

man eine wunderschöne, auffällig intensive und beständige Blaufärbung der Lösung²⁵⁾. Verglichen mit der von A. Schöberl und M. Stock²⁶⁾ aufgefundenen roten Farbreaktion auf Thiazoliumsalse mittels Nitroprussidnatriums fällt die Beständigkeit dieser blauen Farbreaktion ganz besonders auf. Sie wird noch eingehend überprüft.

Umsetzung zwischen Cystamin und Kaliumcyanid: Eine Lösung von 3 g Cystamin-hydrochlorid in 50 ccm Wasser wurde mit 13.3 ccm 2 n NaOH und 5.3 g Kaliumcyanid versetzt und blieb dann 1 Stde. bei Zimmertemperatur stehen. Nach dem Ansäuern mit konz. Salzsäure wurde durch Zugabe eines Überschusses einer gesätt. Quecksilber(II)-chlorid-Lösung das Mercaptid des vorhandenen Thioles ausgefällt und abgetrennt. Aus dem Filtrat ließ sich nach Entfernung des Quecksilbers durch Schwefelwasserstoff und Eindampfen i. Vak. ein trockener Rückstand gewinnen, der mit 30-proz. Natronlauge behandelt und mit Chloroform mehrfach ausgeschüttelt wurde. Die mit Natriumsulfat getrockneten Auszüge hinterließen nach dem Abdampfen des Lösungsmittels 1.02 g 2-Amino-thiazolin zunächst als Öl, das in der Kälte bald erstarrte. Die Identifizierung der Base mit dem Schmp. 86° (aus Benzol) erfolgte durch Titration (10.2 mg verbr. 9.85 ccm n_{10} HCl; ber. 10.0 ccm) und Herstellung des Hydrochlorids (Misch-Schmp. 198°), Hydrobromids (Misch-Schmp. 171°) und Pikrats (Zersp. 235°).

Das wie oben beschrieben abgetrennte Mercaptid wurde in Wasser aufgeschlämmt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Quecksilbersulfid-Niederschlag i. Vak. auf ein kleines Volumen eingengt. Die SH-Reaktion in der Lösung mit Nitroprussidnatrium war stark positiv. Durch Zugabe der benötigten Menge n_{10} Jod (81 ccm) wurde das vorhandene Thiol quantitativ zum Disulfid oxydiert²⁷⁾. Dann wurde die natronalkalisch gemachte Lösung in üblicher Weise mit 1.25 g Benzoylchlorid benzoyliert. Hierbei schied sich eine gelblichweiße, zähe Masse ab, die bald erstarrte. Das Rohprodukt ließ sich aus Äthanol umkristallisieren; Schmp. 134°, Misch-Schmp. mit Dibenzoylcystamin 134.5°²⁸⁾.

86. Rudolf Tschesche, Kurt Sellhorn und Karl-Hans-Brathge: Über pflanzliche Herzgifte, XVIII. Mittel.*): Zur Spaltung von Herzgiftglykosiden mit Luizym**)

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg]

(Eingegangen am 24. März 1951)

Es wurde festgestellt, daß Luizym, ein Fermentpräparat aus *Aspergillus oryzae*, Herzgiftglykoside spaltet, die Glucose am Aglykon gebunden enthalten. Glucose, die endständig in der Zuckerkette haftet, erwies sich gegen Hydrolyse resistent außer bei Scillaren A, das ebenfalls teilweise zerlegt wurde.

Im Jahre 1934 konnte G. Tanret¹⁾ zeigen, daß Enzympräparate aus *Aspergillus niger* aus den herzwirksamen Glykosiden verschiedener Coronilla-

²⁵⁾ Zuerst demonstriert in einem Vortrag des einen von uns (Sch.) vor der Physikalisch-medizinischen Gesellsch. in Würzburg am 7. 7. 1949. ²⁶⁾ B. 73, 1240 [1940].

²⁷⁾ Die Jodoxydation von Cysteamin beschreiben schon S. Gabgiel u. E. Leupold, B. 31, 2837 [1898].

²⁸⁾ W. Coblentz u. S. Gabriel, B. 24, 1123 [1891]; vergl. A. Schöberl, Ztschr. physiol. Chem. 216, 193 [1933].

*) XVII. Mittel.: B. 71, 1927 [1938].

