

67. Über die Struktur des Scillirosids.

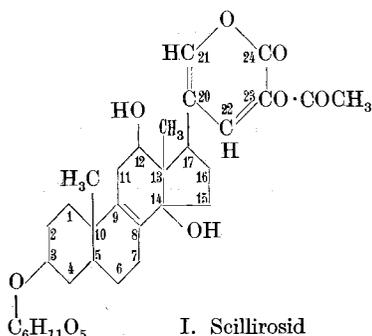
(20. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾)

von A. Stoll, J. Renz und A. Helfenstein.

(13. II. 43.)

In den beiden vorangehenden Mitteilungen¹⁾ haben wir das Rattengift der roten Meerzwiebel durch seine wesentlichen strukturellen Merkmale, das Perhydro-cyclopentano-phenanthrengerüst und den doppelt ungesättigten 6-gliedrigen Lactonring, der eine O-Acetylgruppe trägt, charakterisiert. Der Zuckerrest, der aus 1 Mol. Glucose besteht, konnte analog den übrigen Herzglykosiden an C₃ angenommen werden. Schon in der ersten der erwähnten Arbeiten haben wir auf eine nur indirekt nachzuweisende, schwer hydrierbare Kerndoppelbindung und eine nicht acetylierbare, wahrscheinlich aber sekundäre Hydroxylgruppe hingewiesen, deren Ort wir noch zu bestimmen hatten.

In der vorliegenden Arbeit werden diese bisher noch offenen Fragen geklärt. Unsere experimentellen Befunde sprechen für den Ort der Doppelbindung Δ^{8,9} und für die Lage der Hydroxylgruppe an C₁₂, so dass sich für Scillirosid die folgende Strukturformel (I) ergibt:



Die Beweisführung in dieser Arbeit stützt sich im wesentlichen auf folgende Operationen: Oxydation der Hydroxylgruppe an C₁₂ zum Keton, Abspaltung des Hydroxyls an C₁₄ unter Bildung einer Doppelbindung, Öffnung des Lactonrings durch Alkali und Bildung eines Oxydrings mit dem Hydroxyl an C₁₂ bzw. C₁₄, Hydrierungen, Oxydbildung an der isolierten Kerndoppelbindung. Aus dem Wechselspiel, das sich aus der verschiedenen Kombination dieser Operationen ergibt, konnte die gegenseitige Lage der Doppelbindung und der sekundären Hydroxylgruppe ermittelt werden.

¹⁾ 18. und 19. Mitt. Helv. **25**, 43 und 377 (1942).

Die Oxydation des Hydroxyls an C₁₂

mit Chromsäure oder Bleitetraacetat lässt sich sowohl mit Scillirosid selbst wie mit seiner Tetraacetylverbindung glatt durchführen. Es wird ein Sauerstoffatom verbraucht und es entsteht in guter Ausbeute das Keton Dehydro-scillirosid (II), bzw. dessen Tetraacetyl-derivat (IIa). Diese Oxydation kann unter so milden Bedingungen durchgeführt werden, dass die ungeschützten Hydroxyle des Zuckerrestes von Scillirosid nicht angegriffen werden. Das in Wasser und Alkohol spielend leicht lösliche Oxydationsprodukt des Scillirosids lässt sich nicht kristallisieren, während sein Peracetylprodukt, das schwer löslich ist, aus Alkohol in feinen biegsamen Nadeln kristallisiert und bei 228–230° schmilzt¹⁾.

Es ist unerwartet, dass eine sekundäre Hydroxylgruppe durch Bleitetraacetat so leicht in das Keton übergeht. Die bei der Oxydation mit Bleitetraacetat mögliche Annahme der Anlagerung von 2 Hydroxylgruppen bzw. 2 Oxyacetylgruppen an die Doppelbindung wird schon durch die Analyse des Oxydationsproduktes widerlegt und ferner durch die Tatsache, dass die Oxydation mit Chromsäure genau gleich verläuft und zum gleichen Endprodukt führt.

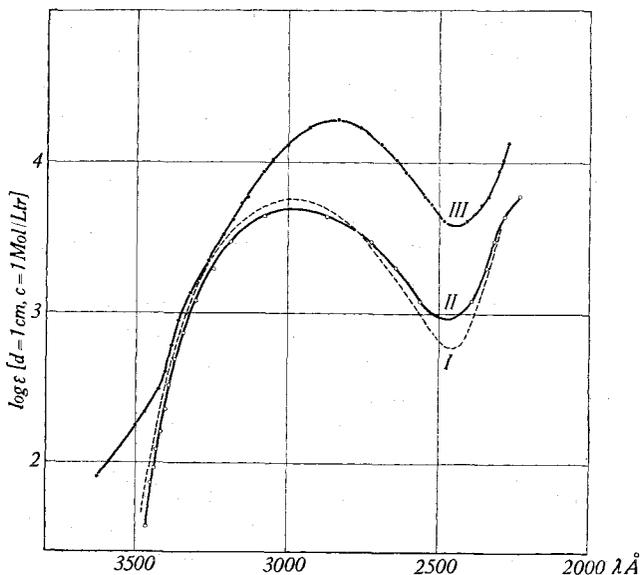


Fig. 1²⁾.

- I. - - - - Tetraacetyl-scillirosid in Alkohol.
- II. —○— Tetraacetyl-dehydro-scillirosid in 60% Alkohol + 40% Dioxan.
- III. —●— Tetraacetyl-anhydro-dehydro-scillirosid in Alkohol.

¹⁾ Alle Schmelzpunkte in dieser Arbeit sind korrigiert.

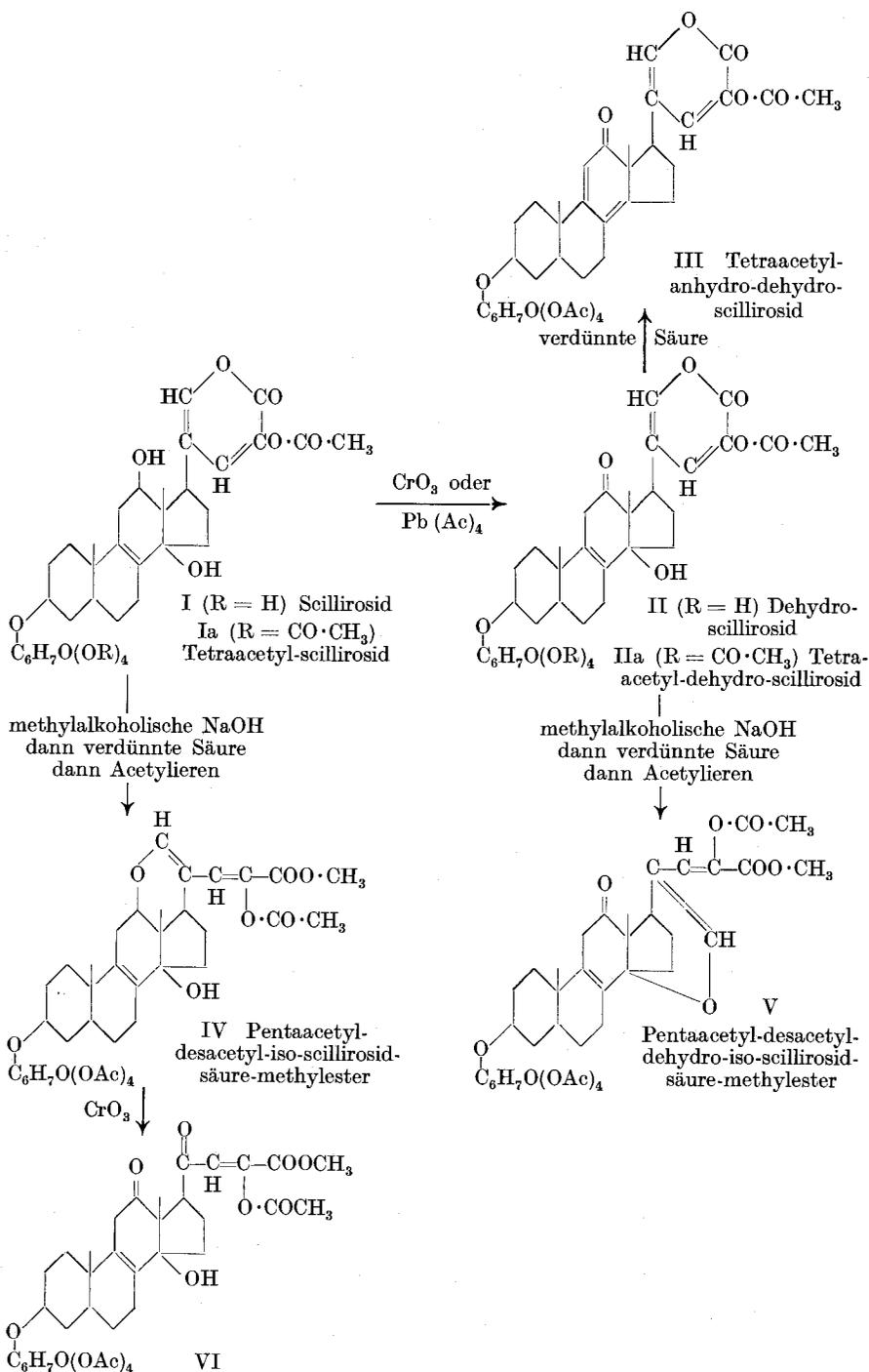
²⁾ Wir verdanken die Aufnahmen der in Fig. 1 und 2 abgebildeten Absorptionsspektren Herrn P. D. Dr. F. Almasy in Zürich.

Die in der Fig. 1 abgebildete Absorptionskurve II des Tetraacetyl-dehydro-scillirosids unterscheidet sich nur unwesentlich von derjenigen des Tetraacetyl-scillirosids (I). Insbesondere fehlt ihr die für α, β -ungesättigte Ketone charakteristische Absorptionsbande bei 2500 Å, woraus gefolgert werden kann, dass zwischen der Carbonylgruppe und der Doppelbindung mindestens 1 gesättigtes C-Atom steht.

