

## 182. k-Strophanthosid, das Hauptglucosid der Samen von *Strophanthus kombé*

(14. Mitteilung über Herzglucoside <sup>1)</sup>)

von Arthur Stoll, Jany Renz und Walter Kreis.

(30. X. 37.)

### *Einleitung.*

Die früheren Mitteilungen über Herzglucoside haben die Isolierung, Charakterisierung und die chemische Untersuchung von herzaktiven Substanzen der Meerzwiebel und der Blätter des roten und des wolligen Fingerhutes behandelt. Im besonderen konnten die Glucoside in ihrem ursprünglichen, ihrem genuinen Zustand gewonnen werden durch Extraktionsverfahren, mit denen die in den Drogen vorhandenen Enzyme an der Entfaltung ihrer spaltenden Wirkung verhindert werden. Es zeigte sich, dass z. B. die in den Digitalisblättern primär enthaltenen und mit schonenden Methoden isolierten Glucoside durchwegs 1 Mol. Glucose mehr enthalten als die bis dahin bekannten Glucoside, die sich von den ersten ableiten und durch enzymatische Zuckerabspaltung bei der Extraktion aus ihnen entstanden sind. Die genuinen Glucoside der *Digitalis lanata*, die Digilanide A, B und C enthalten als besonderes Merkmal noch eine an den Zuckerrest gebundene, leicht abspaltbare Acetylgruppe. In der therapeutischen Wirkung äussert sich der Unterschied in der chemischen Zusammensetzung gegenüber den älteren Glucosidpräparaten vornehmlich in einer besseren Verträglichkeit und einer rascheren Wirkung der neuen, genuinen Glucoside.

Inzwischen haben wir unsere Arbeiten unter ähnlichen Gesichtspunkten auf die herzaktiven Glucoside der *Strophanthus*-Arten ausgedehnt und werden in der vorliegenden und in folgenden Abhandlungen ausführlich <sup>2)</sup> darüber berichten. In einem ersten Beispiel, bei der Untersuchung der Samen von *Strophanthus gratus* führte die Anwendung der enzymhindernden Extraktionsmethode zu keinem neuen, zuckerreicheren Glucosid. Wir isolierten damit fast

<sup>1)</sup> 13. Mitt. Helv. **18**, 1247 (1935).

<sup>2)</sup> S. auch Schweiz. Pat. Anmeldgn. Nr. 32797 und 32798 vom 21. April 1937 und vorläufige Mitteilungen in den Vorträgen von A. Stoll, „Les glucosides cardioactifs initiaux“, gehalten vor der Soc. Belge de Cardiologie und der Soc. Belge de Thérapeutique am 25. April 1937 in Bruxelles, Bull. Soc. Belge de Cardiologie, im Druck, 1937; „The genuine cardiac Glycosides“, gehalten im Pharmacol. Inst. der Universität Chicago am 24. Mai 1937, J. Am. Pharmac. Assoc., im Druck; „Über die neuere Entwicklung der Chemie der Herzglucoside“, vorgetragen in Interlaken anlässlich der III. Internat. Med. Woche in der Schweiz am 30. August 1937, Schweiz. med. W.schr. **67**, 855 (1937).

den ganzen Glucosidgehalt dieser Droge in Form des von früheren Autoren, besonders von *Arnaud*<sup>1)</sup> dargestellten Ouabains, das neben dem Aglucon nur eine Zuckermolekel, nämlich Rhamnose, enthält.

Von einer anderen, therapeutisch viel benützten Strophanthusdroge, den Samen von *Strophanthus kombé*, war indessen bekannt, dass sie neben zwei krystallisierten und wohl definierten Glucosiden, dem Cymaridin und dem k-Strophanthin- $\beta$ , als Hauptbestandteil eine zuckerreichere Glucosidfraktion enthält, die freilich bisher nicht einheitlich und nur amorph erhalten wurde. Das amorphe Glucosidgemisch aus den Samen von *Str. kombé*, das „k-Strophanthin“, hat trotzdem in der Medizin, seitdem *Fränkel*<sup>2)</sup> seine intravenöse Applikation begründet hat, namentlich zur Bekämpfung akuter Herzschwäche, ausgedehnte Verwendung gefunden. Den Hauptbestandteil des Glucosidgemisches dieser Droge in ursprünglicher und krystallisierter Form zu fassen und chemisch und physikalisch zu charakterisieren, um den Reinstoff mit konstanten Eigenschaften der Therapie zugänglich zu machen, bildet den Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

#### *Historische Übersicht.*

Unsere heutige Kenntnis über die Natur der herzaktiven Substanz von *Strophanthus kombé* als zusammengesetzte und infolge enzymatischer Einflüsse variable Mischung macht die in der Literatur aufgetretenen Widersprüche in den Befunden verschiedener Autoren verständlich. Es wurde aber nicht nur verschieden gearbeitet, sondern dazu gelegentlich verschiedenes Ausgangsmaterial, z. B. Samen verschiedener Arten, benützt.

Den Grundstein zur Erforschung der Strophanthusherzgifte legte *Fraser*<sup>3)</sup>, als er 1870 aus dem alkoholischen Extrakt von Strophanthussamen den wirksamen Bestandteil isolieren konnte, der den kombé-Pfeilgiften aus dem tropischen Afrika zugrunde lag. *Fraser* nannte das aktive Produkt Strophanthin und konnte es in eine der wichtigsten Gruppen von Naturstoffen, die Glucoside, einreihen. Bald darauf hat er das Strophanthin auf seine physiologischen Wirkungen hin studiert<sup>4)</sup>, die Ergebnisse seiner Forschungen indessen erst im Jahre 1891 in einer Monographie<sup>5)</sup> zusammengefasst.

Gestützt auf die Untersuchung seines Pflanzenmaterials durch *Oliver*<sup>6)</sup>, welcher als erster *Strophanthus kombé* als eigene Art defi-

<sup>1)</sup> *Arnaud*, C. r. **106**, 1011 (1888); **107**, 1162 (1888); **126**, 346, 1208, 1654 (1898).

<sup>2)</sup> Vgl. *A. Fränkel*, Strophanthintherapie, *Springer*, Berlin 1933.

<sup>3)</sup> *Th. R. Fraser*, Proc. Roy. Soc. Edinburgh **7**, 99 (1869/70).

<sup>4)</sup> *Th. R. Fraser*, J. Anat. Physiol. **7**, 139 (1873).

<sup>5)</sup> *Th. R. Fraser*, *Strophanthus hispidus*: its natural history, chemistry and pharmacology. Transact. Roy. Soc. Edinburgh **35**, Teil IV, 955 (1890); **36**, Teil II, 343; Monographie Edinburgh (1891).

<sup>6)</sup> *Oliver*, in *Hooker's Icones plant.* Nr. 4, Tab. 1098 (1870).

niert, später jedoch diese Pflanze als Varietät von *Str. hispidus* betrachtet hat, nahm *Fraser* an, dass die von ihm verwendeten Samen von *Str. hispidus* stammten. *Christy*<sup>1)</sup> und *Holmes*<sup>2)</sup> haben jedoch mit Nachdruck darauf hingewiesen, dass *Str. kombé* streng von *Str. hispidus* zu trennen sei und seither wird *Str. kombé* allgemein als eigene Art anerkannt. Der Botaniker *Gilg*<sup>3)</sup> hat später festgestellt, dass *Fraser* in der Hauptsache mit *Str. kombé* gearbeitet hat. Die Samen der beiden Arten sind allerdings so ähnlich, dass oft Verwechslungen vorkamen. Den Unsicherheiten in der exakten Bestimmung des Samenmaterials waren alle Forscher, die über das Gebiet gearbeitet haben, ausgesetzt. In neuester Zeit haben *Jacobs* und *Hoffmann*<sup>4)</sup> chemisch nachgewiesen, dass die Herzglucoside aus *Str. hispidus* und aus *Str. kombé* wesentlich voneinander verschieden sind.

*Heffter* und *Sachs*<sup>5)</sup> haben die ältere Literatur zusammengefasst und einer eingehenden und kritischen Betrachtung unterworfen; es sei darauf verwiesen. Erwähnt sei hier, dass aus Samen von *Str. kombé* zu verschiedenen Malen krystallisierte Strophanthine dargestellt wurden, die aber alle nicht einheitlich waren, trotzdem aber sowohl nach der Art ihrer Darstellung als auch nach ihren Eigenschaften mit dem später von *Jacobs* und seinen Mitarbeitern genau beschriebenen k-Strophanthin- $\beta$  im wesentlichen übereinstimmen. So hat schon der französische Forscher *Arnaud*, der aus Strophanthus- und *Acocanthera*-Arten das Ouabain oder g-Strophanthin als erstes krystallisiertes und wohl definiertes Strophanthus-Herzglucosid isoliert hat, im Jahre 1888<sup>6)</sup> aus Kombé-Samen ein krystallisiertes Strophanthin gewonnen, das von dem *Fraser*'schen amorphen Strophanthin wesentlich verschieden war. Später (1912) haben *Heffter* und *Sachs* in der oben erwähnten Arbeit, in der sie *Hispidus*-Strophanthine und die *Kombé*-Strophanthine vergleichsweise untersuchten, ebenfalls aus identifizierten *Kombé*-Samen neben einem amorphen Strophanthin ein aus heissem Wasser in feinen Nadeln krystallisierendes Glucosid gewonnen und erachteten letzteres identisch mit dem *Arnaud*'schen Produkt. Etwa gleichzeitig mit den deutschen Forschern haben die Amerikaner *Brauns* und *Closson*<sup>7)</sup> ein ähnliches krystallisiertes Produkt in den Händen gehabt.

Alle die oben erwähnten krystallisierten und amorphen Strophanthine, die auf ähnliche Weise aus den Samen gewonnen wurden,

<sup>1)</sup> *Christy*, New commercial plants and drugs, Nr. 10, p. 11 (1887).

<sup>2)</sup> *Holmes*, Pharmac. J. and Transact. **21**, 233 (1890).

<sup>3)</sup> *E. Gilg*, B. dtsh. pharm. Ges. **14**, 90 (1904).

<sup>4)</sup> *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **79**, 531 (1928).

<sup>5)</sup> *A. Heffter* und *F. Sachs*, Bioch. Z. **40**, 83 (1912).

<sup>6)</sup> *M. Arnaud*, C. r. **107**, 179 (1888).

<sup>7)</sup> *D. H. Brauns* und *O. E. Closson*, J. Am. Pharm. Assoc. **2**, 715 (1913).

waren noch keine ganz einheitlichen Substanzen und es ist das Verdienst von *Jacobs* und seinen Mitarbeitern, wohldefinierte Reinstoffen isoliert und miteinander in Zusammenhang gebracht zu haben.