***) Festal, ein entsprechendes Fermentpräparat der Farbwerke Höchst lieferte die gleichen Ergebnisse. Wir danken auch an dieser Stelle dieser Firma für die Überlassung des Materials. ¹⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 198, 1637 [1934].

Arten Glucose abspalten können. Es erschien uns daher interessant, einmal allgemein zu untersuchen, inwieweit Luizym²⁾, ein Fermentpräparat des Handels, gewonnen aus *Aspergillus oryzae*, in der Lage ist, Herzgiftglykoside zu hydrolysieren. Während die Spaltung solcher Herzgiftglykoside, die 2-Desoxyzucker am Aglykon enthalten, mit Hilfe verdünnter Säuren relativ leicht gelingt, ohne daß dabei schon eine Veränderung des Aglykons eintritt, war die Hydrolyse solcher Glykoside, die Glucose oder Methylpentosen am Genin gebunden enthalten, ein bisher nicht völlig gelöstes Problem. Die schöne Methode von C. Mannich und G. Siewert³⁾ mit Aceton-Chlorwasserstoff bedeutet nach den bisherigen Erfahrungen auch keine allgemeine Lösung des Problems. Ferner ist aus den Arbeiten von G. Tanret, M. Frèrejacque und T. Reichstein bekannt, daß Schneckenferment aus *Helix pomatia* Glucose-glykoside häufig zu spalten vermag. Jedoch ist die Gewinnung des Ferments, vor allem in größeren Mengen, schwierig und seine Haltbarkeit beschränkt⁴⁾.

Es wurden von uns die folgenden Herzgiftglykoside auf ihre Spaltbarkeit mit Luizym untersucht: 1. Ouabain, 2. α -Antiarin, 3. Adynerin, 4. Digitoxin, 5. Gitoxin, 6. Convallatoxin, 7. Somalin, 8. Emicymarin, 9. Neriifolin, 10. Sarmentocymarin, 11. Oleandrin, 12. Hellebrin, 13. Cheirosid A, 14. Scillaren A, 15. Scillirosid, 16. Uzarin.

Die Zeitdauer der Spaltung betrug 6 Tage, die Versuchstemperatur 37° und der pH-Wert 7. Lediglich im Falle des Hellebrins wurde in einem zweiten Ansatz beim pH-Wert 4.5 gearbeitet. Der quantitative Verlauf der Spaltung wurde durch Zuckertitration nach Bougault-Kolthoff⁵⁾ bestimmt.

Es zeigte sich, daß Luizym anscheinend nur in der Lage ist, die am Aglykon gebundene Glucose mit Sicherheit abzuspalten, während in der Zuckerkette endständig angeordnete wenig oder auch gar nicht der Spaltung unterliegt. So wurde bei den Glykosiden 1–11, die keine Glucose im Molekül besitzen in keinem Fall eine Spaltung beobachtet. Auch beim Hellebrin mit der Anordnung Aglykon-*l*-Rhamnose-*d*-Glucose ließ sich weder bei pH 7 noch bei pH 4.5 eine Spaltung feststellen. Das Cheirosid A mit der Anordnung Aglykon-*d*-Fucose-*d*-Glucose blieb ebenfalls unverändert. Das Scillaren A mit der Anordnung Aglykon-*l*-Rhamnose-*d*-Glucose zeigte eine Spaltung von 38% unter Bildung von Proscillaridin A. Das Scillirosid mit der Anordnung Aglykon-*d*-Glucose zeigte in zwei Ansätzen eine Spaltung von 72% bzw. 80%; bei einem erneuten Einsatz des zweiten Ansatzes wurde eine Spaltung von 88% erreicht. Das Uzarin mit der Anordnung Aglykon-*d*-Glucose-*d*-Glucose zeigte eine 100-proz. Spaltung zu Uzarigenin. Ein neues Glykosid aus „Uzaron“¹⁾, das auch Glucose direkt am Aglykon enthält und über das wir später berichten werden, wurde ebenfalls vollkommen zerlegt.

²⁾ Hersteller Luitpold-Werke, München.

³⁾ B. 75, 737 [1942].