Die Abspaltung von Wasser unter Bildung einer weiteren Doppelbindung kann beim Tetraacetyl-dehydro-scillirosid in wässrig-alkoholischer Lösung bei Gegenwart verdünnter Mineralsäure leicht durchgeführt werden. Für diese Reaktion kommt nur die tertiäre Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom C₁₄ in Betracht, und daher kann das entstandene Tetraacetyl-anhydro-dehydro-scillirosid (III) die neue Doppelbindung zunächst nur in den Lagen $\Delta^{14,15}$ oder $\Delta^{8,14}$ enthalten. Die Absorptionskurve III der neuen Verbindung zeigt gegenüber der Absorption von Tetraacetyl-scillirosid (I) und Tetraacetyl-dehydro-scillirosid (II) eine deutliche Verschiebung und Erhöhung der Hauptabsorption, wie sie durch das Hinzutreten eines stark ungesättigten Systems, das im Bereich von 2800—2900 Å absorbiert, erklärt werden kann. Dafür kommt die Ketogruppe an C₁₂ neben 2 fortlaufenden, konjugierten Doppelbindungen in Betracht. Es kann daher angenommen werden, dass im Tetraacetyl-anhydro-dehydro-scillirosid die Ketogruppe an C₁₂ und die Doppelbindungen in $\Delta^{8,14}$ und $\Delta^{9,11}$ in einem Ring stehen. Die Frage bleibt offen, ob bei der Wasserabspaltung an C₁₄, analog wie bei den Herzglykosiden, die neue Doppelbindung zunächst in $\Delta^{14,15}$ auftritt, um unter der Tendenz zur Bildung eines konjugierten Systems nachträglich zu wandern. Der zwischen Scillirosid und seiner Dehydroverbindung festgestellte Unterschied bei der Abspaltung von Wasser, die bei Tetraacetyl-dehydro-scillirosid viel leichter erfolgt als beim intakten Glykosid, deutet darauf hin, dass die Ketogruppe zur Bildung des erwähnten konjugierten Systems anregt. Der hier zu Tage tretende Einfluss der Carbonylgruppe auf die ursprünglich vorhandene Doppelbindung findet in den weiter unten beschriebenen Hydrierungsversuchen seine Bestätigung.

Die Öffnung des Lactonringes durch Alkali und Bildung eines stabilen Oxydrings unter der Einwirkung von Säure wurde in unseren vorhergehenden Mitteilungen analog wie bei den meisten Herzglykosiden so formuliert, dass die Wasserabspaltung unter Beteiligung des Hydroxyls an C₁₄ erfolgt. Eine Abweichung von dieser Regel war indessen bereits bekannt: das Gitoxigenin bildet unter der Einwirkung von Alkali den Oxydring mit dem Hydroxyl an C₁₆¹⁾. Unsere Versuche haben nun ergeben, dass das Scillirosid

¹⁾ W. A. Jacobs und E. L. Gustus, J. Biol. Chem. **79**, 553 (1928).



nicht, wie ursprünglich angenommen, den Oxydring mit dem tertiären Hydroxyl an C₁₄, sondern mit dem sekundären Hydroxyl an C₁₂ bildet, entsprechend Formel IV. Erst wenn dieses Hydroxyl zum Carbonyl oxydiert ist, erfolgt die Ringschliessung unter Mitwirkung des Hydroxyls an C₁₄. Dass bei der Einwirkung von Säure auf verseiftes Scillirosid das Hydroxyl an C₁₂ reagiert, lässt sich direkt dadurch beweisen, dass der sehr charakteristische Pentaacetyl-desacetyl-iso-scillirosid-säure-methylester mit Bleitetraacetat nicht oxydiert werden kann. Mit Chromsäure entsteht daraus erst nach längerer Einwirkung ein Oxydationsprodukt, das auf Grund der Elementaranalyse wahrscheinlich der Formel VI entspricht, worin der Verlust einer CH₂-Gruppe zum Ausdruck kommt. Auch das in der vorangehenden Abhandlung beschriebene Hydrierungsprodukt des Pentaacetyl-desacetyl-iso-scillirosidsäure-methylesters erweist sich, wie zu erwarten war, resistent sowohl gegen Bleitetraacetat wie gegen Chromsäure. Auf Grund dieser Ergebnisse sind die entsprechenden Formeln des Pentaacetyl-desacetyl-iso-scillirosidsäure-methylesters und seiner Derivate in unserer vorhergehenden Abhandlung über den Lactonring des Scillirosids¹⁾, entsprechend Formel IV der vorliegenden Arbeit zu berichtigen.

Beim Rattengift bestehen somit 2 Möglichkeiten zur Bildung von Oxydringen, je nachdem Scillirosid oder Dehydro-scillirosid vorliegt, wobei die Reaktion unter Beteiligung der Hydroxylgruppe an C₁₂ viel leichter eintritt als die Umlagerung von Dehydro-scillirosid unter Beteiligung des Hydroxyls an C₁₄.

Hinsichtlich der Bildung eines Oxydrings war ausser den genannten Stellungen für das sekundäre Hydroxyl auch noch die Lage an C₁₅ oder C₁₆ in Betracht zu ziehen. Bei der ersten dieser Annahmen würde ein 6-Ring, bei der zweiten ein 5-Ring entstehen. Für eine Hydroxylgruppe an C₁₆ wäre die erwähnte Beeinflussung der schwer hydrierbaren Doppelbindung durch die Oxydation der Hydroxyl- zur Ketogruppe schwer vorstellbar; denn die Doppelbindung kann nicht im Cyclopentan-Ring sein, weil dafür kein Platz vorhanden ist. Die Annahme eines Hydroxyls an C₁₅ darf ausgeschlossen werden, da die Einwirkung von Bleitetraacetat auf zwei benachbarte Hydroxyle zur Sprengung der Bindung zwischen C₁₄ und C₁₅ führen sollte, was nicht der Fall ist. Die Nichtacylierbarkeit des Hydroxyls, das wir nach diesen Überlegungen an C₁₂ annehmen müssen, kann auf den Einfluss der Doppelbindung zurückgeführt werden; denn bei der vergleichbaren Desoxycholsäure, die keine Doppelbindung enthält, ist es acylierbar, wenn auch schon wesentlich schwerer als das Hydroxyl an C₃.

Auch im Digoxigenin befindet sich an C₁₂ eine reaktionsträge Hydroxylgruppe²⁾. Bei der Bildung des Oxydrings unter Einfluss

¹⁾ Helv. **25**, 377, im besonderen 379 (1942), Formeln VI, VII und VIII.

²⁾ *H. L. Mason* und *W. M. Hoehn*, Am. Soc. **60**, 2824 (1938); *M. Steiger* und *T. Reichstein*, Helv. **21**, 828 (1938).

von Alkali reagiert indessen das tertiäre Hydroxyl an C₁₄, was daraus hervorgeht, dass das Reaktionsprodukt noch zur Bildung eines Diketons (C₃ und C₁₂) befähigt ist¹). Der Unterschied in der Reaktionsfähigkeit der Hydroxyle an C₁₂ des Digoxigenins und des Scillirosids ist wahrscheinlich in der Verschiedenheit der sterischen Anordnung dieser Hydroxylgruppen begründet²).

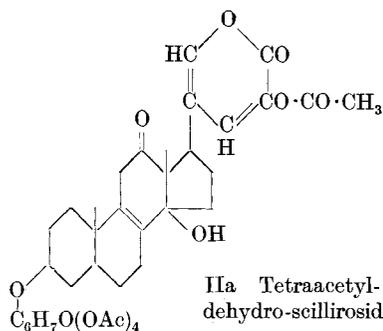
Bei der katalytischen Hydrierung von Scillirosid werden bekanntlich die beiden Doppelbindungen des Lactonrings unter Abspaltung der O-Acetylgruppe und teilweiser reduktiver Öffnung des Lactonrings abgesättigt. Die isolierte Kerndoppelbindung bleibt bestehen. Sie wird indessen leicht hydrierbar, sobald die Hydroxylgruppe an C₁₂ zur Ketogruppe oxydiert ist, oder wenn durch Wasserabspaltung an C₁₄ eine weitere Doppelbindung hinzutritt, was die nahen räumlichen Beziehungen der Doppelbindung sowohl zur sekundären Hydroxylgruppe an C₁₂ wie zur tertiären Hydroxylgruppe an C₁₄ erneut hervortreten lässt.

Bei der Hydrierung des Tetraacetyl-dehydro-scillirosids (IIa) in Gegenwart von Platinkatalysator werden 5–6 Mol Wasserstoff verbraucht. 3–4 Mol werden vom Lactonring für die oben erwähnten Umsetzungen aufgenommen, 2 Mol werden zur Reduktion der Keto-Gruppe und zur Absättigung der Kerndoppelbindung benötigt. Diese Vielheit der stattfindenden Reaktionen, bei denen überdies zahlreiche Stereo-isomere entstehen können, lässt zum vornherein komplizierte Gemische erwarten, so dass es praktisch kaum möglich erscheint, ohne einen grossen Aufwand einheitliche Substanzen zu isolieren, wenn es uns auch gelang, einzelne Präparate in geringer Ausbeute kristallisiert zu erhalten. Da bei der Hydrierung der Lactonring nur bei einem Teil der Substanz geöffnet wird, lässt sich das Reaktionsprodukt in einen sauren und einen neutralen Anteil zerlegen. Auf weitere Versuche mit der sauren Fraktion werden wir später zurückkommen. Zunächst sei ein übersichtlicherer Weg besprochen, der zum gleichen neutralen Produkt führt.

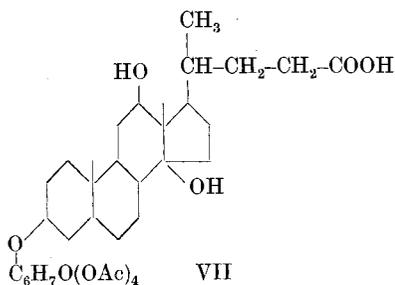
Schon in unserer ersten Mitteilung über das Rattengift wurde in Vorversuchen gezeigt, dass bei der Hydrierung des Scillirosids mit Platin ein Gemisch entsteht, aus dem sich keine kristallisierten Ver-

¹) *S. Smith, Soc. 1935, 1305.*

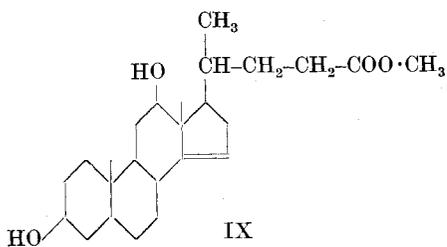
²) Von Sarmetogenin wird in der Literatur (*R. Tschesche und K. Bohle, B. 69, 2479 (1936)*) angegeben, dass sein sekundäres Hydroxyl sich in der gleichen Lage befindet, wie das damals an C₁₁ angenommene Hydroxyl von Digoxigenin. Bei Digoxigenin ist seither in den zitierten Arbeiten eine Berichtigung durch Verlegung des Hydroxyls nach C₁₂ erfolgt. Es muss vorläufig dahingestellt bleiben, ob diese Berichtigung auch für Sarmetogenin zu erfolgen hat. Auf die Bestimmung der sterischen Lage des Hydroxyls an C₁₂ von Digoxigenin (*H. L. Mason und W. M. Hoehn, Am. Soc. 61, 1614 (1939)*), die entgegengesetzt derjenigen von Desoxycholsäure ist, sei hingewiesen. Für das Hydroxyl an C₁₂ von Scillirosid könnte daraus indirekt auf die gleiche sterische Anordnung wie in der Desoxycholsäure geschlossen werden.



