

Katalysator verwandt wurde. Absaugen des Kontakts und Zugabe frischen Raney-Nickels führte schließlich auch dann zur Aufnahme von knapp einem Mol. Wasserstoff (Aufnahme 80.3% d. Th.).

Das durch Hochvakuumdestillation gereinigte Präparat ließ sich sowohl mit Raney-Nickel W6 (Aufnahme 78.8% d. Th.) als auch mit Pd/Kohle hydrieren (Aufnahme 108.1% d. Th.). Wurde mit Pd/Kohle bis zur Aufnahme eines Mol. Wasserstoff hydriert und anschließend das vom Kontakt befreite Filtrat mit Raney-Nickel W6 erneut hydriert, erfolgte darüber hinaus eine rasch abklingende weitere Wasserstoffaufnahme von rund 0.4 Mol., die aber wohl auf eine Crackhydrierung zurückzuführen sein dürfte.

Die Lösungen waren braun gefärbt und rochen nach Blausäure. Isolierbar war in allen Fällen *Isonitroso-cyanacetamid* (V), das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Dioxan auf dem KOFLER-Block bei 185° (Zers.) schmolz. Den gleichen Schmp. zeigte ein nach Angaben der Literatur²¹⁾ dargestelltes Präparat. Die Mischung beider ließ unter dem Schmelzpunkts-Mikroskop keine Unterschiede im Schmp. erkennen. Aus Essigester umkristallisiert, schmolz das Hydrierungsprodukt im Kupferblock unter Zers. bei 177.5°, das Literaturpräparat bei 180.5°, der Misch-Schmp. lag bei 179°. Die Literatur²¹⁾ gibt den Schmp. mit 184° (Zers.) an. Beide Verbindungen gaben die von M. CONRAD und A. SCHULZE²¹⁾ beschriebene Farbreaktion mit FeSO₄-Lösung.

C₃H₃N₃O₂ (113.1) Ber. C 31.86 H 2.67 N 37.16 Gef. C 31.90 H 2.69 N 36.66

²¹⁾ Ber. deutsch. chem. Ges. 42, 735 [1909].

RUDOLF TSCHESCHE und ULRICH DÖLBERG

Über pflanzliche Herzgifte, XXXV¹⁾

Die Isolierung von zwei neuen Bufadienolid-Glykosiden aus *Bowiea volubilis* Harvey

Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg
(Eingegangen am 29. Juli 1958)

Aus in Deutschland gewachsenen Zwiebeln von *Bowiea volubilis* Harvey wurden außer dem schon beschriebenen Gluco-bovosid A und Bovosid B noch 2 neue Thevetose-Glykoside, Bovorubosid C₃₁H₄₂O₁₁ und Bovokryptosid C₃₁H₄₂₋₄₄O₁₁, isoliert. Bovosid B wurde als das Monoacetylderivat eines Glykosides der Zusammensetzung C₃₁H₄₂O₁₂ erkannt. Es werden Konstitutionsformeln für Bovorubosid und Bovokryptosid vorgeschlagen.

Im vergangenen Jahr haben wir die Isolierung von Gluco-bovosid A aus Zwiebeln von *Bowiea volubilis* Harvey mitgeteilt, die in der Gegend von Ludwigshafen gezogen worden waren²⁾. Damals war schon darauf hingewiesen worden, daß noch einige weitere Glykoside in dem Material vorkommen; über deren Reindarstellung und

¹⁾ XXXIV. Mitteil.: R. TSCHESCHE, D. FORSTMANN und V. K. M. RAO, Chem. Ber. 91, 1204 [1958].

²⁾ R. TSCHESCHE und U. DÖLBERG, Chem. Ber. 90, 2378 [1957].

Charakterisierung soll nachfolgend berichtet werden. Hierbei hat sich wieder die Verteilungschromatographie an Cellulosepulver mit verschiedenen Lösungsmittelsystemen sehr bewährt²⁾. Neben dem schon von A. KATZ³⁾ beschriebenen *Bovosid B* konnten zwei neue Glykoside rein dargestellt werden, die *Bovorubosid* und *Bovokryptosid* genannt werden. Damit scheint dieses Muster von *Bowiea volubilis* H. in Bezug auf Bufadienolid-Glykoside im wesentlichen erschöpft zu sein, jedenfalls an solchen, die in nicht zu untergeordneten Mengen in den Zwiebeln vorkommen.

Bovosid B wurde in einer Ausbeute von 0.0002% erhalten und besitzt zweifellos eine Acetylgruppe, die sowohl im IR-Spektrum durch die Bande bei 1250 cm^{-1} als auch durch Verseifung mit Kaliumhydrogencarbonat zu einem Desacetylderivat nachweisbar ist. *Bovosid B* muß daher die Formel $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_{13}$ haben und nicht $\text{C}_{31}\text{H}_{42-44}\text{O}_{12}$, wie KATZ³⁾ angenommen hatte. Desacetyl-bovosid B, $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{O}_{12}$, konnte ebenfalls kristallisiert gewonnen werden. Da das von uns erhaltene *Bovosid B* mit authent. Material von KATZ verglichen und als identisch befunden wurde, kann an der Notwendigkeit einer Änderung der alten Formel kein Zweifel sein⁴⁾. Es bestand noch die Möglichkeit einer Identität des Desacetyl-bovosids B mit einem anderen der beschriebenen *Bowiea*-Glykoside. Es kam besonders *Bovocyanotoxin* in Frage, das in Pentanol/Wasser den gleichen R_F -Wert, einen ähnlich hohen Schmelzpunkt und ebensolche stark hydrophilen Eigenschaften aufweist wie dieses. Die Färbung mit SbCl_3 ist jedoch so verschieden, daß eine solche Möglichkeit ausgeschlossen werden kann (*Desacetyl-bovosid B*: blaß rosa, im UV blaß ocker, *Bovocyanotoxin*: blau, im UV rotbraun).

