

176. Neue herzwirksame Glykoside aus der weissen Meerzwiebel.

26. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

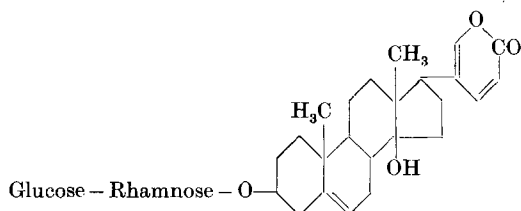
von Arthur Stoll und Walter Kreis.

(9. VI. 51.)

1. Einleitung.

In der ersten Arbeit²⁾ über die herzwirksamen Substanzen der Meerzwiebel (*Scilla maritima* L. = *Urginea maritima* Baker) wurde die Isolierung und Reindarstellung des in den Zwiebeln vorwiegend vorhandenen Glykosides Scillaren A beschrieben. Es konnte schon damals gezeigt werden, dass dieses Hauptglykosid in der Droge von einem wasserlöslichen, kompliziert zusammengesetzten Gemisch von noch anderen hochaktiven Glykosiden begleitet ist, das wir provisorisch mit „Scillaren B“ bezeichneten. Nach jahrelanger Arbeit ist es nun gelungen, dieses Gemisch wenigstens zu einem wesentlichen Teil in einheitliche Komponenten aufzulösen, so dass wir jetzt in der Lage sind, über die Isolierung einer Reihe von neuen, stark herzwirksamen Glykosiden zu berichten.

In mehreren seit jener ersten Arbeit über die Meerzwiebelglykoside erschienenen Veröffentlichungen wurde über den Abbau und die Konstitutionsaufklärung von Scillaren A berichtet. Wir schreiben ihm die folgende Konstitution zu:



Scillaren A.

Die Zuckerkette des Scillarens A besteht demnach aus Rhamnose und einer endständigen Glucose, welche letztere durch das in der Zwiebel enthaltene Ferment Scillarenase³⁾ und, wie neuerdings festgestellt wurde⁴⁾, auch durch andere Fermentsysteme abgespalten wird, so dass das glucosefreie Proscillaridin A entsteht. Bei der

¹⁾ 25. Mitteilung, Helv. **34**, 782 (1951).

²⁾ A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, Helv. **16**, 703 (1933).

³⁾ A. Stoll, W. Kreis & A. Hofmann, Z. physiol. Ch. **222**, 24 (1933).

⁴⁾ A. Stoll & J. Renz, Enzymologia **7**, 362 (1939); A. Stoll, J. Renz & A. Brack, Helv. **34**, 397 (1951); A. Stoll & J. Renz, Helv. **34**, 782 (1951).

Abspaltung des Rhamnoseresates durch saure Hydrolyse verliert das Aglykon auch unter mildesten Bedingungen stets 1 Mol Wasser, so dass es bis jetzt noch nicht gelungen ist, das intakte Aglykon zu fassen. Die leichte Elimination der zuckertragenden Hydroxylgruppe ist auf den Einfluss einer Kerndoppelbindung ($\Delta^{5,6}$)¹⁾ zurückzuführen, die zur Bildung eines konjugierten Systems von 2 Doppelbindungen²⁾ Anlass gibt. Die katalytische Hydrierung der Kerndoppelbindung und des doppelt ungesättigten sechsgliedrigen Lactonrings führt unter teilweiser reduktiver Öffnung desselben auf übersichtlichem Wege direkt zur Allocholansäure³⁾. Damit war zum ersten Male gezeigt, dass dem Aglykon von Scillaren A ein C₂₄-Kohlenstoffgerüst zugrunde liegt, wie es dann auch bei anderen herzaktiven Substanzen, den Krötengiften und einigen weiteren Glykosiden, beim Scillirosid⁴⁾, beim Hellebrin⁵⁾ und beim Rubellin⁶⁾, die ebenfalls einen doppelt ungesättigten 6gliedrigen Lactonring aufweisen, gefunden wurde.

Nachdem die Doppelbindung im Steroidgerüst hydriert ist, gelingt es, den Zuckerrest abzuspalten, ohne dass die zuckertragende Hydroxylgruppe aus dem Kerngerüst austritt: Die Lage dieser Hydroxylgruppe konnte so durch Überführung des zuckerfreien Restes in Epi-allo-lithocholsäure⁷⁾ in Stellung 3 β festgelegt werden.

Der markanteste Unterschied zwischen den Aglykonen der Digitalis-Strophanthus-Reihe mit 23 Kohlenstoffatomen und den Scilla-Aglykonen mit 24 Kohlenstoffatomen liegt im Lactonring, der, wie bemerkt, doppelt ungesättigt und sechsgliedrig ist und zu einer Reihe von besonderen Umsetzungen Anlass gibt⁸⁾.

Für Glykoside und Aglykone mit einfach ungesättigtem Lactonfünfring sind Farbreaktionen⁹⁾, wie z. B. die *Legal*-, *Baljet*- und *Raymond*-Reaktion charakteristisch, während diese bei den Scillaglykosiden und auch bei den Krötengiften negativ verlaufen. Für diese wiederum ist die *Liebermann*'sche Farbreaktion besonders charakteristisch und wichtig als Kontrolle für Trennungsoperationen.

Die Isolierung von reinen, kristallisierten Glykosiden aus dem komplizierten, wasserlöslichen Glykosidgemisch der weissen Meerzwiebel erforderte die Ausarbeitung besonderer Trennungsvorgänge.

1) A. Stoll & A. Hofmann, *Helv.* **18**, 401 (1935).

2) A. Stoll, A. Hofmann & W. Kreis, *Helv.* **17**, 1334 (1934).

3) A. Stoll, A. Hofmann & A. Helfenstein, *Helv.* **18**, 644 (1935).

4) A. Stoll & J. Renz, *Helv.* **25**, 43, 377 (1942); **33**, 286 (1950); A. Stoll, J. Renz & A. Helfenstein, *Helv.* **26**, 648 (1943).

5) W. Karrer, *Helv.* **26**, 1353 (1943); A. Buzas & T. Reichstein, *Helv.* **31**, 110 (1948); J. Schmutz, *Pharm. acta Helv.* **22**, 373 (1947); *Helv.* **32**, 1442 (1949).

6) P. G. J. Louw, *Nature* **163**, 30 (1949); Onderstepoort, *J. Vet. Sci. Animal Ind.* **22**, 313 (1949).

7) A. Stoll & J. Renz, *Helv.* **24**, 1380 (1941).

8) A. Stoll, A. Hofmann & A. Helfenstein, *Helv.* **17**, 641 (1934); A. Stoll & A. Hofmann, *Helv.* **18**, 82 (1935).

9) Vgl. P. Bellet, *Ann. pharmac. Franç.* **8**, 471 (1950).

Neuerdings wurde mehrfach die Aufteilung von Herzglykosidgemischen mit Erfolg durch Chromatographie von acetylierten Glykosidfraktionen an Aluminiumoxyd¹⁾ ausgeführt. Auf diesem Wege schien uns die Isolierung reiner Meerzwiebelglykoside nicht aussichtsreich; ausserdem verläuft die Acetylierung und Desacetylierung von Scillaglykosiden nicht immer eindeutig²⁾.

Zur Trennung der 3 isomorph kristallisierenden Glykoside der *Digitalis lanata*, der Lanatoside A, B und C³⁾, haben wir ein Verfahren beschrieben, das die verschiedene Verteilung dieser nah verwandten Glykoside zwischen zwei nicht mischbaren Lösungsmitteln ausnützt. Diese Trennungsmethode haben wir auch bei den Meerzwiebelglykosiden versucht und damit in einzelnen Fraktionen eine gewisse Anreicherung von Glykosiden erreicht, wie mit der *Liebermann'schen* Farbreaktion festgestellt werden konnte. Doch war keine Fraktion so einheitlich, dass sie kristallisierte.

Zur feineren Ausgestaltung der auf den Unterschieden in den Verteilungskoeffizienten beruhenden Trennungsmethode gingen wir dann dazu über, Versuche mit Säulen, also nach dem Prinzip der Verteilungschromatographie, auszuführen. Nachdem auf diesem Wege eine Trennung der 3 Lanatoside glatt erfolgte, haben wir versucht, diese Methode auch auf die Meerzwiebelsubstanzen der „B-Fraktion“ zu übertragen.

Die Trennung von Gemischen mit Hilfe der Verteilungschromatographie, deren Ausführung und theoretische Grundlagen öfters eingehend diskutiert worden sind⁴⁾, ist besonders in den letzten Jahren bei Naturstoffen vielfach angewandt worden, zur Hauptsache allerdings für analytische Zwecke. Bei unseren Versuchen standen zuerst präparative Gesichtspunkte im Vordergrund, weshalb unsere Säulen und Säulenkompositionen mit der Zeit beträchtliche Dimensionen annahmen. Als Füllmasse der Säulen verwendeten wir im besondern zwei Materialien: Baumwoll-Linters und Diatomitstein. In den folgenden Abschnitten zeigen wir, wie es gelingt, mit solchen Versuchsanordnungen einzelne Glykoside aus dem sehr komplex zusammengesetzten Gemisch der Meerzwiebelglykoside so rein zu isolieren, dass sie kristallisierbar werden.

2. Fraktionierungen in der Baumwoll-Linters-Säule.

Unseren Versuchen lag die Verteilung der einzelnen Komponenten des Gemisches zwischen Wasser und Essigester zugrunde. Als Träger

¹⁾ H. Rosenmund & T. Reichstein, *Pharm. acta Helv.* **17**, 176 (1942); H. Schwarz, A. Katz & T. Reichstein, *Pharm. acta Helv.* **21**, 250 (1946).

²⁾ Von einigen Glykosiden konnten nur amorphe Acetate erhalten werden; ein Glykosid, das Scillicyanosid, enthält selbst schon eine Acetylgruppe.

³⁾ A. Stoll & W. Kreis, *Helv.* **16**, 1049 (1933). In dieser Arbeit wurden die Lanatoside A, B und C als Diglucanide A, B und C bezeichnet.

⁴⁾ Siehe z. B. A. J. P. Martin & R. L. M. Synge, *Biochem. J.* **35**, 91, 1358 (1941); A. J. P. Martin, *Annual Reports* **45**, 276 (1948).

für die wässrige Phase waren Baumwoll-Linters ein geeignetes Material¹⁾. Gegenüber Watte hat es den Vorteil, dass es aus kurzen Fasern besteht, so dass die Säulen gleichmässiger gefüllt werden können. Dadurch wird das Wasser besser zurückgehalten, und es bilden sich weniger Kanäle, die das richtige Funktionieren beeinträchtigen würden.

Die Baumwoll-Linters, die aus fast reiner Cellulose bestehen, besitzen eine grosse Aufsaugfähigkeit für Wasser, so dass gleiche Gewichtsteile Linters und Wasser vermischte noch ein trocken aussehendes Material darstellen. Neuerdings wurde die Anwendung von ähnlichen Trägern für die Herstellung von Säulen beschrieben, so z. B. von Säulen aus Cellulose zur Trennung von freien Aminosäuren²⁾, sowie von übereinandergelagerten Schichten aus Filtrierpapier zur Trennung grösserer Substanzmengen³⁾.

Für die ersten Versuche verwendeten wir ein Glykosidpräparat aus der weissen Meerzwiebel, aus welchem das schon bekannte Scillaren A wie früher beschrieben⁴⁾ abgetrennt worden war. Die Trennung eines solchen Präparates in einer Säulenordnung, wie sie im experimentellen Teil beschrieben ist (vgl. Tabelle 5, S. 1443) ergab, dass, auf Grund der verschiedenen *Liebermann*'schen Farbreaktion einzelner Fraktionen schon beim ersten orientierenden Versuch, mindestens 4 verschiedene Glykoside vorhanden sein mussten (Fig. 1, Kurve A). Durch direkte Kristallisation liess sich nur aus der zweiten Fraktion ein neues Glykosid isolieren, nämlich das Scilliphäosid.