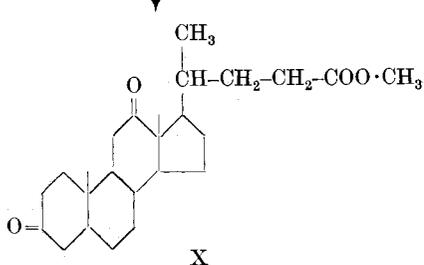
H₂, Pt ↓ saurer Anteil



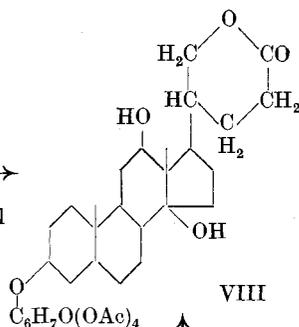
methyl- ↓ alkoholische HCl



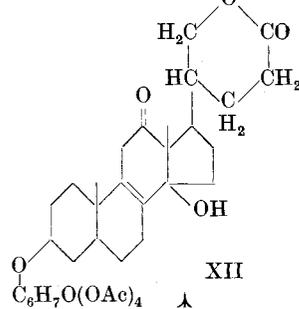
H₂, Pt, dann CrO₃



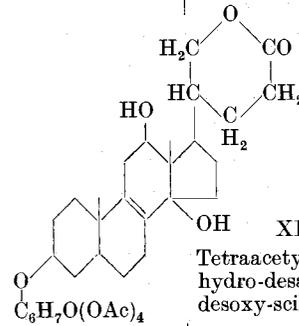
H₂, Pt
Neutralteil



H₂, Pt



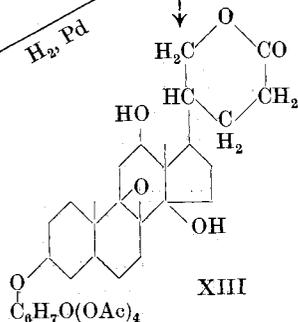
Pb(Ac)₄



Benzopersäure

Ia

H₂, Pd



bindungen herausfraktionieren liessen. Es wurde schon damals beobachtet, dass die Verwendung eines Palladiumkatalysators zu etwas einfacheren Verhältnissen führt; es gelingt aus dem Reaktionsprodukt einen neutralen Körper entsprechend Formel XI mit noch geschlossenem, vollständig abgesättigtem Lactonring, aus dem die O-Acetylgruppe reaktiv entfernt worden ist, in krystallisierter Form abzuscheiden. Indessen ist auch dieses Präparat noch nicht einheitlich. Acetyliert man es, so kann durch fraktionierte Krystallisation ein schwerer löslicher Anteil mit dem Smp. 240° und in geringerer Menge eine leichter lösliche Tetraacetyl-Verbindung mit dem Smp. 219° isoliert werden. Die beiden Substanzen unterscheiden sich wahrscheinlich nur in der sterischen Anordnung des Wasserstoffatoms an C₂₀.

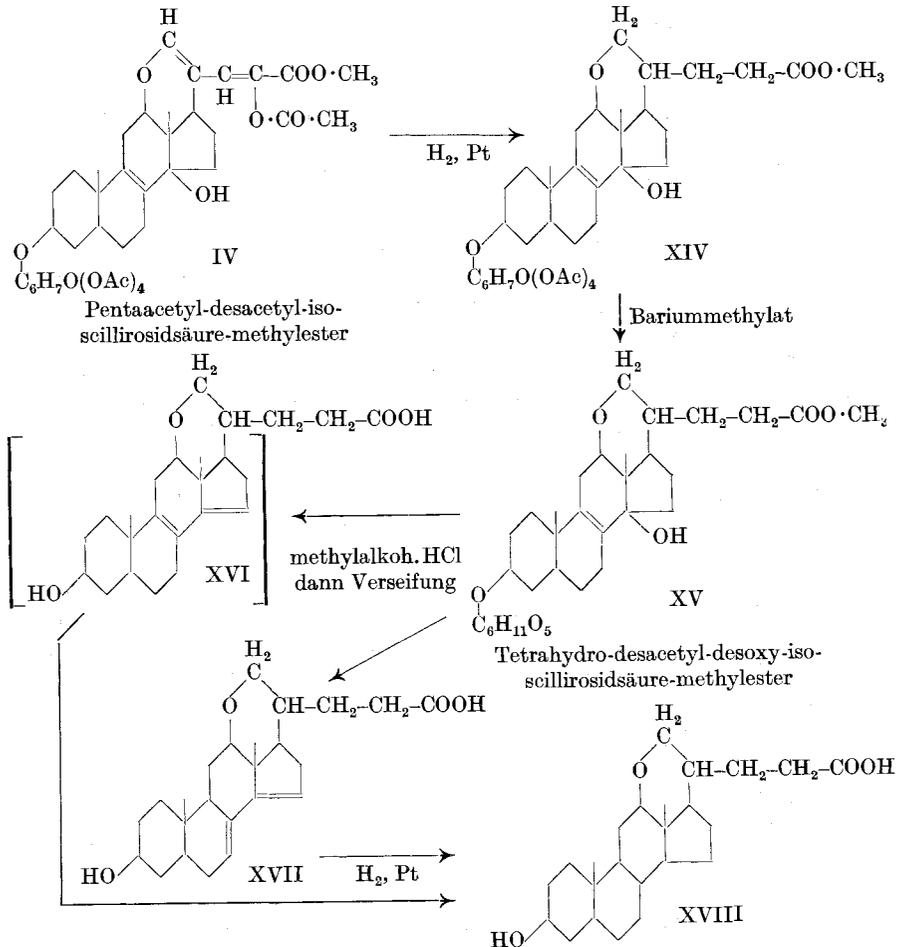
Die Oxydation der Hydroxylgruppe an C₁₂ der Tetraacetylverbindung mit dem Smp. 240° wurde mit Bleitetraacetat vollzogen und lieferte ein Produkt (XII), das in feinen biegsamen Nadeln krystallisiert und bei der Hydrierung mit Platin genau 2 Mol Wasserstoff aufnimmt. Das Hydrierungsprodukt VIII erwies sich als identisch mit einer bei der direkten Hydrierung von Tetraacetyl-dehydroscillirosid mit Platin in kleiner Menge aus dem neutralen Anteil isolierten Fraktion.

Die Zerlegung der Hydrierung in 2 Etappen, nämlich 1. die vollständige Reduktion des Lactonrings von Scillirosid mit Palladium und 2. nach erfolgter Oxydation der Hydroxylgruppe die katalytische Hydrierung der Ketogruppe und der Kerndoppelbindung mit Platin hat die Verhältnisse durchsichtig gemacht und bewiesen, dass durch die Oxydation der Hydroxylgruppe an C₁₂ die Kerndoppelbindung leicht hydrierbar wird.

Der Nachweis der isolierten Kerndoppelbindung des Scillirosids mit Benzopersäure bestätigte die Ergebnisse der Hydrierungsversuche. Sowohl bei Tetraacetylscillirosid als auch bei Tetraacetyl-tetrahydro-desacetyl-desoxy-scillirosid (XI) konnten unter Verbrauch von 1 Atom Sauerstoff krystallisierte Reaktionsprodukte mit Benzopersäure gewonnen werden, deren Analyse für die Formulierung als Äthylenoxyd (XIII) spricht. Da im zweiten Falle (XI) die Doppelbindungen des Lactonrings hydriert sind, kommt nur die reaktionsträge Kerndoppelbindung für den Umsatz mit Benzopersäure in Betracht. Die Tatsache, dass diese inerte Doppelbindung so glatt mit Benzopersäure reagiert, sei besonders hervorgehoben.

Für die bis jetzt besprochenen Versuche dienten im wesentlichen das Scillirosid und besonders aufschlussreich sein Dehydroderivat als Ausgangsmaterial. In einer weiteren Reihe von Umsetzungen wurde das Scillirosid nach der Einwirkung von methylalkoholischem Alkali durch Säure umgelagert und das durch den Oxydring ausgezeichnete Reaktionsprodukt weiteren Umsetzungen unterworfen, welche die bisher erwähnten Befunde bestätigen.

Der Pentaacetyl-desacetyl-iso-scillirosidsäure-methylester (IV) wurde schon in unserer letzten Abhandlung¹⁾ über das Rattengift als schön kristallisierte und wohl definierte Verbindung und als geeignetes Ausgangsmaterial für weitere Untersuchungen beschrieben. Sein mit Platinkatalysator gewonnenes Hydrierungsprodukt (XIV) wie die mit Bariummethylat daraus erhaltene acetylfreie Verbindung (XV) sind kristallisiert erhalten und in der erwähnten Mitteilung über das Rattengift beschrieben worden²⁾. Durch oftmaliges Umkristallisieren dieses Tetrahydro-desacetyl-desoxy-iso-scillirosidsäure-methylesters konnte in den neuen Versuchen eine schwerer lösliche und bei 240° schmelzende Fraktion abgetrennt werden, so dass die früher beschriebene Verbindung mit dem Smp. bei 228°³⁾ offenbar noch ein Gemisch von Isomeren war.



¹⁾ Helv. 25, 377 (1942).

²⁾ Die Formeln VII und VIII, Helv. 25, 379 (1942), sind, wie erwähnt, durch die neuen Formeln IV und XIV zu ersetzen.

³⁾ Helv. 25, 390 (1942).

Beim Behandeln der höher schmelzenden Fraktion mit methylalkoholischer Salzsäure wird bei gleichzeitiger Eliminierung der tertiären Hydroxylgruppe an C₁₄, die unter Bildung einer Doppelbindung erfolgt, der Zucker abgespalten. Die Verseifung der Methylestergruppe führt zu einer doppelt ungesättigten Säure, die krystallisiert erhalten wurde und der wir die Formeln XVI oder XVII mit der neu entstandenen Doppelbindung $\Delta^{14,15}$ zuschreiben.