Bovorubosid (0.0019% der Zwiebeln) tritt in 3 verschiedenen Modifikationen auf, die sich wechselseitig ineinander überführen lassen. Es hat die Zusammensetzung $\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{O}_{11}$ und ist acetylfrei. Bei der Hydrolyse nach KILIANI läßt sich *Thevetose* als Zuckerkomponente nachweisen, allerdings im Vergleich zu den anderen *Bowiea*-Glykosiden in auffallend geringer Menge. Der Nachweis wird durch die Bildung von sonst nicht beobachteten dunklen Zersetzungsprodukten bei der Hydrolyse sehr erschwert. Auch ist der gefundene Methoxylwert zu hoch, obwohl kaum mehr als eine solche Gruppe in der Molekel vorhanden sein dürfte. Nach Abzug des Zuckers bleiben für das Aglykon $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_7$ 7 Sauerstofffunktionen übrig, von denen 2 im Lactonring und 2 weitere aus Analogiegründen als sekundäre und tertiäre Hydroxylgruppen an C-3 und C-14 anzunehmen sind. Zur Charakterisierung der 3 restlichen Sauerstofffunktionen haben wir folgende Versuche angestellt:

Bovorubosid gibt bemerkenswerterweise die Rotviolett-färbung nach KEDDE mit 3.5-Dinitro-benzoesäure und Alkali, wie sie sonst nur bei α - β -ungesättigten Cardenolid-lactonen auftritt. Jedoch geben auch gewisse Fünfringketone in der Steroidreihe diese Reaktion. Da die Bufadienolidstruktur des Lactonringes aus der UV-Absorption ($300\text{ m}\mu$) hervorgeht, könnte die positive KEDDE-Reaktion auf eine Keto-Gruppe im Ring D zurückgehen. Eine Stütze für diese Annahme bietet das IR-Spektrum, das die für Fünfringketone charakteristischen Banden bei 1410 cm^{-1} (Methylen-

³⁾ Helv. chim. Acta 33, 1420 [1950].

⁴⁾ Wir danken auch hier Herrn Dr. A. KATZ, Basel, vielmals für die Überlassung von *Bovosid B* und C.

gruppe im Fünfring, aktiviert durch benachbartes Carbonyl) und 1739 cm^{-1} (Carbonylfrequenz, im allgemeinen bei $1740\text{--}1745\text{ cm}^{-1}$) aufweist. Während jedoch die Bande bei 1410 cm^{-1} unabhängig von der verwendeten Modifikation des Bovorubosids auftritt, erscheint die kurzwellige Carbonylbande nur bei der kristallisierten Form vom Schmp. $258\text{--}266^\circ$ und ist hier als zweites Maximum neben der Lactonbande (ca. 1718 cm^{-1}) zu erkennen. In den andern Modifikationen ist sie nach größeren Wellenlängen verschoben und bildet zusammen mit derjenigen der Lactongruppe eine breite Bande, deren Maximum sich von $1690\text{--}1718\text{ cm}^{-1}$ erstreckt. Diese Verschiebung kann auf Wasserstoffbrückenbindungen zurückgeführt werden, deren Ausbildung je nach der Anordnung der Molekeln im Kristallgitter ermöglicht oder unterbunden wird. In Lösung würden die Unterschiede im Carbonylfrequenz-Bereich fortfallen, jedoch konnte wegen der Schwerlöslichkeit des Bovorubosids dieses nur in methanolhaltigem Chloroform gemessen werden. Dann ist aber wiederum die Bildung von Wasserstoffbrücken möglich, so daß nur die langwellige Carbonylbande in Erscheinung tritt.

Für eine Carbonylgruppe im Ring D kommen die Stellungen C-15 und C-16 in Frage. Bei der Annahme einer tertiären OH-Gruppe an C-14 würde ein C-15-Keton zu einer Gruppierung führen, die von Perjodat angegriffen werden sollte. Jedoch sind α -Hydroxyketone in der Steroidreihe bekannt, die aus sterischen Gründen mit Perjodat nicht reagieren, so daß der negative Test mit Bovorubosid nicht eindeutig ist. Analogiefälle mit der genannten Substitution scheinen bisher nicht bekannt zu sein. Wahrscheinlicher ist jedoch die Annahme einer CO-Gruppe an C-16; diese würde auch die Besonderheiten in den IR-Spektren, das UV-Spektrum bei der Wasserabspaltung des Dekahydro-bovorubosids ($\lambda_{\text{max}} 262\text{ m}\mu$) sowie das anomale Verhalten bei der Natriumborhydridreduktion besser verständlich machen.

Während Bovosid A auch nach mehr als 60 stdg. Einwirkung von Natriumborhydrid nur in untergeordnetem Maße Produkte lieferte, die auf Grund ihrer fehlenden UV-Absorption bei $300\text{ m}\mu$ keinen doppelt-ungesättigten Lactonring mehr aufweisen, wurde Bovorubosid unter den gleichen Bedingungen sehr viel schneller angegriffen. Deshalb wurde die Einwirkung dieses Reagenzes in Abhängigkeit von der Zeit genauer studiert. Nach 75 Min. war kein Bovorubosid mehr nachweisbar, obwohl die Ketogruppe im Ring D (positive KEDDE-Reaktion) und auch der Cumalinring (Absorption bei $300\text{ m}\mu$) noch vorhanden waren. Es muß daher im Bovorubosid noch eine zweite Carbonylgruppe vorhanden sein, die offenbar auch für die intensive rote Farbreaktion mit Antimontrichlorid verantwortlich ist. Das neue Dihydroderivat gab nur noch eine orangefarbene Reaktion (im UV-Licht blaßgelb). Es ließ sich nicht kristallisieren, obwohl es sich papierchromatographisch einheitlich verhielt. Im IR-Spektrum war die Intensität der Carbonylbande im Vergleich zu der entsprechenden Bande im Bovorubosid verringert (jeweils bezogen auf die Intensität der CH-Schwingung bei ca. 2900 cm^{-1}). Daraus läßt sich mit Vorsicht der Schluß ziehen, daß die Reduktion nur einer Carbonylgruppe stattgefunden hat. Der R_f -Wert ist gegenüber dem Ausgangsmaterial kaum verändert, entspr. der gleichen Laufstrecke von Bovosid A und Bovosidol A.

Leider ließ sich durch Weiterreduktion keine Tetrahydro-Verbindung erhalten, in welcher auch die zweite Carbonylgruppe (im Fünfring) reduziert ist, da deren Reduktion erst dann merklich einsetzte, wenn auch der Cumalinring angegriffen wurde.