⁴⁾ G. Tanret s. Fußn. 1); M. Frèrejacque, Compt. rend. Acad. Sciences 225, 695 [1947], 226, 835 [1948]; T. Reichstein, H. Huber, F. Blindenbacher, K. Mohr u. P. Speiser, Helv. chim. Acta 34, 46 [1951].

⁵⁾ I. M. Kolthoff, Die Maßanalyse, Springer-Verlag, Berlin 1931, 2. Aufl. S. 486.

Nachdem kürzlich A. Stoll und Mitarbeiter⁶⁾ zwei Fermente beschrieben haben, einmal sameneigene Enzyme von *Coronilla*-Arten und andererseits Enzyme aus Luzernesamen, die in der Lage sind, Glucose vom Aglykon abzuspalten, ist nunmehr im Luizym ein bequemer greifbarer Fermentkomplex gefunden, der Glucose vom Aglykon abtrennt⁷⁾. Die Hydrolyse endständig in der Zuckerkette angeordneter Glucose erfolgt jedoch nicht mit der gleichen Leichtigkeit und Sicherheit, sondern ist von Bedingungen abhängig, die noch zu klären sind.

Für die Überlassung von Glykosidproben haben wir zu danken: Hrn. Prof. Reichstein, Basel, für Nerifolin, Emicymarin und Cheirosid A, Hrn. Prof. Stoll, Basel, für Scillaren A und Scillirosid, der Ciba A.G., Basel, für Somalin, Hrn. Dr. W. Karrer von der Hoffmann-La Roche A.G., Basel, für Hellebrin und Convallatoxin und der Schering A.G., Berlin, für Oleandrin. Den Luitpold-Werken, München, danken wir für die freundliche Überlassung von Luizym.

Beschreibung der Versuche

Tafel. Spaltung von Herzgiftglykosiden mit Luizym

Ausgangs-Prod.	Scillaren A	Scillirosid		Uzarin
Schmp.	178°–182° ⁸⁾	170°–175°		235°/262° (Doppel-Schmp.)
Einsatz	97 mg	100 mg	106 mg	100 mg
Alkohol. Rückstd. ...	130 mg	128 mg	136 mg	170 mg
Chloroform-Rückstd. .	18 mg	66 mg	—	—
Chloroform + Äthanol- (2:1)-Rückstd.	73 mg	5 mg	80 mg	60 mg
Wäßr. Rückstd.	40 mg	55 mg	55 mg	98 mg
Zucker gef.	10 mg	21 mg	24 mg (26.5)	51 mg
Zucker ber.	26 mg	29 mg	30 mg	51 mg
Spaltung	38%	72%	80% (88%)	100%
Spaltprod. u. Schmp. .	Proscillaridin A 212°–216°	Scillirosidin 170°		Uzaringenin (Äthanol/Wasser) ab 205° Sintern unt. Feuchtigkeitsabgabe, dann Schmp. 240°

Sämtliche Schmelzpunkte wurden mit dem Schmp.-Apparat nach Kofler ermittelt.

⁶⁾ A. Stoll, A. Pereira u. J. Renz, *Helv. chim. Acta* **32**, 293 [1949]; A. Stoll u. J. Renz, *Helv. chim. Acta* **33**, 286 [1950].

⁷⁾ Während der Zusammenstellung dieser Arbeit erhielten wir Kenntnis von einer Arbeit von A. Stoll und Mitarbeitern (vergl. A. Stoll, J. Renz u. A. Brack, *Helv. chim. Acta* **34**, 397 [1951]), in der Fermentextrakte aus zahlreichen *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten in ihrer Wirkung auf Scillirosid, Digilanid und Desacetyldigilanid untersucht wurden. Scillirosid wurde danach durch Fermentpräparate aus *Aspergillus oryzae* gespalten, am Desacetyldigilanid wurde die endständige Glucose in der Zuckerkette teilweise abhydrolysiert, während die Digilanide nicht angegriffen wurden. Scillaren A und k-Strophantin-3 zeigten unter Einwirkung des Präparats aus *Aspergillus oryzae* auch Abspaltung der endständigen Glucose.

⁸⁾ Wir fanden den Schmelzpunkt des Scillarens A niedriger, als A. Stoll und Mitarbeiter angeben (A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker u. A. Hoffmann, *Helv. chim. Acta* **16**, 703 [1933]). Nach einer Privatmitteil. von Hrn. Prof. Stoll ist dieser jedoch stark abhängig von der Art des Erhitzens und vom Alter des Präparats.