Die Verteilung der beiden konjugierten Doppelbindungen auf 2 Ringe des Kerngerüsts findet ihren Ausdruck im Absorptionsspektrum dieser Verbindung (Fig. 2). Das für 2 konjugierte Doppelbindungen in 2 Ringen erwartete Absorptionsmaximum (ca. 2400–2500 Å) (vgl. z. B. die β -Dioxycholadiensäure mit λ_{max} bei 2480 Å¹⁾) wird durch die vom übrigen Teil der Molekel bedingte Absorption im kurzwelligen Bereich überdeckt. Wenn die beiden konjugierten Doppelbindungen in einem einzigen Ring vereinigt wären, also z. B. $\Delta^{8,14}$ und $\Delta^{9,11}$, so müsste eine Hauptbande bereits bei 2700–2800 Å beobachtet werden.

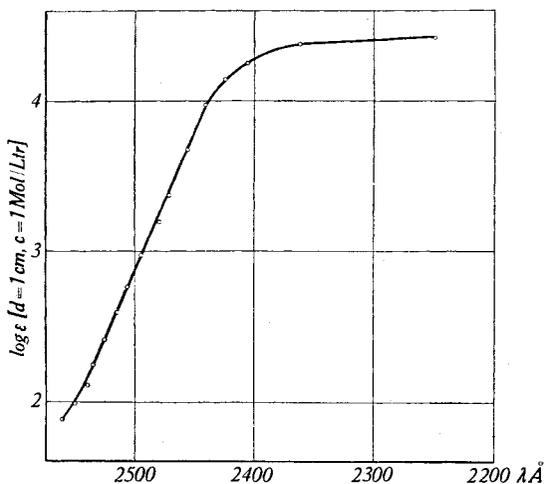


Fig. 2.
XVI oder XVII in Alkohol.

Bei der katalytischen Hydrierung mit Platin nimmt diese doppelt ungesättigte Säure genau 2 Mol Wasserstoff auf und geht in die gesättigte Säure (XVIII) über. Die ursprünglich im Scillirosid vorhandene, indifferente Doppelbindung ist durch Hinzutreten einer zweiten Doppelbindung hydrierbar geworden.

Durch diese eben beschriebenen Reaktionen wurde erstens gezeigt, dass die Bildung des Oxydrings nicht wie bei den meisten Herzglykosiden unter Beteiligung des Hydroxyls an C₁₄ stattgefunden hat und zweitens, dass die isolierte, schwer hydrierbare Doppelbindung

¹⁾ R. K. Callow, Soc. 1936, 464.

sich räumlich nahe an C₁₄ befinden muss, da durch das Auftreten einer weiteren Doppelbindung in diesem Teil der Molekel ihre Hydrierbarkeit herbeigeführt wird. Ob diese Hydrierbarkeit der ursprünglich vorhandenen Doppelbindung durch das Hinzutreten einer weiteren Doppelbindung in Konjugation zur ersteren (XVI) oder durch eine Verschiebung derselben von $\Delta^{8,9}$ nach z. B. $\Delta^{7,8}$ wie das Schema (XVII) zeigt, zustandekommt, sei dahingestellt. Es sind in der Literatur derartige Umlagerungen beschrieben¹⁾. Unter den Herzglykosiden wird im Adynerin aus Oleander ebenfalls eine Doppelbindung $\Delta^{8,9}$ angenommen²⁾. In seinem Aglykon, dem Adynerigenin wird die Hydroxylgruppe an C₁₄ leicht abgespalten. Indessen wird bei der Hydrierung der Anhydroverbindung neben der Doppelbindung im Lactonring nur eine Kerndoppelbindung hydriert. Erst eine Umlagerung des Anhydro-adynerigenins mit Säure führt die Hydrierbarkeit beider Kerndoppelbindungen herbei.

Die Haftstelle des Zuckers im Scillirosid ist noch nicht bewiesen. Wir haben sie, wie eingangs bemerkt, in Analogie zu den bekannten Herzglykosiden an einem sekundären Hydroxyl, an C₃ angenommen. Beim Scillirosid selbst lässt sich die Glucose nur unter Zerstörung des Aglykonanteils, die wohl in erster Linie durch den ungesättigten Charakter bedingt ist, abspalten. Die Spaltung der Glucosidbindung gelingt daher in befriedigender Weise erst nach der vollständigen Absättigung aller ungesättigten Teile der Molekel. Unter dieser Voraussetzung ist die Zuckerabspaltung, wie bereits besprochen, bei den gesättigten Derivaten des Pentaacetyl-desacetyl-isoscillirosidsäure-methylesters und in weiteren Versuchen auch bei der gesättigten Säure (VII), die bei der Hydrierung des Tetraacetyldehydro-scillirosids mit Platin isoliert werden konnte, gelungen. Diese gesättigte Säure verliert unter dem Einfluss methylalkoholischer Salzsäure bei gleichzeitiger Veresterung des Carboxyls und Bildung einer Doppelbindung durch Entfernung des Hydroxyls an C₁₄ den Glucoserest (IX). Die Hydrierung der entstandenen Doppelbindung mit Platin und Wasserstoff und die darauf folgende Oxydation der beiden sekundären OH-Gruppen mit Chromsäure führt zu einem Diketon (X), dessen Carbonyle durch die Bildung eines Disemicarbazons nachgewiesen wurden. Damit ist gleichzeitig der sekundäre Charakter des zuckertragenden Hydroxyls bewiesen. Da die für diese Reaktionsfolge verwendete gesättigte Säure, trotzdem sie kristallisierte, noch nicht einheitlich war, und da eine weitere Möglichkeit zur Bildung von Isomeren bei der Hydrierung der durch Wasserabspaltung entstandenen neuen Doppelbindung gegeben ist, war es nicht möglich, die zuckerfreien Verbindungen zu kristallisieren. Doch sind mit dem ebenfalls nur amorph erhaltenen Disemicarbazonpräparat

¹⁾ Vgl. z. B. A. Windaus, O. Linsert und J. D. Eckhardt, A. 534, 28 (1938).

²⁾ R. Tschesche und K. Bohle, B. 71, 654 (1938).

Analysenresultate gewonnen worden, welche mit der Formel X im Einklang stehen.

Weder die ungesättigten noch die gesättigten zuckerfreien Säuren geben Fällungen mit Digitonin. Wenn das zuckertragende Hydroxyl an C₃ sitzt, was in Analogie zu den übrigen Herzglykosiden sehr wahrscheinlich ist, so steht es im Scillirosid wie im Scillaren A sowie in den meisten übrigen Herzglykosiden und in den Gallensäuren in Transstellung zur Methylgruppe an C₁₀.

Die Abspaltung des Zuckers aus den völlig hydrierten Säuren, die sich von Scillirosid ableiten, könnte, wie das beim Scillaridin A und beim Scillaren A der Fall war, zu bekannten Substanzen aus der Klasse der Gallensäuren führen. Das Endprodukt der von Dehydroscillirosid ausgehenden Abbaureihe lieferte jedoch, wie oben ausgeführt wurde, keine so einheitlichen Fraktionen, dass ein Vergleich möglich gewesen wäre. Ausgehend von Pentaacetyl-desacetyl-isoscillirosidsäure-methylester schafft man einfachere Verhältnisse; es werden krystallisierte, völlig abgesättigte Aglykone erhalten; doch fehlen bisher unter den Gallensäurederivaten die Vergleichssubstanzen, die einen Oxydring von C₁₂ nach C₂₁ besitzen, wie er den umgelagerten Derivaten des Scillirosids eigen ist. Eine völlig abgeklärte Beziehung des Scillirosids zu den Gallensäuren und eine darauf beruhende sichere Anordnung der charakteristischen Gruppen ist daher heute noch nicht möglich. Trotzdem hat die Untersuchung des Rattengiftes der roten Meerzwiebel einen gewissen Abschluss erreicht.

Die wesentlichen strukturellen Merkmale des Scillirosids und ihre Begründung seien im folgenden kurz zusammengefasst:

1. Die Hydrolyse des Scillirosids mit Säure ergibt als Zucker 1 Mol. Glucose, deren Haftstelle in Analogie zu den übrigen Herzglykosiden an C₃ angenommen werden kann. Bewiesen ist, dass das zuckertragende Hydroxyl zum Keton oxydierbar und daher sekundär ist. Das ursprüngliche Aglykon konnte nicht gefasst werden, doch sprechen alle Befunde für die Annahme eines Steroidgerüsts.

2. Auf Grund der Absorptionsspektren und des Verhaltens gegenüber alkoholischem Alkali besitzt Scillirosid wie Scillaren A einen doppelt ungesättigten 6-gliedrigen Lactonring. Dieser weist bei Scillirosid eine O-Acetylgruppe auf, die auf Grund eines der Brenztraubensäure analogen Verhaltens seines Verseifungsproduktes in α -Stellung zum Carbonyl angenommen werden muss.

3. Scillirosid enthält eine freie sekundäre Hydroxylgruppe, die zum Keton oxydierbar, aber nicht acylierbar ist. Ihre Lage an C₁₂ ist bewiesen durch den Nachweis, dass sie an der Bildung des Oxydrings durch Säure nach der Einwirkung von Alkali auf Scillirosid beteiligt ist.

4. Wie bei den übrigen Herzglykosiden ist auch im Scillirosid eine tertiäre, als Wasser abspaltbare Hydroxylgruppe vorhanden;

ihre Lage an C₁₄ wird durch die Bildung des Oxydrings durch Säure nach der Einwirkung von Alkali auf Dehydro-scillirosid bewiesen.

5. Die gegen direkte Hydrierung resistente Kerndoppelbindung des Scillirosids wird sowohl durch Oxydation des Hydroxyls an C₁₂ wie durch Abspaltung der Hydroxylgruppe an C₁₄ unter Bildung einer zweiten Kerndoppelbindung hydrierbar. Auf Grund dieser Beobachtungen und der Absorptionsspektren ist ihre Lage $\Delta^{8,9}$ festgelegt.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen haben in der eingangs mitgeteilten Strukturformel des Scillirosids (I) einen befriedigenden Ausdruck gefunden.

Experimenteller Teil.

