

307. Die hydrolytische Spaltung von herzwirksamen Glykosiden der weissen Meerzwiebel.

33. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

von A. Stoll, W. Kreis und A. von Wartburg.

(13. X. 52.)

In der 26. Mitteilung dieser Reihe²⁾ haben wir über die Isolierung und die Eigenschaften von neuen herzwirksamen Glykosiden aus der weissen Meerzwiebel berichtet. Aus dem Glykosidgemisch dieser Droge konnten ausser den schon länger bekannten und in der Droge mengenmässig überwiegenden Glykosiden Scillaren A und Proscillaridin A³⁾ mit Hilfe von Verteilungssäulen acht weitere herzwirksame Glykoside isoliert werden. Die Unterschiede in der *Liebermann'schen* Farbreaktion und im Zuckergehalt sind bei der Nomenclatur der neuen Glykoside berücksichtigt worden; so in Glucoscellaren A, Scilliphäosid und Glucoscelliphäosid, Scilliglaucosid, Scillicyanosid, Scillicoelosid, Scillazurosid und Scillikryptosid. Diese Verbindungen sind in der vorerwähnten Arbeit durch ihre Bruttoformeln, Löslichkeiten, Verteilungszahlen, Schmelzpunkte, Drehwerte, *Liebermann'schen* Farbreaktionen und die biologischen Wirksamkeiten (Toxizität nach *Hatcher*) charakterisiert worden.

Die weitere Untersuchung dieser herzwirksamen Glykoside erstreckte sich vorerst auf die hydrolytische Spaltung und auf die Charakterisierung der dabei entstehenden Aglykone und Zuckerreste. Da uns bisher von Scillazurosid und Scillikryptosid nur sehr kleine Mengen zur Verfügung standen, so beschränken wir uns im folgenden auf die Ergebnisse der Hydrolyse der übrigen 6 Glykoside.

Wir ergänzen die frühere Charakterisierung einzelner Glykoside durch die Wiedergabe von Kristallaufnahmen (Fig. 1), die augenfällige Unterschiede aufweisen, und durch UV.-Spektren. Ein gemeinsames Merkmal sämtlicher herzwirksamen Glykoside der weissen Meerzwiebel drückt sich in ihren UV.-Spektren aus (Fig. 2). Alle zeigen das für den doppelt ungesättigten sechsgliedrigen Lactonring charakteristische Maximum bei 300 m μ und $\log \epsilon = 3,7-3,8$.

In der früheren Arbeit wurde bereits erwähnt, dass Glucoscellaren A und Glucoscelliphäosid zuckerreichere Derivate von Scillaren A, bzw. von Scilliphäosid darstellen. Jenes ist ein Tri-glykosid, dieses ein Di-glykosid. Alle übrigen hier behandelten Glykoside sind Monoside, die sich in ihrem Aglykonanteil voneinander unterscheiden.

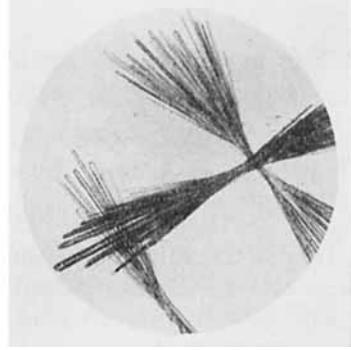
¹⁾ 32. Mitteilung, Helv. **35**, 1934 (1952).

²⁾ A. Stoll & W. Kreis, Helv. **34**, 1431 (1951).

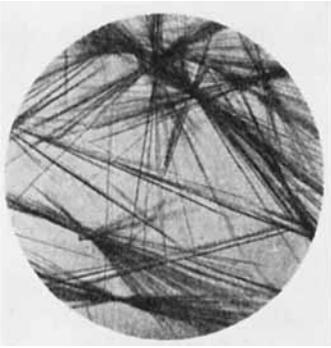
³⁾ A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, Helv. **16**, 703 (1933).



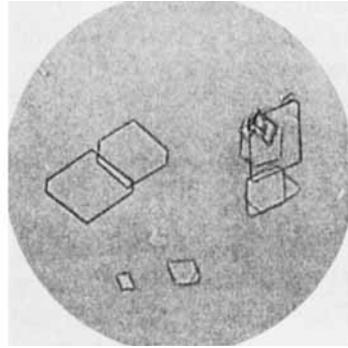
Glucoscillaren A
aus Methanol



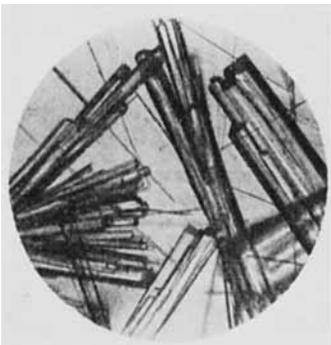
Scilliglucosid
aus Methanol



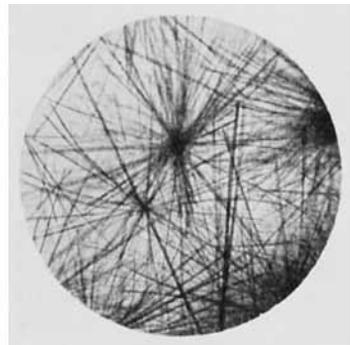
Scilliphäosid
aus Aceton



Glucoscilliphäosid
aus Methanol-Wasser



Scillicyanosid
aus Methanol



Scillicoelosid
aus Methanol

Fig. 1.