Es wurde daher die vollkommene Reduktion mit Natriumborhydrid angestrebt, die zu einem Dekahydroderivat führte. Die kristalline Verbindung zeigt keine selektive UV-Absorption mehr, auch treten im IR keine Banden mehr auf, die einer Carbonylfunktion zugeordnet werden könnten, ebenso ist die Lactongruppe verschwunden. Das Fehlen stärkerer Banden im Gebiet der C=C-Schwingungen zeigt, daß die Dien-Gruppe des Cumalinringes aufgehoben ist. Die Tetranitromethan-Probe verläuft negativ. Die Annahme eines Dekahydroderivates wird gestützt durch die Beobachtung, daß Bovokryptosid, das eine Carbonylfunktion weniger enthält, unter den gleichen Bedingungen ein Oktahydroderivat liefert. Da für die Reduktion der beiden Carbonyle im Bovorubosid je 2 H-Atome benötigt werden, muß der Cumalinring 6 H-Atome aufgenommen haben. Es gelang nicht, vom Dekahydro-bovorubosid ein kristallisiertes Acetat zu erhalten, obwohl sich dieses bei der Papierchromatographie einheitlich verhielt. Die Acetylbestimmung wäre mit einem Hexaacetat vereinbar, doch kann diesem Befund wegen der mangelnden Kristallisierbarkeit kein Gewicht beigemessen werden.

Die leichte Reduzierbarkeit des Bovorubosids und des später zu behandelnden Bovokryptosids mit Natriumborhydrid ist überraschend, denn dieses gilt bisher als weitgehend selektives Reduktionsmittel für Carbonylgruppen, das Ester und olefinische Doppelbindungen nicht angreift⁴⁾. Nur in einigen Ausnahmefällen ist die Hydrierung von Doppelbindungen beobachtet worden. In der Steroidreihe wird z. B. Cholesten-(1)-on-(3) nur zu 2.5 % zu dem zu erwartenden Cholesten-(1)-ol-(3 β) reduziert, das Hauptprodukt ist Cholestanol-(3 β)⁵⁾. Bei Androstadien-(1.4)-dion-(3.17) und Androsten-(4)-dion-(3.17) wird die Δ^1 - bzw. Δ^4 -Doppelbindung abgesättigt⁶⁾. Die Reduktion von α,β -ungesättigten γ -Lactonen ist nur bei exocyclischer Lage der Doppelbindung bekannt⁷⁾, bei der endocyclischen Anordnung tritt, wie in den Cardenoliden, unter normalen Bedingungen keine Reaktion ein, erst in der Hitze werden sie angegriffen⁸⁾. In beiden Fällen entstehen jedoch die gesättigten Lactone. Auch in den Bufadienoliden ist im allgemeinen, wie schon beim Bovosid A erwähnt, der Cumalinring gegen Natriumborhydrid beständig. So konnten A. HUNGER und T. REICHSTEIN⁹⁾ beim Desgluco-hellebrin (nach 23 Stdn.) und ebenso A. KATZ¹⁰⁾ beim Bovosid A und Bovosid D nur die Reduktion der Aldehydgruppe an C-10 zur $-\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppierung durchführen, ohne daß der Cumalinring angegriffen wurde.

Wir vermuten, daß die viel leichtere Reduzierbarkeit des Cumalinringes im Bovorubosid durch die Nachbarschaft der an C-16 vermuteten Carbonylgruppe zum doppelt ungesättigten Lacton-Sechsring bedingt ist bzw. einer Hydroxylgruppe in β -Stellung am gleichen C-Atom im Bovokryptosid. Wahrscheinlich ist die Reaktion vergleichbar mit der Reduktion des Enolacetates des Cholesten-(5)-ons-(3) zu Cholesterin mit NaBH_4 ¹¹⁾. Durch die schwach alkalische Reaktion des Reduktionsmittels wird das Enolacetat verseift, das freie Enol lagert sich in das Keton um, und dieses wird zum Alkohol reduziert. Beim Bovorubosid und Bovokryptosid wird die Auf-

4) S. W. CHAIKIN und W. G. BROWN, *J. Amer. chem. Soc.* **71**, 122 [1949].

5) R. ALBRECHT und CH. TAMM, *Helv. chim. Acta* **40**, 2216 [1957].

6) J. K. NORZYMSKI und G. F. WOODS, *J. chem. Soc. [London]* **1955**, 3426.

7) C. DJERASSI und W. RITTEL, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 3528 [1957].

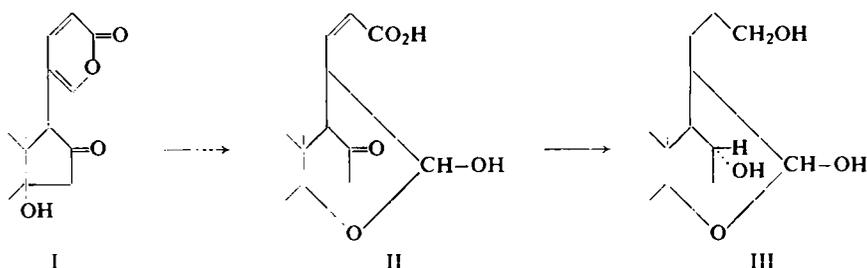
8) M. FRÉREJACQUE, H. P. SIGG und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **39**, 1900 [1956].

9) *Chem. Ber.* **85**, 635 [1952]. 10) *Helv. chim. Acta* **36**, 1417 [1953]; **37**, 451 [1954].

11) B. BELLEAU und T. F. GALLAGHER, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4458 [1951].

spaltung des Cumalinringes durch die benachbarte Carbonyl- bzw. Hydroxylgruppe an C-16 im schwach alkalischen Milieu gegenüber anderen Bufadienoliden erleichtert, das freiwerdende Enol setzt sich mit der OH-Gruppe an C-14 zum Cyclohalbacetal um. Ist der Ring einmal geöffnet, so könnte die Reduktion der α,β -ungesättigten Säure zum gesättigten Alkohol immerhin möglich sein⁴⁾. Das entstehende Reaktionsprodukt müßte also eine Cyclohalbacetal-Gruppierung enthalten, die aber mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin nicht nachgewiesen werden konnte, doch mögen dafür sterische Momente verantwortlich zu machen sein. Wir möchten die Reduktion durch die Teilformeln I, II und III darstellen.

Diese Annahmen würden bedeuten, daß auch Desacetylbufotalin*) mit einer freien OH-Gruppe an C-16 in β -Stellung eine ebenso schnelle Reduktion mit NaBH_4 im Cumalinring erfahrung sollte wie Bovorubosid, was in einem orientierenden Versuch mit der kleinen zur Verfügung stehenden Menge an Bufotalin bestätigt werden konnte.