1. Oxydation von Tetraacetyl-scillirosid (Ia), Umwandlung des Hydroxyls an C₁₂ zum Keton.

a) Mit Chromsäure. 500 mg Tetraacetyl-scillirosid¹⁾ werden in 3 cm³ Eisessig aufgenommen und bei ca. 5° mit der Lösung von 100 mg Chromsäure in 2 cm³ 80-proz. Essigsäure versetzt. Nach 10 Minuten wird die kalte Lösung in 50 cm³ Wasser eingegossen und das Oxydationsprodukt mit Chloroform ausgeschüttelt. Die farblose Lösung wird mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, eingedampft und der Eindampfrückstand aus siedendem Alkohol umkrystallisiert. Beim Abkühlen erscheint das Keton in langen, feinen und biegsamen Nadeln, die die ganze Lösung durchsetzen. Die Ausbeute an umkrystallisiertem Tetraacetyldehydro-scillirosid vom Smp. 228—230° beträgt 300—400 mg. Seine Löslichkeit in Äther, Methanol und Äthanol ist gering; es benötigt in der Siedehitze zur vollständigen Lösung die etwa 200-fache Menge Methylalkohol. Sehr leicht löslich ist es in Chloroform.

3,043; 3,144; 3,180 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 6,796; 7,031; 7,101 mg CO₂ und 1,835; 1,890; 1,877 mg H₂O.

3,861 mg Subst. verbrauchten 2,486 cm³ 0,01-n. NaOH.

C₄₀H₅₀O₁₆ (786,4) Ber. C 61,04 H 6,41 CO·CH₃ 27,34%
Gef. „ 60,91; 60,99; 60,90 „ 6,75; 6,73; 6,60 „ 27,70%

16,048 mg bei 80° getrocknete Subst. gaben nach Zerewitinoff²⁾ 0,616 cm³ CH₄
(18°, 726 mm), entsprechend 0,552 cm³ (0°, 760 mm).

C₄₀H₅₀O₁₆ Ber. 1 H 0,13 Gef. 0,15%.

Der Wert entspricht dem einen Hydroxyl an C₁₄.

0,1420 g hochvakuumtrockene Substanz werden in 40 cm³ Methanol gelöst und mit 20 cm³ 0,1-n. NaOH auf dem Wasserbade erwärmt. Nach einer Stunde wird die gelb gefärbte Lösung gegen Phenolphthalein mit 0,1-n. Schwefelsäure titriert. Laugenverbrauch 11,0 cm³.

C₄₀H₅₀O₁₆ (786,4) Äquiv.-gew. Ber. 131 Gef. 129.

Der Lactonring und die 5 Acetylgruppen verbrauchen 6 Äquiv. Lauge.

0,1605 g Subst., in 25 cm³ Chloroform gelöst, drehten im 2 dm-Rohr bei 20° -1,05°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = - 81,8^{\circ}.$$

0,0606 g Subst. in 25 cm³ Methanol gelöst, drehten im 2 dm-Rohr bei 20° -0,40°.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = - 82,5^{\circ}.$$

¹⁾ Helv. 25, 60 (1942).

²⁾ Analyse von H. Gubser, Zürich.

Das Tetraacetyl-dehydro-scillirosid gibt eine rasch verblässende *Liebermann'sche* Farbreaktion mit Übergang von Gelb über Grün nach Bläulichgrün.

Semicarbazon: 100 mg des Tetraacetyl-dehydro-scillirosids werden in 10 cm³ Methylalkohol suspendiert. Auf Zusatz von 5 cm³ einer Semicarbazidlösung (aus 500 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 750 mg kryst. Natriumacetat) tritt beim Sieden alsbald vollständige Lösung ein. Man erhitzt 20 Minuten auf dem Dampfbad und fügt dann noch 5 cm³ warmes Wasser hinzu. Beim Erkalten fällt allmählich eine amorphe Substanz aus, die nach 20 Stunden abfiltriert wird. Ausbeute 70 mg einer pulverigen Substanz, die in 15 cm³ siedendem Alkohol gelöst wird. Man filtriert von ungelösten Flocken ab und erhält beim langsamen Abkühlen der Lösung eine amorphe Ausscheidung (30 mg), die nicht krystallisiert gewonnen werden konnte; doch zeigt die folgende Stickstoffbestimmung die Bildung des Semicarbazons an. Die getrocknete Substanz zersetzt sich bei 220°.

3,155; 7,238 mg im Hochvakuum bei 60° getrocknete Subst. gaben 0,152; 0,323 cm³ N₂ (21°, 750 mm)

C₄₁H₅₃O₁₆N₃ (843,4) Ber. N 4,98 Gef. N 5,52; 5,11%

b) Mit Bleitetraacetat. Die nicht acylierbare, sekundäre Hydroxylgruppe im Scillirosid oder im Tetraacetyl-scillirosid kann ebenso leicht wie mit Chromsäure auch mit Bleitetraacetat zum Keton oxydiert werden; die beiden Oxydationsprodukte sind identisch. Eine Lösung von 500 mg Tetraacetyl-scillirosid in 5 cm³ Eisessig wird mit 15 cm³ Eisessig, der 400 mg Bleitetraacetat enthält, versetzt. Die Mischung wird sogleich im Vakuum bei weniger als 30° Badtemperatur zur Trockne eingedampft, worauf man den Rückstand in Chloroform aufnimmt und die klare Lösung mit Wasser durchschüttelt. Die dabei entstandene braune Fällung von Bleioxyden wird durch Filtration durch eine dünne Talkschiicht entfernt und die bleifreie Chloroformlösung zur vollständigen Entfernung der Essigsäure noch mehrmals mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wird nun aus siedendem Alkohol (ca. 120 cm³) umkrystallisiert, wobei die Substanz (400—500 mg) in feinen, biegsamen Nadeln vom Smp. 228—230° erscheint. Nach mehrfachem Umkrystallisieren aus Alkohol und Methanol steigt der Smp. mitunter bis auf 232°. Sowohl auf Grund des Mischschmelzpunktes wie der Löslichkeitseigenschaften hat sich das Präparat mit dem durch Chromsäure gewonnenen Tetraacetyl-dehydro-scillirosid als identisch erwiesen.

3,241 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,234 mg CO₂ und 1,903 mg H₂O.

4,765 mg Subst. verbrauchten 3,096 cm³ 0,01-n. NaOH.

C₄₀H₅₀O₁₆ (786,4) Ber. C 61,04 H 6,41 COCH₃ 27,34%

Gef. „ 60,87 „ 6,57 „ 27,95%

0,2044 g Subst. in 25 cm³ Chloroform gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° -1,33°.

[α]_D²⁰ = - 81,4°.

Wird Scillirosid selbst auf die beschriebene Art mit Bleitetraacetat oxydiert, so entsteht ein in Wasser spielend lösliches Oxydationsprodukt, das nicht krystallisiert werden konnte. Acetylierung verwandelt es in die oben beschriebene schwerlösliche Verbindung.

c) Mit Bleitetraacetat unter quantitativer Bestimmung des Sauerstoffverbrauches. 0,1514 g Tetraacetyl-scillirosid werden in 10 cm³ Eisessig gelöst und mit 20 cm³ einer 0,1-n. Lösung von Bleitetraacetat in Eisessig versetzt. Nach 15-stündigem Stehen bei 20° werden 20 cm³ einer 2-proz. natriumacetathaltigen Kaliumjodidlösung (50 g Natriumacetat in 100 cm³) hinzugefügt. Das ausgeschiedene Jod wird mit 0,1-n. Thiosulfatlösung titriert; Verbrauch = 13,05 cm³. Ein entsprechend durchgeführter Blindversuch verbrauchte 16,95 cm³ Thiosulfat. Aus der Differenz lässt sich der verbrauchte Sauerstoff berechnen.

C ₄₀ H ₅₂ O ₁₆ (788,4)	Ber. 1 O	3,83 cm ³ 0.1-n. Thiosulfat
	Gef.	3,90 cm ³ 0.1-n. Thiosulfat

2. Abspaltung von Wasser aus Dehydro-scillirosid (II).

Die Entfernung des Hydroxyls an C₁₄ unter Bildung einer Doppelbindung gelingt unter milden Bedingungen erst mit dem Keton.

410 mg trockenes Scillirosid werden in 10 cm³ Eisessig aufgenommen und mit 400 mg Bleitetraacetat in 20 cm³ Eisessig oxydiert. Das Lösungsmittel wird sogleich im Vakuum bei einer Badtemperatur unter 30° möglichst vollständig abgedampft. Nun wird das Rohprodukt mit wenig Wasser angerieben und von den dunkelbraun ausfallenden Bleioxyden durch Filtration abgetrennt. Die auf ein kleines Volumen konzentrierte klare, farblose Lösung wird mit 20 cm³ 2-n. Schwefelsäure versetzt, wobei rasch eine opake Trübung entsteht, die sich nach etwa einstündigem Erwärmen auf 50° vermehrt und schliesslich in eine gelbliche, flockige Fällung übergeht, von der man nach dem Erkalten abfiltriert. Beim Kratzen mit dem Glasstab scheidet sich die Anhydroverbindung aus der klaren Lösung bald krystallin ab. Die nach 15-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur abfiltrierten Krystalle (60 mg) werden mit möglichst wenig eiskaltem Wasser neutral gewaschen. Aus dem Filtrat kann durch nochmaliges Erwärmen eine weitere Krystallfraktion (ca. 30 mg) isoliert werden. Die Hauptfraktion wird zur weiteren Reinigung in 0,6 cm³ heissem Methanol gelöst und mit 1,2 cm³ heissem Wasser versetzt, worauf sich rasch dünne Krystallblättchen abscheiden, welche die ganze Lösung durchsetzen. Das nach kurzem Stehen abfiltrierte Anhydro-dehydro-desacetyl-scillirosid (45 mg) schmilzt unscharf um 155°.

Die gleiche Verbindung entsteht in geringer Ausbeute auch bei der Einwirkung von Spuren konzentrierter Salzsäure auf Tetraacetyldehydro-scillirosid, das in Aceton suspendiert ist. Bei diesem Vorgang werden ausser der tertiären Hydroxylgruppe auch die Acetylgruppen

abgespalten. Die weitere Reinigung der Anhydroverbindung ist wegen ihrer Leichtlöslichkeit zu verlustreich; sie wurde daher in ihre Tetraacetylverbindung umgewandelt.

70 mg der oben erhaltenen Krystallblättchen werden in Pyridin mit Essigsäure-anhydrid acetyliert. Das durch Eingiessen der Reaktionslösung in Wasser abgeschiedene Rohprodukt (80 mg) wird aus 4 cm³ siedendem absolutem Alkohol umkrystallisiert. Für eine nochmalige Umkrystallisation benötigt die Acetylverbindung zum Lösen die etwa 100-fache Menge siedenden Methylalkohols. Sie krystallisiert daraus in feinen, biegsamen Nadeln, die bei 228° scharf schmelzen.

3,120; 3,117 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,133; 7,078 mg CO₂ und 1,793; 1,730 mg H₂O.