Kristallaufnahmen von herzwirksamen Glykosiden der weissen Meerzwiebel.

Erhitzt man Glucoscillaren A längere Zeit mit verdünnter Säure, so lassen sich im Hydrolysat Scillaridin A, 1 Mol Rhamnose und 2 Mol Glucose feststellen. Scillaridin A, das in saurer Lösung durch Wasserabspaltung sofort aus dem primären Aglykon Scillarenin¹⁾ entsteht, bildet sich ebenfalls bei der Hydrolyse von Pro-

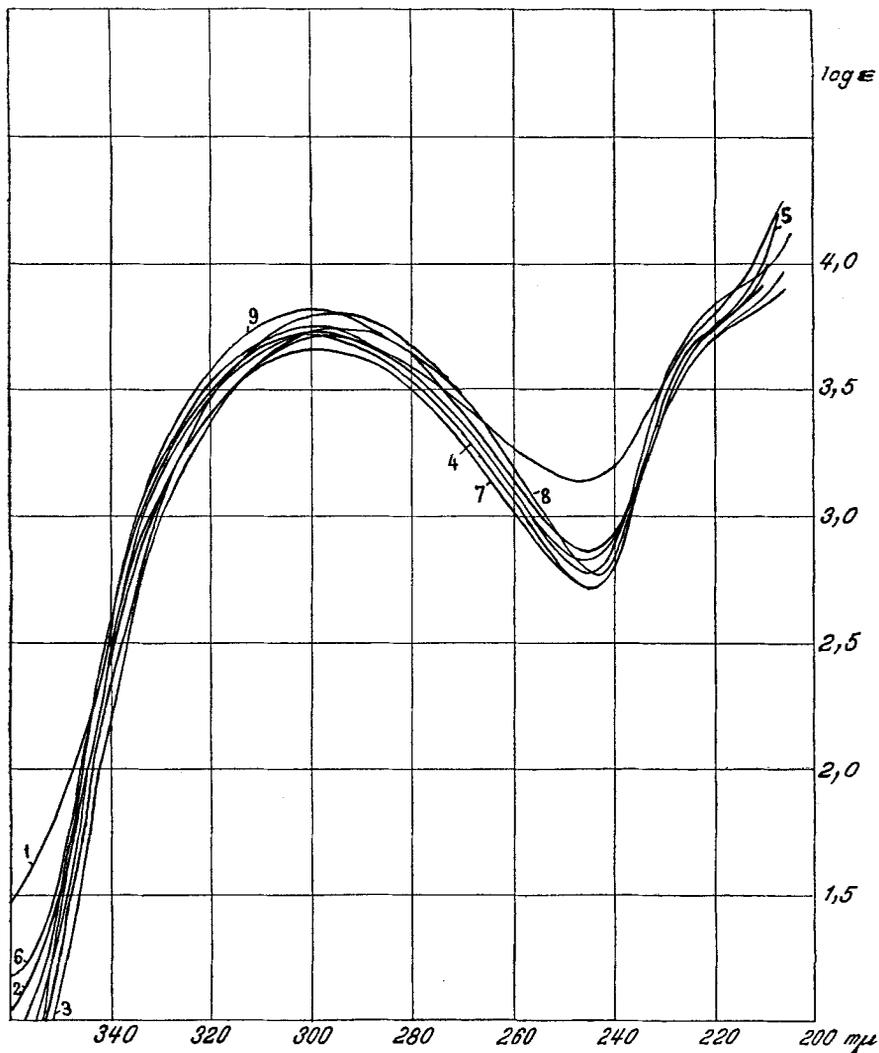


Fig. 2. UV-Spektren der Glykoside.

- | | | |
|---------------------|-----------------------|--------------------|
| 1. Scillaren A | 4. Scilliglaucosid | 7. Scillicoelosid |
| 2. Glucoseillaren A | 5. Glucoseilliphäosid | 8. Scillazurosid |
| 3. Scillicyanosid | 6. Scilliphäosid | 9. Scillikryptosid |

¹⁾ A. Stoll, J. Renz & A. Brack, *Helv.* **34**, 2301 (1951); *Helv.* **35**, 1934 (1952).

scillaridin A und Scillaren A. Die drei Glykoside unterscheiden sich also nur im Aufbau ihrer Zuckerreste. Bei der milden sauren Hydrolyse von Proscillaridin A, Scillaren A und Glucoscillaren A werden die Zucker Rhamnose¹⁾ bzw. Scillabiose¹⁾ bzw. Scillatriose in Freiheit gesetzt. Die Scillatriose besitzt die Zusammensetzung $C_{16}H_{32}O_{15}$ und war bisher nicht bekannt. Das Trisaccharid ist eine schön kristallisierte Verbindung (Fig. 3), die bei 216° schmilzt und in wässriger Lösung einen Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = -19^{\circ}$ besitzt. Bei der energischen Hydrolyse zerfällt die Scillatriose, wie zu erwarten ist, in 1 Mol Rhamnose und 2 Mol Glucose.