Von den übrigen Fraktionen wurden solche mit gleicher oder ähnlicher *Liebermann*'scher Farbreaktion zusammengefasst und in neuen, z. T. höheren Säulen fraktioniert (vgl. Tabellen 6—9). So gelang es dann, 3 weitere neue Glykoside kristallisiert zu erhalten, nämlich das Scilliglaucosid⁵⁾, Scillicyanosid und das Glucoscliliphäosid.

Nach den ersten aussichtsreich verlaufenen Versuchen haben wir dann auch ein Gesamtglykosidpräparat der weissen Meerzwiebel, das neben dem wasserlöslichen Glykosidanteil auch noch Scillaren A enthielt, in der Säule geprüft. Mit einer 4 m hohen Säule konnte erreicht werden, dass aus einzelnen Fraktionen das Scillaren A und das Scilliglaucosid direkt kristallisiert werden konnten (vgl. Tab. 10, S. 1447).

¹⁾ Linters bestehen aus besonders kurzfasriger Baumwolle, die bei der Baumwollverarbeitung als Nebenprodukt abfällt. Sie wurden durch Auswaschen mit Essigester, Methanol und Wasser gereinigt.

²⁾ A. H. Gordon, A. Z. P. Martin & R. L. M. Synge, *Biochem. J.* **7**, 37, *Proc. XIII* (1943).

³⁾ H. K. Mitchell & F. A. Haskins, *Nature* **110**, 278 (1949).

⁴⁾ A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, *Helv.* **16**, 703 (1933).

⁵⁾ Dieses Glykosid haben wir später auch aus Fraktionen der roten Meerzwiebel isolieren können. Es wurde in der Arbeit von A. Stoll & J. Renz, *Helv.* **25**, 43 (1942), unter der Laboratoriumsbezeichnung „Scillaren F“ erwähnt.

Die weitere Aufteilung einzelner, durch besondere Farbreaktionen gekennzeichnete Fraktionen lieferte ein weiteres Glykosid, das Glucosillaren A (vgl. Tab. 11) in kristallisierbarem Zustand.

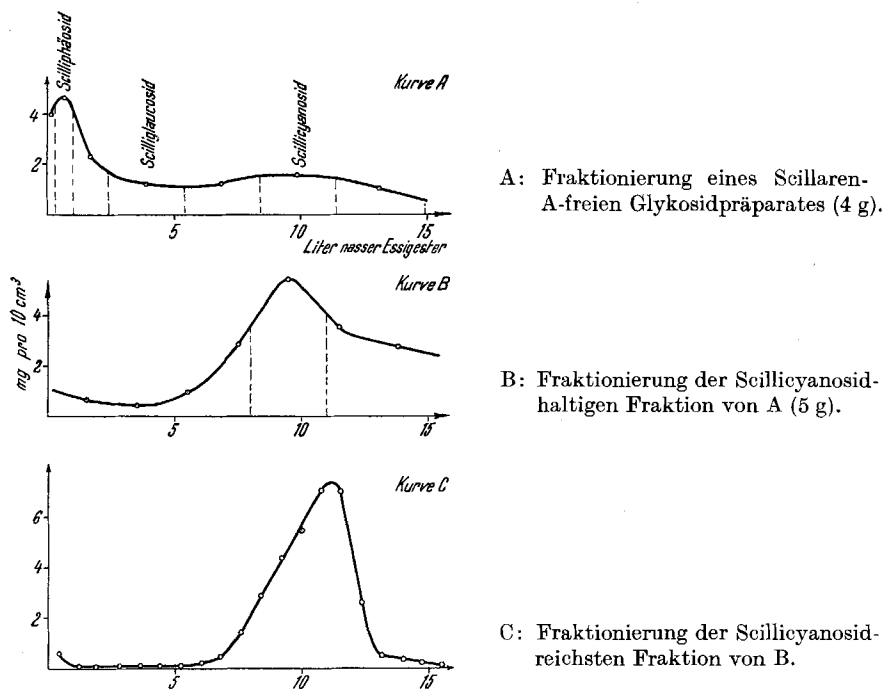


Fig. 1.

Stufenweise Anreicherung von Scillicyanosid.

In den beiden obenstehenden Kurvenbildern B und C der Figur 1 ist speziell die Anreicherung von Scillicyanosid dargestellt. Man sieht daraus, wie sich durch sukzessives Weiterfraktionieren der Scillicyanosid-reichsten Fraktionen ein immer deutlicheres Konzentrationsmaximum herausbildet.

3. Fraktionierungen in der Diatomitsäule.

Nachdem sich Baumwoll-Linters als Träger für die wässrige Phase bei der Verteilungschromatographie als brauchbar erwiesen hatten, prüften wir auch noch andere Materialien auf ihre Eignung für diese Versuche, vor allem mineralische Stoffe mit grosser Porosität, die, wenn immer möglich, in der wasseraufsaugenden Fähigkeit die Linters übertreffen und auch auf Grund einer kompakteren Struktur bequemer zu handhaben wären. Diesen Anforderungen entspricht der sog. Diatomitstein, der aus Kieselgur durch Beimischen von Lehm und Brennen in ein hochporöses Material übergeführt und in Form von Pulver oder als Backstein besonders zur Wärmeisolierung technisch verwendet wird.

Bei den Versuchen mit der Linters-Säule ist es notwendig, für grössere Ansätze mehrere einzelne nicht zu hohe Säulen übereinander zu montieren, weil in höheren Säulen die unteren Partien des Füllmaterials zu stark zusammengepresst würden. Das solidere Material der Diatomitsäulen gestattet die Anwendung beliebig hoher Schichten, so dass wir für grössere Versuche Röhren aus rostfreiem Stahl oder aus Aluminium bis zu 4 und 6 m Länge verwenden konnten.

Die Fraktionierung eines Glykosidgemisches natürlicher Zusammensetzung in einer Diatomitsäule, die mit nassem Essigester entwickelt wurde, ergab die Aufteilung wie sie in folgendem Diagramm (Fig. 2 und Tab. 12, S. 1450) zum Ausdruck kommt.

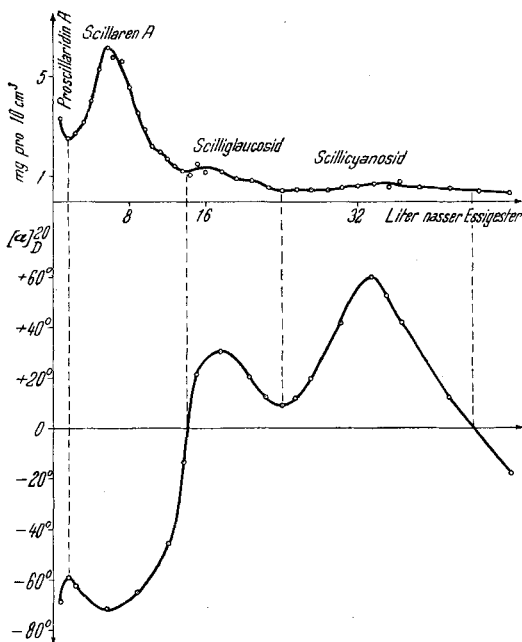


Fig. 2.

Fraktionierung eines Gesamtglykosidpräparates (10 g) aus der weissen Meerzwiebel (aus der Diatomitsäule relativ leicht eluierbare Anteile).

Die obere Kurve gibt den Verlauf der Konzentrationen der einzelnen Fraktionen, d. h. mg pro 10 cm³ Eluat wieder. Die darunter liegende Kurve zeigt die Änderung der spez. Drehwerte bei fortschreitender Elution an.

Das obere Kurvenbild weist 4 Maxima auf; jedes ist durch eine charakteristische Liebermann'sche Farbreaktion ausgezeichnet. Den Maxima der Konzentrationen sind auch Maxima der Drehwerte zugeordnet. Die Fraktionen der 3 ersten Maxima sind kristallisierbar, es handelt sich der Reihe nach um die Glykoside Proscillaridin A,

Seillaren A und Seilliglaucosid. In den Fraktionen des langgezogenen 4. Maximums ist ein Glykosid mit einer charakteristischen tiefblauen Farbreaktion zu erkennen, das durch erneute Aufteilung der Spitzenfraktionen so rein wurde, dass es kristallisiert werden konnte. Wir bezeichnen das neue Glykosid mit Scillicyanosid.

Schon die *Liebermann*'schen Farbreaktionen der einzelnen Fraktionen der in Figur 2 dargestellten Trennung zeigen an, dass zwischen den Maxima noch kleinere Mengen anderer als der genannten Glykoside eluiert und angereichert worden sind. Besonders deutlich zeigte sich dies bei den Fraktionen zwischen dem ersten und zweiten Maximum. Durch eine nochmalige Aufteilung in einer zweiten Säule gelang es dann auch, aus diesen Fraktionen das Scilliphäosid in kristallisiertem Zustand zu isolieren.

Bei dem in Figur 2 dargestellten Versuch konnten mit wassergesättigtem Essigester von der eingesetzten Menge des Gesamtglykosidpräparates etwa $\frac{2}{3}$ aus der Säule eluiert werden. Der nicht eluierte Rest des Glykosidgemisches konnte indessen in einer Diatomitsäule mit Hilfe von nassem Essigester, dem nur geringe Mengen eines Alkohols zugesetzt wurden, aufgeteilt werden. Der Verlauf eines solchen Versuchs mit Butanol-haltigem Essigester ist in Figur 3 (vgl. Tab. 14, S. 1451) dargestellt.

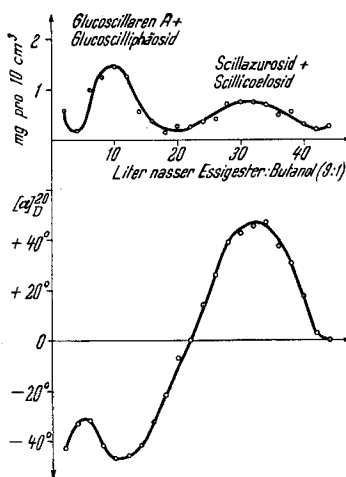


Fig. 3.

Fraktionierung eines mit nassem Essigester schwer eluierbaren Anteils eines Glykosidpräparates (3,3 g) mit Essigester-Butanol.

Die Konzentrationskurve zeigt 2 deutliche Maxima, mit denen die in der unteren Kurve dargestellten Extreme der Drehwerte korrespondieren; eine Trennung in zwei Gruppen ist damit vollzogen. Bei Kristallisationsversuchen konnten nur aus 2 negativ drehenden Fraktionen des ersten Maximums etwas Kristalle erhalten werden. Die

nähere Untersuchung einer grösseren Menge dieser Kristalle, die von mehreren Versuchen gesammelt wurden, ergab, dass in ihnen ein Gemisch zweier Glykoside, Glucoscillaren A und Glucoscilliphäosid, vorliegt.

Die zum zweiten Maximum gehörenden Fraktionen, die alle durch einen positiven Drehwert ausgezeichnet sind, wurden nochmals in einer Säule chromatographiert, wobei als Eluierungsmittel Methanol-haltiger Essigester verwendet wurde. Das Ergebnis ist in Figur 4 (vgl. auch Tab. 15, S. 1452) wiedergegeben.

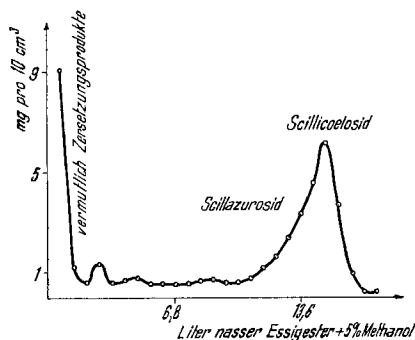


Fig. 4.

Fraktionierung eines an Scillazurosid und Scillicoelosid angereicherten Präparates (4,22 g).