*Jacobs*<sup>1)</sup> und *Hoffmann*<sup>2)</sup> konnten sowohl das kristallisierte Kombé-Strophanthin der früheren Autoren wie das Roh-Glucosidgemisch aus Strophanthus-kombé-Samen in eine chloroformlösliche und eine wasserlösliche Fraktion aufteilen. Die chloroformlösliche Komponente ergab aus Methylalkohol eine schön kristallisierende Substanz, welche bei 148° schmolz und bei der *Keller-Kilianis*'chen Farbreaktion mit eisenhaltigem Eisessig und konz. Schwefelsäure die gleiche intensive Blaufärbung zeigte, wie sie *Kilianis*<sup>3)</sup> für die Digitoxose und *Windaus* und *Hermanns*<sup>4)</sup> für das Cymarin aus Apocynum-Arten und dessen Zucker, die Cymarose, beobachtet haben. Der Vergleich des chloroformlöslichen kristallisierten Glucosides aus Strophanthus kombé mit dem Cymarin aus Apocynum cannabinum, dem kanadischen Hanf, ergab deren völlige Identität. *Windaus* und *Hermanns*<sup>5)</sup> hatten bereits aus ihrem Cymarin durch saure Hydrolyse das Cymarigenin erhalten, das mit Strophanthidin, dem Aglucon der Kombé-Glucoside, in allen Eigenschaften übereinstimmte.

Der wasserlösliche Glucosidanteil, aus dem das chloroformlösliche Cymarin entfernt wurde, stellte immer noch ein Gemisch dar. Beim Konzentrieren der wässrigen Lösungen schied sich eine weitere, in Wasser relativ schwer lösliche Substanz ab, die ebenfalls kristallisierte. Dieses Glucosid, das *Jacobs* k-Strophanthin- $\beta$  nannte, enthielt dasselbe Aglucon wie das Cymarin, das Strophanthidin, das im k-Strophanthin- $\beta$  mit einem aus Cymarose und Glucose bestehenden Disaccharid verknüpft ist. Bei der sauren Hydrolyse von k-Strophanthin- $\beta$  wurde stets nur die Bindung Aglucon-Zucker gelöst; das in amorpher Form gewonnene Disaccharid erwies sich als sehr säureresistent. Höhere Säurekonzentrationen führten eine Spaltung desselben herbei, zerstörten aber gleichzeitig den Cymaroseanteil.

Ein wichtiges Hilfsmittel für die Erforschung der Strophanthusglucoside wurde geschaffen, als es *Jacobs*<sup>6)</sup> gelang, aus Samen von Strophanthus Courmontii ein Enzym zu bereiten, das sowohl k-Strophanthin- $\beta$ , wie den bisher noch unbekanntem, in den wässrigen Mutterlaugen zurückbleibenden amorphen Glucosidanteil zu spalten vermochte. Das k-Strophanthin- $\beta$  wurde in Cymarin und Glucose

<sup>1)</sup> W. A. *Jacobs*, J. Biol. Chem. **57**, 569 (1923).

<sup>2)</sup> W. A. *Jacobs* und A. *Hoffmann*, J. Biol. Chem. **67**, 609 (1926).

<sup>3)</sup> H. *Kilianis*, Arch. Pharm. **234**, 275 (1896).

<sup>4)</sup> A. *Windaus* und L. *Hermanns*, B. **48**, 979 (1915).

<sup>5)</sup> A. *Windaus* und L. *Hermanns*, B. **48**, 991 (1915).

<sup>6)</sup> W. A. *Jacobs* und A. *Hoffmann*, J. Biol. Chem. **69**, 153 (1926).

zerlegt. Damit war die Spaltungsgleichung sowohl des Glucosids wie seines Zuckers sichergestellt. Das Cymarín ist gegen das Enzym völlig resistent. Da Emulsin, Invertase und die Rhamnodiastase von *Bridel* und *Charaux*<sup>1)</sup> das k-Strophanthin- $\beta$  intakt liessen, erblickte *Jacobs* in der Abspaltung der Glucose aus dem „Bioserest“ des Glucosids eine spezifische Wirkung und nannte das „Strophanthusenzym“ Strophanthobiase.

Bei der Einwirkung des Enzyms auf die rohe Glucosidmischung aus Samen von *Strophanthus kombé*, die durch eine Bleibehandlung etwas gereinigt und durch Ausschütteln der wässerigen Lösung mit Chloroform von Cymarín befreit war, erhielten *Jacobs* und *Hoffmann* als einzige Spaltstücke Cymarín und Glucose. Das Cymarín liegt also allen Glucosiden aus *Strophanthus kombé* zugrunde und ist darin mit einer oder mehreren Glucosemolekeln verbunden. Schon *Jacobs* und *Hoffmann* nehmen an, dass wohl die Hauptmenge des amorphen Glucosidanteils in Form eines Triosids vorliegt. Diese Vermutung wird durch die vorliegende Untersuchung vollauf bestätigt.

#### *Fraktionierung des natürlichen Glucosidgemisches.*

Die Bearbeitung der herzaktiven Inhaltsstoffe von *Strophanthus kombé* war von Anfang an dadurch vereinfacht, dass jedenfalls ihre weit überwiegende Menge ein und dasselbe Aglucon bzw. sein Monosid das Cymarín enthält. Die zu erwartenden Fraktionen konnten sich daher nur in ihrem Zuckergehalt voneinander unterscheiden, während wie erinnerlich z. B. aus den Glucosiden der *Digitalis lanata* drei verschiedene Aglucone isoliert wurden.

Als Ausgangsmaterial dienten wohl definierte frische Samen von *Strophanthus kombé*, die unter Verhinderung enzymatischer Spaltung extrahiert wurden. Aus den in üblicher Weise mit Bleihydroxyd behandelten und wieder entbleiten, rein wässerigen Lösungen des Gesamtglucosidgemisches wird durch Ausschütteln mit Chloroform das Cymarín leicht quantitativ entfernt.

Zur Abtrennung des k-Strophanthin- $\beta$  sind zwei Wege ausgearbeitet worden. Bei dem einen setzt man nach Zugabe von Alkohol unter Einhaltung eines bestimmten Verhältnisses von Wasser: Chloroform : Alkohol, die Ausschüttelungen mit Chloroform fort, das, alkoholhaltig, in wenigen Malen und ohne Mitnahme erheblicher Mengen höherer Glucoside das k-Strophanthin- $\beta$  aufnimmt. Es kann daraus nach dem Einengen zur Trockne und Aufnehmen in heissem Wasser krystallisiert und umkrystallisiert werden und wird aus Wasser von 70°, worin es als definiertes Tetrahydrat (Fig. 2

<sup>1)</sup> *M. Bridel* und *C. Charaux*, C. r. 181, 925 (1925).

der Tafel I) am schwersten löslich ist, in voluminösen Nadelbüscheln gewonnen.

Der zweite Weg führt über eine wiederholte Ätherfällung der Glucoside aus ihrer absolut alkoholischen Lösung. Dabei wird das zuckerärmere Glucosid in den Mutterlaugen angereichert. Nach etwa fünfmaliger Wiederholung der Operation enthält die Fällung keine wesentlichen Mengen *k*-Strophanthin- $\beta$  mehr.

Das von Cymarın und *k*-Strophanthin- $\beta$  befreite Glucosidpräparat macht in trockenem Zustand etwa  $\frac{3}{4}$  des Ausgangsmaterials aus; es ist noch schwach gelblich gefärbt, hygroskopisch, in Wasser und Methanol spielend löslich, etwas schwerer in absolutem Alkohol und enthält noch  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{3}$  nichtglucosidische Beimengungen.

#### *Peracetylierung des Rohglucosids.*

Eine weitere Aufteilung des amorphen Rohglucosids durch Verteilung zwischen Lösungsmitteln führte nicht zu einheitlichen, krystallisierenden Präparaten. Doch führte der Umweg über die Peracetylverbindung zum Ziel. Beim Behandeln mit Essigsäureanhydrid in wasserfreiem Pyridin entsteht aus dem Rohglucosidgemisch ein wasserunlösliches Produkt, das aus absolutem Alkohol oder Methanol leicht in schönen Nadeln krystallisiert, während die nichtglucosidischen und nicht acetylierbaren Begleitstoffe in wässriger Lösung bleiben. Die Acetylverbindung lässt sich dank ihren günstigen Löslichkeitseigenschaften und ihrer grossen Krystallisationstendenz gut und schnell reinigen. Die nähere Untersuchung — Analyse, Titration durch Verseifung, schonende Hydrolyse — ergab, dass es sich um die Heptacetylverbindung eines Strophanthidintriosids, einer Verbindung von Strophanthin mit Cymarose und 2 Glucosen, handelt.

Die Acetylverbindung löst sich sehr schwer in Wasser, schwer in kaltem Äthanol und Methanol, leicht in heissen Alkoholen — ungefähr 20mal leichter als in kalten — leicht auch in Chloroform. Sie zeigt einen scharfen Smp. bei 229—230<sup>o</sup> <sup>1)</sup> und in Benzol eine schwache Linksdrehung ( $[\alpha]_D^{20} = -4,5^o$ ). Bei der *Liebermann'schen* Reaktion treten die gleichen Farbübergänge von rot nach grün wie bei den zuckerärmeren Glucosiden auf.

Nachdem die Heptacetylverbindung aus fraktioniertem Rohglucosid einmal dargestellt und so ihre Eigenschaften bekannt waren, konnte sie auch aus den früheren Reinheitsstufen der Glucosidaufarbeitung isoliert werden. So ist es nicht mehr nötig, das Cymarın und das *k*-Strophanthin- $\beta$  zuerst zu entfernen; peracetyliert man das ursprüngliche Roh-Glucosidgemisch direkt, so bleiben schon bei der ersten Umkrystallisation aus Alkohol die viel leichter lös-

<sup>1)</sup> Sämtliche in dieser Arbeit aufgeführten Schmelzpunkte sind korrigiert.

lichen Acetylverbindungen des Cymarins und des k-Strophanthin- $\beta$  in der Mutterlauge zurück. Selbst die Acetylierung eines rohen Auszuges, der lediglich durch Extraktion der Samen und Entfernung der Fette und anderer ätherlöslicher Substanzen gewonnen und noch nicht mit Bleihydroxyd behandelt wurde, führt nach einigen Umkrystallisationen zu reiner Heptacetylverbindung.

Im Schmelzpunkt stimmt unsere Acetylverbindung, die bereits in der Schweiz. Patentanmeldung Nr. 32797 vom 21. April 1937 beschrieben ist, überein mit einem kürzlich von *J. Kraus*<sup>1)</sup> erwähnten Acetyl-strophanthin (vgl. auch S. 1495).

#### *Die saure Hydrolyse der Heptacetylverbindung.*

Die Zusammensetzung der Heptacetylverbindung, die sowohl durch Analysen wie durch die Verseifung der Acetylgruppen und die Untersuchung des freien Glucosids ermittelt wurde, erfuhr durch die saure Totalhydrolyse eine einfache Bestätigung. So ergab ein sorgfältig durchgeführter Hydrolyseversuch in salzsaurem, wässrigem Medium eine Ausbeute von 34% Strophanthin. Für ein Triosid der angegebenen Zusammensetzung berechnen sich 34,6%.

In wasserfreien Medien, z. B. mit absolut-alkoholischer Säure, verläuft die Spaltung nicht ohne Nebenreaktionen. Obschon strukturelle Fragen in dieser Arbeit nicht weiter berührt werden sollen, da die Struktur des Strophanthidins durch die Arbeiten von *Jacobs* abgeklärt ist, teilen wir hier kurz einen Spaltungsversuch in Methanol mit, der zu einem Derivat des Strophanthidins führte.

Bei der Behandlung von Strophanthin mit absolutem Alkohol, der 10% trockene Salzsäure enthielt, hatten *Jacobs* und *Collins*<sup>2)</sup> Wasserabspaltung und Verätherung unter Halbacetalbildung beobachtet und eine Verbindung erhalten, die sie als Äthylal von Oxydoanhydro-strophanthin bezeichneten.