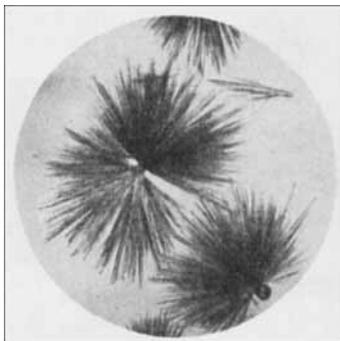


Fig. 3. Scillatriose aus Wasser-Alkohol.

Durch Einwirkung von Enzymen auf das Triglykosid Glucoscillaren A gelang es, einen Einblick in die Anordnung der einzelnen Zucker zu gewinnen. Mit β -Glucosidase aus bitteren Mandeln wird aus dem Glucoscillaren A ein Glucoserest abgespalten, und es entsteht das Scillaren A. Demnach ist der äussere Glucoserest im Glucoscillaren A β -glykosidisch gebunden; denn bei der Einwirkung von α -Glucosidase aus Hefe auf Glucoscillaren A bleibt das Triglykosid vollständig intakt. Mit der Strophanthobiase aus Strophanthuskombé-Samen bildet sich aus dem Triglykosid das glucosefreie Glykosid Proscillaridin A²⁾. Aus diesen Abbauversuchen geht zugleich hervor, dass die Bindung zwischen der Rhamnose und der Glucose beim Scillaren A und beim Glucoscillaren A dieselbe ist, und dass auch im Glucoscillaren A die Rhamnose direkt mit dem Aglykon verbunden ist. Da auch die freie Scillabiose von Emulsin aus bitteren

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

²⁾ Ein Disaccharid aus 2 Mol Glucose konnte bei der enzymatischen Spaltung von Glucoscillaren A zum Proscillaridin A nicht beobachtet werden. Es liess sich in der Zuckerlösung auch nicht papierchromatographisch nachweisen. Die Präparate der besonderen Enzyme (Scillarenase, Strophanthobiase, Coronillaenzyme) enthalten eben auch β -Glucosidase, welche die Bindung zwischen den beiden Glucoseresten rasch zu spalten vermag.

Mandeln zerlegt wird¹⁾, so kann man annehmen, dass im Glucoscellaren A beide Verknüpfungsstellen zwischen den Zuckern β -glykosidisch sind.

Die auf Grund der verschiedenen Spaltungsmöglichkeiten mit Enzymen wahrscheinlich gemachte β -glykosidische Verknüpfungsart der Zucker im Glucoscellaren A steht in Übereinstimmung mit den Daten, die aus den molekularen Drehungen nach *Klyne*²⁾ berechnet werden können. In der folgenden Tab. 1 sind die Werte zusammengestellt:

Tabelle 1.

Vergleich der molekularen Drehungen der Substanzen der Scillaren A-Gruppe.

Substanz	$[\alpha]_D$ in Methanol (M) oder Wasser (W)	$[M]_D$
I Glucoscellaren A $C_{42}H_{82}O_{18}$ (855)	– 66° (M)	– 564°
II Scillaren A $C_{36}H_{52}O_{13}$ (693)	– 74° (M)	– 513°
III Proscillaridin A $C_{30}H_{42}O_8$ (531)	– 92° (M)	– 489°
IV Scillarenin $C_{24}H_{32}O_4$ (384)	– 16,5° (M)	– 63°
Drehungsbeiträge der einzelnen Zucker:		
I—II (äussere D-Glucose in I)		– 51°
II—III (D-Glucose in II)		– 24°
III—IV (L-Rhamnose in III)		– 426°
α -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle^3$	+ 165° (M)	+ 320°
β -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle^4$	– 34° (W)	– 66°
α -Methyl-L-rhamnosid- $\langle 1,5 \rangle^5$	– 62,5° (W)	– 111°
β -Methyl-L-rhamnosid- $\langle 1,5 \rangle^6$	+ 95° (W)	+ 169°

Die Drehungsbeiträge der beiden Glucosemolekeln stimmen mit den molekularen Drehungen von β -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ recht gut überein, so dass auch auf Grund dieser Berechnungen die glykosidischen Bindungen zwischen den Zuckermolekeln in der β -Form vorliegen. Der Drehungsbeitrag der Rhamnose weicht hingegen sehr stark von den Werten der molekularen Drehungen der beiden Methylrhamnose ab, so dass aus diesen Zahlen kein Rückschluss auf die Art der Bindung zwischen Aglykon und Rhamnose gezogen werden kann.

Analog wie Proscillaridin A und Scillaren A verhalten sich Scilliphäosid und Glucoscelliphäosid zueinander. Bei der sauren Hydrolyse entsteht aus dem letzteren ein Anhydrogenin, das Anhydro-

¹⁾ A. Stoll & J. Renz, *Enzymologia* **7**, 362 (1939).