Bei dieser erneuten Fraktionierung trat nur ein einziges Konzentrationsmaximum auf; dagegen liess die Beobachtung eines Intensitätsunterschiedes bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion vermuten, dass noch ein Gemisch vorlag. Von den Fraktionen des Maximums konnten beim Anreiben mit Methylalkohol Kristalle erhalten werden. Um von diesen eine grössere Menge für die weitere Reinigung zu erhalten, musste eine Anzahl von Säulenversuchen (entsprechend der Versuchsreihe der Fig. 2 — Fig. 3 — Fig. 4) ausgeführt werden. Durch fraktionierte Kristallisation und weitere Trennungen in der Säule gelang es dann, das Präparat in 2 Glykoside aufzuteilen, die sich in ihrer Löslichkeit in Methanol unterschieden, nämlich in Scillazurosid mit einer dunkelblauen *Liebermann*-Reaktion und in Scillicoelosid mit einer himmelblauen Farbreaktion.

Ein weiteres wasserlösliches Glykosid konnte schliesslich noch aus einem Mutterlaugenpräparat der Meerzwiebelaufarbeitung gewonnen werden. Durch mehrfaches Fraktionieren in Säulen, wobei jeweils auch das Eluierungsmittel gewechselt wurde, konnte in den Glucoseilliphäosid-reichen Fraktionen ein undeutlich kristallisiertes Glykosid angereichert werden, das keine *Liebermann*'sche Farbreaktion aufwies. Dieser Umstand erschwerte die Erkennung und Isolierung dieses mit Scillikryptosid bezeichneten Glykosids in besonderem Masse. — —

Mit diesen Ausführungen ist die Isolierung von 10 herzwirksamen Glykosiden aus dem komplizierten Glykosidgemisch der weissen Meerzwiebel skizziert worden. Die eingehendere Beschreibung der Arbeitsweise findet sich im experimentellen Teil. Die Prüfung mit der *Liebermann*'schen Farbreaktion scheint anzudeuten, dass in Mutterlaugen und Zwischenfraktionen unserer Säulenversuche noch Glykoside enthalten sind, die bisher noch nicht so rein gefasst werden konnten, dass sie kristallisierbar wurden, was mit weiterem, allerdings erheblichem Arbeitsaufwand wahrscheinlich zu erreichen wäre. Die grosse Mannigfaltigkeit, mit der die weisse Meerzwiebel stark herzwirksame Glykoside produziert, geht aber schon aus den heute vorliegenden Ergebnissen hervor.

Von den bis jetzt isolierten Glykosiden überwiegt in der Droge mengenmässig stark das Scillaren A; die Ausbeuten an den anderen reinen Glykosiden sind gering, meist unter 2% des Gesamtglykosidpräparates. Natürlich ist zu berücksichtigen, dass bei den langwierigen Fraktionierungen, bei denen meistens nur Spitzenfraktionen weiterverarbeitet werden, die Substanzverluste ganz erheblich sind.

Wie wir bei der näheren Untersuchung der Glykoside feststellen konnten, handelt es sich bei ihnen z. T. um recht empfindliche Substanzen, die auch in ihrem Aglykonteil leicht Veränderungen erleiden können. Obwohl die Verteilungschromatographie eine schonende Methode ist, so besteht immerhin die Gefahr, dass durch die wiederholten Säulenpassagen und durch das Eindampfen der Fraktionen zur Trockne, auch wenn dieses im Vakuum geschieht, Verluste entstehen.

4. Eigenschaften der neuen Glykoside.

Die detaillierte Beschreibung der Glykoside erfolgt im experimentellen Teil. In einigen Tabellen stellen wir im folgenden die wichtigsten Eigenschaften der Meerzwiebelglykoside einander gegenüber, wobei wir im Interesse der Übersichtlichkeit die schon länger bekannten Glykoside Proscillaridin A und Scillaren A miteinbeziehen.

Wie erwähnt, ist die *Liebermann*'sche Farbreaktion für die Scillaglykoside besonders charakteristisch; sie hat denn auch bei der Bezeichnung der neuen Glykoside den Ausschlag gegeben. In der folgenden Tabelle 1, in der die *Liebermann*'schen Farbreaktionen zusammengestellt sind, wird nur die flüchtige Anfangsfarbe und die beständigere Hauptfarbe festgehalten.

Die Farbübergänge sind schwer in Worten festzuhalten, da die Zwischenfarben rasch ändern. Für einige Glykoside ist eine flüchtige rosarote Anfangsfarbe charakteristisch. Die Hauptfarbe bleibt nach etwa 5 Minuten für längere Zeit bestehen.

Farbreaktionen, wie die *Legal*- und die *Baljet*-Reaktion, die für den fünfgliedrigen Lactonring z. B. der Digitalis- und Strophanthus-Glykoside charakteristisch sind, verlaufen mit Meerzwiebelglykosiden

negativ. Schon diese Beobachtung macht es wahrscheinlich, dass alle in dieser Arbeit beschriebenen Glykoside den doppelt ungesättigten, sechsgliedrigen Lactonring, wie er im Scillaren A vorliegt, enthalten.

Tabelle 1.

Liebermann'sche Farbreaktionen der Glykoside der weissen Meerzwiebel.

Glykosid	flüchtige Anfangsfarbe	beständigere Hauptfarbe
Proscillaridin A	rosa	grün
Scillaren A	rosa	grün
Glucoscellaren A	rosa	grün
Scilliphäosid.	rosa	kupferrot
Glucoscelliphäosid	rosa	kupferrot
Scillikryptosid	negativ	praktisch negativ (ganz leichter Stich ins Bläuliche)
Scilliglaucosid	rosa	blaugrün
Scillicyanosid	blau	sehr intensiv blau (gegen Lichtquelle violettrot)
Scillicoelosid	hellblau	blau
Scillazurosid.	blau	sehr intensiv blau (gegen Lichtquelle violettrot)

In der folgenden Tabelle 2 sind die Bruttoformeln und Molekulargewichte, die Grösse des Zuckerrestes sowie die ungefähren Ausbeuten an kristallisierten Glykosiden, bezogen auf frische Meerzwiebel zusammengestellt.

Tabelle 2.

Zusammensetzung der Glykoside und ihre Ausbeuten aus der weissen Meerzwiebel.

Glykosid	Formel	Zuckerstufe	Molekulargewicht Ber. Gef. *)		ungefähre Ausbeute aus frischer Meerzwiebel in ‰
Proscillaridin A .	$C_{30}H_{42}O_8$	Monosid	531	527	0,05
Scillaren A . . .	$C_{36}H_{52}O_{13}$	Biosid	673	676	0,6
Glucoscellaren A .	$C_{42}H_{62}O_{18}$	Triosid	855	860	0,05
Scilliphäosid. . .	$C_{30}H_{42}O_9^{**})$	Monosid	547	558	0,025
Glucoscelliphäosid	$C_{36}H_{52}O_{14}^{**})$	Biosid	709	715	0,04
Scillikryptosid .		Biosid (?)		680	0,03
Scilliglaucosid . .	$C_{30}H_{40}O_{10}$	Monosid	561	550	0,07
Scillicyanosid . .	$C_{32}H_{42}O_{12}^{**})^{***})$	Monosid	619	312	0,05
Scillicoelosid . .	$C_{30}H_{40(42)}O_{11}^{**})$	Monosid	577	576	0,025
Scillazurosid. . .	$C_{30}H_{40}O_{11}^{**})$	Monosid	577	584	0,01

*) Auf Grund des Laugenverbrauches bei der alkalischen Titration.

**) Provisorische Formeln.

***) Diese Verbindung enthält einen Acetylrest.

Das Proscillaridin A ist primär meist nur in untergeordneter Menge in der Zwiebel enthalten, es bildet sich indessen leicht durch enzymatischen Abbau aus dem Scillaren A, von dem andererseits im wasserlöslichen Glucoscillaren A noch eine glucosereichere Stufe vorliegt. Ausser diesem konnte noch im Glucoscilliphäosid, einem Biosid, eine zuckerreichere Stufe des Scilliphäosids isoliert werden. Vom Scillikryptosid, das wahrscheinlich ein Biosid ist, abgesehen, sind die übrigen in der Tabelle aufgeführten Glykoside Monoside.

Einige weitere Charakteristika der Meerzwiebelglykoside wie die Schmelzpunkte, Drehwerte und die Toxizität nach *Hatcher*¹⁾ sind in der Tabelle 3 angegeben.

Tabelle 3.

Schmelzpunkte und Drehwerte der Glykoside aus der weissen Meerzwiebel sowie ihre Toxizität nach *Hatcher*.

Glykosid	Smp. (Kofler-Block)*)	$[\alpha]_D^{20}$ in Methanol	Toxizität nach <i>Hatcher</i> mg/kg
Proscillaridin A	215—218°	– 83°	0,157
Scillaren A	230—240°**) 270—273°***)	– 74°	0,145
Glucoscillaren A	228—232°	– 66°	0,172
Scilliphäosid.	249—252°	– 74°	0,087
Glucoscilliphäosid	269—270°	– 68°	0,111
Scillikryptosid	202—205°	– 48°	0,107
Scilliglaucosid	164—166°	+ 106°	0,069
Scillicyanosid	221—222°	+ 104°	0,100
Scillicoelosid	165—167°	+ 97°	0,073
Scillazuroid.	179—182°	+ 131°	0,081

*) Zersetzungspunkte.

**) Aus Methanol-Wasser.

***) Aus 85-proz. Alkohol.

Für die Trennungsoperationen in der Verteilungssäule sind neben den Löslichkeiten besonders die Verteilungszahlen der einzelnen Glykoside massgebend. Wir haben diese Eigenschaften in der folgenden Tabelle 4 zusammengestellt.

Von den reinen Glykosiden lösen sich nur das Glucoscillaren A und das Scillicoelosid relativ gut in Wasser. Die Löslichkeiten der Meerzwiebelglykoside werden aber schon durch Spuren von Begleitstoffen oftmals stark erhöht.

¹⁾ Die Werte, die an der Katze bestimmt wurden und sich auf 1 kg Tier bei intra-venöser Infusion beziehen, verdanken wir Herrn Prof. E. Rothlin, Pharmakol. Labor. der Sandoz AG., Basel.

Tabelle 4.

Löslichkeiten und Verteilungszahlen der Glykoside aus der weissen Meerzwiebel.

Glykoside	Löslichkeit, 1 g Substanz in cm ³			Verteilungszahl zwischen Wasser- Methyläthylketon*)
	Methanol		Wasser	
	ca. 20 ⁰	bei Siedetemp.	ca. 20 ⁰	
Proscillaridin A	120	20	17000	85
Scillaren A	600	120—180	3000	50
Glucoscillaren A	40	7	10**) 1500	16
Scilliphäosid.	50	15	6000	55
Glucoscilliphäosid	30	20***) 100	2000	20
Scillikryptosid	5		700	26
Scilliglaucosid	85	17	300	37
Scillicyanosid	40	7—8	200	27
Scillicoelosid	80	15	20	14
Scillazuroid.	240	150	100	16

*) Bestimmung der Verteilungszahl: 80 mg Substanz wurden zwischen 10 cm³ Methyläthylketon und 7 cm³ Wasser durch Umschütteln bei 25—27° verteilt. Es wurden dann die Gewichte der Eindampfrückstände der beiden Phasen bestimmt. Unter Verteilungszahl wird der in der Butanonschicht gelöste Anteil in % verstanden.

**) Von Glucoscillaren A wurde eine leicht- und eine schwerlösliche Modifikation beobachtet.

***) Es wurde eine leicht- und eine schwerlösliche Modifikation beobachtet.

Experimenteller Teil.

Übersicht.

I. Fraktionierungen in der Baumwoll-Linters-Säule.

1. Die Fraktionierung eines Scillaren A-freien Glykosidpräparates, Isolierung von Scilliphäosid.
2. Isolierung von Scilliglaucosid.
3. Anreicherung von Scillieyanosid.
4. Isolierung von Glucoscilliphäosid.
5. Die Fraktionierung eines Gesamtglykosidpräparates der weissen Meerzwiebel. Isolierung von Glucoscillaren A.

II. Fraktionierungen in der Diatomitstein-Säule.

1. Die Fraktionierung eines Gesamtglykosidpräparates. Isolierung von Proscillaridin A, Scillaren A und Scilliglaucosid.
2. Isolierung von Scillieyanosid.
3. Isolierung von Scillicoelosid und Scillazurosid.
4. Isolierung von Scillikryptosid.