C₄₀H₄₈O₁₅ (768,4) Ber. C 62,44 H 6,30%
 Gef. „ 62,35; 61,93 „ 6,43; 6,21%

11,35 mg Acetylverbindung in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° - 0,45°.
 [α]_D²⁰ = - 100°.

3. Einwirkung von Alkali auf Tetraacetyl-dehydro-scillirosid.

Wenn die Oxydation des sekundären Hydroxyls an C₁₂ zum Keton eine Beteiligung dieser Gruppe bei der Bildung des Oxydrings ausschliesst, so erfolgt der Ringschluss wie bei den übrigen Herzglykosiden unter Inanspruchnahme des Hydroxyls an C₁₄.

0,6 g Tetraacetyl-dehydro-scillirosid werden in 30 cm³ methanolischer Natronlauge aufgenommen und während einer Stunde am Rückfluss gekocht. Die 5 Acetylgruppen werden dabei abgespalten, der Lactonring geöffnet und die freigewordene Carboxylgruppe verestert. Nun wird die tiefgelb gefärbte Lösung mit methylalkoholischer Salzsäure neutralisiert und auf ca. 2 cm³ eingedampft. Für die Bildung des Oxydrings wird das Konzentrat mit 5 cm³ einer 30-proz. Essigsäure versetzt und 24 Stunden bei 20° stehen gelassen. Dann verdampft man zur Trockne, nimmt mit Pyridin auf und acetyliert mit Essigsäure-anhydrid. Nach 1- bis 2-tägigem Stehen giesst man die Reaktionslösung in Wasser und filtriert die entstandene Fällung ab. Dieses Rohprodukt (0,55 g), das nicht krystallisiert, wird chromatographisch fraktioniert: 500 mg in 50 cm³ absolutem Benzol wurden durch eine Säule von 20 g Aluminiumoxyd (nach *Brockmann*) filtriert und mit 50 cm³ Benzol nachgewaschen; die Benzolfiltrate enthalten praktisch keinen Rückstand. Die Säule wird nun der Reihe nach mit absolutem Äther, Essigester und Aceton ausgewaschen, wobei die folgenden Fraktionen erhalten werden:

1. Fraktion	50 cm ³ abs. Äther	90 mg
2. „	50 cm ³ „ „	30 mg
3. „	50 cm ³ „ „	5 mg
4. „	50 cm ³ Essigester	40 mg
5. „	50 cm ³ „ „	5 mg
6. „	50 cm ³ Aceton	10 mg

Der in der Säule verbleibende Anteil besteht aus sauren Produkten, die bei der alkalischen Öffnung des Lactonringes infolge nicht vollständiger Methylierung oder partieller Entmethylierung entstanden sind, und wird verworfen.

Die einzelnen Fraktionen werden mit Methanol angerieben. Die ersten drei bilden dabei Nadeln, die folgenden, gelblichen Fraktionen verbleiben schmierig. Die kristallisierte Substanz (40 mg) aus den beiden ersten Fraktionen wird zweimal aus je 1 cm³ Methanol umkristallisiert und erscheint in feinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln vom Smp. 174°.

3,103; 3,141 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 6,978; 7,081 mg CO₂ und 1,859; 1,794 mg H₂O.

3,625 mg Subst. gaben 1,143 mg AgJ.

3,132 mg Subst. verbrauchten 1,882 cm³ 0,01-n. NaOH.

C ₄₁ H ₅₂ O ₁₆ (800,4)	Ber. C 61,47	H 6,55	OCH ₃ 3,87	COCH ₃ 26,86%
	Gef. „ 61,33; 61,48	„ 6,70; 6,38	„ 4,17	„ 25,85%

17,3 mg im Hochvakuum getrocknete Subst. in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° + 0,38°.

$[\alpha]_D^{20} = + 55^\circ$.

4. Hydrierung des Tetraacetyl-dehydro-scillirosids mit Platin-Katalysator.

Die im Scillirosid isoliert vorhandene Kerndoppelbindung ist durch die Umwandlung des Hydroxyls an C₁₂ in eine Ketogruppe hydrierbar geworden. Wie bei den früher mitgeteilten Hydrierungsversuchen an Scillirosid wird der Lactonring teilweise reaktiv aufgespalten, so dass das Hydrierungsprodukt aus sauren und neutralen Fraktionen besteht. Die Verwendung von Palladium oder Raney-Nickel als Katalysator an Stelle des Platins bietet keine besonderen Vorteile.

1,0 g Tetraacetyl-dehydro-scillirosid wird in 800 cm³ heissem Methanol gelöst und nach dem Erkalten mit 250 mg vorhydriertem Platinoxyd (nach Adams und Shriner) und Wasserstoff geschüttelt. Nach 3—4 Stunden kommt die Wasserstoffaufnahme zum Stillstand, nachdem 180 cm³ verbraucht wurden, was ca. 5,7 Mol entspricht. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wird auf ca. 100 cm³ konzentriert und dann vorsichtig mit 0,1-n. Natronlauge neutralisiert, wozu 14,5 cm³ benötigt werden. Beim Einengen der neutralen Lösung bis fast zur Trockne hinterbleibt ein gallertiger Rückstand, der in 30 cm³ warmem 50-proz. Methylalkohol gelöst wird und bei mehrstündigem Stehen feine, biegsame Nadeln abscheidet, die abfiltriert und mit etwas 50-proz. Methanol nachgewaschen werden. Im Filtrat verbleiben die sauren Reaktionsprodukte als Natriumsalze.

Der Neutralteil (200—300 mg) besteht aus mehreren Isomeren und es gelingt nur durch langwierige und verlustreiche Umkristallisationen zu einer Substanz mit konstant bleibendem Schmelzpunkt

zu gelangen. Der rohe Neutralkörper schmilzt sehr unscharf um 180°. Bei wiederholtem Umkrystallisieren aus der 20- bis 30-fachen Menge Essigester unter Zugabe des gleichen Volumens von heissem Hexan erhält man schliesslich einheitlich aussehende lange Nadeln, die zu Büscheln vereinigt sind. Dieses Präparat ist ziemlich schwer löslich in Essigester und kalten Alkoholen und schmilzt bei 216—217°. Aus 1 g rohem Neutralteil können im besten Fall 100 mg der Substanz von diesem Reinheitsgrad gewonnen werden; doch ist die Ausbeute je nach dem Verlauf der Hydrierung meist geringer.

3,120 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,053 mg CO₂ und 2,113 mg H₂O.

4,692 mg Subst. verbrauchten 2,496 cm³ 0,01-n. NaOH.

C₃₈H₅₆O₁₄ (736,5) Ber. C 61,92 H 7,67 COCH₃ 23,3%

Gef. „ 61,51 „ 7,58 „ 22,9%

19,1 mg im Hochvakuum getrocknete Subst. in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° - 0,40°.

$[\alpha]_D^{20} = - 52,5^\circ$.

Der saure Anteil fällt aus der Mutterlauge des rohen Neutralteils nach dem Ansäuern der heissen Lösung meist in fein krystalliner Form (0,3 g) aus; er besteht aus verschiedenen Isomeren und schmilzt unscharf zwischen 170 und 180°. Herausfraktionieren einer Substanz mit konstantem Schmelzpunkt ist wie beim Neutralteil langwierig und verlustreich. Zur Abtrennung geringer Mengen anhaftenden Neutralteiles wird das saure Rohprodukt in der 20-fachen Menge 80-proz. Methylalkohol gelöst und mit 0,1-n. Natronlauge gegen Phenolphthalein genau neutralisiert. Dann wird mit Wasser bis 50 Volumprozent versetzt, worauf nach längerem Stehen noch eine geringe Menge von neutraler Substanz ausfällt. Aus dem Filtrat werden nun die Säuren durch einen Überschuss von Essigsäure abgeschieden und wiederholt aus der 50-fachen Menge heissem Essigester unter Zugabe des 1,5-fachen Volumens von heissem Hexan umkrystallisiert. Zur letzten Krystallisation werden gleiche Mengen Essigester und Hexan verwendet. Die Säure krystallisiert in fächerförmig verzweigten Nadeln, die oft zu Büscheln vereinigt sind, vom Smp. 196—198°. Die Ausbeute an dieser Substanz beträgt bestenfalls 10% der eingesetzten Rohsäure und ist in bisher unkontrollierbarer Weise abhängig vom Verlauf der Hydrierung. Die Säure kann auch aus wässrigen Alkoholen oder verdünnter Essigsäure umkrystallisiert werden, doch eignen sich diese Lösungsmittel weniger als Essigester und Hexan.

3,089; 3,187 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 6,895; 7,219 mg CO₂ und 2,138; 2,177 mg H₂O.

4,263 mg Subst. verbrauchten 2,367 cm³ 0,01-n. NaOH.

C₃₈H₅₈O₁₄ (738,5) Ber. C 61,74 H 7,92 COCH₃ 23,3%

Gef. „ 61,67; 61,95 „ 7,74; 7,66 „ 23,9%

29,75 mg getrocknete Subst. in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° - 0,65°.

$[\alpha]_D^{20} = - 54,5^\circ$.

Methylester: Die gereinigte Säure wird in methanolischer Lösung mit Diazomethan methyliert. Der Methylester krystallisiert aus wenig Methylalkohol in Nadeln, die bei 155° unscharf schmelzen. Auch nach wiederholtem Umkrystallisieren konnte keine Substanz mit scharfem Schmelzpunkt isoliert werden, was darauf hindeutet, dass auch die gereinigte Säurefraktion noch ein Gemisch von Isomeren darstellt.

4,714; 4,215 mg bei 50° im Hochvakuum getrocknete Subst. gaben 1,445; 1,392 mg AgJ.

$C_{39}H_{60}O_{14}$ (752,5) Ber. OCH_3 4,12 Gef. OCH_3 4,05; 4,37%

Zuckerabspaltung mit methylalkoholischer Salzsäure: Bei dieser Operation wird sowohl die Glucose unter Freilegung des Hydroxyls an C_3 wie die tertiäre Hydroxylgruppe an C_{14} unter Bildung einer hydrierbaren Doppelbindung abgespalten; ausserdem wird die Carboxylgruppe methyliert. 130 mg gereinigte Säure (Smp. 190—195°) werden in 10 cm³ einer methanolischen ca. n. Salzsäure während 40 Minuten am Rückfluss gekocht. Die erkaltete Lösung wird mit methylalkoholischer Natronlauge genau neutralisiert und vom ausgefallenen Kochsalz abfiltriert. Darauf wird die klare, farblose Lösung mit 30 mg vorhydriertem Platinoxid und Wasserstoff geschüttelt. Es werden 4,3 cm³, entsprechend einer Doppelbindung verbraucht. Die vom Katalysator filtrierte Lösung wird eingedampft. Der zurückbleibende farblose Lack krystallisiert ebenso wenig wie der einfach ungesättigte Methylester vor der Hydrierung.