²⁾ W. Klyne, *Proc. Biochem. Soc.* 288th Meet.; *Biochem. J.* **47**, XLI (1950).

³⁾ J. Schmutz, *Pharm. acta Helv.* **22**, 377 (1947).

⁴⁾ A. van Eckenstein, *R.* **13**, 184 (1894); C. N. Riiber, *B.* **57**, 1797 (1924).

⁵⁾ E. Fischer, *B.* **28**, 1158 (1895).

⁶⁾ E. Fischer, M. Bergmann & A. Rabe, *B.* **53**, 2379 (1920).

scilliphäosidin, $C_{24}H_{30}O_4$, und ein nicht kristallisierendes Disaccharidpräparat. Bei der Acetylierung des letzteren bildet sich ein kristallisiertes Hexacetat, das mit Hexacetyl-scillabiose identisch ist. Auch die saure Hydrolyse von Scilliphäosid, bei der Rhamnose abgespalten wird, führt zu einem Anhydrogenin der Zusammensetzung $C_{24}H_{30}O_4$. Die Eigenschaften und besonders auch die UV.-Spektren (Fig. 4) der beiden Anhydrogeninpräparate, die im Bereich von 230–240 $m\mu$ zwei charakteristische Maxima aufweisen (bei 227 $m\mu$, $\log \epsilon = 4,40$ und bei 234 $m\mu$, $\log \epsilon = 4,39$), sprechen für die Identität der beiden Aglykonpräparate. Der enge Zusammenhang dieser beiden Scillaglykoside geht auch aus dem Ergebnis des enzymatischen Abbaus von Glucoscilliphäosid mit einem Strophanthobiasepräparat hervor. Unter Abspaltung von 1 Mol D-Glucose wird hierbei Scilliphäosid gebildet¹).

Die übrigen in dieser Mitteilung besprochenen Glykoside, nämlich Scilliglaucosid, Scillicyanosid und Scillicoelosid sind Monoside; ihr Zuckerrest besteht durchwegs aus D-Glucose.

Je nach den Bedingungen der Hydrolyse wird aus dem Scilliglaucosid zur Hauptsache das primäre Aglykon oder ein Gemisch von Anhydrogeninen erhalten. Das Glykosid ist gegenüber Säure relativ empfindlich. Der Zucker wird in wässriger 1–2-proz. Schwefelsäure schon bei 0° in der verhältnismässig kurzen Zeit von ca. 24 Std. abgespalten. Unter diesen Bedingungen entsteht zur Hauptsache das primäre Aglykon, das Scilliglaucosidin, dem auf Grund der Analysen die Formel $C_{24}H_{30}O_5$ zukommt. Sein spez. Drehwert liegt bei +49,5° (in Methanol). Das Scilliglaucosidin bildet eine Monoacetylverbindung, so dass ausser der zuckertragenden Hydroxylgruppe keine weitere acylierbare OH-Gruppe vorhanden zu sein scheint. Das UV.-Spektrum (Fig. 4) zeigt ausser einem Maximum bei 300 $m\mu$ ($\log \epsilon = 3,72$), das vom Lactonring herrührt, keine Besonderheit.

Wird die saure Hydrolyse des Scilliglaucosids bei etwas höherer Temperatur ausgeführt, so entsteht neben dem primären Aglykon auch ein Monoanhydro-scilliglaucosidin. Dieses zeichnet sich gegenüber dem primären Genin durch einen negativen Drehwert aus ($[\alpha]_D^{20} = -149,8^\circ$ in Chloroform). Das UV.-Spektrum (Fig. 4) ist kaum

¹) Da das Disaccharid im Glucoscilliphäosid mit Scillabiose identisch ist, so ist nach den weiter oben gemachten Ausführungen in diesem Glykosid die Glucose mit der Rhamnose ebenfalls β -glykosidisch verbunden. Dies steht im Einklang mit den Daten, die beim Vergleich der molekularen Drehungen erhalten werden können. Danach beträgt der Drehungsbeitrag der Glucose im Glucoscilliphäosid -77° (in Methanol). Da die molekulare Drehung für β -Methyl-D-glucosid-(1,5) -66° (in Wasser), diejenige für das α -Methyl-D-glucosid-(1,5) aber $+320^\circ$ (in Methanol) beträgt, so sprechen diese Zahlen ebenfalls für eine β -glykosidische Verknüpfung der Glucose mit der Rhamnose im Glucoscilliphäosid.

verschieden von demjenigen des primären Aglykons; wir vermuten, dass die tertiäre OH-Gruppe am C₁₄ abgespalten worden ist¹⁾.