III. Charakterisierung der neuen Glykoside.

- | | |
|------------------------|---------------------|
| 1. Glucoscillaren A. | 5. Scillieyanosid. |
| 2. Scilliphäosid. | 6. Scillicoelosid. |
| 3. Glucoscilliphäosid. | 7. Scillazurosid. |
| 4. Scilliglaucosid. | 8. Scillikryptosid. |

I. Fraktionierungen in der Baumwoll-Linters-Säule.

1. Die Fraktionierung eines Scillaren A-freien Glykosidpräparates. Isolierung von Scilliphäosid. Für diese Versuche wurde ein Glykosidpräparat aus der weissen Meerzwiebel verwendet, aus welchem das schwerlösliche Scillaren A schon bereits vor der Bleibehandlung abgetrennt war¹). Um 4 g eines solchen in Wasser leicht löslichen Präparates zu fraktionieren, wurde das folgende Säulensystem aufgebaut: 3 am untern Ende verjüngte Glasröhren von 5 cm innerem Durchmesser und je 50 cm Länge wurden übereinander montiert. In jede Säule wurden unter gelindem, möglichst gleichmässigem Stopfen je 120 g mit 120 cm³ Wasser gleichmässig befeuchtete Baumwoll-Linters eingefüllt, so dass das ganze Aggregat 360 cm³ von Linters aufgesogenes Wasser enthielt.

4 g des oben erwähnten Glykosidpräparates (aus 10 bis 15 kg frischen Meerzwiebeln) wurden mit 20 cm³ Wasser und 20 cm³ Essigester bis zur völligen Lösung geschüttelt. Der grösste Teil der Substanz befand sich in der wässrigen Schicht. Diese wurde zuerst auf die Säule gegeben, darauf die Essigesterlösung. Nachdem diese Lösung in die Säule eingesickert war, wurde mit 15 Liter mit Wasser gesättigtem Essigester nachgewaschen. Der Zufluss des Eluierungsmittels wurde so reguliert, dass in den einzelnen Röhren kein Flüssigkeitsspiegel von überstehendem Essigester entstand.

Der Ablauf wurde in Fraktionen aufgefangen, wie aus der folgenden Tabelle 5 hervorgeht. Dann wurden die 3 Säulenglieder einzeln mit je 2 Liter Methanol extrahiert, was weitere Glykosidfraktionen lieferte. Sämtliche Fraktionen wurden im Vakuum eingedampft und der Eindampfrückstand gewogen.

Tabelle 5.

Aufteilung eines Scillaren A-freien Glykosidpräparates mit der Baumwoll-Linterssäule (vgl. Fig. 1, Kurve A).

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	cm ³	Eindampfrückstand	
			g	Liebermann-Reaktion
1	nasser Essigester	300	0,12	rosa-rötlichgrau-oliv (Scilliphäosid)
2	„ „	700	0,33	
3	„ „	1400	0,33	
4	„ „	3000	0,38	rosa-blaugrün (Scilliglaucosid)
5	„ „	3000	0,37	tiefblau (Scillicyanosid)
6	„ „	3000	0,46	
7	„ „	3500	0,37	
untere Säule 8	Methanol		0,26	{ rosa-blau (Glucoscelliphäosid und Scillicoelosid)
mittl. „ 9	„		0,81	
obere „ 10	„		0,56	

Wie die Tabelle 5 zeigt, unterscheiden sich die einzelnen so erhaltenen Fraktionen in der Liebermann'schen Farbreaktion bereits recht deutlich voneinander. Um für eine weitergehende Aufteilung grössere Mengen der einzelnen Fraktionen zur Verfügung zu haben, wurden 12 solcher Versuche durchgeführt und die entsprechenden Fraktionen vereinigt.

Die Sammelfraktion Nr. 2 (3,9 g) wurde in der 30fachen Menge Methanol-Wasser (1 : 2) aufgenommen. Nach 24 Stunden konnte eine erste Ausscheidung von 0,72 g Kristallen, und nach weiterem Stehen eine solche von 0,28 g abfiltriert werden. Die beiden Fraktionen wurden vereinigt, in 35 cm³ Methanol gelöst, und die klar filtrierte Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, wobei eine Opaleszenz auftrat, die nach Zugabe von etwas Kohle und Filtrieren durch eine dünne Talkschiicht entfernt werden konnte.

¹) A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, Helv. 16, 703 (1933).

Nach nochmaliger Zugabe von 35 cm³ Wasser begannen sich jetzt aus der klaren Lösung allmählich feine, rautenförmige Blättchen auszuscheiden (0,43 g). Die nähere Charakterisierung des neuen Glykosids, Scilliphäosid, erfolgt im Abschnitt III (S. 1455).

2. Isolierung von Scilliglaucosid. Die Sammelfraktion 4 (4,3 g) aus 12 Versuchen, wie einer in Tabelle 5 dargestellt ist, wurde in einer doppelt so hohen Linterssäule nochmals chromatographiert. Die Anlage bestand demnach aus 6 einzelnen Säulen, die so wie oben beschrieben gefüllt waren. Das mit Wasser und Essigester gelöste und auf die Säule gebrachte Glykosidpräparat wurde mit ca. 12 Liter nassem Essigester ausgewaschen, wobei die in Tabelle 6 dargestellte Verteilung erfolgte.

Tabelle 6.
Fraktionierung der Scilliglaucosid-haltigen Sammelfraktion.

Fraktion Nr.	cm ³ nasser Essigester	Eindampfrückstand	
		g	Bemerkungen
1	800	0,207	<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="font-size: 3em; margin-right: 10px;">}</div> <div> kristallisiert aus Methanol; <i>Liebermann</i>: rosa-blaugrün = Scilliglaucosid </div> </div>
2	„	0,054	
3	„	0,086	
4	„	0,133	
5	„	0,171	
6	„	0,223	
7	„	0,367	
8	„	0,709	
9	„	0,796	
10	„	0,324	
11	„	0,267	
12	„	0,263	
13	„	0,132	
14	„	0,054	
15	„	0,028	

15 cm³ Methanol lösten die Eindampfrückstände von Nr. 8 und 9 (zusammen 1,5 g) klar auf, schieden aber das neue Glykosid Scilliglaucosid bald in feinen Nadeln (0,92 g) wieder ab. Eine kleinere Menge konnte noch aus den Nachbarfraktionen 7 und 10 erhalten werden. Die Beschreibung von Scilliglaucosid erfolgt in Abschnitt III (S. 1456).

3. Anreicherung von Scillicyanosid. Bei der in der Tabelle 5 dargestellten Fraktionierung fiel besonders die tiefblaue *Liebermann*-Reaktion der Fraktion 6 auf. Sie war spielend löslich in Wasser und Alkoholen; Kristalle schieden sich aber daraus nicht ab, so dass die Fraktionierung fortgesetzt werden musste.

Es wurden die Sammelfraktionen 5, 6 und 7 (Tabelle 5) in zwei Ansätzen von je 5 g Substanz in gleicher Art nochmals verteilt. Das Ergebnis eines solchen Versuches ist in der folgenden Tabelle 7 (vgl. Fig. 1, Kurve B) zusammengestellt.

Die Hauptfraktion Nr. 5 zeigte eine intensive tiefblaue Farbreaktion, kristallisierte aber noch nicht und wurde daher ein weiteres Mal in der gleichen Apparatur, bestehend aus 3 Einzelsäulen, fraktioniert (Tab. 8; vgl. auch Fig. 1, Kurve C).

Dem Maximum der Konzentration (Nr. 11—14) entsprach nicht nur ein Maximum an Intensität der Blaufärbung bei der *Liebermann*-Reaktion, sondern auch ein Maximum der spez. optischen Drehung (50—60°, in Methanol). Die Fraktionen 11—14 kristallisierten aber immer noch nicht. Erst als es gelang, mit den im folgenden Abschnitt beschriebenen Säulen aus Diatomit scillicyanosidhaltige Fraktionen mit einem Drehwert von +85° zu erhalten, gelang aus wässriger Lösung eine Kristallisation dieses Glykosids. Beim Umkristallisieren aus Wasser stieg der spez. Drehwert auf +103° an.

Tabelle 7.

Anreicherung von Scillicyanosid durch erneute Verteilung der Fraktionen 5, 6 und 7 von Tabelle 5.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	cm ³	Eindampfrückstand	
			g	Liebermann-Reaktion
1	nasser Essigester	3000	0,215	
2	„ „	1000	0,045	
3	„ „	3000	0,28	abnehmend
4	„ „	1000	0,285	↑
5	„ „	3000	1,615	intensivste Blaufärbung
6	„ „	1000	0,35	↓
7	„ „	3600	1,0	abnehmend

Tabelle 8.

Anreicherung von Scillicyanosid.

Fraktion Nr.	cm ³ nasser Essigester	Eindampfrückstand		
		g	$[\alpha]_D^{20}$	Liebermann-Reaktion
1	800	0,051		
2	„	0,010		
3	„	0,008		
4	„	0,008		
5	„	0,008		
6	„	0,012		
7	„	0,020		abnehmend
8	„	0,041		
9	„	0,116		
10	„	0,231		
11	„	0,351		
12	„	0,442		
13	„	0,567	} 50—60°	
14	„	0,564		
15	„	0,212		
16	„	0,042		
17	„	0,031		
18	„	0,022		
19	„	0,013		
20	„	0,005		

Die Beschreibung dieses empfindlichen Glykosids, des Scillicyanosids, erfolgt im Abschnitt III (S. 1456).

4. Isolierung von Glucoscilliphäosid. Auf Grund der Farbreaktion der Fraktion 9 (mittleres Säulenglied) des in Tabelle 5 dargestellten Versuches konnte auf das Vorhandensein eines weiteren neuen Glykosids geschlossen werden. Da diese Substanz mit nassem Essigester allein nicht mehr aus der Säule herausgelöst wurde, musste diesem Lösungsmittel etwas Alkohol zugesetzt werden.

Der Versuch wurde in einer 6teiligen Säulenapparatur, analog dem in Tabelle 6 dargestellten Versuch, vorgenommen. Die Baumwoll-Linters wurden mit einer Mischung von Wasser und Alkohol (2 : 1) benetzt (pro Säulenglied 120 g Linters + 120 cm³ Gemisch). 4 g der Sammelfraktion 9 wurden in einem Gemisch von 20 cm³ Wasser, 10 cm³ Alkohol und 30 cm³ Essigester gelöst und auf die Säule gegeben. Der zur Elution verwendete Essigester wurde mit Wasser-Alkohol (2 : 1) geschüttelt. Das Ergebnis der Fraktionierung ist in Tabelle 9 zusammengestellt, wobei 2 Konzentrationsmaxima hervortreten.

Tabelle 9.

Fraktionierung eines an Glucoscilliphäosid angereicherten Präparates.

Fraktion Nr.	cm ³ nasser, etwas alkoholhaltiger Essigester	Eindampfrückstand	
		g	Liebermann-Reaktion
1	400	0,092	
2	„	0,096	
3	„	0,051	
4	„	0,025	
5	800	0,099	
6	„	0,264	} rosa-kupferrot
7	„	0,309	
8	„	0,170	
9	„	0,225	
10	„	0,627	} schwach rosa-blau
11	„	0,646	
12	„	0,210	
13	„	0,045	
14	„	0,028	
15	„	0,017	

Die *Liebermann*-Reaktionen der Spitzenfraktionen 6 und 7 sprechen für das Vorhandensein eines mit Scilliphäosid verwandten Glykosids, während die Fraktionen 10 und 11 des zweiten Maximums eine blaue Färbung geben, deren Intensität jedoch nur einen Bruchteil der mit Scillicyanosid erhaltenen betrug. Da aber sowohl Scilliphäosid wie Scillicyanosid in dem Ausgangssammelpreparat (Tab. 5, Fraktion 9) nicht enthalten sein konnten, weil diese Glykoside, wie Tabelle 5 zeigt, in den vorhergehenden Fraktionen aufgetreten waren, so musste es sich hier um andere Glykoside handeln.