Oxydation des gesättigten Methylesters zum Diketon. 570 mg des Esters werden in 4 cm³ Eisessig aufgenommen und mit der Lösung von 300 mg Chromsäure in 1 cm³ 80-proz. Essigsäure versetzt. Nach 5-stündigem Stehen bei 0° gibt man 50 cm³ Wasser zu und äthert aus. Die mit verdünnter Natronlauge und Wasser gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Ätherlösung hinterlässt nach dem Abdampfen 0,43 g eines farblosen Lackes, der sich spielend in Alkoholen löst, aber nicht krystallisiert.

Das Diketon wird in einigen cm³ absolutem Alkohol gelöst und mit einer Semicarbazidlösung (aus 0,5 g Hydrochlorid und 0,75 g krystallisiertem Natriumacetat in 5 cm³ absolutem Alkohol) versetzt. Nach einstündigem Erwärmen scheiden sich beim Erkalten der Lösung kugelige Aggregate in einer Menge von 0,22 g ab, die aus 12 cm³ siedendem 80-proz. Alkohol umgefällt werden. Es entsteht eine amorphe, pulverige Abscheidung, die abfiltriert und getrocknet wird (100 mg). Die folgenden Analysenwerte stimmen mit den für ein Disemicarbazon berechneten überein.

3,320; 3,387 mg bei 70° im Hochvakuum getrocknete Subst. gaben 0,461; 0,479 cm³ N₂ (19°, 748 mm; 20°, 748 mm).

$C_{27}H_{44}O_4N_6$ (516,3) Ber. N 16,27 Gef. N 15,98; 16,22%

3,952 mg im Hochvakuum bei 70° getrocknete Subst. gaben 1,878 mg AgJ.

$C_{27}H_{44}O_4N_6$ (516,3) Ber. OCH_3 6,04 Gef. OCH_3 6,28%.

5. Oxydation des Tetrahydro-desacetyl-desoxy-scillirosids.

In dieser Tetrahydro-Verbindung, über deren Darstellung und Eigenschaften wir bereits berichtet haben¹⁾ und die bei der Hydrierung des Scillirosids mit Palladium-Katalysator entsteht, sind unter reduktiver Abspaltung der Acetylgruppe am Lactonring dessen Doppelbindungen abgesättigt worden. Dieses Hydrierungsprodukt wurde vor der Oxydation acetyliert, worauf eine Aufteilung in zwei Stereoisomere möglich war.

Acetylierung der Tetrahydro-Verbindung. 800 mg Subst. vom Smp. 284° werden in Pyridinlösung mit Essigsäure-anhydrid acetyliert. Das Rohprodukt (1,05 g) wird aus 60 cm³ siedendem 90-proz. Methanol umkrystallisiert, wobei federbuschartige Krystalle (680 mg) gewonnen werden. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus 90-proz. und dann aus absolutem Methanol erhält man längliche sechsseitige Blättchen, die bei 240° scharf schmelzen.

3,120 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,108 mg CO₂ und 2,130 mg H₂O.

4,613 mg Subst. verbrauchten 2,62 cm³ 0,01-n. NaOH.

C ₃₈ H ₅₄ O ₁₄ (734,4)	Ber. C 62,10	H 7,41	COCH ₃ 23,4%
	Gef. „ 62,13	„ 7,64	„ 24,4%

35,7 mg Subst. in 25 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° + 0,10°.

$[\alpha]_D^{20} = + 35^\circ$.

Aus den Krystallisationsmutterlaugen lässt sich auf Zusatz von Wasser eine leichter lösliche Fraktion krystallisieren, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus möglichst wenig Methanol in langen Nadeln erscheint. Die Ausbeute an dieser Substanz ist bedeutend geringer (etwa 100 mg); sie schmilzt bei 219°.

3,185 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,286 mg CO₂ und 2,090 mg H₂O.

C ₃₈ H ₅₄ O ₁₄ (734,4)	Ber. C 62,10	H 7,41%
	Gef. „ 62,39	„ 7,34%

34,7 mg Acetylverbindung in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° + 0,50°.

$[\alpha]_D^{20} = + 36^\circ$.

Die beiden Tetraacetylverbindungen sind isomer, sie unterscheiden sich wahrscheinlich nur in der sterischen Anordnung des Wasserstoffatoms an C₂₀. Das in der vorhergehenden Arbeit beschriebene Hydrierungsprodukt mit dem Schmelzpunkt bei 284° hat auf Grund der nunmehrigen Aufteilung seines Tetraacetylproduktes in 2 Isomere wohl ebenfalls nicht ganz einheitlich vorgelegen.

Oxydation der Tetraacetylverbindung mit Bleitetraacetat: 500 mg der Tetraacetylverbindung vom Smp. 240° werden in Eisessig aufgenommen und mit der Lösung von 500 mg Bleitetraacetat in 30 cm³ Eisessig versetzt. Nach dem Eindampfen im Vakuum

¹⁾ Helv. 25, 63 (1942).

bei 20–30° Badtemperatur bis zur Trockne wird der Rückstand in Wasser und Chloroform aufgenommen. Von der entstandenen braunen Fällung der Bleioxyde wird durch eine Talkschiicht abfiltriert und die Chloroformschiicht mehrmals mit Wasser durchgewaschen. Der Eindampfrückstand der mit Natriumsulfat getrockneten Chloroformlösung wird mit 100 cm³ siedendem Methanol aufgenommen, worauf sich beim Erkalten der Lösung grosse Büschel von feinen, langen Nadeln (440 mg) bilden. Nach nochmaligem Umkrystallisieren aus der etwa 150-fachen Menge von siedendem Methanol erhält man 0,2 g des Tetraacetyl-tetrahydro-desacetyl-desoxy-dehydro-scillirosids vom Smp. 176–177°.

3,240; 3,216 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,360; 7,300 mg CO₂ und 2,102; 2,128 mg H₂O.

C ₃₈ H ₅₂ O ₁₄ (732,4)	Ber. C 62,26	H 7,15%
	Gef. „ 61,95; 61,91	„ 7,26; 7,40%

Hydrierung des im vorigen Abschnitt beschriebenen einfach ungesättigten Ketons: Die Lösung von 200 mg in 80 cm³ Methanol wird mit 50 mg vorhydriertem Platinoxid (nach Adams) und Wasserstoff geschüttelt. Nach 4 Stunden sind, abzüglich der für das Lösungsmittel im Blindversuch ermittelten Menge, 12,2 cm³ Wasserstoff, entsprechend 2 Mol (ber. 13,6 cm³) aufgenommen. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wird eingedampft und der Rückstand durch Aufnehmen in heissem Methanol und Zugabe von 5 cm³ Wasser in kleinen ungleichmässigen Nadeln mit dem unscharfen Schmelzpunkt um 180° krystallisiert erhalten. Zuerst aus Essigester-Hexan (1:2), dann mehrmals aus Essigester-Hexan (1:1) umkrystallisiert, erhielten wir feine einheitliche Nadeln (20 mg) vom Smp. 217–218°. Die Verbindung gibt keine Schmelzpunktserniedrigung mit dem Neutralteil aus der Hydrierung von Tetraacetyl-dehydro-scillirosid. Auch die Löslichkeit und die Krystallform der beiden Präparate stimmen überein.

3,002 mg bei 80° im Hochvakuum getrocknete Subst. gaben 6,799 mg CO₂ und 2,045 mg H₂O.

C ₃₈ H ₅₀ O ₁₄ (736,5)	Ber. C 61,92	H 7,67%
	Gef. „ 61,77	„ 7,62%

6. Oxydation des Pentaacetyl-desacetyl-iso-scillirosid-säure-methylesters mit Chromsäure.

Beim Behandeln dieser Verbindung mit Bleitetraacetat wird auch nach langer Einwirkungszeit kein Oxydationsmittel verbraucht, weil sich das sekundäre Hydroxyl an C₁₂ bei der Bildung des Oxydrings beteiligt hat. Auch die an sich kräftigere Wirkung von Chromsäure unter Bedingungen (niedere Temperatur, kurze Reaktionszeit), die beim Tetraacetyl-scillirosid glatt zur Oxydation der OH-Gruppe an C₁₂ führt, liefert neben wenig Amorphem nur unverändertes Ausgangsmaterial. Erst nach längerer Einwirkung der Chromsäure erhält

man ein Oxydationsprodukt, aus dem ein krystallisierter Anteil abgetrennt werden kann, der auf Grund der Analyse ein um CH_2 ärmeres Produkt (VI) darstellt und vermutlich durch oxydative Sprengung des Oxydringes gebildet wurde.

Die Lösung von 1 g Pentaacetyl-desacetyl-iso-scillirosidsäure-methylester in 40 cm^3 Eisessig wird mit 0,8 g Chromtrioxyd in 10 cm^3 80-proz. Essigsäure vermischt. Nach einstündigem Stehen bei 20° wird das Reaktionsgemisch in Wasser gegossen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser neutral gewaschene und mit Natriumsulfat getrocknete Chloroformlösung hinterlässt nach dem Abdampfen einen Rückstand, der nach dem Anfeuchten mit Methanol in Nadeln durchkrystallisiert. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren des Rohproduktes (0,34 g) aus siedendem Alkohol und der etwa 30-fachen Menge von Methanol schmilzt das Oxydationsprodukt scharf bei 192°.

3,131; 3,127 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 6,865; 6,840 mg CO_2 und 1,877; 1,880 mg H_2O .

4,305; 3,530 mg Subst. verbrauchten 2,719; 2,277 cm³ 0,01-n. NaOH.

4,250 mg Subst. gaben 1,365 mg AgJ.

$\text{C}_{40}\text{H}_{52}\text{O}_{17}$ (804,4)	Ber. C 59,67	H 6,51	$\text{CO}\cdot\text{CH}_3$ 26,73	OCH_3 3,85%
	Gef. „ 59,80; 59,85	„ 6,71; 6,75	„ 27,17; 27,75	„ 4,24%

66,7 mg Subst. in 25 cm^3 Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° - 0,20°.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = - 37,5°$.

Wird die Oxydation bei erhöhter Temperatur, z. B. bei 60° durchgeführt, so entsteht in nur wenig geringerer Ausbeute dasselbe Produkt.