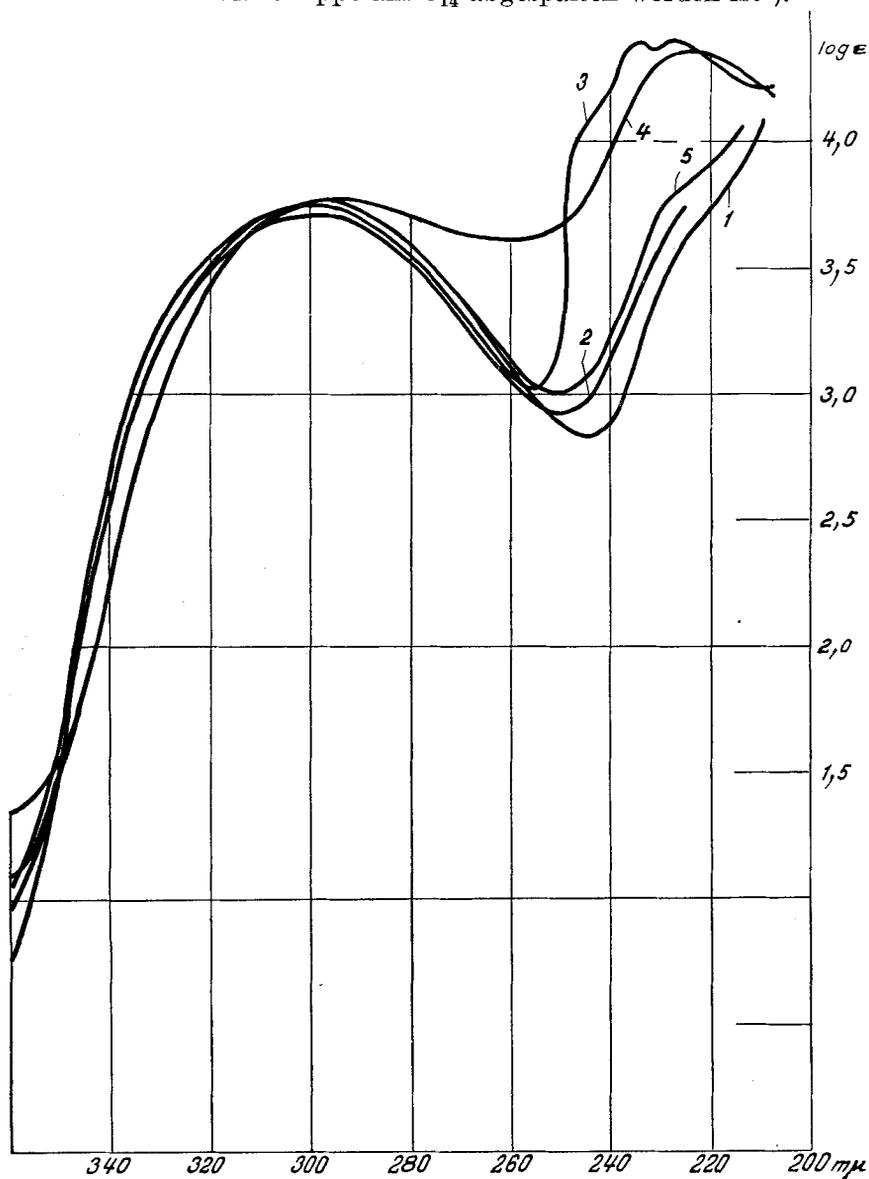


Fig. 4. UV.-Spektren der Aglykone.

1. Scillarenin

2. Scilliglaucosidin

3. Anhydro-scilliphäosidin

4. Anhydro-scillicyanosidin

5. Scillicoeosidin

¹⁾ Für das Vorhandensein dieser OH-Gruppe im intakten Aglykon haben wir Anhaltspunkte, über die wir später im Zusammenhang mit der Konstitution des Scilliglaucosidins berichten werden.

Der Glucoseresst des Scilliglaucosids liess sich bisher enzymatisch nicht abspalten. Weder Enzyme aus Coronillasamen, noch solche aus verschiedenen Pilzen, die z. B. das nahe verwandte Scillirosid in Scillirosidin und Glucose zerlegen¹⁾, greifen Scilliglaucosid an²⁾.

Das Scillicyanosid liess sich durch milde saure Hydrolyse bei 0°, wie wir sie beim Scilliglaucosid mit Erfolg anwenden konnten, nur z. T. spalten; es gelang aber nicht, aus der Geninfraktion ein einheitliches Produkt zu isolieren. Durch kurzes Erwärmen einer sauren, wässrigen Glykosidlösung auf dem Dampfbad konnte indessen in relativ guter Ausbeute ein Monoanhydro-scillicyanosidin kristallisiert erhalten werden. Es hat die Zusammensetzung $C_{26}H_{32}O_6$ und weist auf Grund der *Zerewitinoff*-Bestimmung zwei aktive H-Atome auf, die wahrscheinlich in OH-Gruppen vorliegen. Das Anhydro-aglykon ist durch einen negativen Drehwert charakterisiert ($[\alpha]_D^{20} = -167^\circ$ in Chloroform).