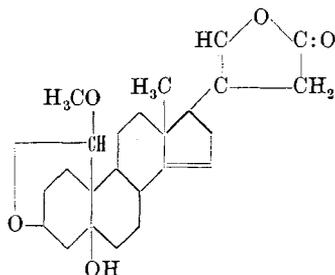
Als wir zu Verseifungszwecken die Heptacetylverbindung des Triosids mit absolut-methylalkoholischer Salzsäure behandelten, so erhielten wir nicht das Aglucon Strophanthin selbst, sondern es trat ebenfalls Wasserabspaltung und Verätherung unter Halbacetalbildung ein. In Analogie zu den Angaben von *Jacobs* und *Collins* ist die neue Substanz als Methyl-halbacetal des Oxydoanhydro-strophanthidins zu bezeichnen und ihre Struktur wie folgt zu formulieren (siehe S. 1491).

Bei dieser Hydrolyse in absolutem Methylalkohol werden die Acetylgruppen des Zuckers abgespalten. Das Trisaccharid wird in

<sup>1)</sup> Naturw. 25, 651 (1937).

<sup>2)</sup> W. A. *Jacobs* und A. M. *Collins*, J. Biol. Chem. 69, 713 (1924).

Form seines Methylglucosids gewonnen, das im Kapitel über die Zucker erwähnt und im experimentellen Teil beschrieben ist.



*Darstellung und Beschreibung des k-Strophanthosids.*

Die Heptacetylverbindung lässt sich in wasserfreiem Medium ohne Öffnung der Lactongruppe im Strophanthidinrest oder Lösung der Aglucon-Zuckerbindung mit Alkoholaten der Alkali- und Erdalkalimetalle verseifen. Der Vorteil dieser Methode liegt, wie *Zemplén* und Mitarbeiter<sup>1)</sup> gefunden haben, darin, dass ganz geringe Mengen Alkali genügen, um eine totale Verseifung schon bei niedriger Temperatur herbeizuführen. Bei Gegenwart von Methylat und Methanol werden die Acetylreste als Essigsäure-ester gebunden, und das Alkalimethylat bleibt dem Verseifungsprozess ständig verfügbar. Es genügt daher eine Alkalimenge, die weit unter dem für die Neutralisation der Acetylgruppen berechneten Betrag liegt. Für eine vollständige Verseifung ist wichtig, dass die Lösung gerade phenolphthalein-alkalisch bleibt. Die Verwendung von Bariummethylat bietet den Vorteil, dass bei nachheriger Neutralisation mit Schwefelsäure keine anorganischen Substanzen in Lösung bleiben.

Das aus der Heptacetylverbindung durch schonende Entacetylierung gewonnene Glucosid ist rein und ohne weiteres krystallisierbar. Es wird trotz zahlreicher Operationen, die für seine Reindarstellung erforderlich sind, in so guter Ausbeute erhalten, dass andere Glucoside wie Cymarin und k-Strophanthin- $\beta$  oder in Mutterlaugen verbleibende Reste stark zurücktreten. Das neue Glucosid kann füglich als Hauptglucosid der Samen von *Strophanthus kombé* aufgefasst und deshalb als „k-Strophanthosid“ ( $C_{42}H_{64}O_{19}$ ) bezeichnet werden.

Das k-Strophanthosid krystallisiert aus Äthyl- und Methylalkohol-Chloroformgemischen in federartig verzweigten Nadeln, die von einem Punkte zu dichten Büscheln ausstrahlen (Fig. 3 der Tafel I).

Seitdem die Krystalle der reinen Substanz als Impfmateriel vorliegen, ist es auch gelungen, das Glucosid unter Umgehung der

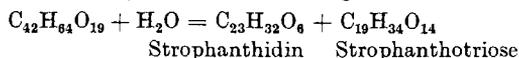
<sup>1)</sup> *G. Zemplén* und *A. Kunz*, B. 56, 1705 (1923).

Acetylierung zur Krystallisation zu bringen. Werden Rohpräparate wiederholt aus Alkohol-Äther umgefällt, so krystallisiert das neue Glucosid, nachdem zuerst ausfallende schmierige Substanzen entfernt worden sind, aus Alkohol-Chloroform beim Animpfen ganz allmählich aus.

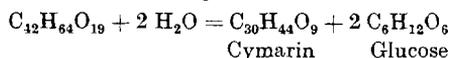
Das k-Strophanthosid löst sich spielend in Wasser und Methanol, etwas schwerer in Äthanol zu farblosen, neutralen Lösungen. Sein Smp. liegt scharf bei 199—200°. Sowohl in Wasser wie in Alkohol ist k-Strophanthosid rechtsdrehend: ( $[\alpha]_D^{20} = +12^\circ$ ). Bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zeigt es wie k-Strophanthin- $\beta$ , einen Übergang von rot nach grün.

Schon aus der Analyse und der hydrolytischen Spaltung der Heptacetylverbindung konnte auf ein Triosid geschlossen werden. Es soll im folgenden gezeigt werden, wie es gelingt, alle drei glucosidischen Bindungen im k-Strophanthosid einzeln zu lösen und die dabei entstehenden Spaltstücke zu fassen.

Bei der sauren Hydrolyse entsteht mit einer Ausbeute von 46% Strophanthidin. Der gesamte Zuckeranteil lässt sich intakt in Form eines in schönen Rosetten krystallisierenden Trisaccharids, das wir mit „Strophanthotriose“ bezeichnen, isolieren. Die Spaltung verläuft somit nach folgender Gleichung:



Die enzymatische Hydrolyse mit der Strophanthobiase von *Jacobs* führt zur Abspaltung beider Glucosemolekeln und verläuft somit nach folgender Gleichung:

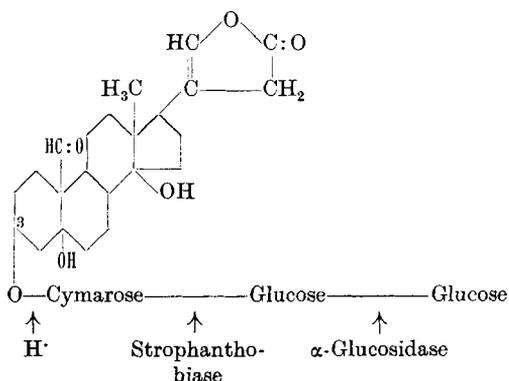


Die von der Theorie geforderte Ausbeute von 62,8% Cymaridin wird dabei fast erreicht. Als Zucker wird stets nur Glucose erhalten, die Bindung zwischen den beiden Glucoseresten wird gelöst; wahrscheinlich werden sie nacheinander abgespalten.

Die Abspaltung nur des einen, äusseren Glucoserestes aus k-Strophanthosid, wobei neben Glucose nur k-Strophanthin- $\beta$  entsteht, gelingt mit  $\alpha$ -Glucosidase aus Hefe. Diese enzymatische Spaltung lässt sich präparativ verwerten, um sowohl aus k-Strophanthosid wie aus Gesamt-Glucosidgemischen k-Strophanthin- $\beta$  darzustellen.  $\beta$ -Glucosidasen sind ohne Einwirkung auf das neue Triosid. Daraus lässt sich folgern, dass die endständige Glucose in  $\alpha$ -Bindung mit dem k-Strophanthin- $\beta$ -Rest verknüpft ist. Da die Strophanthobiase-Präparate aus *Courmontii*-Samen auch  $\alpha$ -Glucosidasewirkung besitzen, so wird verständlich, dass, wie erwähnt, bei der enzymatischen Spaltung mit Strophanthobiase stets nur Glucose und kein Glucose-Disaccharid isoliert werden konnte. Über

die enzymatischen Untersuchungen, die hier mehr präparativen Zwecken gedient haben, soll demnächst in einer eigenen Arbeit berichtet werden.

Die eben besprochenen Spaltungen des k-Strophanthosids, die für dessen Konstitution massgebend sind, lassen sich durch folgende schematische Formel veranschaulichen:



*Die Zucker der Glucoside von Strophanthus kombé.*

Bei der sauren Hydrolyse der hier besprochenen Strophanthine wird stets zunächst die Bindung zwischen dem Zuckerrest und dem Aglucon gelöst. Es gelingt daher in allen Fällen, den Zuckerrest als Ganzes zu fassen. Bei einer weitergehenden Hydrolyse mit höheren Säurekonzentrationen können auch die Bindungen zwischen den einzelnen Zuckermolekeln gespalten werden, doch wird dann die säureempfindliche Cymarose zerstört. Die Zusammensetzung der Strophanthobiose und der Strophanthotriose konnte jedoch auf indirektem Wege durch enzymatischen Abbau der höheren Glucoside und Untersuchung des Zuckers in den so erhaltenen Glucosiden ermittelt werden.

Über die Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften der Zucker der Kombé-Glucoside orientiert die nachstehende Tabelle 1:

**Tabelle 1.**  
*Eigenschaften der Zucker.*

Zucker	Cymarose	Strophanthobiose	Strophanthotriose
Brutto-Formel	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_4$	$\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}_9$	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_{14}$
Schmelzpunkt	91°	208°	222°
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ in Wasser ( $c=2$ )	+ 53,4°	+ 31,1°	+ 7,75°

Für den Zucker des Cymarins, die Cymarose (Fig. 4 der Tafel) nahmen schon *Windaus* und *Hermanns*<sup>1)</sup> die Struktur eines Methyl-äthers der Digitoxose, des spezifischen Zuckers der Digitalisglucoside, an. Dies wurde durch *Elderfield*<sup>2)</sup> bestätigt, welcher für den Zucker die Konstitution einer 3-Methyl-digitoxose ermitteln konnte. Da von *Micheel*<sup>3)</sup> auch die Konfiguration der Digitoxose festgestellt wurde, schloss *Elderfield* auf folgende Konfiguration der Cymarose:



Die Cymarose reduziert *Fehling'sche* Lösung. Sie ist, abgesehen von den in der Tabelle erwähnten physikalischen Eigenschaften besonders charakterisiert durch die intensiv blaue Färbung bei der *Keller-Kiliani'schen* Farbreaktion.

Die Strophanthobiose wird durch saure Hydrolyse aus  $\alpha$ -Strophanthin- $\beta$  erhalten und besteht aus 1 Mol. Cymarose und 1 Mol. Glucose. Über die Konfiguration der Glucose in diesem Disaccharid kann noch nichts ausgesagt werden. Bei der *Keller-Kiliani'schen* Farbreaktion gibt Strophanthobiose eine schwache Blaufärbung. Der Zucker reduziert *Fehling'sche* Lösung. Er wird in vorliegender Arbeit erstmals in krystallisiertem Zustand beschrieben, da er bei *Jacobs* und *Hoffmann*<sup>4)</sup> nur als nicht krystallisierender Sirup vorlag. Die Krystallisation verläuft schwer, doch werden aus einem Gemisch von Methanol und Äther deutlich ausgebildete Sphenoide, die oft zu Schmetterlingsformen vereinigt sind, erhalten (Fig. 5 der Tafel I).

Die Strophanthotriose, der Zucker des Hauptglucosids der Kombé-Samen, besteht aus 1 Mol. Cymarose und 2 Mol. Glucose. Aus den enzymatischen Spaltungsversuchen kann geschlossen werden, dass, wie bereits erwähnt, die endständige mit der mittelständigen Glucose als  $\alpha$ -Glucose verbunden ist.