Wenn Bovorubosid zwei Carbonylfunktionen aufweist, sollte die Umsetzung mit Hydroxylamin zu einem Dioxim führen, es wurde aber nur ein Monoxim erhalten. Wir möchten vermuten, daß die Oximbildung mit der ersten mit NaBH_4 reduzierbaren Carbonylgruppe eintritt, die wir als eine Aldehydgruppe an C-10 annehmen; von ihr ist eine solche Reaktion bekannt¹²⁾. Die Ketogruppe an C-16 ist vermutlich zu behindert, um zu reagieren. Dihydro-bovorubosid schien denn auch kein Oxim zu bilden, soweit dies mit dem amorphen Material festzustellen war. Um die Aldehydgruppe an C-10 nachzuweisen, haben wir die Autoxydation zur Carboxylgruppe versucht, die bei *trans*-Verknüpfung der Ringe A und B (Beispiel Bovosid A¹³⁾) ziemlich rasch eintritt. Ist jedoch gleichzeitig eine OH-Gruppe an C-5 vorhanden, so ist die Aldehydgruppe gegen Luftsauerstoff stabil. Wir konnten am Bovorubosid keine Autoxydation erzielen, so daß möglicherweise die 7. Sauerstofffunktion eine OH-Gruppe an C-5 darstellt, oder es liegt eine *cis*-Verknüpfung der Ringe A und B vor. In diesem Falle tritt offenbar keine Autoxydation ein¹³⁾. Auf eine Oxydation des Acetats von Bovorubosid mit Chromsäure haben wir verzichtet, da es nicht möglich war, ein kristallisierendes einheitliches Acetat zu erhalten.

Bovokryptosid findet sich in einer Menge von ca. 0.00064% in den Zwiebeln. Es hat die Zusammensetzung $\text{C}_{31}\text{H}_{42-44}\text{O}_{11}$ und ist ebenfalls ein *Thevetose*-Glykosid. Es war

*) Wir sind Herrn Prof. Dr. T. REICHSTEIN zu besonderem Dank für die Überlassung einer Probe Bufotalin verpflichtet.

¹²⁾ A. KATZ, *Helv. chim. Acta* **36**, 1344 [1953].

¹³⁾ A. KATZ, *Pharmac. Acta Helvetiae* **29**, 77 [1954].

zunächst denkbar, daß es sich bei ihm um das von A. KATZ³⁾ gefundene Bovosid C handeln könnte, besonders nachdem auch Bovosid B in unseren Zwiebeln gefunden worden war. Die Schwerlöslichkeit beider Verbindungen und die etwa gleiche Drehung $[\alpha]_D: + 30^\circ$ (Meth.) schienen für diese Annahme zu sprechen, jedoch der große Unterschied im Schmelzpunkt und unterschiedliche R_F -Werte beim direkten Vergleich (0.49 und 0.42 in Pentanol/Wasser) schließen diese Möglichkeit aus. Bovokryptosid gibt keine Reaktion mit dem Reagenz nach KEDDE, die Färbung mit Antimontrichlorid ist nur blaßgelb. Nach Abzug des Zuckers bleibt für das Aglykon die Zusammensetzung $C_{24}H_{32-34}O_7$. Von Bovokryptosid konnte ein kristallisiertes Acetat erhalten werden, das vermutlich 3, höchstens 4 Acetylgruppen enthalten kann; die Höhe der Extinktion bei 300 $m\mu$ ist am besten mit einem Triacetat vereinbar.

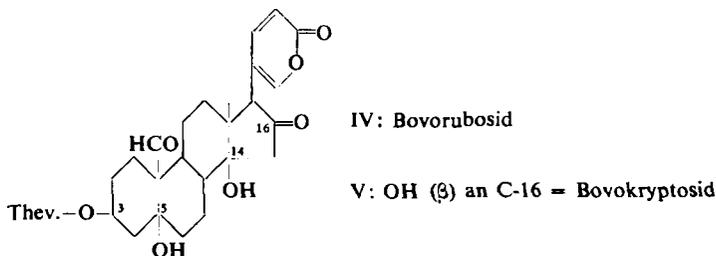
Bovokryptosid verhält sich bei der Natriumborhydrid-Reduktion ganz analog dem Bovorubosid. Bei kurzdauernder Reduktion gelingt es, Dihydro-bovokryptosid zu fassen, das etwa die gleiche Färbung mit $SbCl_3$ liefert wie Bovokryptosid selbst; im IR-Spektrum ist die Intensität der Carbonylgruppe herabgesetzt. Da Bovokryptosid ein Monoxim gibt, muß eine Carbonylfunktion in diesem Glykosid vorhanden sein. Wir nehmen an, daß es sich dabei ebenfalls um eine Aldehydgruppe, vermutlich an C-10 handelt: Bovokryptosid-acetat lieferte bei der Chromsäureoxydation ein Produkt, das zweifellos eine Säure ist. Allerdings war der saure Anteil nicht ganz einheitlich, da er im Papierchromatogramm auch Nebenflecke lieferte, die nicht mehr die UV-Absorption bei 300 $m\mu$ zeigten. Es dürfte also teilweise auch schon ein Angriff des Oxydationsmittels auf den Cumalinring erfolgt sein. Eine solche Weiteroxydation vermutete KATZ¹²⁾ auch schon bei der Autoxydation des Bovosids A. Auch bei der Chromsäureoxydation von Hellebrin-acetat¹⁴⁾ und Hellebrigenin-acetat¹⁵⁾ mit Chromsäure waren die Ausbeuten gering, oder es gelang nicht, wie beim Bovosid A¹²⁾, kristallisierte Verbindungen zu erhalten. Wegen der Begrenztheit der vorliegenden Menge Bovokryptosid und der Uneinheitlichkeit des Oxydationsproduktes mußte auf eine Isolierung der vermuteten C-19-Säure verzichtet werden.