Wie schon die Bruttoformel vermuten lässt, ist das Aglykon des Scillicyanosids gegenüber den übrigen hier besprochenen Scilla-aglykonen durch eine Acetylgruppe gekennzeichnet. Das UV.-Spektrum des Anhydro-scillicyanosidins (Fig. 4) weist zwei charakteristische Maxima auf, eines bei etwa 295 $m\mu$ und $\log \epsilon = 3,76$, das dem Lactonring zuzuordnen ist, das andere bei 225 $m\mu$ und $\log \epsilon = 4,35$. Da im UV.-Spektrum des Glykosids (Fig. 2) dieses zweite Maximum nicht vorhanden ist, so muss die absorbierende Gruppierung bei der Wasserabspaltung im Verlauf der Hydrolyse gebildet worden sein.

Wie Scilliglaucosid wird auch Scillicyanosid mit Coronilla- und Pilzenzymen, die das Scillirosid spalten, nicht abgebaut²⁾.

Beim Scillicoelosid verläuft, ähnlich wie beim Scilliglaucosid, die saure Hydrolyse bereits in der Kälte, und es gelingt auf diesem Weg auch das intakte, primäre Aglykon, das Scillicoelosidin, in guter Ausbeute zu isolieren. Es besitzt die Bruttoformel $C_{24}H_{30-32}O_6$. Sein Drehwert ist positiv ($[\alpha]_D^{20} = +85^\circ$ in Methanol). Das UV.-Spektrum (Fig. 4) zeigt lediglich das für den Lactonring charakteristische Maximum bei 300 $m\mu$ und $\log \epsilon = 3,76$.

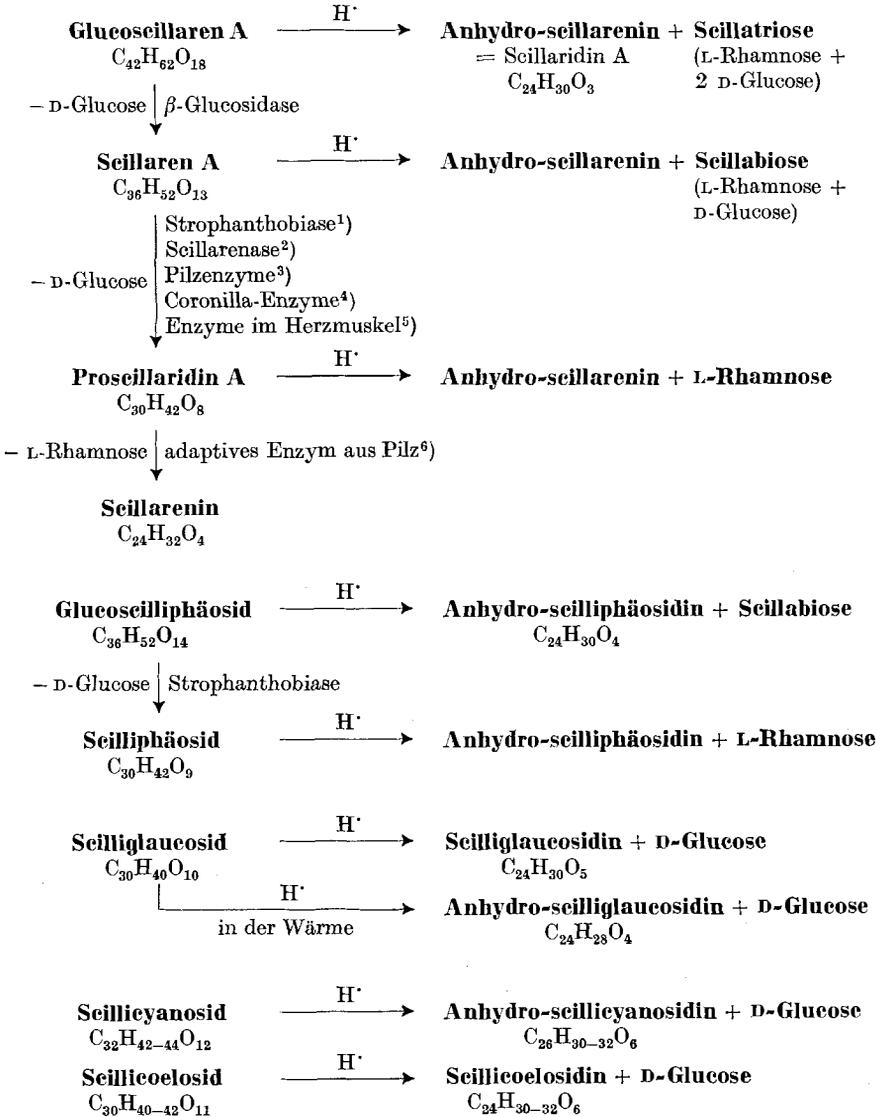
¹⁾ *A. Stoll & J. Renz, Helv. 33, 286 (1950).*

²⁾ Möglicherweise liegen auch bei diesen Glykosiden verschiedene Bindungen zwischen Aglykon und Zucker vor, die auf die enzymatische Spaltbarkeit nicht ohne Einfluss sind. Berechnet man nach *Klyne* aus den molekularen Drehungen den Drehungsanteil der D-Glucose im Scilliglaucosid ($[M]_D = +595^\circ$ in Methanol), so erhält man einen Wert von +398°. Dieser Wert spricht für eine α -glykosidische Bindung der D-Glucose, denn die molekulare Drehung von α -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ beträgt +320° (in Methanol), die von β -Methyl-D-glucosid- $\langle 1,5 \rangle$ beträgt -66° (in Wasser).