Es wurden etwa 100 mg Glykosid in 100 ccm heißem dest. Wasser gelöst bzw. aufgeschlämmt. Nach Abkühlung wurden 100 mg Luizym und 1 ccm Toluol zugesetzt. Jetzt verblieb der Ansatz 6 Tage im Thermostaten bei 37°. Im Anschluß daran wurde i. Vak. auf 25 ccm eingengt, mit 150 ccm Äthanol versetzt, kurz aufgekocht und heiß filtriert. Die blanke alkohol. Lösung wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 10 ccm dest. Wasser aufgenommen und je dreimal mit 25 ccm Chloroform und mit 25 ccm Chloroform + Äthanol (2:1), oder sechsmal mit 25 ccm Chloroform + Äthanol (2:1) ausgeschüttelt. Die Extrakte passierten drei Schütteltrichter mit je 3 ccm dest. Wasser. Die Extrakte sowie die vereinigten wäßr. Phasen wurden i. Vak. eingedampft. Aus den Rückständen der Extrakte wurden die Kristallisate gewonnen, während im Rückstand der wäßr. Phasen der Zucker durch Titration bestimmt wurde. Zur Titration ist hinzuzufügen, daß bei Einsatz von 100 mg Luizym unter den angegebenen Arbeitsbedingungen ein Zuckerblindwert von 8–10 mg einzusetzen ist.

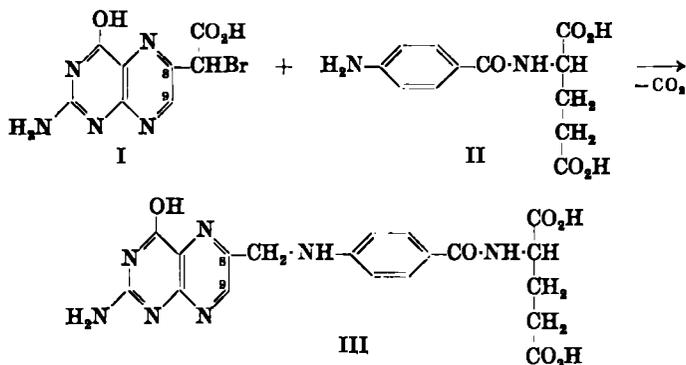
87. Rudolf Tschesche, Friedhelm Korte und Rudolf Petersen: Über Pteridine, III. Mittel.*): Zur Synthese der Pteroyl-glutaminsäure

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatinstituts der Universität Hamburg]

(Eingegangen am 24. März 1951)

Es wird über eine mit verhältnismäßig guten Ausbeuten und reproduzierbar verlaufende Synthese der Pteroyl-glutaminsäure berichtet.

Bei der Synthese des Erythropterins¹⁾ war die leichte Austauschbarkeit des Broms im 6.8-Dioxy-2-amino-9-bromacetyl-pteridin gegen OH und auch NH₂ aufgefallen. Da in der bromierten 6-Oxy-2-amino-pteridyl-(8)-essigsäure (I) das Brom ähnlich reaktionsfähig erschien, versuchten wir diese mit *p*-Aminobenzoyl-glutaminsäure (II) zur Pteroyl-glutaminsäure (III) umzusetzen.



Gegenüber der Mehrzahl der bekannten Verfahren zur Synthese dieser Verbindung – durch gleichzeitigen Umsatz dreier Komponenten^{2,3)} – kann bei dieser Reaktion keine Verbindung entstehen, welche die *p*-Amino-benzoyl-

*) II. Mittel.: B. 84, 485 [1951]. ¹⁾ R. Tschesche u. F. Korte, B. 84, 77 [1951].

²⁾ M. E. Hultquist, E. Kuh u. a., Journ. Amer. chem. Soc. 70, 23 [1948].

³⁾ R. B. Angier, E. L. R. Stokstad, J. H. Mowat u. B. L. Hutchings, Journ. Amer. chem. Soc. 70, 25 [1948]; J. H. Boothe, C. W. Waller, E. L. R. Stokstad u. B. L. Hutchings, Journ. Amer. chem. Soc. 70, 27 [1948].