Bei der Reduktion des Bovokryptosids mit $NaBH_4$ wurde auch schon nach 5 Stdn. neben dem Dihydroderivat die nicht mehr im UV absorbierende Oktahydroverbindung erhalten. Sie zeigte im IR-Spektrum keine Carbonyl- und Dien-Banden mehr und verhielt sich völlig analog dem Dekahydro-bovorubosid; auch in ihr muß der doppelt ungesättigte Lacton-Sechsring der Bufadienolide hydrierend geöffnet worden sein. Da Bovokryptosid gegen Autoxydation beständig ist, enthält es vermutlich ebenfalls eine Hydroxylgruppe an C-5. Die Bildung nur eines Triacetats würde die Annahme einer tertiären OH-Gruppe an dieser Stelle stützen. Damit wären alle Sauerstofffunktionen im Aglykon untergebracht und es würden sich für Bovorubosid und Bovokryptosid die Formelvorschläge IV und V ergeben, welche die bisherigen Befunde gut erklären können, wobei die größte Unsicherheit in bezug auf die Frage der Hydroxylgruppe an C-5 besteht. Bovokryptosid wäre danach das Reduktionsprodukt des Bovorubosids an C-16, vermutlich mit β -Stellung der Hydroxylgruppe wie im Gitoxigenin, vorausgesetzt, daß die Formel mit 44 H-Atomen die richtige ist. Da die $NaBH_4$ -Reduktion des Bovorubosids zur 16(α)-Hydroxy-Verbindung führen

¹⁴⁾ A. BUZAS und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **31**, 110 [1948].

¹⁵⁾ J. SCHMUTZ, *Helv. chim. Acta* **32**, 1442 [1949].

sollte, ist erklärlich, daß Di- und Dekahydro-bovorubosid nicht mit Bovokryptosid bzw. Oktahydro-bovokryptosid identisch sind.



Tab. 1. Eigenschaften der neuen Glykoside und ihrer Derivate

	Schmp.	Drehung	Tageslicht	SbCl ₃	UV
Bovorubosid	273–278° 258–266° 225–229°	$[\alpha]_D^{25}$: +62° (Me)	kirschrot	ziegelrot	
Bovokryptosid	334–339°	$[\alpha]_D^{25}$: +30.6° (Me)	blaßgelb	blaßgelb	
Desacetyl-bovosid B	347–352°		blaßrosa	blaßocker	
Dihydro-bovokryptosid	309–312°		schwachgelb	schwachgelb	

Tab. 2. Toxizität der neuen Glykoside (bestimmt von K. K. CHEN an je 10 Katzen)

	mittl. letale Dosis in mg/kg
Gluko-bovosid A	0.146 ± 0.006
Bovosid A	0.119 ± 0.006
Bovorubosid	0.092 ± 0.005
Bovokryptosid	0.070 ± 0.003
Scilliglaucosid	0.069

Der zum Vergleich noch aufgenommene Wert für Scilliglaucosid zeigt, daß besonders Bovokryptosid eine bemerkenswert toxische Verbindung ist.

Wie wir früher schon erwähnten²⁾, enthalten die Zwiebeln auch eine Glucosidase, die D-Glucose aus dem Gluko-bovosid A sehr schnell abspaltet. Aus den Daten der optischen Drehung läßt sich nach W. KLYNE¹⁶⁾ zeigen, daß die Glucose β -glykosidisch an die Thevetose geknüpft ist und es sich demnach um eine β -Glucosidase handeln muß (Tab. 3).

Tab. 3.

	$[\alpha]_D$	$[M]_D$
Gluko-bovosid A	-66 ± 2° (Methanol)	-477 ± 14°
Bovosid A	-73 ± 2° (Methanol)	-409 ± 11°
$\Delta [M]$ Drehungsbeitrag der D-Glucose		-68 ± 25°
α -Methyl-D-glucosid	+159° (Wasser)	+308°
β -Methyl-D-glucosid	-32° (Wasser)	-62°

$[M]_D = [\alpha]_D \cdot M \cdot 10^{-2}$

¹⁶⁾ Biochem. J. 47, XLI [1950].

Wir danken der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT sehr für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit und der Firma KNOLL AG., Ludwigshafen, für die Überlassung des Ausgangsmaterials. Herrn Dr. K. K. CHEN, Indianapolis, möchten wir auch hier unseren Dank für die Toxizitätsbestimmungen ausdrücken.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die papierchromatographischen Versuche wurden auf dem Papier Schleicher & Schüll 2043 b mit den folgenden Lösungsmittelsystemen ausgeführt:

Pentanol/Wasser

Isooctanol/Pentanol/Wasser/Formamid 6:2:1:4 (Gemisch I),

n-Octanol/Pentanol/Wasser/Formamid 6:2:8:2 (Gemisch II)¹⁷⁾,

Benzol/Butanon 1:1, gesättigt mit Formamid (Gemisch III),

Xylol/Butanon 1:1 (ebenso) (Gemisch IV) und

n-Heptan/Butanon 1:1 (ebenso) (Gemisch V)¹⁸⁾.

Die Sichtbarmachung der Flecke erfolgte wie früher beschrieben²⁾.

Für die Chromatographie an Aluminiumoxyd diente das Präparat „Woelm“ (alkalifrei, Aktivitätsstufe I), das durch Sieben auf einheitliche Korngröße gebracht worden war (Mashenzahl 3600, 4900 bzw. 6400 pro cm²).

Für die Verteilungschromatographie wurde Whatman Cellulose powder „standard grade“ in der früher beschriebenen Arbeitsweise²⁾ benutzt.

Auftrennung von 79 g Rohextrakt aus 39 kg Bowiea-Zwiebeln

Die Aufarbeitung der Droge und die Abtrennung von Gluco-bovosid A wurden schon früher beschrieben (Muster II)²⁾. Das Ausgangsmaterial für die jetzigen Untersuchungen bildeten die dort erwähnten Mischfraktionen 5–9 der Verteilungschromatographie.

Bovosid B: Die Fraktionen 5–9, insgesamt 22 g, wurden in 4 gleichartigen Verteilungen an je 500 g Cellulosepulver mit dem Lösungsmittelsystem Pentanol/Wasser getrennt, wobei die leichte Phase als stationäre verwendet wurde.

Frakt.	ccm	mg	R _F 0.7–0.95 (Verunreinigungen)	Bov. B	Bov.-rub.
1	200	45	+		
2	100	135	+		
3	100	130	+	(+)	
4	100	83	+	+	
5	100	125	+	+	
6	100	225	+	+	+
7	100	270	(+)	+	+
8	100	295		(+)	+
9/12	400	1945			+++
13	100	195			+
14	100	135			+
15/17	600	485			+

Die übrigen Verteilungen verliefen analog. Die Zwischenfraktionen 6–8 wurden jeweils der folgenden Verteilung zugesetzt.