Das Trisaccharid reduziert ebenfalls *Fehling'sche* Lösung, gibt jedoch bei der *Keller-Kiliani'schen* Farbreaktion keine Blaufärbung, da dieselbe durch die Anwesenheit freier Cymarose bedingt ist. Der Zucker ist ausserordentlich leicht löslich in Wasser, kann jedoch aus einem Gemisch von Wasser, Methanol und Äther in prächtigen prismatischen, zu Rosetten vereinigten Spiessen erhalten werden

<sup>1)</sup> *A. Windaus* und *L. Hermanns*, B. **48**, 979 (1915).

<sup>2)</sup> *R. C. Elderfield*, *Scienc* **81**, 440 (1935); *J. Biol. Chem.* **111**, 527 (1935).

<sup>3)</sup> *F. Micheel*, B. **63**, 347 (1930).

<sup>4)</sup> *J. Biol. Chem.* **67**, 609 (1926).

(Fig. 6 der Tafel I). Die Darstellung der Strophanthotriose aus k-Strophanthosid und ihre Zusammensetzung wurde erstmals im Vortrag „Les glucosides cardioactifs initiaux“ am 25. April 1937 in Brüssel mitgeteilt und seither publiziert<sup>1)</sup>. Im Anschluss an die Publikation veröffentlichte *J. Kraus* eine Notiz<sup>2)</sup>, in welcher die Darstellung einer Substanz mit der gleichen Zusammensetzung und ähnlichen Eigenschaften aus einem Strophanthin des Handels beschrieben wurde. Wahrscheinlich ist dieser Zucker mit unserer Strophanthotriose identisch. In der von *Feist*<sup>3)</sup> mit der Bezeichnung Methyl-strophanthobiosid beschriebenen Substanz dürfte, wie aus dem Vergleich des optischen Drehvermögens hervorgeht, ein Gemisch von Strophanthobiose und Strophanthotriose vorgelegen haben.

Als charakteristische Derivate der Strophanthotriose werden im experimentellen Teil eine durch Acetylierung erhaltene Octacetylverbindung und ein bei der Einwirkung von methanolischer Salzsäure auf Heptacetyl-k-strophanthosid erhaltenes Methylglucosid beschrieben.

#### *Zusammenfassender Vergleich der Glucoside von Strophanthus kombé.*

Durch die Untersuchungen von *Jacobs* ist in den letzten Jahren die Struktur des Strophanthidins abgeklärt und die Bindung des Zuckerrests an C<sub>3</sub> dieses Aglucons festgestellt worden. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in zusammenfassenden Abhandlungen beispielsweise von *Jacobs*<sup>4)</sup>, von *Elderfield*<sup>5)</sup> und von *Stoll*<sup>6)</sup> dargestellt worden.

Nach der Isolierung des k-Strophanthosids und der Ermittlung seiner Zusammensetzung und nachdem alle Wege, die von diesem Glucosid zu den früher bekannten Glucosiden Cymaridin und k-Strophanthin- $\beta$  führen, experimentell begangen worden sind, dürfte die chemische Untersuchung der herzaktiven Glucoside von *Strophanthus kombé* im wesentlichen abgeschlossen sein. Quantitative Versuche zeigten, dass die Ausbeute an Strophanthidin aus einem Gesamtglucosidpräparat nahezu der Summe der daraus isolierbaren Glucoside k-Strophanthosid, k-Strophanthin- $\beta$  und Cymaridin entspricht. Für das Vorkommen von Glucosiden, die sich nicht von Strophanthidin ableiten, konnten bei Glucosidpräparaten aus den Samen von *Str. kombé* bisher keine Anhaltspunkte gefunden werden. Der Menge nach müssten derartige Glucoside jedenfalls stark zurücktreten, da praktisch fast die ganze Menge eines Gesamtglucosid-

<sup>1)</sup> Schweiz. med. W.schr. **67**, 855 (1937)

<sup>2)</sup> Naturwiss. **25**, 651 (1937).

<sup>3)</sup> *F. Feist*, B. **31**, 534 (1898).

<sup>4)</sup> *W. A. Jacobs*, Phys. Reviews **13**, 222 (1933).

<sup>5)</sup> *R. C. Elderfield*, Chem. Reviews **17**, 187 (1935).

<sup>6)</sup> *A. Stoll*, „The cardiac Glycosides“, Pharmaceutical Press, London 1937.

präparats in die heute bekannten Glucoside aufgelöst werden kann. Die wichtigsten Eigenschaften der Kombé-Glucoside und ihrer charakteristischen Peracetylverbindungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

**Tabelle 2.**

*Eigenschaften der Herzglucoside aus Strophanthus kombé und ihrer Peracetylverbindungen.*

Glucosid	Cymarin	k-Strophanthin- $\beta$	k-Strophanthosid
Brutto-Formel	$C_{30}H_{44}O_9$	$C_{36}H_{54}O_{14}$	$C_{42}H_{64}O_{19}$
Zucker	Cymarose	Strophanthbiose (= Cymarose + 1 Glucose)	Strophanthotriose (= Cymarose + 2 Glucose)
Schmelzpunkt der getrockn. Substanz	148°	195° <sup>1)</sup>	200°
$[\alpha]_D^{20}$ in Methylalkohol ( $c = 1$ )	+ 39,2°	+ 31,8°	+ 13,8°
Löslichkeit in Wasser	sehr schwer lösl.	gut löslich	sehr leicht löslich
in Chloroform	sehr leicht löslich	sehr schwer lösl.	fast unlöslich
Acetyl- Verbindungen	Mono-acetyl- cymarin	Tetra-acetyl- k-strophanthin- $\beta$	Hepta-acetyl- k-strophanthosid
Brutto-Formel	$C_{32}H_{46}O_{10}$	$C_{44}H_{62}O_{18}$	$C_{56}H_{78}O_{26}$
Schmelzpunkt	164°	168°	230°
$[\alpha]_D^{30}$ in Alkohol ( $c = 1$ )	+ 49,4°	+ 12,0°	+ 11,2°
Löslichkeit in Wasser	sehr schwer lösl.	sehr schwer lösl.	sehr schwer lösl.
in Chloroform	sehr leicht löslich	sehr leicht löslich	sehr leicht löslich

Beim Vergleich der in der Tabelle angegebenen physikalischen Eigenschaften der Glucoside und ihrer Acetylverbindungen sieht man, dass in beiden Reihen von Verbindungen die Schmelzpunkte mit zunehmendem Zuckergehalt ansteigen. Das optische Drehvermögen nimmt dagegen mit steigendem Zuckergehalt ab. Bei den Glucosiden nimmt die Löslichkeit in Wasser durch das Hinzutreten der Glucosereste sehr stark zu, während gleichzeitig die Löslichkeit in Chloroform zurückgeht. Die Acetylverbindungen sind durchwegs in Wasser sehr schwer und in Chloroform sehr leicht löslich. Der sich daraus ergebende grosse Unterschied in den Löslichkeiten von

<sup>1)</sup> Abhängig von der Art des Erhitzens.

Tafel I.



Fig. 1.  
Cymarin aus Methanol.



Fig. 4.  
Cymarose aus Äther.

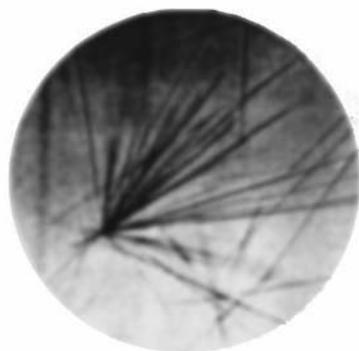


Fig. 2.  
Tetrahydrat von k-Strophanthin- $\beta$   
aus Wasser von 70°.



Fig. 5.  
Strophanthobiose aus Methanol-  
Äther.



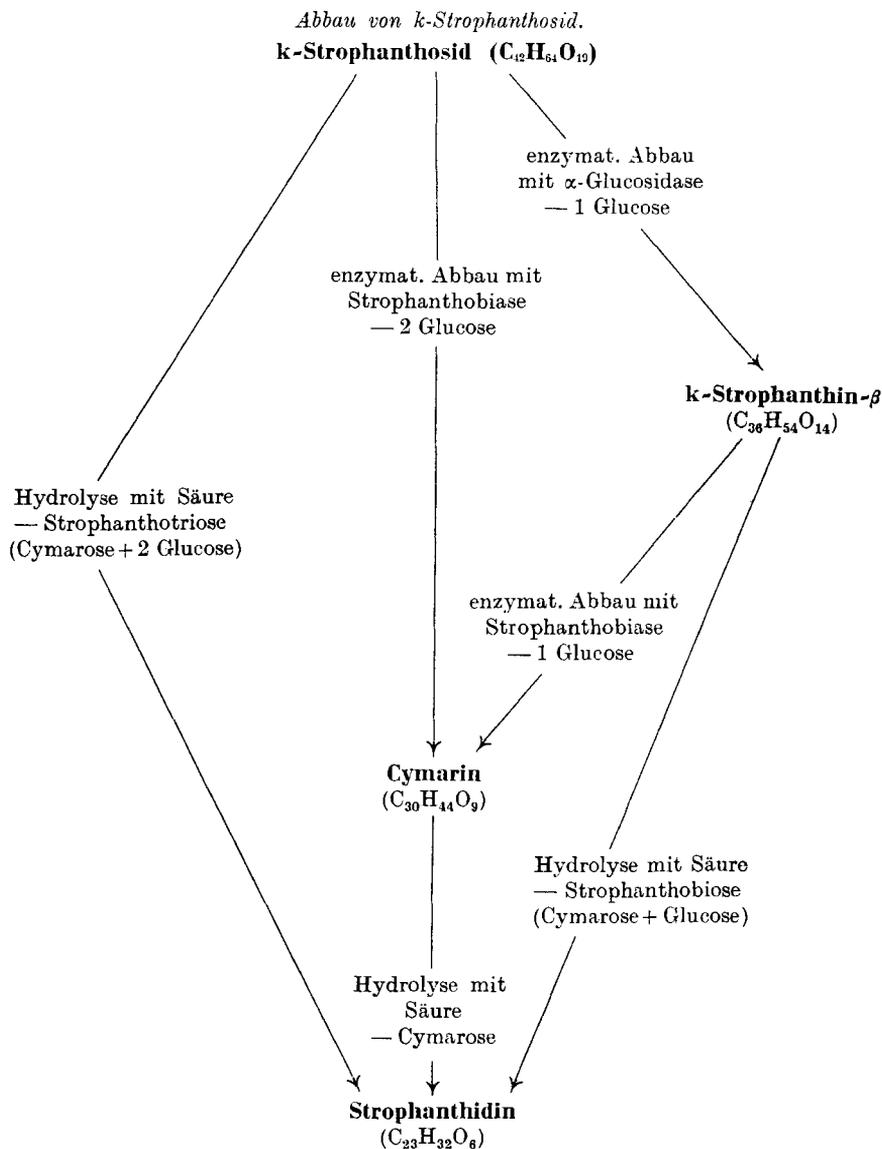
Fig. 3.  
k-Strophanthosid aus Methanol-  
Chloroform.



Fig. 6.  
Strophanthotriose aus Wasser-  
Methanol-Äther.

k-Strophanthosid und seiner Acetylverbindung hat die Reindarstellung dieses Glucosids wesentlich erleichtert.

