus dem Acetonextrakt durch Wasserzusatz gelbe krystalline Abscheidung; 2-mal aus wäbr. Aceton, einmal aus Benzol: 183—184°. Mischprobe mit Rhamnosazon: 182—183°.

5.605 mg Sbst.: 0.790 ccm N (20°, 755 mm).

C₁₈H₂₂O₃N₄. Ber. N 16.37. Gef. N 16.31.

b) Als Methyl-glykoside; α -Methyl-*d*-glucosid: 2 g des krystallinen Zuckergemisches aus der Spaltung mit methanolischer Salzsäure wurden mehrfach mit je 150 ccm Essigester extrahiert. Aus den Essigester-Extrakten etwa 100 mg α -Methyl- α -glucosid vom Schmp. 162—163°, $[\alpha]_D^{18} = +152^\circ$. Ein reineres Produkt aus dem in Essigester nicht gelösten Anteil nach 3-maliger Krystallisation aus Äthylalkohol, Schmp. 165—166°, $[\alpha]_D^{18} = +157.1^\circ$ ($\alpha = +6.33^\circ$, 2 dm, $c = 2.014$ in Wasser). Mischprobe mit α -Methyl- α -glucosid: 164—165°. In der Literatur¹⁸⁾ ist angegeben: Schmp. 166°, $[\alpha]_D^{18} = +158.9^\circ$ in Wasser.

α -Methyl-*l*-rhamnosid: 0.7 g Zuckersirup aus der Spaltung mit wäbr. Säure wurden in 15 ccm einer 2.5-proz. Kaliumnatriumphosphat-Lösung mit 1.5 g Trockenhefe (s. unten) 2 Tage bei 30° vergoren. Abzentrifugieren der Hefe und Eindampfen der Lösung im Vakuum bei 30°. Trübungen durch Zusatz von Alkohol ausgefällt. Die geklärten alkohol. Lösungen mit A-Kohle entfärbt, im Vakuum bei 40° eingedampft und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet: $[\alpha]_D^{18} = +8.0^\circ$ ($\alpha = +0.36^\circ$, 1 dm, $c = 4.507$) in Wasser. Für *l*-Rhamnose-hydrat werden in der Literatur die Werte $[\alpha]_D^{18} = +8.5^\circ$ ¹⁹⁾ und $[\alpha]_D^{20} = +9.1^\circ$ ²⁰⁾ angegeben.

0.3 g des Rückstandes mit 20 ccm 2-proz. methanolischer Salzsäure einige Stdn. auf dem Wasserbade erhitzt und 24 Stdn. stehengelassen. Danach Entsäuerung mit Silbercarbonat und Verdampfen zur Trockne. Beim Umkrystallisieren aus Essigester derbe, warzenförmige Krystalle vom Schmp. 106—107°. $[\alpha]_D^{18} = -60.7^\circ$ ($\alpha = -1.25^\circ$, 2 dm, $c = 1.030$ in Wasser). Für α -Methyl-*l*-rhamnosid wird von E. Fischer²¹⁾ angegeben: Schmp. 108—109°, $[\alpha]_D = -62.5^\circ$.

Quantitative Bestimmung der Zucker.

Verwendet wurde der glasige und gewichtskorstante Zuckeranteil aus der Hydrolyse.

a) Pentosan-Bestimmung nach Krüger-Tollens unter Verwendung der Ellettschen Tabelle²²⁾ für Rhamnose-hydrat: 0.1622 g Sbst.: 0.0586 g vollkommen in Alkohol lösliches Phloroglucid = 0.1004 g Rhamnose-hydrat entspr. 61.8% = 1.84 Mol.

Die Bestimmungen des Gehalts an Rhamnose direkt im ungespaltenen Convallamarin waren nicht verwertbar. Die Phloroglucidmengen waren durchweg zu hoch infolge von Beimengungen, die beim Lösen in Alkohol zu Verschmierungen Anlaß gaben.

b) Bestimmung der Glucose durch Vergärung nach K. Myrbäck und H. v. Euler²³⁾ unter Verwendung von Trockenhefe: 1) 0.1173 g Zuckergemisch aus Hydrolyse,

¹⁸⁾ C. N. Riiber, B. 57, 1797 [1924].

¹⁹⁾ W. Schnelle u. B. Tollens, A. 271, 61 [1892].

²⁰⁾ C. Tanret, Bull. Soc. chim. France [3] 15, 202 [1896].

²¹⁾ B. 28, 1158 [1895].

²²⁾ van der Haar, Anleitung zum Nachweis usw., 1920, S. 70.