¹⁷⁾ R. TSCHESCHE, G. GRIMMER und F. SEEHOFER, Chem. Ber. **86**, 1235 [1953].

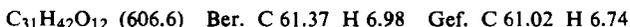
¹⁸⁾ F. KAISER, Chem. Ber. **88**, 556 [1955].

Die Fraktionen 4 und 5 (insgesamt 960 mg) wurden an 20 g Aluminiumoxyd (MZ 4900) chromatographiert. Dabei wurde Bovosid B mit Chloroform und 5 % Methanol von der Säule eluiert (ca. 330 mg). Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton/Äther, Methanol/Wasser und Methanol/Äther/Petroläther resultierten 85 mg reines *Bovosid B* vom Schmp. 297–301°. Es erwies sich durch SbCl_3 -Färbung, R_F -Wert (0.67 in Pentanol/Wasser), Schmelzpunkt und IR-Spektrum mit authent. Bovosid B als identisch.

Die Acetylbestimmung*) ergab 0.81 Acetylgruppen, ber. auf ein Mol.-Gew. von 650. Daraus folgt eine Summenformel von



Desacetyl-bovosid B: Die Lösung von 50 mg Bovosid B in 3 ccm Methanol wurde mit 60 mg Kaliumhydrogencarbonat in 2 ccm Wasser versetzt und unter Stickstoff 10 Tage bei 20° stehengelassen. Nach Entfernen des Methanols wurde die wäbr. Lösung 10mal mit je 2 ccm Chloroform/Äthanol (2:1) ausgeschüttelt. Nach dem Eindampfen des Extraktes verblieben 40 mg glasiger Rückstand, der zwar kristallisierte, sich aber papierchromatographisch als ein Gemisch von Bovosid B und Desacetyl-bovosid B erwies. Die Trennung wurde auf 12 Papierstreifen von 8 cm Breite mit dem System Pentanol/Wasser vorgenommen. Die dem Desacetyl-bovosid B zukommende Zone (Erkennung im kurzwelligen UV) wurde mit Methanol eluiert und lieferte 21 mg Substanz, die erst nach Chromatographie an Al_2O_3 kristallisierte. Die Hauptmenge kam mit Chloroform und 5–10 % Methanol von der Säule und lieferte aus Aceton/Cyclohexan 8 mg kleine, rhombische Prismen vom Schmp. 347 bis 352°. R_F in Pentanol/Wasser: 0.80.



Trennung von Bovorubosid und Bovokryptosid

Die Fraktionen 9–13 der Verteilungschromatographie (insges. 8.5 g) wurden an 160 g Aluminiumoxyd (MZ 6400) chromatographiert (Fraktionsgröße 300 ccm). Die Fraktionen 3–6 (2.29 g), mit Chloroform und 2 % Methanol eluiert, enthielten im wesentlichen Bovorubosid (SbCl_3 -Färbung rot). Die aus Methanol/Chloroform/Äther, erhaltenen rohen Kristallisate zeigten Schmelzpunkte zwischen 250 und 265°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren resultierten 730 mg reines Glykosid. Die folgenden Fraktionen 8–13, mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch gewonnen, gaben eine rötlich-gelbe SbCl_3 -Färbung und schmolzen zwischen 275 und 300° (2.5 g Kristalliat II). Die mit Chloroform + 5 % Methanol eluierten Fraktionen 14 und 15 zeigten eine blaßrote Färbung mit dem genannten Reagenz und fielen im allgemeinen durch eine starke Schwanzbildung bei der Papierchromatographie auf. Sie schmolzen zwischen 307 und 325° (815 mg, Kristalliat III). Mit Chloroform und 5 bis 20 % Methanol folgte Bovokryptosid von der Säule (635 mg): Farbreaktion gelblich, Schmp. der Rohkristallisate zwischen 317 und 337°, Ausb. an reinem Glykosid 245 mg.

Bovorubosid: Schmp. 225–229°, kleine Prismen (Aceton/Äther), 258–266°, zu Drusen vereinigte kurze Stäbchen (Chloroform/Äther), 273–278°, haarfeine Nadeln (Methanol/Äther). $[\alpha]_D^{25}$: +62 ± 1° (Methanol).



λ_{max} = 295 m μ , log ϵ = 3.80; daraus berechnetes Mol.-Gew. 566, R_F -Wert in Pentanol/Wasser: 0.49, im Gemisch II: 0.85. Färbung mit konz. Schwefelsäure: 0 Min. gelb, 1 Min. orange, 2 Min. ziegelrot, 3 Min. bis 1 Stde. blutrot, nach 1 Stde. blautichig werdend, 2 Stdn. blaurot und 3 Stdn. blaß blaurot.

*) Wir danken Herrn Dr. G. GRIMMER in unserem Institut für die Durchführung der Bestimmung.

Bovorubosid-oxim wurde in der üblichen Weise aus 50 mg Bovorubosid und 25 mg Hydroxylamin-hydrochlorid mit 0.5 ccm Pyridin und 1 ccm wasserfr. Äthanol durch 1stdg. Erhitzen unter Rückfluß hergestellt. Es kristallisierte erst nach Chromatographie an Aluminiumoxyd. Aus den mit Chloroform und 5 % Methanol von der Säule erhaltenen Fraktionen konnten aus Aceton/Cyclohexan grobe Nadeln mit einem Doppelschmelzpunkt 240–245° und 276–282° erhalten werden.



R_F -Wert in Pentanol/Wasser: 0.51, SbCl_3 -Färbung: im Tageslicht fast farblos, im UV blaß gelb. Die KEDDE-Reaktion war positiv.

Die *Acetylierung* mit Pyridin/Acetanhydrid ergab sowohl bei 20° (48 Stdn.) wie bei 70° (5 Stdn.) nur ein amorphes Produkt, das auch nach Chromatographie an Al_2O_3 nicht kristallisierte. Bei der Papierchromatographie im Gemisch II wurden stets 2 Flecke beobachtet mit den R_F -Werten 0.50 (Färbung mit SbCl_3 grau-rosa (Tageslicht), im UV rotbraun) und 0.63 (Färbung bläustichig-grau (Tageslicht), im UV rotbraun).