Über die Reaktionswege, die von k-Strophanthosid zum Aglucon Strophanthidin, zu Cymarin und zu k-Strophanthin- $\beta$  führen, orientiert das nachstehende Schema.



Die einzelnen darin angedeuteten Reaktionen sind im Kapitel Darstellung und Beschreibung des k-Strophanthosids besprochen worden.

Es konnte vermutet werden, dass im Hauptglucosid, dem *k*-Strophanthosid, das in einer Ausbeute von etwa  $\frac{3}{4}$  des gesamten Glucosidgehalts der Droge darstellbar ist, ein therapeutisch wertvolles Strophanthinpräparat vorliegen würde, welches als einheitlicher Stoff die gesamte Wirkung der Droge in genau dosierbarer Form enthalte. Die bisherigen pharmakologischen und klinischen Untersuchungen haben diese Vermutung bestätigt, worüber an anderer Stelle berichtet wird.

### Experimenteller Teil.

#### 1. Darstellung des Glucosidgesamtpräparates.

In Anlehnung an die Arbeitsweise, die für die Isolierung von Scillaren A<sup>1)</sup> aus der Meerzwiebel und von Digilanid aus *Digitalis lanata*<sup>2)</sup> angewandt wurde, erwies sich das Vermahlen der Samen von Strophanthus kombé mit Ammoniumsulfat vor der Extraktion als günstig. Es werden dadurch nicht nur die Enzyme in ihrer Tätigkeit sofort gehemmt; die sehr fettreichen Samen lassen sich in der Mischung mit Salz auch viel gründlicher zerkleinern.

1 kg Samen werden mit der gleichen Menge Ammoniumsulfat vermahlen und mit 5 Liter eines Gemisches von Chloroform und Alkohol (5 : 2) 1 Stunde lang gerührt. Das Lösungsmittel extrahiert die Fette und die Hauptmenge der Glucoside. Nach dem Abfiltrieren und Nachwaschen wird der Rückstand nochmals feinst vermahlen und wie oben erneut extrahiert. Die vereinigten Extrakte dampft man bei niedriger Temperatur möglichst weitgehend zur Trockene ein und bearbeitet den grünlichen, dickflüssigen, fettigen Rückstand mit Petroläther, bis er körnig und filtrierbar geworden ist. Das nun hellbraune Präparat wird daraufhin mehrere Male mit Äther ausgekocht, bis sein Gewicht konstant bleibt. Sowohl der Äther wie der Petroläther entfernen nur Verunreinigungen und lassen die Glucoside ungelöst. Aus 1 kg Samen ergeben sich in dieser Stufe ca. 80—90 g Rohglucosidgemisch, das noch gerbstoffartige Substanzen enthält.

Es wird daher in wässrig-alkoholischer Lösung (1 : 1) der üblichen Behandlung mit frisch dargestelltem und neutral gewaschenem Bleihydroxyd unterworfen. Die von Blei-ion befreite und durch Talk geklärte Lösung wird im Vakuum bei tiefer Temperatur zur Trockene eingedampft. Zur Befreiung von anorganischen Substanzen wird in absolutem Alkohol aufgenommen, filtriert und abermals zur Trockene gebracht. Die Ausbeute an diesem rohen Glucosidgesamtpräparat beträgt etwa 60—70 g aus 1 kg Samen. Dieses Präparat muss auf Grund einer totalen Hydrolyse, die 23 g

<sup>1)</sup> A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker und A. Hofmann, Helv. 16, 720 (1933).

<sup>2)</sup> A. Stoll und W. Kreis, Helv. 16, 1062 (1933).

Strophanthidin lieferte und unter Berücksichtigung der Ausbeuten an Cymarin, k-Strophanthin- $\beta$  und k-Strophanthosid noch etwa  $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{3}$  Verunreinigungen enthalten.

2. *Abtrennung von Cymarin und k-Strophanthin- $\beta$  aus dem Glucosidgesamtpräparat.*

Wird das Gesamtpräparat (60—70 g) in 1 Liter Wasser gelöst und mit Chloroform ausgeschüttelt, so geht in dieses praktisch nur Cymarin über. Aus dem Rückstand der eingedampften Chloroformlösung lässt es sich durch Umkrystallisieren aus Methylalkohol reinigen (Fig. 1 der Tafel I). Die Ausbeute ist gering; aus 1 kg Samen werden je nach Ausgangsmaterial 1 bis 3 g Cymarin gewonnen.

Alkoholhaltiges Chloroform nimmt auch k-Strophanthin- $\beta$  auf. Zur Abtrennung dieses Glucosids wird die wässrige Lösung (1 Liter) mit 1 Liter Chloroform und 0,5 Liter Alkohol durchgeschüttelt. Die Ausschüttelung wird noch zweimal wiederholt, jedes Mal so, dass genau das Verhältnis von Wasser : Chloroform : Alkohol = 2 : 2 : 1 eingehalten wird. Aus den vereinigten und zur Trockene eingedampften Chloroformfraktionen krystallisiert das k-Strophanthin- $\beta$  nach dem Anrühren mit wenig Wasser aus. Die stark gefärbte Mutterlauge des schon weissen Krystallisats enthält noch k-Strophanthosid. Wird diese nochmals im obigen Verhältnis entmischt, so lässt sich eine weitere Menge k-Strophanthin- $\beta$  abtrennen. Die wässrige Schicht wird mit der wässrigen Hauptfraktion vereinigt.

Die Ausbeute an k-Strophanthin- $\beta$ , welches durch Umkrystallisieren aus heissem Wasser (Fig. 2 der Tafel) oder aus Alkohol-Wasser rein erhalten werden kann, beträgt 6 bis 8 g aus dem kg Samen.

Die von Cymarin und k-Strophanthin- $\beta$  befreite wässrige Lösung des Hauptglucosids wird im Vakuum zur Trockene verdampft. Man nimmt nun den Rückstand in absolutem Alkohol auf, filtriert die Lösung und dampft sie zur Trockene ein. Der Rückstand wiegt je nach seinem Trocknungsgrad und dem Glucosidgehalt der Ausgangsdroge 50—60 g und besteht grösstenteils aus k-Strophanthosid.

Die Beimischungen z. T. anorganischer Natur (z. B. Ammoniumsulfat) sind durch die Abtrennung von Cymarin und k-Strophanthin- $\beta$  relativ angereichert worden. Durch die im folgenden Kapitel beschriebene Acetylierung werden nur die Glucoside in in Wasser schwer lösliche Verbindungen übergeführt und von fremden Beimischungen, die in Lösung bleiben, befreit.

Ein Präparat von gleichem Reinheitsgrad kann gewonnen werden, indem man das Gesamtglucosidpräparat wiederholt aus absolut-alkoholischer Lösung mit dem 2—3 fachen Volumen Äther oder Petroläther ausfällt; Cymarin und k-Strophanthin- $\beta$  bleiben dabei in den Mutterlauen.

### 3. Darstellung der Heptacetylverbindung des *k*-Strophanthosids.

Das staubfeine im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknete Roh-Strophanthosid wird in 5 Teilen wasserfreiem Pyridin aufgenommen. Es ist darin nicht ganz löslich. Erst auf Zusatz von Essigsäure-anhydrid (1,5 Teile) geht alle Substanz unter Dunkelfärbung und Erwärmung in Lösung. Sie bleibt 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und färbt sich dabei rotbraun. Beim Eingiessen in reichlich Eiswasser fällt die rohe Heptacetylverbindung schmierig aus und wird so lange mit Eiswasser durchgearbeitet, bis sie fest und leicht filtrierbar wird. Zur möglichst vollständigen Entfernung des Pyridins wird der helle Rückstand in einer Reibschale mit Wasser zu einem gleichmässigen Brei angerieben, abgesaugt, mit Wasser nachgewaschen und im Exsikkator getrocknet.

In einem Beispiel wurden aus 60 g Rohglucosid 56 g rohes Acetylierungsprodukt erhalten. Rechnet man dasselbe in acetylfreies Glucosid um, so findet man, dass etwa 18 g nicht acetylierbare Verunreinigungen abgetrennt worden sind.

Die Acetylierung des Roh-Strophanthosids kann auch in einer Mischung von Essigsäure-anhydrid-Eisessig unter spurenweiser Zugabe von Perchlorsäure durchgeführt werden. Man lässt das Gemisch 3 Tage bei 0° stehen und giesst dann in Eiswasser.

Die rohe Acetylverbindung wird in der 15—20-fachen Menge absolutem Alkohol heiss gelöst; sie ist in unreinem Zustand darin noch leicht löslich. Die gelbe Lösung wird mit wenig Tierkohle aufgeköcht und nach dem Filtrieren mehrere Tage stehen gelassen. Es krystallisieren zum Teil Nadeln aus, in der Hauptsache aber warzenförmige Rosetten. Bei erneuter Umkrystallisation aus der zur Lösung nunmehr notwendigen 80—90-fachen Menge absolutem Alkohol oder Methanol erhält man das Heptacetyl-*k*-strophanthosid in meist schon einheitlichen farblosen, zu Büscheln vereinigten Krystallnadelchen. Wenn sich keine warzenförmigen Aggregate mehr ausscheiden, ist das Produkt rein. Die Lösung muss zur möglichst vollständigen Krystallisation etwa 8 Tage stehen bleiben. Die eingeengte Mutterlauge liefert noch eine zweite, ebenfalls reine Fraktion. Aus 1 kg Samen erhält man so etwa 30—40 g reines Heptacetyl-*k*-strophanthosid. In den Krystallisationsmutterlauge befinden sich schätzungsweise noch etwa 10% des Heptacetats, von denen durch sorgfältiges Aufarbeiten der grösste Teil noch gewonnen werden kann. Im erwähnten Beispiel wurden aus 56 g rohem Acetylierungsprodukt 42 g reines Heptacetyl-*k*-strophanthosid dargestellt.

### 4. Beschreibung der Acetylverbindung und ihrer Spaltungsreaktionen.

Die Heptacetylverbindung des *k*-Strophanthosids krystallisiert aus Äthylalkohol, Methylalkohol oder Aceton-Wasser in charak-

teristisch zu Büscheln vereinigten Nadeln. Sie ist nicht hygroskopisch und frei von Krystalllösungsmittel. Ihre *Liebermann'sche* Farbreaktion zeigt einen Übergang von rot nach grün. Die in Wasser sehr geringe Löslichkeit erleichtert die Abtrennung der Heptacetylverbindung von Begleitstoffen. Sie löst sich in etwa 90 Teilen siedendem Alkohol oder Methanol, bei Zimmertemperatur dagegen erst in etwa 1500 Teilen dieser Lösungsmittel. Dieser grosse Unterschied der Löslichkeit in heissen und kalten Alkoholen ist für die Reinigung durch Umkrystallisation günstig. In Aceton, Benzol, Chloroform ist die Heptacetylverbindung leicht löslich. Sie schmilzt scharf bei 229—230°.

Elementaranalyse (Dr. H. Roth, Heidelberg): Die Substanz wurde bei 100° im Hochvakuum getrocknet.