Die beiden Spitzenfraktionen 6 und 7 des ersten Maximums wurden in der 10fachen Menge Wasser gelöst, wobei sich allmählich eine körnig-flockige Substanz ausschied (0,22 g). Sie wurde in der 30fachen Menge Methanol gelöst, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, mit etwas Tierkohle behandelt und nochmals mit gleich viel Wasser verdünnt. Nach mehrtägigem Stehen schieden sich daraus Kristalle ab (0,06 g), die aus Methanol-Wasser (1 : 2) umkristallisiert werden konnten. Es entstanden jetzt schön ausgebildete rautenförmige und sechseckige Plättchen. Dieses neue Glykosid, das Glucoscilliphäosid, wird im Abschnitt III beschrieben (S. 1455).

Versuche, die Spitzenfraktionen 10 und 11 des zweiten Maximums zur Kristallisation zu bringen, verliefen ergebnislos. Die Präparate waren sowohl in Wasser wie in Alkoholen leicht löslich. Wie im nächsten Abschnitt gezeigt wird, erweist sich das in diesen Fraktionen enthaltene Glykosid auf Grund seiner Farbreaktion und seiner Verteilung als identisch mit Scillicoeosid. Seine Kristallisation gelang erst nach der Verteilung in der Diatomitsäule.

5. Die Fraktionierung eines Gesamtglykosidpräparates der weissen Meerzwiebel. Isolierung von Glucoscillaren A. Für den folgenden Versuch wurde

Tabelle 10.

Fraktionierung eines Gesamtglykosidpräparates (75 g) der weissen Meerzwiebel.

Fraktion Nr.	Liter nasser Essigester	Eindampfdruckstand	
		g	Bemerkungen
1	4	3,48	<i>Liebermann</i> : rosa-grün kristallisiert beim Anreiben mit 96-proz. Methanol <i>Liebermann</i> : rosa-grün = Scillaren A
2	4	2,69	
3	4	2,55	
4	4	2,40	
5	4	2,54	
6	4	2,64	
7	4	2,80	
8	4	2,82	
9	4	2,77	
10	5,4	3,74	
11	4	2,85	kristallisiert beim Anreiben mit Methanol <i>Liebermann</i> : rosa-blaugrün = Scilliglucosid abnehmend ↑ nicht krist. <i>Liebermann</i> : tiefblau = Scillicyanosid-Fraktion ↓ abnehmend
12	4	1,99	
13	4	1,43	
14	4	0,94	
15	4	0,76	
15	4	0,64	
17	4	0,54	
18—19	8	0,98	
20—21	8	0,86	
22—23	8	0,77	
24—25	8	0,83	<i>Liebermann</i> : schwach lila-blau <i>Liebermann</i> : fast negativ <i>Liebermann</i> : lila-blau übergehend in <i>Liebermann</i> : rosa-grün = Glucoscillaren-A-Fraktion
26—28	12,5	1,35	
29—31	12	1,45	
32—34	12	1,19	
35—37	12	1,06	
38—40	12	1,06	
41—43	12	0,79	
44—46	12	0,68	
47—49	12	0,72	
50—52	12	0,71	
53—55	12	0,64	
56—58	12	0,66	
59—61	12	0,41	
62		2,20	
unterste			
63	mit 80-proz. Alkohol extrahiert	1,83	
64		1,98	
65		1,40	
66		1,09	
67		2,06	
68		2,41	
69		13,31	
oberste Säule			

ein Gesamtglykosidpräparat verwendet, aus dem das schwerlösliche Scillaren A nicht vorher abgetrennt worden war. Um schon in einem Gang einen grösseren Trennungsversuch ausführen zu können, wurden 8 grössere Glassäulen aufeinandergetürmt. Jede dieser Säulen hatte einen innern Durchmesser von 15 cm und eine Höhe von 50 cm. Die einzelnen Säulenglieder wurden mit einem Aluminiumring, der mit einem Drahtnetz versehen war, verbunden. Auf diesem ruhte das Gewicht der mit Wasser benetzten Baumwoll-Linters der einzelnen Säulenetagen, so dass die unteren Partien des Säuleninhalts nicht durch das Gesamtgewicht zusammengepresst wurden. Jeder Glaszylinder wurde zuunterst mit 200 g trockenen Baumwoll-Linters beschickt, darüber wurden 800 g Linters, die mit 800 cm³ Wasser befeuchtet waren, geschichtet.

In dieser Säulenordnung wurden 75 g eines gereinigten Präparates der weissen Meerzwiebel, das die Gesamtheit der Glykoside der Droge enthielt und das aus ca. 100 kg frischen Meerzwiebeln hergestellt war, fraktioniert. Man löste das Präparat durch Schütteln mit einem Gemisch von 400 cm³ Wasser und 4 Liter Essigester und tropfte sowohl die wässrige Lösung wie die Essigesterschicht gleichmässig auf die Säule. Die Fraktionierung wurde mit im ganzen 250 Liter Essigester durchgeführt; die Aufteilung ist in Tabelle 10 wiedergegeben.

Die Fraktionen 4 bis 12 kristallisierten ohne weiteres aus 96-proz. Methanol und konnten mit Scillaren A identifiziert werden. Aus den Fraktionen 14 bis 23 wurde durch Anreiben mit wenig Methanol und Animpfen das Scilliglaucosid erhalten. Die *Liebermann*-Reaktion der Fraktionen 32 bis 40 sprach für Scillicyanosid; es konnte aber, wie nach früheren Erfahrungen zu erwarten war, nicht kristallisiert werden. Die gesamte mit Essigester aus der Linterssäule herausgewaschene Substanzmenge betrug ca. 49 g. Um die noch fehlenden 26 g, die in dem von den Linters aufgesogenen Wasser zurückgehalten wurden, zu gewinnen, wurden die einzelnen Säulenglieder mit 80-proz. Alkohol extrahiert (Fraktionen Nr. 62—69). Der Farbwechsel der *Liebermann*-Reaktion der Fraktionen 68 und 69 hatte Ähnlichkeit mit demjenigen von Scillaren A bei allerdings geringerer Intensität. Für eine weitere Aufteilung wurden Nr. 68 und 69 vereinigt und 8 g dieses Prä-

Tabelle 11.

Fraktionierung eines mit Glucosillaren A angereicherten Präparates.

Fraktion Nr.	cm ³ alkoholhaltiger Essigester	Eindampfrückstand	
		g	Bemerkungen
1	400	0,052	kristallisiert beim Anreiben mit abs. Alkohol <i>Liebermann</i> : flüchtig rosa-grün = Glucosillaren A rosa-grün
2	„	0,062	
3	„	0,084	
4	„	0,141	
5	„	0,278	
6	„	0,484	
7	„	0,497	
8	„	0,573	
9	„	0,448	
10	„	0,357	
11	„	0,337	<i>Liebermann</i> : lila-blau
12	„	0,294	
13	„	0,294	
14	„	0,246	
15	„	0,194	
16	„	0,135	
17	„	0,094	
18	„	0,092	lila-grünlichblau lila-grünblau

parates in einer gleichen Säulenordnung erneut fraktioniert. Die Substanz wurde in 40 cm³ wässrigem Alkohol gelöst und auf die Säule gebracht. Um die Glykoside diesmal aus den Säulen herauszuwaschen, wurde dem Eluierungsmittel Alkohol zugesetzt; es wurden 20 Volumteile Essigester mit 5 Vol. Wasser und 4 Vol. 92-proz. Alkohol durchgeschüttelt. Auch die Linters in dieser Säule waren mit dem so erhaltenen, mit Essigester gesättigten Alkohol-Wasser-Gemisch angefeuchtet. Die Säule wurde nun mit 72 Liter des alkoholhaltigen Essigesters eluiert; die Verteilung der Substanz ist in Tabelle 11 wiedergegeben.

Die Fraktionen 6 bis 9 gehören einem deutlichen Maximum an. Beim Anreiben mit abs. Alkohol schieden sich Kristalle eines neuen Glykosids ab, nämlich von Glucosillaren A, das im Abschnitt III beschrieben wird (S. 1454).

II. Fraktionierungen mit der Diatomitsäule.

1. Die Fraktionierung eines Glykosidgesamtpräparates. Isolierung von Proscillaridin A, Scillaren A und Scilliglaukosid. Der Diatomitstein, der sowohl in gekörntem Zustand, als auch in Form von Backsteinen erhältlich ist, wurde gemahlen und, um ein Material von bestimmter Korngrösse zu erhalten, durch ein Sieb mit der lichten Maschenweite von 0,5–0,6 mm passiert. Spezifisch leichte und weiche Sorten von Diatomitstein eignen sich besser als schwerere und härtere. Weiche Sorten besitzen aber den Nachteil, dass sie beim Arbeiten leicht Schlamm absetzen, der durch seine verstopfende Wirkung den Gang der Versuche beeinträchtigt. Das gemahlene und gesiebte Material wurde gründlich mit Wasser und Methanol ausgewaschen und bei Zimmertemperatur getrocknet. Gutes Material liess sich durch Auswaschen regenerieren und für neue Versuche wieder verwenden.

Um die Einfachheit und Stabilität der Versuchsanordnung zu erhöhen, wurden an Stelle der übereinandergestellten Glaszylinder Röhren aus rostfreiem Stahl oder aus Aluminium von 4 m Länge und 5,6 cm lichter Weite verwendet. So ein Rohr wurde mit 5 kg Diatomitsand, der mit 1250 cm³ Wasser befeuchtet war, beschickt. Dieses Material hat noch trocken-sandige Beschaffenheit und lässt sich ohne Schwierigkeit gleichmässig in die Säule einfüllen.

Die zu untersuchende Substanz wurde in den meisten Fällen in fein pulverisiertem Zustand mit etwas Diatomitsand gleichmässig vermischt, befeuchtet und dann auf die Säule gegeben. So wurden z. B. 10 g des Gesamtglykosidpräparates mit 400 g Diatomitsand vermischt und dieser durch langsames Hinzufügen von 100 cm³ Wasser gleichmässig angefeuchtet. Die Säule wurde mit 45 Liter wassergesättigtem Essigester entwickelt. Über den Verlauf der Fraktionierung orientiert die nachfolgende Tabelle 12.

Aus der Fraktion 1 kristallisierte beim Anreiben mit Methanol Proscillaridin A und aus den Fraktionen 4 bis 17 beim Behandeln mit 96-proz. Methanol das Scillaren A. Die Fraktionen 19 bis 24 lieferten beim Anreiben mit Methanol und Animpfen das Scilliglaukosid.

Die Anfangsfraktionen 2 bis 4 enthielten in kleiner Menge Scilliphäosid, das an der Farbreaktion erkannt, aber direkt nicht durch Kristallisation gewonnen werden konnte. Erst nach nochmaliger Fraktionierung in einer Diatomitsäule, wobei das Eluat in kleineren Portionen aufgefangen wurde, gelang es, kristallisiertes Scilliphäosid zu erhalten.

2. Isolierung von Scillicyanosid. Aus einem Sammelpräparat (3,0 g), das neben Scillicyanosid auch noch Scilliglaukosid enthielt, konnte in einer 4 m hohen Säule das Scillicyanosid ziemlich scharf abgetrennt werden (Tab. 13).

Die Fraktion mit dem höchsten Drehwert (Nr. 19) kristallisierte beim Anreiben mit Wasser. Mit Impfkristallen gelang es dann auch noch, aus Nr. 17, 18 und 20 kristallisierte Anteile zu gewinnen. Wie schon oben (S. 1444) bemerkt, ermöglichten diese Impfkristalle auch die Kristallisation von Fraktionen aus den Versuchen mit der Lintersäule. Das neue Glykosid, Scillicyanosid, wird im Abschnitt III beschrieben (S. 1456).

Tabelle 12.

Fraktionierung eines Gesamtglykosidpräparates in der Diatomitsäule.