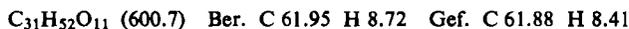
Die *Entacetylierung* mit KHCO_3 in Methanol (6 Tage) ergab neben unverändertem Acetat ein Gemisch von Substanzen, darunter auch solchen, bei denen vermutlich der Lactonring schon geöffnet worden war (keine Absorption mehr bei 300m μ).

Dihydro-bovorubosid: 150 mg Bovorubosid und 35 mg Natriumborhydrid wurden in 10 ccm 80-proz. Dioxan 60 Min. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 40 ccm Wasser versetzt, mit $n \text{H}_2\text{SO}_4$ auf $p_{\text{H}} 3$ eingestellt und das Reaktionsprodukt mit Chloroform/Äthanol (2:1) ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen der Chloroformphase hinterblieb ein amorpher Rückstand, der an 3 g Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Mit Chloroform und 5 % Methanol ließen sich 124 mg papierchromatographisch einheitliche Substanz eluieren, die jedoch nicht kristallisierte.

R_F -Wert in Pentanol/Wasser 0.50. KEDDE-Reaktion positiv, SbCl_3 -Färbung orange (Tageslicht), gelblich (im UV).

Versuch zur Bildung eines Oxims: Es wurde in üblicher Weise versucht, ein Oxim herzustellen (30 mg Dihydro-bovorubosid und 20 mg Hydroxylamin-hydrochlorid in Pyridin/Äthanol). Das Reaktionsprodukt verhielt sich papierchromatographisch wie das Ausgangsmaterial und kristallisierte auch nach Chromatographie an Al_2O_3 nicht.

Dekahydro-bovorubosid: 65 mg Bovorubosid wurden 13 Stdn. mit 18 mg NaBH_4 in 4 ccm 80-proz. Dioxan behandelt. Nach der Aufarbeitung, wie vorstehend beim Dihydro-bovorubosid beschrieben, wurde das Rohprodukt an Al_2O_3 chromatographiert. Mit Chloroform und 5 % Methanol wurden kristallisierende Fraktionen erhalten. Aus Aceton/Äther/Cyclohexan 23 mg kleine Nadeln vom Schmp. 244–249°.



R_F -Wert in Pentanol/Wasser 0.52, SbCl_3 -Färbung braun (im UV mit weißem Rand).

Die in üblicher Weise vorgenommene *Acetylierung* (48 Stdn. bei 20°) erbrachte eine papierchromatographisch fast einheitliche Substanz, die auch nach Chromatographie an Al_2O_3 nicht kristallisierte. R_F -Wert im Gemisch II 0.20, im Gemisch V 0.38. SbCl_3 -Färbung: braun (im UV mit zitronengelbem Rand).

Dehydratisierung: 19 mg Dekahydro-bovorubosid wurden in 2 ccm Äthanol und 0.4 ccm konz. Salzsäure 10 Min. gekocht. Nach Zugabe von 3 ccm Wasser wurde das Äthanol i. Vak. entfernt und die Lösung mit Chloroform/Äthanol (2:1) 3 mal ausgeschüttelt. Der Eindampfrückstand der Chloroformphase wurde an 0.3 g Al_2O_3 chromatographiert. Alle eluierten Fraktionen erwiesen sich als papierchromatographisch uneinheitlich. Die mit Chloroform und 1–5 % Methanol von der Säule erhaltenen Fraktionen zeigten ein UV-

Maximum bei 262 μ , das besonders ausgeprägt bei der mit 5 % Methanol-Zusatz eluierten Fraktion auftrat.

Versuch zur Autoxydation: 10 mg Bovorubosid, in 2 ccm 50-proz. Methanol gelöst, erwiesen sich papierchromatographisch nach 2 Wochen unter Luftzutritt und 2 Wochen unter Sauerstoff unverändert. Das Ausgangsmaterial wurde kristallisiert zurückgewonnen.

Bovokryptosid: Schmp. 334–339°, $[\alpha]_D^{25}$: +30.6 \pm 2° (Methanol).

$C_{31}H_{42}O_{11}$ (590.6) Ber. C 63.03 H 7.17

$C_{31}H_{44}O_{11}$ (592.7) Ber. C 62.82 H 7.48 Gef. C 62.90 H 7.02

λ_{\max} 300 μ , $\log \epsilon = 3.79$, daraus berechnetes Mol.-Gew. 580. R_F -Wert in Pentanol/Wasser 0.49, Färbung mit $SbCl_3$ blaßgelb, im Tageslicht wie im UV Färbung mit konz. Schwefelsäure: 0 Min. farblos, 1 Min. blaßgelb, 3 Min. blaßorange, 5 Min. rotbraun, 15 Min. braun, 45 Min. grünstichig braun, 90 Min. blaß grüngrau, 3 Stdn. blaßgrau.

Bovokryptosid-oxim: Das in üblicher Weise hergestellte Oxim (30 mg Glykosid, 20 mg Hydroxylamin-hydrochlorid in 0.5 ccm Pyridin und 1 ccm absol. Äthanol, 1 Stde. unter Rückfluß) ergab nach Chromatographie an Al_2O_3 aus Methanol/Äther 9 mg Nadelbüschel vom Schmp. 273–278°.

$C_{31}H_{45}NO_{11}$ (607.7) Ber. N 2.30 Gef. N 2.59

R_F -Wert im Gemisch III 0.05, in II und in Pentanol/Wasser blieb die Substanz am Startpunkt. Färbung mit $SbCl_3$: im Tageslicht fast farblos, im UV schwach gelblich.

Bovokryptosid-acetat: 50 mg Bovokryptosid wurden in 1.5 ccm Pyridin und 1 ccm Acetanhydrid bei 20° 2 Tage stehengelassen. Die Aufarbeitung ergab aus Methanol/Wasser und Methanol/Äther/Petroläther 45 mg Nadeln, Schmp. 269–278°.

$C_{31}H_{42}O_{11} \cdot 3 C_2H_2O$ (716.8) Ber. C 61.98 H 6.75

$C_{31}H_{44}O_{11} \cdot 3 C_2H_2O$ (718.8) Ber. C 61.82 H 7.01 Gef. C 61.68 H 6.76

Spezif. Extinktion $\alpha = 8.87$, Bovokryptosid $\log \epsilon = 3.79$; daraus ergibt sich für das Acetat ein Mol.-Gew. von 695. R_F -Werte: Gemisch I 0.80, Gemisch II 0.28, Gemisch V 0.38, $SbCl_3$ -Färbung: fast farblos, im UV schwach rosa. Keine Färbung mit Tetranitromethan.