²³⁾ s. C. Oppenheimer u. L. Pincussen, Methodik der Fermente, 1929, S. 1296.

0.2 g Trockenhefe, 2 ccm 2.5-proz. Lösung von Kaliumnatriumphosphat im Thermostaten bei 30°. Nach 6 Stdn. keine weitere Kohlendioxid-Entwicklung mehr, nach 8 Stdn. abgebrochen: 12.20 ccm CO₂ (19°, 750 mm) = 44.30 mg Glucose entspr. 37.8% = 1.14 Mol. — 2) 0.1774 g Zuckergemisch in Ansatz wie 1) nach 12 Stdn.: 16.05 ccm CO₂ (17.5°, 753 mm) = 58.7 mg Glucose entspr. 33.1% = 1.0 Mol.

Convallamaretin.

4.2 g Roh-Genin aus der Alkoholyse wurden zur Entfernung von dunkleren Beimengungen mit wenig Aceton gewaschen und aus Methanol-Chloroform so umkrystallisiert, daß man in Chloroform löste und die Lösung bis zur beginnenden Trübung konzentrierte. Nach Zugabe des 4-fachen Volumens Methanol krystallisierten bei vorsichtiger Konzentration weiße, glänzende Nadelchen aus. In Fraktionen erhalten: 0.46 g, Schmp. 249—250°; 0.13 g, Schmp. 240—241°; aus der Mutterlauge: 0.36 g, Schmp. 225—228°. Insgesamt krystallin: 0.97 g = 23.1%. Nach weiterer Krystallisation, Waschen mit kaltem Äther und Trocknen im Hochvakuum bei 70° zur Entfernung von sehr zäh festgehaltenem Methanol: Schmp. 248.5—250.5° unt. Zers. $[\alpha]_D^{20}$: —86.0° (α : —1.98°, 2 dm, c: 1.152) in CHCl₃, $[\alpha]_D^{20}$: —85.6° (α : —1.82°, 2 dm, c = 1.063) in CHCl₃.

Leicht löslich in Dioxan, Chloroform, Äthylbromid, löslich in Methyl- und Äthylalkohol, wenig löslich in Essigester und Aceton. Kaum löslich in Äther. Unlöslich in Wasser und Petroläther.

31.139, 30.218, 31.079 mg Sbst.: 82.07, 79.41, 81.59 mg CO₂, 25.6, 25.1, 25.7 mg H₂O (im Inst. n. Ter Meulen). — 4.056, 4.251 mg Sbst.: 10.695, 11.90 mg CO₂, 3.500, 3.690 mg H₂O (Boetius). — 4.662 mg Sbst.: 12.280 mg CO₂, 4.008 mg H₂O (Schoeller). — 3.081, 1.887 mg Sbst. in 43.586, 39.327 mg Campher: Δ = 7.4°, 5.8°.

C₂₅H₃₈O₆ (418.3). Ber. C 71.91, H 9.15.

C₂₆H₄₀O₅ (432.3). „ „ 72.17, „ 9.32.

C₂₇H₄₂O₅ (446.3). „ „ 72.59, „ 9.48.

Gef. „ 71.88, 71.83, 71.66, 71.91, 71.79, 71.83, H 9.20, 9.32, 9.28, 9.66, 9.71, 9.61, Mol.-Gew. 382, 402.5.

Bei Lacton-Titration kein Verbrauch an Alkali. Best. des aktiven Wasserstoffs n. Zerewitinoff²⁴⁾ in Anisol: 37.9 mg Sbst.: 4.46 ccm CH₄ (15°, 733 mm). — 39.6 mg Sbst.: 4.90 ccm CH₄ (15°, 743 mm). Entspr. 2.08 und 2.17 Mol. CH₄ bei einem Mol.-Gew. 432.3. — Katalytische Hydrierung mit Platinoxid: 51.0 mg Sbst. mit 25 mg PtO₂ in 7 ccm Eisessig nahmen in 15 Stdn. 3.27 ccm H₂ auf (16.2°, 757 mm). — 53.0 mg Sbst. in gl. Ansatz nach 20 Stdn. 3.30 ccm H₂ (17.3°, 749 mm). Entspr. 1.16 und 1.08 Mol. H₂.

Das aus dem Eisessig durch Ausfällen mit Wasser erhaltene Dihydro-convallamaretin schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Chloroform—Methanol zwischen 239 bis 240°. Mischprobe mit Convallamaretin: 235—236°.

²⁴⁾ Nach F. Hölscher, Anleitung zur organ. Elementaranalyse, München, Chem. Laborat. d. Staates, 1934, S. 52.