Disemicarbazon: Die Bildung eines Disemicarbazons zeigt die Anwesenheit zweier Carbonyle an, die bei der oxydativen Aufsprengung des Oxydringes entstanden sind. 100 mg Oxydationsprodukt werden in 5 cm^3 Methanol gelöst und mit 5 cm^3 einer Semicarbazidlösung aus 0,5 g Hydrochlorid und 0,75 g krystallisiertem Natriumacetat versetzt. Die Mischung wird 20 Minuten auf dem Dampfbad erwärmt und dann mit 20 cm^3 warmem Wasser versetzt. Nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird von einer amorphen Ausscheidung (80 mg) abfiltriert und diese erneut in 5 cm^3 Methanol gelöst. Nach Zusatz von 10 cm^3 heissem Wasser fällt beim Abkühlen das gereinigte Semicarbazon wiederum amorph aus (40 mg). Es zersetzt sich bei 172°. 3,262; 3,185 mg im Hochvakuum bei 60° getrocknete Subst. gaben 0,277; 0,265 cm^3 N_2 (20°, 749 mm).

$\text{C}_{42}\text{H}_{58}\text{O}_{17}\text{N}_6$ (918,5) Ber. N 9,15 Gef. N 9,75; 9,55%.

7. Saure Hydrolyse des Tetrahydro-desacetyl-desoxy-iso-scillirosidsäure-methylesters.

Über die Darstellung dieser Substanz haben wir bereits in unserer letzten Mitteilung¹⁾ berichtet und dafür den Smp. 228° ange-

¹⁾ Helv. 25, 390 (1942).

geben. Durch fraktioniertes Umkrystallisieren des Präparates aus Methanol konnten wir nun eine schwer lösliche Fraktion, die erst in der etwa 100-fachen Menge siedendem Methanol löslich ist, abtrennen. Diese Substanz krystallisiert in dünnen, glitzernden Blättchen und schmilzt bei 240—242°. Ihr Drehwert hat sich gegenüber den Angaben der früheren Arbeit nicht geändert. Die früheren Präparate mit tieferem Schmelzpunkt enthielten eine Beimischung eines Isomeren.

3,155; 3,218 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,405; 7,560 mg CO₂ und 2,311; 2,415 mg H₂O.

C₃₁H₄₈O₁₀ (580,3) Ber. C 64,09 H 8,34%
 Gef. „ 64,01; 64,07 „ 8,20; 8,40%

40,7 mg Subst. in 25 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm Rohr bei 20° - 0,08°.

$$[\alpha]_D^{20} = - 24,6^\circ.$$

Für die saure Hydrolyse, die ausser der Abspaltung des Zuckers auch die Entfernung des tertiären Hydroxyls an C₁₄ unter Bildung einer Doppelbindung zur Folge hat, werden 500 mg Substanz (Smp. 240—242°) in 10 cm³ einer etwa 0,5-n. methylalkoholischen Salzsäure aufgenommen und während 10 Minuten am Rückfluss gekocht. Die erkaltete, noch farblose Lösung wird mit n. methylalkoholischer Natronlauge genau neutralisiert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Aufnehmen mit absolutem Äther trennt das zuckerfreie Reaktionsprodukt vom Kochsalz ab. Die Ätherlösung hinterlässt beim Eindampfen einen fast farblosen Lack (330 mg, ber. für das Aglykon bei Abspaltung eines Mol Glucose und eines Mol Wasser 344 mg).

Für die chromatographische Reinigung des Aglykons und seine Entmethylierung wird das Präparat (330 mg) in 25 cm³ absolutem Benzol gelöst, durch eine Säule aus 10 g Aluminiumoxyd (nach *Brockmann*) filtriert und mit Benzol und Äther nachgewaschen, wobei die einzelnen Fraktionen beim Eindampfen zur Trockne die folgenden Rückstände hinterlassen:

1. Fraktion	Durchlauf	75 mg
2. „	25 cm ³ abs. Benzol	200 mg
3. „	25 cm ³ „ „	5 mg
4. „	25 cm ³ „ Äther	10 mg
5. „	25 cm ³ „ „	—

Die beiden ersten Fraktionen (275 mg) werden in 30 cm³ heissem Methanol aufgenommen und nach Zusatz von 20 cm³ 0,1-n. wässriger Natronlauge während einer Stunde am Rückfluss gekocht. Die rötlich-braun gefärbte Flüssigkeit giesst man in verdünnte Schwefelsäure und äthert aus. Die mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschene Ätherlösung wird mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, worauf der Rückstand (250 mg) schon teilweise krystallisiert erscheint. Nach dem Anreiben mit wenig Alkohol können 210 mg kleine Prismen abfiltriert werden. Das Rohkrystallisat wird in 5 cm³ heissem Alkohol gelöst, mit etwas Tierkohle gereinigt und filtriert, worauf nach Zusatz

von 3 cm³ warmem Wasser sofort die Krystallisation von kleinen Prismen beginnt. Nach einigen Stunden können 190 mg der doppelt ungesättigten zuckerfreien Säure abfiltriert werden, die nach vorherigem Sintern bei 180—185° schmilzt. Zur weiteren Reinigung wird das Präparat nochmals aus wässrigem Methanol und dann aus absolutem Methanol umkrystallisiert. Aus wässrigem Methanol oder Alkohol krystallisiert es in langen Nadeln, aus absoluten Alkoholen in feinen Prismen. Auch das gereinigte Präparat schmilzt, nach kurzem vorherigem Sintern, unter Gelbfärbung und Zersetzung bei 185°. Die *Liebermann'sche* Farbreaktion zeigt einen Übergang von Rot über Violett nach Olivgrün.

3,123; 3,061 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 8,564; 8,340 mg CO₂
und 2,479; 2,433 mg H₂O.

C ₂₄ H ₃₄ O ₄ (386,3)	Ber. C 74,55	H 8,88%
	Gef. „ 74,79; 74,31	„ 8,88; 8,89%

30,1 mg Subst. in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° - 0,16°.

$[\alpha]_D^{20} = - 13,5^\circ$.

Für die Hydrierung der doppelt ungesättigten Säure werden 105 mg Substanz in 20 cm³ Alkohol gelöst und mit 30 mg vorhydriertem Platinoxid (nach *Adams*) und Wasserstoff geschüttelt. Nach 30 Minuten kommt die Wasserstoffaufnahme zum Stillstand, nachdem 14,7 cm³ H₂ verbraucht sind; für 2 Mol H₂ berechnen sich 13,6 cm³. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wird eingedampft, der Rückstand in wenig Methylalkohol aufgenommen und dann vorsichtig mit einigen Tropfen heissem Wasser versetzt, wobei sich die Lösung zuerst trübt, dann aber allmählich Krystalldrusen ausscheidet. Nach einigen Stunden können 75 mg der gesättigten Säure, die bei 165° schmilzt, abfiltriert werden. Aus dem Rohprodukt erhält man durch Umkrystallisieren aus 1 cm³ heissem Methanol die Säure in dünnen Prismen vom Smp. 168°.

Bei der Hydrierung mit Palladium-Tierkohle (auf 100 mg Säure 50 mg Palladium(II)-chlorid und 500 mg Tierkohle) entsteht unter Aufnahme von 2 Mol Wasserstoff dasselbe Hydrierungsprodukt.

3,211; 3,061; 3,075 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 8,663; 8,228;
8,341 mg CO₂ und 2,738; 2,656; 2,642 mg H₂O.

C ₂₄ H ₃₈ O ₄ (390,3)	Ber. C 73,78	H 9,81%
	Gef. „ 73,58; 73,31; 73,98	„ 9,54; 9,71; 9,61%

23,8 mg getrocknete Subst. in 5 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr bei 20° + 0,14°.

$[\alpha]_D^{20} = + 15^\circ$.

8. Nachweis der reaktionsträgen Kerndoppelbindung im Scillirosid mit Benzopersäure.

a) Oxydation von Tetraacetyl-scillirosid: Die Lösung von 500 mg Tetraacetyl-scillirosid (Smp. 199°) in 20 cm³ trockenem Chloroform wird mit 560 mg Benzopersäure in Chloroform versetzt.

Nach 3-tägigem Stehen bei 15° wird die Flüssigkeit zuerst mit Soda-lösung, dann mit Wasser ausgeschüttelt und nach dem Trocknen mit Natriumsulfat eingedampft. Die in 10 cm³ siedendem Methylalkohol aufgenommene Oxydverbindung krystallisiert beim Erkalten in feinen Nadeln (180 mg), die nach zweimaligem Umkrystallisieren nach Sintern von 215° an, bei 228–230° schmelzen.

3,105; 3,084 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 6,772; 6,745 mg CO₂ und 1,880; 1,802 mg H₂O.

C ₄₀ H ₅₂ O ₁₇ (804,4)	Ber. C 59,67	H 6,51%
	Gef. „ 59,48; 59,65	„ 6,77; 6,54%

25,3 mg Oxydo-Verbindung in 25 cm³ Methanol gelöst, drehen im 2 dm-Rohr -0,07°.
 $[\alpha]_D^{20} = -34,5^\circ$.

b) Oxydation des Tetraacetyl-tetrahydro-desacetyl-desoxy-scillirosids. Da auch im Lactonring des Scillirosids Doppelbindungen vorhanden sind, die mit Benzopersäure reagieren könnten, so wurde im folgenden Versuch eine Verbindung mit gänzlich abgesättigtem Lactonring, aber noch vorhandener Kerndoppelbindung der Oxydation mit Benzopersäure unterworfen.

Eine Lösung von 500 mg der Tetraacetylverbindung (Smp. 240°, s. S. 667) in 20 cm³ trockenem Chloroform wird mit 260 mg Benzopersäure in 5 cm³ Chloroform versetzt. Nach 8-tägigem Stehen bei 15° wird die Reaktionslösung mit verdünnter Sodalösung und Wasser ausgeschüttelt und nach dem Trocknen mit Natriumsulfat eingedampft. Der Rückstand krystallisiert nach dem Anreiben mit Methanol allmählich in Drusen (350 mg) und erscheint nach mehrfachem verlustreichem Umkrystallisieren aus heissem Methanol in einheitlich aussehenden langen Prismen, die aber unscharf um 130° schmelzen.

3,206; 3,128 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben 7,115; 6,947 mg CO₂ und 2,145; 2,118 mg H₂O.

C ₃₈ H ₅₄ O ₁₅ (750,4)	Ber. C 60,77	H 7,25%
	Gef. „ 60,53; 60,62	„ 7,49; 7,58%

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium
 „Sandoz“ Basel.