Fraktion Nr.	cm ³ nasser Essigester	Eindampfrückstand		
		g	$[\alpha]_D^{20}$ in Methanol	Bemerkungen
1	800	0,26	- 69,1°	kristallisiert, <i>Liebermann</i> : rosa- intensiv grün, = Proscillaridin A
2	„	0,20	- 60,4	<i>Liebermann</i> : rosa-Andeutung von kupferrot-grauoliv Scilliphäosid-haltige Fraktion
3	„	0,22	- 63,6	
4	„	0,25		
5	„	0,32		
6	„	0,42		- 71,9
7	„	0,49		
8	„	0,46		
9	„	0,45		
10	„	0,36		kristallisiert beim Anreiben mit 96-proz. Methanol
11	„	0,29	- 65,4	<i>Liebermann</i> : flüchtig rosa-grün = Scillaren A
12	„	0,23		
13	„	0,18		
14	„	0,16		
15	„	0,14	- 47,0	
16	„	0,11		
17	„	0,10	- 14,5	
18	„	0,08		
19	„	0,12	+ 21,2	kristallisiert beim Anreiben mit Methanol <i>Liebermann</i> : flüchtig rosa-blaugrün = Scilliglaukosid
20	„	0,10		
21	1600	0,19	+ 30,0	
22	„	0,15		
23	„	0,14	+ 19,8	
24	„	0,10	+ 11,7	
25	„	0,09	+ 8,2	
26	„	0,08	+ 11,0	
27	„	0,07	+ 19,2	
28	„	0,08		
29	„	0,10	+ 40,3	
30	„	0,10		
31	„	0,11	+ 58,8	<i>Liebermann</i> : sofort blau-dunkelblau kristallisiert nicht Scillicyanosid-Fraktion
32	„	0,09	+ 52,3	
33	„	0,11	+ 41,7	
34	„	0,10		
35	3200	0,16	+ 11,5	
36	„	0,15		
37	„	0,11	- 18,5	

Tabelle 13.
Trennung von Scilliglaucosid und Scillicyanosid.

Fraktion Nr.	cm ³ nasser Essigester	Eindampfdruckstand		
		g	$[\alpha]_D^{20}$ in Methanol	Bemerkungen
1	500	0,161		
2	„	0,029		
3—6	2000	0,071		
7—10	„	0,054		
11	500	0,032		
12	„	0,070		} <i>Liebermann</i> : rosa-blaugrün kristallisiert = Scilliglaucosid
13	1000	0,248		
14	„	0,165		
15	„	0,132		
16	„	0,116		
17	„	0,176	+ 66°	
18	„	0,273	+ 80	} <i>Liebermann</i> : blau-dunkelblau kristallisiert allmählich beim Anreiben mit Wasser = Scillicyanosid
19	„	0,279	+ 85	
20	„	0,165	+ 80	
21	„	0,054		

Tabelle 14.
Fraktionierung v. mit Essigester schwererelulierbaren Glykosidanteilen mit Essigester-Butanol

Fraktion Nr.	cm ³ Essigester- Butanol 9:1	Eindampfdruckstand		
		g	$[\alpha]_D^{20}$	Bemerkungen
1	2000	0,12	– 43,0°	
2	„	0,04	– 33,3	
3	„	0,20	– 32,2	
4	„	0,25	– 41,8	} Gemisch von Glucoscillaren A und Glucoscilliphäosid
5	„	0,29	– 46,9	
6	„	0,20	– 46,2	
7	„	0,11	– 42,2	
8	„	0,07	– 32,3	} <i>Liebermann</i> : rosa-grün
9	„	0,03	– 21,6	
10	„	0,05	– 7,2	
11	„	0,05	0,0	
12	„	0,07	+ 13,9	
13	„	0,08	+ 25,9	
14	„	0,14	+ 39,1	} <i>Liebermann</i> : schwach und flüchtig rosa-vorwiegend blau
15	„	0,15	+ 42,7	
16	„	0,15	+ 45,3	
17	„	0,14	+ 47,2	
18	„	0,10	+ 37,4	} Gemisch von Scillicoeleosid und Scillazurosid
19	„	0,11	+ 30,7	
20	„	0,06	+ 17,6	
21	„	0,04	+ 2,3	
22	„	0,05	0,0	

3. Isolierung von Scillicoelosid und Scillazurosid. Mit der eben beschriebenen Säulenordnung, mit welcher der in Tabelle 12 dargestellte Versuch ausgeführt wurde, konnten von einem Gesamtglykosidpräparat der weissen Meerzwiebel durchschnittlich $\frac{2}{3}$ bis $\frac{3}{4}$ mit wassergesättigtem Essigester eluiert werden. Der in der Säule verbleibende Rest wurde mit 9 Liter Methanol herausgelöst und enthielt 3,3 g Substanz, die einer neuen Verteilung unterworfen wurde. Zur Löslichkeitserhöhung wurde dem Essigester 10% Butanol zugesetzt. Man präparierte die 4 m hohe Säule genau wie oben angegeben, gab die Substanz (3,3 g) darauf und entwickelte sie mit 44 Liter nassem Essigester-Butanol (9:1), wobei die in Tabelle 14 angegebene Fraktionierung erzielt wurde.

Von den eingesetzten 3,3 g Substanz konnten demnach aus der Säule 2,5 g wieder eluiert werden. Es sind 2 deutliche Maxima zu beobachten, bei den Fraktionen 4 bis 6 und 14 bis 17. Dem ersten entspricht ein Maximum negativer spez. Drehung, dem zweiten ein solches positiver Drehung. Die weitere Untersuchung zeigte indessen, dass diese beiden Gruppen von Glykosiden noch recht komplex zusammengesetzt sind: die Gruppe der negativ drehenden Glykoside enthielt Glucoscilliphäosid und Glucoscillaren A. Die Gruppe der positiv drehenden Glykoside war im wesentlichen aus Scillicoelosid und Scillazurosid zusammengesetzt. Aus den Fraktionen 5 und 6 gelang es, eine kleine Menge Substanz zu kristallisieren; sie erwies sich als Gemisch von Glucoscillaren A und Glucoscilliphäosid. Kristallisationsversuche mit der positiv drehenden Gruppe verliefen erfolglos.

Tabelle 15.

Fraktionierung der mit Essigester schwer eluierbaren, positiv drehenden Glykoside mit Essigester-Methanol.

Fraktion Nr.	cm ³ Essigester- Methanol 95:5	Eindampfdruckstand	
		g	Bemerkungen
1	680	0,62	keine charakteristischen Merkmale
2	„	0,08	
3	„	0,42	
4	„	0,09	
5	„	0,04	
6	„	0,05	
7	„	0,05	
8	„	0,04	
9	„	0,04	
10	„	0,03	
11	„	0,04	<i>Liebermann</i> : dunkelblau krist. ↓ abnehmend Gemisch von Scillicoelosid und Scillazurosid
12	„	0,045	
13	„	0,05	
14	„	0,04	
15	„	0,04	
16	„	0,05	
17	„	0,08	
18	„	0,11	
19	„	0,16	
20	„	0,225	
21	„	0,31	
22	„	0,42	
23	„	0,25	
24	„	0,06	
25	„	0,015	
26	„	0,01	

Die positiv drehenden Fraktionen wurden deshalb in einer 4 m hohen Säule (Durchmesser 3,1 cm) aus 1700 g Diatomitstein, der mit 425 cm³ Wasser gleichmässig befeuchtet war, einer erneuten Verteilung unterworfen. 4,22 g des Gemisches der positiv drehenden Glykoside (Sammelpreparat aus mehreren Säulenversuchen) wurden mit 18 Liter nassem Essigester, der 5% Methanol enthielt, fraktioniert (Tab. 15).

Beim Anreiben mit Methanol liessen sich bei den Fraktionen 16 bis 23 Kristallisationen (0,73 g) erzielen. 17,4 g von solchen gesammelten Rohkristallisationen aus einer Reihe von analogen Säulenversuchen wurden aus 165 cm³ Methanol umkristallisiert. Ein kleiner Teil der Substanz (ca. 0,5 g) ging auch beim Erwärmen nicht in Lösung. Dieser schwerlösliche Anteil gibt eine viel intensivere Blaufärbung bei der *Liebermann*-Reaktion als der Hauptteil der Substanz. Aus der klaren Lösung schieden sich beim Abkühlen schöne Kristalle (10,4 g) aus, die noch mehrmals in der Säule fraktioniert und dann aus der 12fachen Menge Methanol umkristallisiert wurden. Ein schwerlöslicher Anteil wurde jeweils abgetrennt. Dieses Glykosid, das sich durch eine himmelblaue *Liebermann*-Reaktion auszeichnet, ist mit Scillicoelosid bezeichnet worden und wird im Abschnitt III beschrieben (S. 1457).

Die bei der Umkristallisation erhaltenen schwerlöslichen Anteile stellen ein weiteres neues Glykosid, das Scillazuroid, dar, das bei der *Liebermann*-Reaktion eine mindestens ebenso intensive Blaufärbung wie Scillicyanosid aufweist. Es wird ebenfalls in Abschnitt III (S. 1458) beschrieben.

4. Isolierung von Scillikryptosid. Dieses Glykosid wurde aus einem Mutterlaugenpräparat einer grösseren Meerzwiebelaufarbeitung isoliert; wasserlöslichere Glykoside hatten sich darin besonders angereichert. 100 g eines solchen Präparates fraktionierte man in einer 4 m-Säule (innerer Durchmesser 7 cm), die mit 8,4 kg wasser-gesättigtem Diatomit beschickt war. Man entwickelte mit 125 Liter nassem Essigester und konnte kleine Mengen von Scillaren A, Scilliglauosid und Scillicyanosid abtrennen. In der Säule verblieben 60 g Substanz, die mit 50 Liter Methanol herausgelöst wurden.

Tabelle 16.

Fraktionierung wasserlöslicher Glykoside, besonders von Scillikryptosid, mit Essigester und Methanol.

Fraktion Nr.	cm ³ Essig- ester-Metha- nol 95:5	Eindampfrückstand	
		g	Bemerkungen
1	5 Liter	0,14	
2	„	0,21	
3	„	0,61	
4	„	0,84	
5	„	1,44	
6	„	1,75	
7	„	1,84	} mit Wasser Ausscheidungen } = Scillikryptosid } <i>Liebermann</i> : negativ
8	„	1,96	
9	„	2,22	
10	„	2,13	} mit Wasser kristallisiert } = Glucoscilliphäosid } <i>Liebermann</i> : rosa-kupfer- rot
11	„	1,78	
12	„	1,17	
13	„	2,58	
14	„	2,05	} kristallisiert aus Methanol; <i>Liebermann</i> : blau Gemisch von Scillicoelosid und Scillazuroid ↓ abnehmend
15	„	1,51	
16	„	1,03	
17	„	0,55	
18	„	0,26	

35 g dieses Eluates wurden einer erneuten Verteilung in der gleichen Apparatur unterworfen, wobei man aber als Eluierungsmittel nun nassen Essigester mit einem Gehalt von 5% Methanol verwendete. Das Ergebnis der Verteilung ist in Tabelle 16 dargestellt.

Bei diesem Versuch sind zwei Maxima zu erkennen, und zwar eines bei den Fraktionen mit negativen Drehwerten (Nr. 5—11), das andere bei Anteilen mit positiven Drehwerten (Nr. 13—17). Beim Anreiben mit Methanol kristallisierten die Fraktionen Nr. 13—17 des zweiten Maximums; sie konnten, wie beim Versuch der Tabelle 15 gezeigt wurde, in Scillicoelosid und Scillazuroid aufgeteilt werden.

Die zur Trockne eingedampften negativ drehenden Fraktionen 7 bis 11 wurden mit etwas Wasser angerieben und zeigten nach mehrtägigem Stehen weisse Ausscheidungen. Diejenigen von Nr. 7 und 8 gaben keine *Liebermann*'sche Farbreaktion. Die Fraktion, die dem Maximum entsprach, lieferte auffallenderweise die geringste Abscheidung. Dieser Umstand, sowie das Fehlen der *Liebermann*'schen Farbreaktion bei der Ausscheidung von Nr. 7 und 8 deutet auf das Vorliegen von mindestens 2 Substanzen in den Fraktionen 7 bis 11 hin. Aus den Ausscheidungen von Nr. 10 und 11 konnte denn auch Glucoscelliphäosid kristallisiert erhalten werden. Die weissen Ausscheidungen von Nr. 7 und 8 wurden in wenig Wasser aufgenommen und schieden sich nach längerem Stehen als mikrokristalline Substanz wieder ab. Nach nochmaligem Umlösen wurden schlecht ausgebildete, undeutliche Kristallformen eines neuen Glykosids, des Scillikryptosids, erhalten. Die Substanz wird im folgenden Abschnitt näher beschrieben (S. 1458).