Die Entacetylierung mit $KHCO_3$ (9 Tage) führte neben unangegriffenem Acetat zu 2 Flecken, R_F 0.20 und 0.35 (Pentanol/Wasser). Die Substanz mit 0.20 war das Hauptprodukt.

Chromsäure-Oxydation: Die Lösung von 31 mg Bovokryptosid-acetat in 1 ccm Eisessig wurde mit 0.5 ccm 2-proz. Chromsäure in Eisessig 20 Stdn. bei 20° stehengelassen. Nach Zerstörung der überschüss. Chromsäure durch 1 ccm Isopropylalkohol wurde in der üblichen Weise aufgearbeitet und in saure und neutrale Anteile getrennt. Der Neutralteil (12 mg) verhielt sich papierchromatographisch wie Bovokryptosid-acetat. Der saure Anteil (14 mg) gab, papierchromatographisch untersucht, einen Hauptfleck mit einem R_F -Wert von 0.37 im Gemisch II und von 0.07 im Gemisch V, die Nebenflecke hatten keine Absorption bei 300 μ .

Reduktion des Bovokryptosids mit $NaBH_4$ (Oktahydro-bovokryptosid): 100 mg Bovokryptosid wurden mit 25 mg $NaBH_4$ in 5 ccm 80-proz. Dioxan 5 Stdn. reduziert. Das Rohprodukt wurde an 2 g Aluminiumoxyd chromatographiert; es bestand aus 2 Stoffen. Aus Frakt. 9 (mit Chloroform und 20 % Methanol von der Säule eluiert) wurden 9 mg Kristalle (aus Methanol/Aceton/Äther) vom Schmp. 233–238° gewonnen, die keine selektive UV-Absorption mehr aufwiesen. Daneben war in den Fraktionen 5–6 Dihydro-bovokryptosid vorhanden.

$C_{31}H_{50}O_{11}$ (598.7) Ber. C 62.19 H 8.42

$C_{31}H_{52}O_{11}$ (600.7) Ber. C 61.97 H 8.72 Gef. C 62.32 H 8.75

R_F -Wert in Pentanol/Wasser 0.75. $SbCl_3$ -Färbung orange (Tageslicht und UV).

Dihydro-bovokryptosid: 40 mg Bovokryptosid wurden mit 10 mg NaBH₄ in 4 ccm 80-proz. Dioxan 90 Min. reduziert. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das Rohprodukt an Al₂O₃ chromatographiert. Aus den mit Chloroform und 5–10 % Methanol eluierten Fraktionen wurden 12 mg Kristalle (aus Methanol/Aceton/Äther) vom Schmp. 309–312° gewonnen.

C₃₁H₄₄O₁₁ (592.6) Ber. C 62.82 H 7.50

C₃₁H₄₆O₁₁ (594.7) Ber. C 62.61 H 7.80 Gef. C 62.42 H 7.48

R_F-Wert in Pentanol/Wasser 0.50. SbCl₃-Färbung: im Tageslicht fast farblos, im UV schwach gelblich.

Glykosid-Spaltung: Die Spaltung von Bovorubosid, Bovokryptosid und Bovosid B wurde in der früher beschriebenen Weise²⁾ nach KILIANI vorgenommen. Die papierchromatographische Untersuchung der erhaltenen Zuckerfraktionen ergab in Butanol/Pyridin/Wasser (3:1:3), (*R_F*-Wert 0.58), Essigester/Pyridin/Wasser (2:1:2) (0.72), Butanol/Äthanol/Wasser (5:1:4) (0.67) und n-Butanol/Wasser (0.47) den *R_F*-Wert der Thevetose (Anfärbung mit Anilin-hydrogenphthalat).

FRANZ FEHÉR und HELMUT WEBER¹⁾

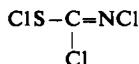
Beiträge zur Chemie des Schwefels, 52²⁾

Zur Kenntnis des Rhodantrichlorids und einiger seiner Derivate

Aus dem Chemischen Institut der Universität Köln

(Eingegangen am 1. August 1958)

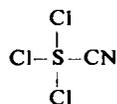
Rhodantrichlorid hat nach ramanspektroskopischen und präparativen Untersuchungen die Konstitution



und stellt wahrscheinlich ein Gemisch von *syn*- und *anti*-Isomeren dar. Durch Umsetzung der Verbindung mit Hg(SCN)₂ bzw. PbS wurden Derivate der Form NCS-S-CCl=NCl bzw. ClN=CIC-S₃-CCl=NCl erhalten und untersucht. Ferner wurden Vorversuche mit Schwermetallmercaptiden durchgeführt, die wahrscheinlich zu Produkten des Typs R-S-S-CCl=NCl führten.

Die als Rhodantrichlorid bekannte Verbindung der Zusammensetzung SCNCl₃ wurde erstmalig von H. P. KAUFMANN und H. LIEPE³⁾ durch Chlorieren von Dirhodan dargestellt⁴⁾ und von den Autoren als ein Analogon des Jodtrichlorids der nebenstehenden Form angesehen.

Wie bereits kurz mitgeteilt⁵⁾, erschien diese Konstitution auf Grund des von uns aufgenommenen Raman-Spektrums der Substanz unwahr-



¹⁾ HELMUT WEBER, Dissertat. Univ. Köln 1957.

²⁾ 51. Mittell.: F. FEHÉR, J. SCHOTTEN und B. THOMAS, Z. Naturforsch. 13b, 624 [1958].

³⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 57, 923 [1924].

⁴⁾ Die Chlorierung führt über eine isolierbare Zwischenstufe, das Rhodanmonochlorid ClSCN (A. B. ANGUS, R. G. R. BACON und R. G. GUY, Chem. and Ind. 1955, 564; A. B. ANGUS, R. G. R. BACON und R. S. IRWIN, J. chem. Soc. [London] 1958, 774), dessen Konstitution durch seine Reaktion mit Olefinen bewiesen wurde.

⁵⁾ F. FEHÉR und HE. WEBER, Z. Naturforsch. 11b, 426 [1956].