Im Falle des Scillirosids ($[M]_D = -366^\circ$ in Methanol) beträgt der molekulare Drehungsanteil der D-Glucose -260,5°. Wenn dieser Wert auch weder zu der molekularen Drehung des α -Methylglucosids, noch zu derjenigen des β -Methylglucosids passt, so spricht er doch eher für eine β -glykosidische Verknüpfung der D-Glucose im Scillirosid. Das deutet darauf hin, dass die Glucoseresste im Scilliglaucosid und Scillirosid verschiedenartig mit dem Aglykon verknüpft sind, und dass darin auch das unterschiedliche Verhalten gegenüber gewissen Enzymen begründet wäre.

Tabelle 2.

Saure und enzymatische Spaltungen von herzwirksamen Glykosiden der weissen Meerzwiebel.



1) A. Stoll & J. Renz, *Enzymologia* **7**, 362 (1939).

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

3) A. Stoll, J. Renz & A. Brack, *Helv.* **34**, 397 (1951).

4) A. Stoll, A. Pereira & J. Renz, *Helv.* **32**, 293 (1949).

5) A. Stoll & J. Renz, *Helv.* **34**, 782 (1951).

6) A. Stoll, J. Renz & A. Brack, *Helv.* **34**, 2301 (1951).

Die verschiedenen Spaltungsmöglichkeiten der in dieser Arbeit besprochenen und erwähnten Glykoside sind in Tab. 2 zusammengestellt.

In dieser Übersicht zeichnen sich einige Charakteristika der Meerzwiebelglykoside ab. Die Zuckerreste sind recht einförmig; als einzige Zucker treten Rhamnose und Glucose auf. Von den Aglykonen, die mit Rhamnose verbunden sind, leiten sich durch das Hinzutreten von Glucoseresten auch Glykoside mit längerer Zuckerkette ab. Aber auch hierin findet sich eine gleichartige Verknüpfung der Rhamnose mit der Glucose; sowohl aus Scillaren A als auch aus Glucoscilliphäosid kann Scillabiose erhalten werden. Glykoside, die keine Rhamnose enthalten, besitzen nur je einen Glucoserest.

Die Aglykone enthalten, abgesehen vom sechsgliedrigen, doppelt ungesättigten Lactonring, noch mindestens eine ungesättigte Gruppierung. Dies äussert sich schon darin, dass bei der sauren Hydrolyse leicht Anhydrogenine gebildet werden. Nur beim Scilliglaucosid und beim Scillicoelosid, die einer besonders milden sauren Hydrolyse zugänglich sind, konnten auf diesem Wege die primären Aglykone gefasst werden.

Experimenteller Teil¹⁾.

Übersicht.

I. Glucoscillaren A.

1. Saure Hydrolyse von Glucoscillaren A bei Siedetemperatur.
2. Saure Hydrolyse von Glucoscillaren A bei 40°.
3. Reinigung und Eigenschaften der Scillatriose.
4. Enzymatischer Abbau von Glucoscillaren A mit β -Glucosidase zum Scillaren A.
5. Enzymatischer Abbau von Glucoscillaren A mit Strophanthobiase zum Proscillaridin A.

II. Glucoscilliphäosid und Scilliphäosid.

1. Saure Hydrolyse von Glucoscilliphäosid.
2. Saure Hydrolyse von Scilliphäosid.
3. Abbau von Glucoscilliphäosid mit Strophanthobiase zum Scilliphäosid.

III. Scilliglaucosid.

1. Saure Hydrolyse von Scilliglaucosid in der Wärme.
2. Saure Hydrolyse von Scilliglaucosid in der Kälte.

IV. Scillicyanosid.

1. Saure Hydrolyse von Scillicyanosid.
2. Nachweis einer Acetylgruppe im Scillicyanosid.

V. Scillicoelosid.

1. Saure Hydrolyse von Scillicoelosid.

I. Glucoscillaren A.

Eine Charakterisierung von Glucoscillaren A und der zuckerärmeren Glykoside Scillaren A und Proscillaridin A wurde schon früher gegeben²⁾. In der folgenden Tab. stellen wir die wichtigsten Daten nochmals zusammen:

¹⁾ Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt. Zur Bestimmung der optischen Drehung wurden die Präparate, wenn nichts anderes angegeben wird, 1 Std. bei 80° im Hochvakuum getrocknet.

²⁾ Siehe *A. Stoll & W. Kreis*, *Helv.* **34**, 1431 (1951). Dasselbst auch ältere Literatur.

Tabelle 3.
Eigenschaften der Glykoside der Scillaren-A-Gruppe.