III. Charakterisierung der neuen Glykoside.

Proscillaridin A und Scillaren A sind bereits in der ersten Abhandlung über die Glykoside der weissen Meerzwiebel¹⁾ eingehend beschrieben worden. Einige ihrer Eigenschaften sind vergleichsweise auch in den Tabellen 1 bis 4 des theoretischen Teils aufgeführt.

1. Glucoscellaren A. Die aus zahlreichen Versuchen (vgl. S. 1448) gesammelten Rohkristallisate von Glucoscellaren A (11,5 g) wurden in 66 cm³ siedendem Methanol aufgenommen. Aus der heiss filtrierten Lösung erschienen beim Abkühlen rhomboëdrische Täfelchen (8,2 g), die noch gelbstichig gefärbt waren und daher unter Zusatz von etwas Tierkohle aus Methanol umkristallisiert wurden. Die nun rein weisse, einheitlich kristallisierende Substanz änderte ihre Eigenschaften auch nach zweimaliger Umkristallisation aus Methanol nicht mehr. Dieses Glykosid schmilzt unter Zersetzung bei 228—232° (*Kofler*-Block).

$C_{42}H_{62}O_{18}$ (854,9) Ber. C 59,00 H 7,31% Gef. C 59,28; 59,25 H 7,48; 7,68%

Optische Drehung: 0,1920; 0,0738 g hochvakuumtrockene Subst. in 25; 15 cm³ Methylalkohol gelöst, 2 dm-Rohr, $\alpha = -1,00^\circ$; $-0,65^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -65,1^\circ; -66,1^\circ$$

Alkalische Titration: Eine Lösung von 0,306 g hochvakuumtrockenem Glucoscellaren A in 25 cm³ 75-proz. Alkohol wurde mit 10 cm³ 0,1-n. NaOH versetzt. Nach 20stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde gegen Phenolphthalein titriert. Laugenverbrauch 3,56 cm³ 0,1-n. NaOH.

$C_{42}H_{62}O_{18}$ Äquivalentgewicht Ber. 854,9 Gef. 860

Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion²⁾ zeigt das Glucoscellaren A dasselbe Farbenspiel wie Scillaren A: anfänglich flüchtig rosa, allmählich in grün übergehend, nur traten die Farben entsprechend der grösseren Molekel in etwas geringerer Intensität auf. Wie in einer späteren Arbeit gezeigt wird, enthält das Glucoscellaren A einen Glucoseresest mehr als Scillaren A.

Das Glucoscellaren A zeigt eine Eigentümlichkeit in seinen Löslichkeitsverhältnissen, wie der folgende Versuch zeigt. 0,53 g der aus Methanol erhaltenen Kristalle werden

¹⁾ A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, *Helv.* **16**, 703 (1933).

²⁾ *Helv.* **16**, 724 (1933): 2,5 mg Subst. werden mit 5 cm³ frisch dargestelltem Reagens (Essigsäureanhydrid mit 2% konz. Schwefelsäure) übergossen.

von 5 cm³ Wasser glatt aufgenommen. Nach 3tägigem Stehen bei Zimmertemperatur und öfterem Kratzen mit dem Glasstab scheidet sich 0,52 g, also praktisch die gesamte Menge der anfangs gelösten Substanz, wieder aus. Diese in Wasser schwer lösliche Form des Glykosids wird nach dem Umkristallisieren aus Methanol in Wasser wieder leicht löslich. Die Ausscheidung der in Wasser schwer löslichen Form wird durch Erwärmen stark beschleunigt, so dass sich aus einer frisch bereiteten klaren wässrigen Lösung beim Erwärmen auf 50° nach kaum einer Minute ein dicker Niederschlag der schwerlöslichen Form bildet.

Die Löslichkeit der schwerlöslichen Modifikation in Wasser beträgt ca. 1 : 1500. Das aus Methanol kristallisierte Glucoscillaren A löst sich bei 20° in der 25- bis 30fachen Menge Methanol. In Äthylalkohol ist das Glykosid etwas schwerer löslich; in Chloroform und Äther ist es beinahe unlöslich.

2. Scilliphäosid. 1,48 g eines rohen, kristallisierten Scilliphäosidpräparates (vgl. S. 1443) wurden in 75 cm³ Methanol gelöst, mit etwas Tierkohle entfärbt, durch eine Talschicht klar filtriert und im Vakuum auf 20 cm³ eingengt. Nach kurzem Stehen begann die Kristallisation von einheitlichen Prismen. Da sich nach längerem Stehen noch weniger gut ausgebildete Kristalle abschieden, wurde das Präparat (1,03 g) nochmals auf gleiche Art umkristallisiert, wobei nach kurzem Stehen einheitliche Kristalle (0,49 g) abfiltriert werden konnten, die nun in der 15fachen Menge siedendem Methanol aufgenommen wurden. Beim Abkühlen bildeten sich einheitliche prismatische Klötze (0,28 g). Das Scilliphäosid schmilzt bei 246–249° unter Zersetzung (*Kofler*-Block). Zur Analyse wurde die Verbindung noch aus Aceton umkristallisiert und im Hochvakuum getrocknet.

C₃₀H₄₂O₉ (546,6) Ber. C 65,91 H 7,75% Gef. C 65,91; 65,66 H 7,89; 7,75%

Optische Drehung: 0,0426 g hochvakuumtrockene Subst. in 10 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr, $\alpha = -0,63^\circ$.

$$[\alpha]_D^{22} = -73,9^\circ$$

Alkalische Titration: 0,0714 g hochvakuumtrockenes Scilliphäosid wurden in 12 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst und mit 5 cm³ 0,1-n. NaOH versetzt. Nach 3tägigem Aufbewahren im Kühlschrank ergab die Titration gegen Phenolphthalein einen Laugenverbrauch von 1,28 cm³ 0,1-n. NaOH.

C₃₀H₄₂O₉ Äquivalentgewicht Ber. 546,6 Gef. 558

Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion zeigt das Scilliphäosid zuerst eine flüchtige rosarote Anfangsfärbung, die in eine beständigere, für dieses Glykosid charakteristische kupferrote Farbe übergeht und schliesslich nach braungelb-oliv umschlägt.

Scilliphäosid löst sich bei Zimmertemperatur in der ca. 50fachen, in der Siedehitze in der ca. 15fachen Menge Methanol. In Wasser ist es schwer löslich, nämlich ca. 1 : 6000.

3. Glucoscilliphäosid. Die gesammelten Rohkristallisate (2,74 g) dieses Glykosids (vgl. S. 1446) wurden in 150 cm³ Methanol aufgenommen. Die noch etwas trübe und gefärbte Lösung wurde mit etwas Tierkohle behandelt und dann im Vakuum auf ca. 20 cm³ konzentriert, worauf die Kristallisation des Glucoscilliphäosids bald einsetzte. Nach 24 Stunden konnten 2,34 g Kristalle abfiltriert werden. Durch erneute Umkristallisation aus heissem Methanol wird das Präparat viel schwerer löslich; denn es löst sich jetzt erst in ca. der 100fachen Menge Lösungsmittel. Möglicherweise liegt hier eine schwerer lösliche Modifikation vor. Eine Suspension von 1 g dieses schwerlöslichen Präparates in 25 cm³ Methanol ging nach Zugabe von 5 cm³ Wasser in der Wärme ganz in Lösung. Nachdem weitere 45 cm³ Wasser hinzugefügt wurden, setzte rasch eine Kristallisation von dünnen, rautenförmigen Plättchen ein.

Das im Hochvakuum bei 95° getrocknete Glucoscilliphäosid (Gewichtsverlust ca. 5%) schmilzt bei 269–270° unter Zersetzung (*Kofler*-Block).

C₃₆H₅₂O₁₄ · H₂O (726,75) Ber. C 59,49 H 7,49% Gef. C 59,73 H 7,41%

Optische Drehung: 0,0949 g hochvakuumtrockene Substanz in 15 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr, $\alpha = -0,86^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -68,0^\circ$$

Alkalische Titration: Die Lösung von 0,0951 g hochvakuumtrockenem Glucoscilliphäosid in 12 cm³ 75-proz. Alkohol wurde mit 5 cm³ 0,1-n. NaOH versetzt. Nach 17-stündigem Stehen bei 20° waren 1,33 cm³ 0,1-n. NaOH verbraucht.

$C_{36}H_{52}O_{14}$ Äquivalentgewicht Ber. 708,75 Gef. 715

Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion zeigt dieses Glykosid dieselbe Farbfolge wie das Scilliphäosid, nämlich einen Übergang von einem flüchtigen Rosarot in ein beständigeres Kupferrot. Seine Intensität ist aber schwächer. Wie in einer späteren Arbeit gezeigt wird, enthält das Glucoscilliphäosid ein Mol Glucose mehr als Scilliphäosid.

Das Glucoscilliphäosid löst sich bei 20° in der ca. 40fachen Menge Methanol und in der Siedehitze in ca. der Hälfte. In Wasser beträgt die Löslichkeit ca. 1 : 2000.

4. Scilliglaucosid. Die rohen Kristalle des aus zahlreichen Säulenversuchen isolierten Scilliglaucosids (vgl. S. 1444) wurden in feingepulvertem Zustand während 20 Stunden in der 20fachen Menge eiskaltem Methanol suspendiert und dann wieder abfiltriert. 4 g eines so gewaschenen Präparates löste man in 60 cm³ siedendem Methanol. In der heiss filtrierten, klaren Lösung bildete sich zuerst eine leichte Trübung; bald darauf setzte die Kristallisation von langen, büschelförmig angeordneten Prismen ein (3,3 g). Dieses Präparat wurde nochmals in 250 cm³ Methanol gelöst und mit etwas Tierkohle behandelt. Der Eindampfrückstand der klar filtrierten Lösung löste sich in 50 cm³ heissem Methanol; es setzte jetzt ohne vorher auftretende Opaleszenz eine einheitliche Kristallisation (2,9 g) ein. Zur völligen Reinigung, insbesondere zur Abtrennung von Spuren von Scillicyanosid, wurde das Präparat noch mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Scillicyanosid kann mit der *Liebermann*'schen Farbreaktion wegen der intensiven Blaufärbung gut erkannt werden. Erst wenn die Farbreaktion des Kristallises gegenüber derjenigen der Mutterlauge keinen Unterschied mehr zeigt, wird das Scilliglaucosid als einheitlich angesehen.

Das Scilliglaucosid bildet bei der Kristallisation aus Methanol lange Prismen, die an den Enden gerade oder schräg abgeschnitten sind. Die im Exsikkator über Blaugel getrocknete Substanz verliert im Hochvakuum noch 4—5% an Feuchtigkeit. Das hochvakuumtrockene Glykosid schmilzt bei 164—166° (*Kofler*-Block).

$C_{30}H_{40}O_{10}$	Ber. C 64,27	H 7,19%
(560,6)	Gef. „ 64,24; 64,46; 64,19	„ 7,52; 7,38; 7,46%

Optische Drehung: 0,2006; 0,1527 g hochvakuumtrockene Subst. in 25; 20 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr, $\alpha = +1,70^\circ$; $+1,63^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +106,0^\circ; +106,8^\circ$$

Alkalische Titration: 0,2421; 0,0668; 0,0668 g hochvakuumtrockenes Scilliglaucosid wurden in 36; 12; 12 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst. Diese Lösungen wurden nach Zugabe von 15,00; 5,00; 5,00 cm³ 0,1-n. NaOH nach 18 Stunden (bei 20°); 65 Stunden (bei 0°); 91 Stunden (bei 0°) gegen Phenolphthalein titriert. Der Laugenverbrauch betrug 4,40; 1,19; 1,20 cm³ 0,1-n. NaOH.

$C_{30}H_{40}O_{10}$ Äquivalentgewicht Ber. 560,6 Gef. 550; 561; 557

Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion wird mit dem Scilliglaucosid zuerst eine flüchtige Rosarotfärbung beobachtet, die rasch in ein längere Zeit beständiges Blaugrün übergeht.