4,158; 4,306 mg Subst. gaben 8,755; 9,07 mg CO<sub>2</sub> und 2,535; 2,66 mg H<sub>2</sub>O

3,691; 3,498 mg gaben 0,71; 0,625 mg AgJ

8,152; 9,152 mg verbrauchten nach der Verseifung mit 25-proz. wässriger Toluol-sulfosäure während einer Stunde bei 100° 4,84; 5,58 cm<sup>3</sup> 0,01-n. NaOH;

C<sub>56</sub>H<sub>78</sub>O<sub>26</sub> Ber. C 57,65 H 6,745 CH<sub>3</sub>O 2,66 CH<sub>3</sub>CO 25,84%  
(M.-G. = 1166,6) Gef. „ 57,43; 57,45 „ 6,82; 6,91 „ 2,54; 2,36 „ 25,56; 26,26%

Molekulargewichtsbestimmung nach *Rast*: 11,3 mg Subst. gaben in 124,5 mg Campher eine Schmelzpunktniedrigung von 3,1°

C<sub>56</sub>H<sub>78</sub>O<sub>26</sub> Mol.-Gew. Ber. 1166,6 Gef. 1171

Polarisation: 0,1647; 0,2507 g Subst. in 25 cm<sup>3</sup> Benzol ( $c = 0,6588$ ; 1,0028) drehen bei 20° im 2 dm-Rohr um 0,06; 0,09° nach links.

$[\alpha]_D^{20} = -4,55°; -4,49°$  (in Benzol)

0,1341 g in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol gelöst ( $c = 0,5364$ , übersättigte Lösung), drehen im 2 dm-Rohr bei 20° um +0,12°

$[\alpha]_D^{20} = +11,2°$  (in Alkohol)

Titration mit Lauge: 0,1022 g; 0,1054 g werden in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol mit 25 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natronlauge; 0,2501 in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol mit 25 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH; 0,2004 in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol mit 20 cm<sup>3</sup> 0,1-n. NaOH 4 Stunden am Rückfluss gekocht. Es wird noch heiss mit 0,1-n. Salzsäure titriert. Verbrauchte Lauge: 7,03; 7,09; 16,70; 13,74 cm<sup>3</sup>.

C<sub>56</sub>H<sub>78</sub>O<sub>26</sub> Äquiv.-Gew. Ber. 145,8

Gef. 145; 148; 150; 145,8

*Saure Hydrolyse in wässrigem Medium*: 2,048 g Heptacetyl-k-strophanthosid werden fein gepulvert in 100 cm<sup>3</sup> Methanol suspendiert und unter Zusatz von 50 cm<sup>3</sup> 1-proz. wässriger Salzsäure 4 Stunden im Wasserbad bei 70° stehen gelassen. Die klare, farblose Lösung wird mit Wasser weiter verdünnt und der Methylalkohol durch Konzentrieren bei niedriger Temperatur entfernt. Nun wird die saure wässrige Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt und der durch Eindampfen der Chloroformfraktion erhaltene Rückstand aus Alkohol umkrystallisiert. Man erhält 0,70 g Prismen, die, im Hochvakuum getrocknet bei 235° schmelzen. Die Verbindung stimmt in allen Eigenschaften mit Strophanthidin überein. Ausbeute = 34,1%, berechnet für Heptacetyl-k-strophanthosid 34,6%.

Die nach erschöpfender Chloroformextraktion zurückbleibende salzsaure Lösung wird bis zur neutralen Reaktion mit Silbercarbonat durchgeschüttelt. Die unlöslichen Silbersalze werden abfiltriert und gründlich mit Wasser nachgewaschen. Beim Einengen der wässrigen Lösung findet eine reichliche Abscheidung von Silberacetat statt, von dem abgetrennt wird. Der zuletzt übrigbleibende bräunliche Sirup wird in etwas Methanol aufgenommen, die Lösung mit wenig Tierkohle aufgeköcht und nach Filtration eingedampft. Der zurückbleibende helle Zuckersirup ist ganz unlöslich in Äther, spielend löslich hingegen in Alkoholen, Wasser, Aceton. In Pyridin aufgenommen, mit Essigsäure-anhydrid acetyliert und aus absolutem Alkohol umkrystallisiert resultieren 0,5 g feine Nadelchen vom Smp. 192°. Es handelt sich um Octacetyl-strophanthotriose (siehe 7. Abschnitt).

*Saure Hydrolyse in alkoholischem Medium.* 2,872 g fein gepulvertes Heptacetyl-k-strophanthosid werden mit 100 cm<sup>3</sup> 0,1-n. absolut-methylalkoholischer Salzsäure während 20 Stunden unter häufigem Umschütteln im Thermostaten bei 40° gehalten. Dann wird nochmals methylalkoholische Salzsäure (100 cm<sup>3</sup>) hinzugefügt und bis zur vollständigen Lösung öfters geschüttelt. Nach weiteren 8 Stunden ist alle Substanz in Lösung gegangen. Die schwach grünlich-gelb gefärbte Flüssigkeit wird mit Silbercarbonat bis zur neutralen Reaktion durchgeschüttelt, von den Silbersalzen abgetrennt, mit 200 mg Tierkohle aufgeköcht und durch eine kleine Talksicht klar filtriert. Nach dem Abdampfen der Lösung und Trocknen des Rückstandes über Phosphorpenoxyd erhält man 2,28 g Substanz.

Der weisse Rückstand wird in wenig Wasser aufgenommen, worin er nicht ganz löslich ist. Dessen ungeachtet wird mit Chloroform ausgeschüttelt, wobei alles Ungelöste in die Chloroformphase übergeht. Die vereinigten Chloroformauszüge werden dann noch mit wenig Wasser gewaschen und alle wässrigen Fraktionen vereinigt.

Die Chloroformlösung enthält das Halbacetal des Oxydoanhydro-strophanthidins und wird zur Trockene verdampft. Der Rückstand wiegt 1,0597 g = 36,9% (ber. 34,2%). Beim Umkrystallisieren aus Methanol:Wasser (1:1,5) erhält man die Substanz in feinen Nadeln, bei tiefer Temperatur auch in mehr oder weniger quadratischen Blättchen.

Analyse der im Hochvakuum bei 80° getrockneten Verbindung:

4,018; 3,736 mg Subst. gaben 10,49; 9,78 mg CO<sub>2</sub> und 2,92; 2,74 mg H<sub>2</sub>O  
3,127; 2,789 mg Subst. gaben 1,56; 1,33 mg AgJ

C <sub>22</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	Ber. C 71,95	H 8,06	CH <sub>3</sub> O 7,75%
(M.-G. = 400,25)	Gef. „ 71,20; 71,39	„ 8,13; 8,21	„ 6,59; 6,30%

Polarisation: Die Substanz zeigt Mutarotation, der Drehwert ist nach ca. 3 Stunden konstant.

0,0303 g in 5 cm<sup>3</sup> Chloroform gelöst ( $c = 0,606$ ) drehen im 2 dm-Mikrorohr bei 20° um 0,47° nach links

$$[\alpha]_D^{20} = -38,8^{\circ}$$

Die wasserlösliche Fraktion enthält den Zuckeranteil und wird im Vakuum eingedampft. Der amorphe Rückstand wird mehrmals aus der 25-fachen Menge Methanol unter Zugabe von gleich viel Äther umkrystallisiert, wobei sich das Methylglucosid der Strophanthotriose in feinen quadratischen Blättchen vom Smp. 214° ausscheidet (siehe 7. Abschnitt).

5. *Darstellung, Krystallisation und Eigenschaften des k-Strophanthosids.*

Verseifung des Heptacetyl-k-strophanthosids zum k-Strophanthosid: Bei der Verseifung der Acetylgruppen ist auf die Empfindlichkeit der im Strophanthidinrest vorhandenen Lactongruppe Rücksicht zu nehmen. 20 g getrocknetes Heptacetyl-k-strophanthosid werden in 3 Liter absolutem Methanol heiss gelöst, auf 15° abgekühlt und mit 15,00 cm<sup>3</sup> einer ca. 0,3-n. Bariummethylatlösung versetzt. Die Lösung bleibt über Nacht im Eisschrank stehen und muss dann noch phenolphtalein-alkalisch reagieren; sie wird nun mit der dem Bariumion äquivalenten Menge 0,1-n. Schwefelsäure genau neutralisiert. Nach kurzem Stehen, wobei sich der Bariumsulfatniederschlag etwas zusammenballt, wird durch ein Faltenfilter geklärt und im Vakuum bei möglichst tiefer Temperatur zur Trockene verdampft. Der amorphe Rückstand wird aus Alkohol-Chloroform umkrystallisiert; schon das erste Krystallisat ist vollkommen rein. Die Ausbeute beträgt 14—15 g reines k-Strophanthosid und entspricht der Theorie.

Die Verseifung mit Bariummethylat bietet den Vorteil, dass keine anorganischen Salze in Lösung bleiben. Sie kann aber ebensogut z. B. mit Natriummethylat oder mit Kaliumäthylat in absolut-alkoholischer Lösung durchgeführt werden.

*Krystallisation des k-Strophanthosids.* Das k-Strophanthosid lässt sich aus Gemischen von Methanol-Chloroform oder Äthanol-Chloroform im Verhältnis von 1 : 9 umkrystallisieren. Man löst das Glucosid in der ca. 10—15fachen Menge Alkohol und versetzt mit Chloroform, bis gerade eine Trübung eintritt, hebt dieselbe mit einigen Tropfen absolutem Alkohol wieder auf und lässt die Lösung ruhig stehen. Nach einiger Zeit beginnt die Krystallisation in Form vereinzelter kleiner kompakter Nadelbüschel, die von einem Punkt ausstrahlen. Die Nadeln erscheinen unter dem Mikroskop federförmig verzweigt (Fig. 3 der Tafel). Mit fortschreitender Ausscheidung wird die Lösung mit weiteren Portionen Chloroform versetzt. Die vollständige Krystallisation benötigt 8—10 Tage. Bei ruhigem Stehen und jeweils richtigem Verhältnis der Alkohol-Chloroform-Mengen können die Nadelbüschel einen Durchmesser von 0,5 cm erreichen. Wesentlich ungünstiger liegen die Verhältnisse für die Krystallisation

des Glucosids aus Wasser-Aceton-Gemischen unter Zugabe von Äther.

Die Krystallisation des *k*-Strophanthosids gelang, wie oben erwähnt, neuerdings auch unter Umgehung der Heptacetylverbindung, wenn das Roh-Glucosid, wie es hier für die Acetylierung verwendet wurde, durch mehrmalige Alkohol-Äther- bzw. Alkohol-Petroläther-Umfällungen genügend gereinigt wurde. Man hat dann von schmierigen Substanzen, die auf Chloroformzusatz ausfallen, abzugiessen, worauf ganz allmählich eine schwache Krystallisation auftritt, die nach dem Animpfen schneller und besser vor sich geht. So gewonnene Präparate werden erst nach wiederholter Umkrystallisation völlig rein.

*Eigenschaften des k-Strophanthosids.* Das krystallisierte neue Glucosid ist hygroskopisch und selbst im Hochvakuum bei höherer Temperatur nur schwer von Wasser völlig zu befreien. Es ist in Wasser spielend löslich zu einer farblosen, neutralen Lösung. Auch in Methylalkohol und absolutem Alkohol löst es sich leicht; dagegen ist es fast unlöslich in Chloroform, Äther, Benzol, Aceton, Essigester.

Bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zeigt es einen Farbübergang von rot nach grün. Die *Keller-Kiliani'sche* Farbreaktion gibt einen orange-braunen Ring und eine grünliche Färbung des Eisessigs. Das Glucosid schmilzt scharf, aber unter Zersetzung bei 199—200°.

Elementaranalyse: Die Substanz wurde 4 Stunden im Hochvakuum bei 105—110° getrocknet.