Das Scilliglaucosid löst sich bei 20° in der ca. 80fachen Menge Methanol; es ist ca. 1 : 50 löslich in Aceton, ca. 1 : 700 in nassem Essigester und ca. 1 : 300 in Wasser. Bei der Verteilung von Scilliglaucosid zwischen Essigester und Wasser gehen bei 25° 16% in das organische Solvens (50 mg Glykosid verteilt zwischen je 100 cm³ mit Wasser gesättigtem Essigester und mit Essigester gesättigtem Wasser). Bei der Verteilung zwischen Äthylmethylketon und Wasser (80 mg Glykosid in 10 cm³ Butanon und 7 cm³ Wasser bei 25°) gehen ca. 37% in das organische Lösungsmittel.

5. Scillicyanosid. Die gesammelten Rohkristallise (S. 1444) dieses Glykosids (4 g) wurden in 160 cm³ kaltem Methanol aufgenommen. Die leicht getrübbte Lösung

behandelte man mit Tierkohle, klärte sie durch eine dünne Talksicht und engte sie auf ca. 20 cm³ ein. Aus der kalten Lösung schieden sich erst nach dem Animpfen mit einer Spur Scillicyanosid, das aus der Spitzenfraktion einer Verteilungssäule erhalten worden war (vgl. S. 1451) derbe Prismen ab, die meist büschelförmig angeordnet waren (3,12 g). Diese Kristalle wurden in 25 cm³ siedendem Methanol wieder aufgenommen, worin sich die Substanz gerade löste. Sie kristallisierte aber beim Abkühlen erst nach erneutem Animpfen in schön ausgebildeten vier- bis sechseitigen radial angeordneten Prismen (2 g), die an den Enden z. T. gerade abgeschnitten, z. T. abgedacht waren. Der Schmelzpunkt des reinen hochvakuumtrockenen Scillicyanosids liegt bei 221–223° (Kofler-Block).

C₃₂H₄₂O₁₂ (618,6) Ber. C 62,12 H 6,84% Gef. C 61,88 H 6,64%

Optische Drehung: 0,1086; 0,0703 g hochvakuumtrockene Substanz in 20; 10 cm³ Methanol; 2 dm-Rohr, $\alpha = +1,12^\circ$; $+1,47^\circ$

$$[\alpha]_D^{20} = +103,2^\circ; +104,7^\circ$$

Alkalische Titration: 0,0409; 0,0403; 0,0389 g hochvakuumtrockene Substanz wurden in je 12 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst, mit je 5,00 cm³ 0,1-n. NaOH versetzt und nach 17 Stunden (bei 20°); 71 Stunden (bei 20°); 72 Stunden (bei 0°); 168 Stunden (bei 0°) gegen Phenolphthalein titriert. Es waren 1,27; 1,31; 1,25; 1,21 cm³ 0,1-n. NaOH verbraucht worden.

C₃₂H₄₂O₁₂ (618,6) Äquivalentgewicht Ber. 309 Gef. 322; 312; 322; 321

Das Äquivalentgewicht entspricht dem halben Molekulargewicht; es wird nicht nur der Lactonring, sondern auch eine Acetylgruppe titriert.

Das Scillicyanosid gibt bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion sofort eine Blaufärbung, die schon nach kurzer Zeit sehr intensiv ist. Das beim Scillaren A und beim Scilliglaukosid anfänglich flüchtig auftretende Rosarot fehlt beim Scillicyanosid. Gegen eine künstliche Lichtquelle erscheint die blaue Färbung in einem tiefen, warmen, rot-violetten Ton.

Das Scillicyanosid löst sich bei 20° in der ca. 40fachen Menge Methanol, bei Siedetemperatur in der 7½- bis 8fachen Menge dieses Lösungsmittels. Von Wasser wird es im Verhältnis ca. 1 : 200 aufgenommen.

6. Scillicoelosid. Die Schwierigkeiten bei der Reinigung der Rohkristallisationen, besonders die Abtrennung von hartnäckig anhaftendem Scillazurosid wurde bereits im Abschnitt II (S. 1452) erwähnt. Das Rohprodukt reinigte man durch oftmaliges Umkristallisieren aus Methanol, wobei anfangs schwerer lösliche Anteile, die aus Scillazurosid bestehen, abgetrennt wurden. Das reine Scillicoelosid kristallisiert aus Methanol in dünnen, länglichen Prismen, die nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 80° bei 165–167° schmelzen (Kofler-Block).

C ₃₀ H ₄₀ O ₁₁ (576,6)	Ber. C 62,48	H 6,99%
	Gef. „ 62,58; 62,87	„ 7,15; 7,35%
C ₃₀ H ₄₂ O ₁₁ (578,6)	Ber. „ 62,27	„ 7,32%

Optische Drehung: 0,2148 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr, $\alpha = +1,67^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +97,2^\circ$$

Alkalische Titration: 0,0714 g hochvakuumtrockenes Scillicoelosid wurden in 12 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst. Die zugegebene Lauge (5,00 cm³ 0,1-n. NaOH) wurde nach 18 Stunden bei 20° gegen Phenolphthalein zurücktitriert. Der Laugenverbrauch betrug 1,24 cm³ 0,1-n. NaOH.

C₃₀H₄₀O₁₁ Äquivalentgewicht Ber. 576,6 Gef. 576

Das Scillicoelosid gibt bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion eine himmelblaue Farbe. Eine anfängliche Rosafärbung tritt nicht auf.

Das neue Glykosid löst sich bei Zimmertemperatur bereits in der 20fachen Menge Wasser und in der 80fachen Menge Methanol; in heissem Methanol ist es leicht löslich (ca. 1:15).

7. Scillazurosid. Für die Reinigung des Scillazurosid wurden erstens die beim Umkristallisieren des Scillicoelosids anfallenden schwer löslichen Anteile und zweitens die Anfangsfraktionen von Säulenversuchen, die viel Scillazurosid enthalten, verwendet. 0,81 g eines solchen fein pulverisierten Sammelpräparates wurden mit 32 cm³ Methanol angerührt und blieben unter öfterem Umrühren einige Tage stehen. Die dabei ungelöst gebliebene Substanz (0,57 g) zeigte einen spez. Drehwert von +115,4° (in Methanol). Das Präparat wurde nun mit der 20fachen Menge Wasser verrieben und nach 2 Tagen vom Ungelösten (0,36 g) abfiltriert. Der spez. Drehwert dieses Rückstandes war nun auf +124° gestiegen, während der Eindampfrückstand der wässrigen Mutterlauge einen spez. Drehwert von nur +111,8° aufwies. Das in Wasser unlösliche Präparat (0,3 g) war jetzt in 45 cm³ siedendem Methanol gerade löslich. Im Verlauf von einigen Tagen schied sich aus der klar filtrierten Lösung das Scillazurosid in schön ausgebildeten länglichen Prismen (0,14 g) ab. Aus dem Filtrat konnte nach dem Konzentrieren eine weitere Kristallisation mit den gleichen Eigenschaften gewonnen werden.

Das Scillazurosid schmilzt bei 179—182° (*Kofler*-Block) unter schwacher Bläschenbildung zu einer farblosen glasigen Masse.

$C_{30}H_{40}O_{11}$, CH_3OH (getrocknet im Hochvakuum bei 80°) (608,65)

Ber. C 61,17 H 7,29% Gef. C 61,14; 61,19 H 7,22; 7,08%

$C_{30}H_{40}O_{11}$, $\frac{1}{2} CH_3OH$ (getrocknet im Hochvakuum bei 100°) (592,65)

Ber. C 61,81 H 7,14% Gef. C 61,73 H 7,25%

Optische Drehung: 0,0481; 0,1068 g hochvakuumtrockene Substanz in 20; 50 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr, $\alpha = +0,63^\circ$; $+0,56^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +131^\circ; +131^\circ$$

Alkalische Titration: 0,0420 g bei 100° im Hochvakuum getrocknete Substanz wurden in 12 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst. Von 5,00 cm³ zugegebener 0,1-n. NaOH waren nach 16stündigem Stehen bei 20° 0,72 cm³ 0,1-n. NaOH verbraucht.

$C_{30}H_{40}O_{11}$, $\frac{1}{2} CH_3OH$ Äquivalentgewicht Ber. 593 Gef. 584

Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion gibt das Scillazurosid wie das Scillicyanosid ohne vorausgehende Rosa-Färbung eine sehr intensive blaue Färbung. Gegen eine künstliche Lichtquelle betrachtet, erscheint sie in einem warmen, violettroten Farbton. Durch die Farbreaktion unterscheidet sich das Scillazurosid deutlich von Scillicoelosid; denn letzteres liefert bei gleicher Konzentration einen wesentlich heller blauen Farbton.

Das Scillazurosid ist sowohl in Wasser wie in Methanol schwerlöslich. In siedendem Methanol beträgt die Löslichkeit etwa 1:150, in Wasser bei Zimmertemperatur ca. 1:100.

8. Scillikryptosid. Dieses schwer zugängliche Glykosid konnte aus leicht wasserlöslichen Fraktionen der Scilla-Aufarbeitung schliesslich isoliert werden (S. 1453). Es kristallisierte aus wässriger Lösung in feinen undeutlichen Formen, die nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 202—205° (*Kofler*-Block) schmelzen.

Um eine Elementaranalyse der Substanz ausführen und daraus die Bruttoformel ableiten zu können, fehlten uns bisher für Scillikryptosid die Kriterien der Reinheit. Die folgenden Werte für die spez. Drehung und das Äquivalentgewicht aus der alkalischen Titration werden daher unter Vorbehalt angegeben.

Optische Drehung: 0,1924 g hochvakuumtrockene Substanz in 20 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr, $\alpha = -0,92^\circ \pm 0,02^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -47,8^\circ$$

Alkalische Titration: 0,0857 g hochvakuumtrockene Substanz wurde in 12 cm³ 75-proz. Alkohol gelöst und mit 5,00 cm³ 0,1-n. NaOH versetzt. Nach 16stündigem Stehen bei 20° ergab die Titration gegen Phenolphthalein einen Laugenverbrauch von 1,26 cm³ 0,1-n. NaOH.

Äquivalentgewicht Gef. 680

Die *Liebermann'sche* Farbreaktion bleibt beim Scillikryptosid aus; erst nach längerem Stehen kann eine minimale bläuliche Nuance beobachtet werden. Dies erschwerte das Auffinden und die Reinigung dieses Glykosides, da es im Gemisch der übrigen Glykoside, die alle durch eine intensive *Liebermann-Reaktion* ausgezeichnet sind, verborgen bleibt.

Das Scillikryptosid ist leicht löslich in Methanol. In Wasser beträgt die Löslichkeit bei 20° ca. 1 : 700.

Zusammenfassung.

Aus der weissen Meerzwiebel konnten mit Hilfe von Verteilungssäulen, bestehend aus Baumwoll-Linters oder Diatomitstein, 8 bisher unbekannte, stark herzwirksame Glykoside isoliert und charakterisiert werden. Ausser den schon länger bekannten Proscillaridin A und Scillaren A sind aus dieser Droge das Glucoscillaren A, eine glucosereichere Stufe von Scillaren A, das Scilliphäosid und seine glucosereichere Stufe Glucoscilliphäosid, ferner das wahrscheinlich als Biosid vorliegende Scillikryptosid und die Monoside Scilliglaucosid, Scillicyanosid, Scillicoelosid und Scillazurosid isoliert und beschrieben worden. Mit Ausnahme von Scillikryptosid, das undeutlich kristallisiert, wurden auch die neuen Glykoside in schön kristallisierter Form erhalten und durch Analyse, Lactontitration, Drehwert, Löslichkeiten, Verteilungszahlen und durch die *Liebermann'sche* Farbreaktion charakterisiert.

Wahrscheinlich enthält die Meerzwiebel ausser den nun bekannten 10 Herzglykosiden noch weitere Wirkstoffe. Diese seit dem Altertum verwendete Heilpflanze produziert demnach herzwirksame Glykoside in einer erstaunlichen Mannigfaltigkeit.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium *Sandoz*, Basel.