2,785; 2,983 mg Subst. gaben 5,866; 6,284 mg CO<sub>2</sub> und 1,819; 2,069 mg H<sub>2</sub>O

6,563; 4,629 mg Subst. gaben 1,588; 1,158 mg AgJ

C <sub>42</sub> H <sub>64</sub> O <sub>19</sub>	Ber. C 57,76	H 7,39	CH <sub>3</sub> O 3,55%
(M.-G. = 872,53)	Gef. „ 57,44; 57,45	„ 7,31; 7,76	„ 3,20; 3,31%

Die bei 80° im Hochvakuum getrocknete Substanz enthält noch 1 Mol. Wasser.

3,975; 4,227 mg Subst. gaben 8,29; 8,78 mg CO<sub>2</sub> und 2,765; 2,90 mg H<sub>2</sub>O

3,483; 4,088 mg Subst. gaben 1,00; 1,18 mg AgJ

C <sub>42</sub> H <sub>64</sub> O <sub>19</sub> · H <sub>2</sub> O	Ber. C 56,60	H 7,47	CH <sub>3</sub> O 3,48%
(M.-G. = 890,53)	Gef. „ 56,88; 56,65	„ 7,77; 7,68	„ 3,79; 3,81%

Polarisation: 1. 4 im Hochvakuum getrocknete Präparate, entsprechend 4 einander folgenden Umkrystallisationen, lieferten folgende Drehwerte:

0,3225; 0,3243; 0,3237; 0,2585 g hochvakuumtrockene Subst. in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol (*c* = 1,290; 1,2972; 1,2948; 1,034) gelöst, drehen bei 20° im 2 dm-Rohr 0,32; 0,31; 0,31; 0,25° nach rechts.  $[\alpha]_D^{20} = +12,4; +11,95; +11,97; +12,09^\circ$ .

2. 0,2891 g hochvakuumtrockene Subst. in 25 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst (*c* = 1,1564) drehen bei 20° im 2 dm-Rohr 0,27° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +11,67^\circ$$

3. 0,2979 g hochvakuumtrockene Subst. in 25 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst (*c* = 1,1916) drehen bei 20° im 2 dm-Rohr 0,33° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +13,85^\circ$$

Glases zu schönen Rosetten angeordnete zugespitzte Prismen (Fig. 6 der Tafel) ausscheiden. Der Zucker kann auch aus Wasser-Aceton (ca. 1:10) umkrystallisiert werden. Seine Eigenschaften werden im 7. Abschnitt beschrieben.

Enzymatische Hydrolyse mit Strophanthobiase. Das rohe Strophanthobiase-Präparat wurde nach den Angaben von *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*<sup>1)</sup> aus Samen von *Strophanthus Courmontii* dargestellt und mit k-Strophanthin- $\beta$  auf seine Wirksamkeit geprüft. 0,9896 g k-Strophanthosid werden in 100 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und mit 4 g Enzypulver versetzt. Man gibt etwas Toluol zu und lässt während 90 Stunden im Thermostaten bei 37° stehen. Dann wird das Enzym durch Zusatz von 400 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol ausgefällt. Nach kurzem Erwärmen auf dem Dampfbad ballt sich die voluminöse Fällung zusammen und kann durch Filtration abgetrennt und mit reichlich absolutem Alkohol nachgewaschen werden. Durch Einengen bis fast zur Trockene wird der Alkohol vollständig entfernt. Man verdünnt mit Wasser auf 80 cm<sup>3</sup>, schüttelt die wässrige Flüssigkeit mit Chloroform aus und gewinnt beim Verdampfen des Chloroforms 0,5278 g Cymarin von bereits hohem Reinheitsgrad.

Die von Cymarin befreite wässrige Lösung wird auf 50 cm<sup>3</sup> eingengt, nochmals mit 2 g Enzypulver 90 Stunden bei 37° belassen und wie oben aufgearbeitet. Das Chloroform nimmt beim Ausschütteln noch 0,0350 g Rohcymarin, das mit der Hauptmenge vereinigt wird, auf.

Aus Alkohol-Wasser umkrystallisiert, besitzt das Präparat den Smp. (148°) und den Drehwert von reinem Cymarin:

Polarisation: 0,2100 g in 25 cm<sup>3</sup> Chloroform gelöst ( $c = 0,84$ ) drehen bei 20° im 2 dm-Rohr um 0,61° nach rechts.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +36,3^{\circ} \text{ (in Chloroform)}$$

0,4150 g (im Hochvakuum getrocknet bei 70°) in 50 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst ( $c = 0,83$ ) drehen bei 20° im 2 dm-Rohr um 0,65° nach rechts.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +39,2^{\circ} \text{ (in Methanol)}$$

Durch Acetylieren erhält man das aus Methylalkohol-Wasser in kleinen, zu Rosetten angeordneten Nadeln krystallisierende Acetyl-cymarin, das bei 164° schmilzt. Das Acetyl-cymarin ist identisch mit dem Präparat von *Jacobs*<sup>2)</sup>.

Polarisation: 0,0369 g im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst., in 5 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol gelöst ( $c = 0,738$ ), drehen bei 20° im 2 dm-Rohr um 0,73° nach rechts.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +49,4^{\circ}$$

Die Ausbeute an Cymarin bei der enzymatischen Spaltung beträgt 0,5628 g oder 56,88% (ber. für k-Strophanthosid 62,84%).

<sup>1)</sup> *J. Biol. Chem.* **69**, 157 (1926).

<sup>2)</sup> *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, *J. Biol. Chem.* **67**, 609 (1926).

Lactontitration: Die folgenden Bedingungen sind genau einzuhalten: 0,4425 g k-Strophanthosid in 20 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, werden mit 20 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natronlauge versetzt. Die Lösung bleibt 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, dann wird mit 0,1-n. Salzsäure titriert. Der Laugenverbrauch beträgt 5,03 cm<sup>3</sup>. Daraus ergibt sich ein Äquiv.-Gew. von 879,7. Ber. für k-Strophanthosid (C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>19</sub>): 872,5.

### 6. Hydrolyse des k-Strophanthosids.

Saure Hydrolyse: 1,244 g k-Strophanthosid werden in 60 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Schwefelsäure gelöst und 48 Stunden auf 40<sup>0</sup> gehalten. Das Aglucon scheidet sich krystallinisch ab. Diese erste Strophanthidinfraktion wird abfiltriert, mit eiskaltem Wasser bis zur neutralen Reaktion des Filtrats nachgewaschen und über Phosphorpentoxyd getrocknet. Sie wiegt 0,4823 g. Da das Strophanthidin etwas wasserlöslich ist, wird das saure Filtrat erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformlösungen werden noch einmal mit wenig Wasser nachgewaschen, dann eingengt und der Rückstand über Phosphorpentoxyd getrocknet. Diese zweite Agluconfraktion wiegt 0,0813 g. Gesamt-aglucon: 0,5636 g oder 45,3%. (Ber. für C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>19</sub>: 46,3%.)

Das Aglucon besitzt alle Eigenschaften des Strophanthidins; es wird aus Methylalkohol-Wasser umkrystallisiert. Sein Schmelzpunkt liegt in lufttrockenem Zustand bei 170<sup>0</sup>, in wasserfreiem bei 235<sup>0</sup>.

Polarisation: 0,2654 g bei 105<sup>0</sup> im Hochvakuum getrocknete Subst. in 25 cm<sup>3</sup> Methylalkohol gelöst ( $c = 1,0616$ ) drehen bei 20<sup>0</sup> im 2 dm-Rohr um 0,94<sup>0</sup> nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +44,3^0$$

Die schwefelsaure, wässrige Mutterlauge enthält den Zucker. Sie wird zur Neutralisation mit Bariumcarbonat geschüttelt und filtriert. Der Bariumsulfatrückstand wird mit reichlich Wasser nachgewaschen, die wässrige Lösung konzentriert und bei kleinem Volumen klar zentrifugiert. Dann wird ganz zur Trockene verdampft; der weisse amorphe Rückstand wiegt getrocknet 0,7273 g oder 58,4% (ber. für den Zuckeranteil im k-Strophanthosid: 55,7%).

Zur Krystallisation nimmt man den Zucker in möglichst wenig Methylalkohol, worin er leicht löslich ist, auf und zentrifugiert die von Bariumsalzen noch schwach getrübe Lösung. Aus dem Holzgeist scheidet sich die Strophanthotriose beim Stehen und stufenweisen Einengen krystallinisch in einer Menge von insgesamt 0,6388 g oder 51,35% (berechnet auf k-Strophanthosid) ab.

Das Rohkrystallinat des Zuckers wird zur Reinigung in 5 cm<sup>3</sup> 50-proz. Holzgeist gelöst und die Lösung mit 10 cm<sup>3</sup> absolutem Methanol versetzt. Dabei tritt eine schwache Trübung auf, von der klar zentrifugiert wird. Man gibt jetzt Äther (ca. 25 cm<sup>3</sup>) bis zur gerade beginnenden Trübung zu und hebt sie durch einen Tropfen Methanol wieder auf, worauf sich allmählich an den Wänden des

Die vom Aglucon befreite wässrige Lösung enthält den enzymatisch abgespaltenen Zucker. Der Nachweis eines Disaccharids gelang nicht, der Zucker war in Form von Glucose vorhanden. Aus einem Ansatz von 1,783 g k-Strophanthosid konnten 0,80 g (= 45%) roher Zucker isoliert werden, der das Phenyl-glucosazon in Form der charakteristischen gelben Nadeln lieferte. Einmal aus 70-proz. Alkohol umkrystallisiert, schmolz das Osazon bei 207°.

Das Präparat besitzt die dem Phenyl-glucosazon eigentümliche Mutarotation.

100 mg Subst. in 5 cm<sup>3</sup> Pyridin-Alkohol (2 : 3) gelöst, zeigen bei 20° im 1 dm-Rohr einen Anfangswert  $\alpha_D = -0,65^\circ$ , nach 24 Stunden einen Endwert  $\alpha_D = -0,34^\circ$ .

Enzymatische Hydrolyse mit  $\alpha$ -Glucosidase. Das  $\alpha$ -Glucosidase-Präparat wurde durch Autolyse von gereinigter Brauerei-Hefe dargestellt. 10 cm<sup>3</sup> der Enzymlösung entsprechen 1 g Hefe-Trockensubstanz. In folgendem Ansatz wurde die Spaltung des k-Strophanthosids polarimetrisch im 1 dm-Rohr verfolgt.

Ansatz	Zeit in Min.	$\alpha_D$ bei 20°	Drehungs- zunahme	Spaltung
1 g k-Strophanthosid + 10 cm <sup>3</sup> Hefe-Autolysat (Maltase-Zeitwert = 150) + 9,5 cm <sup>3</sup> Phosphatpuffer (1/3 molar, p <sub>H</sub> = 6,8) auf 50 cm <sup>3</sup> mit Wasser aufgefüllt im Thermostaten bei 30°	0	+0,25°	—	—
	75	+0,27°	0,02°	0,4%
	1065	+0,35°	0,10°	21 %
	1590	+0,41°	0,16°	34 %
	2520	+0,46°	0,21°	45 %
	2865	+0,50°	0,25°	53 %
	3945	+0,54°	0,29°	62 %
Ber. für 100-proz. Spaltung: k-Strophanthosid $\rightarrow$ k-Strophanthin- $\beta$ + Glucose	—	+0,72°	0,47°	100 %

Ein analoger Blindversuch ohne Hefezusatz verändert den Anfangsdrehwert von +0,25° nicht.

Zur Verarbeitung auf k-Strophanthin- $\beta$  wurde die wässrige Versuchslösung (50 cm<sup>3</sup>) nach Zusatz von 25 cm<sup>3</sup> Alkohol mit 50 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt und diese Operation unter Beibehaltung des Verhältnisses der 3 Lösungsmittel (Wasser : Chloroform : Alkohol = 2 : 2 : 1) noch zweimal wiederholt. Die Chloroformschicht nimmt nacheinander 270 mg, 90 mg, 60 mg, also insgesamt 420 mg Substanz auf. Durch weitere Ausschüttelungen hätte man wohl auch den fehlenden Rest erfasst; denn nach der Drehungszunahme der Enzymversuchslösung sind 62%, also 0,62 g k-Strophanthosid gespalten worden, woraus 500 mg k-Strophanthin- $\beta$  entstanden sein müssen.

Werden die 420 mg amorphen Rückstandes mit sehr wenig Wasser angerieben, so krystallisiert das k-Strophanthin- $\beta$  momentan

aus. Das Produkt ist identisch mit dem natürlichen Glucosid; der Schmelzpunkt der aus Wasser-Alkohol umkrystallisierten und scharf getrockneten Substanz liegt bei 195°.

Polarisation: 0,2050 g im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst., in 25 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst ( $c = 0,82$ ) drehen bei 20° im 1 dm-Rohr um 0,26° nach rechts.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +31,7^{\circ}$$

In Pyridin und Essigsäure-anhydrid entsteht die von *Jacobs* und *Hoffmann* (l. c.) dargestellte Tetracetylverbindung, die aus absolutem Alkohol in schönen Nadeln krystallisiert. Smp. = 168°.

Polarisation: 0,2511 g im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst., in 25 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol gelöst ( $c = 1,0044$ ) drehen bei 20° im 2 dm-Rohr um 0,24° nach rechts.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +11,95^{\circ}$$

Beim Verseifen der Tetracetylverbindung mit Bariummethylat, die wie beim Heptacetyl-k-strophanthosid verläuft, wird k-Strophanthin- $\beta$  zurückerhalten. — Auch Rohglucosidgemische liefern beim Abbau mit Hefeauszügen k-Strophanthin- $\beta$  in einer Ausbeute, die dem k-Strophanthosidgehalt des Ausgangsmaterials entspricht.

### 7. *Strophanthobiose und Strophanthotriose.*

**Strophanthobiose.** Die Strophanthobiose wird aus k-Strophanthin- $\beta$  analog wie die Strophanthotriose aus k-Strophanthosid (siehe 6. Abschnitt) dargestellt. Das Disaccharid krystallisiert sehr schwer und scheidet sich aus Methylalkohol-Äther nur langsam in zu Schmetterlingsformen vereinigten Sphenoiden ab (Fig. 5 der Tafel). Es schmilzt bei 208° unter Zersetzung.

Polarisation: 0,1014 g in 5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst ( $c = 2,028$ ) drehen bei 20° im 2 dm-Mikrorohr um 1,26° nach rechts.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +31,1^{\circ}$$

**Strophanthotriose.** Die Darstellung und Reinigung der Strophanthotriose, des Zuckers des k-Strophanthosids, wurde im 6. Abschnitt beschrieben. Das Trisaccharid krystallisiert in zu Rosetten vereinigten prismatischen Spiessen (Fig. 6 der Tafel) und ist leicht löslich in Wasser, in reinem Zustande schwer in Alkoholen und fast unlöslich in Aceton, Chloroform, Äther, Petroläther. Es reduziert *Fehling'sche* Lösung und gibt bei der *Keller-Kiliani'schen* Farb-reaktion an der Grenzzone zwischen Schwefelsäure und Eisessig nur einen orange-braunen Ring. Die Substanz schmilzt bei 222° und zersetzt sich dabei unter Braunfärbung.

Elementaranalyse (Dr. *H. Roth*, Heidelberg):

4,240; 4,136 mg Subst. gaben 7,30; 7,10 mg CO<sub>2</sub> und 2,735; 2,68 mg H<sub>2</sub>O

3,553; 4,393 mg Subst. gaben 1,76; 2,23 mg AgJ

C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>O<sub>14</sub> Ber. C 46,89 H 7,05 CH<sub>3</sub>O 6,38%

(M.-G. = 486,27) Gef. .. 46,96; 46,82 .. 7,22; 7,25 .. 6,55; 6,71%

Polarisation zweier verschiedener Präparate:

1. 0,2004 g in 5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst ( $c = 4,008$ ) drehen im 2 dm-Mikrorohr bei 20° um 0,62° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +7,73^\circ$$

2. 0,6288 g in 25 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst ( $c = 2,5152$ ) drehen im 2 dm-Rohr bei 20° um 0,39° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +7,75^\circ$$

Die Strophanthotriose lässt sich mit 0,75-proz. Schwefelsäure während 6 Stunden am Dampfbad nicht spalten, wohl dagegen mit 2,5-proz. Säure. 0,4502 g Strophanthotriose werden in 20 cm<sup>3</sup> 2,5-proz. Schwefelsäure gelöst, 5 Stunden im Dampfbad erhitzt und über Nacht stehen gelassen. Die Lösung verfärbt sich allmählich und es scheiden sich braune Flocken ab, weil die Cymarose durch Säurewirkung zerstört wird. Man zentrifugiert klar und füllt bei 20° auf 25 cm<sup>3</sup> auf. Bei der polarimetrischen Bestimmung der Glucose dreht die Lösung im 2 dm-Rohr bei 20° um 1,31° nach rechts. Die Lösung von 0,952 g Glucose in 100 cm<sup>3</sup> Wasser dreht im 2 dm-Rohr um 1° nach rechts. Somit enthält die Versuchslösung 0,312 g Glucose. Wird in demselben Versuchsansatz die Glucose noch nach *Willstätter* und *Schudel* bestimmt, so findet man einen Verbrauch von 35,70 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Jodlösung, was 0,321 g Glucose entspricht. Die theoretische Glucosemenge beträgt 0,333 g.

Octacetyl-strophanthotriose. Der Octacetyl-Zucker entsteht durch Acetylierung der Strophanthotriose in Pyridin und Essigsäure-anhydrid. Beim Eingießen des Reaktionsgemisches in Eiswasser entsteht eine gallertige Fällung. Aus absolutem Alkohol krystallisiert das Octacetylderivat in Nadeln, die zu Büscheln angeordnet sind.

Die Octacetyl-strophanthotriose ist schwer löslich in Wasser, gut in Alkoholen, Äther und Petroläther, sehr leicht in Chloroform, Benzol, Essigester und Aceton. Die *Keller-Kiliani*'sche Farbreaktion ist negativ. *Fehling*'sche Lösung wird erst nach längerem Kochen reduziert. Der Smp. liegt bei 192°.

Elementaranalyse (Dr. H. Roth, Heidelberg):

4,418; 4,382 mg Subst. gaben 8,315; 8,220 mg CO<sub>2</sub> und 2,495; 2,410 mg H<sub>2</sub>O  
6,016 mg; 5,905 mg Subst. gaben 1,805; 1,680 mg AgJ

C <sub>35</sub> H <sub>50</sub> O <sub>22</sub>	Ber. C 51,07	H 6,13	CH <sub>3</sub> O 3,77%
(M.-G. = 822,4)	Gef. „ 51,33; 51,16	„ 6,32; 6,16	„ 3,96; 3,76%

Polarisation: 0,0730 g Subst. in 5 cm<sup>3</sup> Chloroform ( $c = 1,46$ ) gelöst, drehen bei 20° im 2 dm-Mikrorohr um 0,18° nach links.

$$[\alpha]_D^{20} = -6,16^\circ$$

Titration der Acetylgruppen: 0,1643 g im Hochvakuum bei 50° getrocknete Subst. werden in 50 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol gelöst und mit 20,00 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Natronlauge versetzt. Nach 2-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird noch  $\frac{1}{4}$  Stunde im Dampfbad erwärmt. Die gelb gewordene Lösung wird mit 0,1-n. Schwefelsäure zurücktitriert. Es sind bei der Verseifung 15,57 cm<sup>3</sup> Lauge verbraucht worden, woraus sich ein Äquiv.-Gew. von 105,5 ergibt. Ber. für Octacetyl-strophanthotriose 102,7.

Methylglucosid der Strophanthotriose. Dasselbe entsteht bei der Methanolyse von Heptacetyl-k-strophanthosid (siehe 4. Abschnitt). Es krystallisiert aus Alkohol-Äther in äusserst feinen quadratischen Blättchen, die sich, von der Seite gesehen, wie Nadeln aneinander schachteln. Das Methylglucosid ist spielend löslich in Wasser, löslich in Alkoholen und unlöslich in Chloroform, Äther, Petroläther, Benzol, Essigester. *Fehling'sche* Lösung wird vom Methylglucosid nicht reduziert; es schmilzt unter Zersetzung bei 214°.

Elementaranalyse (Dr. H. Roth, Heidelberg):

4,129; 4,076 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,30; 7,20 mg CO<sub>2</sub> und 2,83; 2,75 mg H<sub>2</sub>O

2,682; 4,020 mg Subst. gaben 2,48; 3,72 mg AgJ

C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>14</sub>	Ber. C 47,97	H 7,25	CH <sub>3</sub> O 12,40%
(M.-G. = 500,29)	Gef. „ 48,22; 48,18	„ 7,67; 7,55	„ 12,22; 12,23%

Polarisation: 0,0707 g in 5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst (*c* = 1,414) drehen bei 20° im 2 dm-Mikrorohr um 0,03° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +1,06^\circ$$

Wissenschaftliche Laboratorien *Sandoz*, Basel.

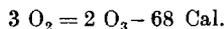
### 183. Sur la production de l'ozone par l'électrolyse.

#### Electrolyse à basse température

par E. Briner, R. Hæfeli et H. Paillard.

(30. X. 37.)

La production de l'ozone par électrolyse<sup>1)</sup> comporte des rendements énergétiques relativement faibles; les meilleurs rendements enregistrés sont de l'ordre de 7 à 9 grammes d'ozone au kilowattheure (kwh). En utilisant l'effluve électrique, les rendements sont notablement plus élevés: dans les appareils industriels, on obtient, par l'effluation de l'air, des rendements de 30 à 50 gr. d'ozone au kwh, suivant les concentrations de l'ozone; en opérant sur l'oxygène, les rendements sont encore plus élevés. Ces valeurs ne correspondent cependant qu'à une très médiocre utilisation de l'énergie, car une transformation intégrale, dans les effluveurs, de l'énergie électrique en énergie chimique absorbée par la réaction



donnerait 1200 gr. environ d'ozone au kwh.

L'infériorité énergétique du procédé électrolytique explique que, pour la production industrielle de l'ozone, on se serve généralement

<sup>1)</sup> Voir sur ce sujet les ouvrages relatifs à l'ozone, notamment *Fonrobert*, *Das Ozon*, Stuttgart (1916); *Rideal*, *Ozone*, Londres 1920; *Möhler*, *Das Ozon*, Brunswick 1921; *Förster*, *Elektrochemie der wässrigen Lösung*, Leipzig (1922).