Glykosid	Formel	Molekulargewicht	$[\alpha]_D^{20}$ (in Methanol)	Smp.	Liebermann'sche Farb-reaktion
Glucoscellaren A	$C_{42}H_{62}O_{18}$	854,92	- 66°	228—232° d)	} rosa → grün
Scillaren A . .	$C_{36}H_{52}O_{13}$	692,78 ^{e)}	- 74°	230—240° a)	
Proscillaridin A	$C_{30}H_{42}O_8$	530,64	- 92° b)	219—222° d)	

a) Aus Methanol-Wasser. Aus 85-proz. Alkohol kristallisiert, liegt der Smp. bei 270—273°.

b) Nach neueren Bestimmungen, siehe unter I. 5.

c) In Helv. **34**, 1440, 2307 (1951), wurde das Molekulargewicht für Scillaren A irrtümlicherweise auf 673 statt auf 693 aufgerundet.

d) Aus Methanol kristallisiert.

Propionylverbindung von Glucoscellaren A¹⁾. Da die Acetylverbindung von Glucoscellaren A schlecht kristallisiert und schwer zu reinigen ist, wurde das Propionyl-derivat hergestellt, was wir zur Charakterisierung dieses zuckerreichsten Meerzwiebelglykosids noch nachtragen möchten. 300 mg Glucoscellaren A wurden in Pyridin gelöst und mit Propionsäureanhydrid versetzt. Nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur goss man das Reaktionsgemisch in Wasser, filtrierte die Fällung ab, wusch mit Wasser und trocknete das Präparat (0,36 g). Beim Umkristallisieren aus absolutem und aus 90-proz. Methanol wurden Nadeln vom Smp. 205—206° erhalten.

$C_{69}H_{98}O_{27}$ (1359,47) Ber. C 60,96 H 7,27%; Gef. C 61,00 H 7,11%

Die Analyse stimmt auf 9 Propionsäurereste.

Optische Drehung. 32,9 mg Substanz in 10 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -0,32^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -48,6^{\circ} \pm 3^{\circ}$.

1. Saure Hydrolyse von Glucoscellaren A bei Siedetemperatur. Eine Lösung von 212 mg hochvakuumtrockenem Glucoscellaren A in 12 cm³ Methanol wurde mit 12 cm³ 2-proz. wässriger Schwefelsäure vermischt und 20 Min. auf dem Dampfbad am Rückfluss gekocht. Kurz nach dem Eintritt des Siedens schied sich das Aglykon in glitzernden Kriställchen ab, die nach dem Abkühlen abfiltriert wurden (83,9 mg). Nach dem Abdunsten des Methylalkohols auf dem Dampfbad schied sich eine zweite Aglykonfraktion ab (5,9 mg), so dass bei der Hydrolyse insgesamt 89,8 mg Aglykon erhalten wurden (d.s. 42,4%; für Scillaridin A, $C_{24}H_{30}O_3$, aus dem Triglykosid $C_{42}H_{62}O_{18}$ ber. 42,9%).

Das bei der Hydrolyse erhaltene rohe Aglykon wurde mit etwas Methanol gewaschen und dann aus abs. Alkohol umkristallisiert. Zur vollständigen Lösung war die 450fache Menge des siedenden Lösungsmittels erforderlich. Das Aglykon unterschied sich in seinen Löslichkeitseigenschaften, in der Liebermann'schen Farbreaktion und in der Kristallform nicht von einem Scillaridin-A-Präparat, das aus Scillaren A hergestellt war²⁾. Smp. eines zweimal umkristallisierten Präparates: 250—255° (Zers.); Misch-Smp. mit Scillaridin A aus Scillaren A ohne Depression.

Optische Drehung. 0,1900 g Aglykon in 20 cm³ Chloroform-Methanol (Volumenverhältnis 4:1); 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -1,20^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = -63,2^{\circ} \pm 1^{\circ}$.

Für Scillaridin A wurde früher im gleichen Lösungsmittelgemisch - 62,8° angegeben³⁾. Auch bei der Liebermann'schen Farbreaktion liessen sich bei den Präparaten verschiedener Herkunft weder qualitative noch quantitative Unterschiede beobachten.

¹⁾ Dieses Derivat wurde in unserem Laboratorium von Frau Dr. Ch. Schein-Emden hergestellt.

²⁾ Vgl. die Fig. der Kristalle in Helv. **16**, 714 (1933).

³⁾ A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, Helv. **16**, 727 (1933).

Die wässrige Zuckerlösung wurde nach dem Abtrennen der letzten Reste des Aglykons nochmals während längerer Zeit bei einer Schwefelsäurekonzentration von 1—2% im Dampfbad erwärmt, um die Hydrolyse des Zuckerrests mit Sicherheit zu Ende zu führen. Das Volumen der sauren Lösung wurde dann auf 50 cm³ ergänzt. Davon wurden 10 cm³ mit Natronlauge neutralisiert und auf 30 cm³ verdünnt. Die Bestimmung des Zuckers nach *Fehling-Lehmann-Schoorl*¹⁾ ergab 0,025 g²⁾, was für die ganze Zuckerlösung 0,125 g oder 58,9% der für den Hydrolysenversuch eingesetzten Menge von Glucoscellaren A ausmacht³⁾. (Ber. für 1 Mol Rhamnose + 2 Mol Glucose: 61,4%.) Die übriggebliebene Zuckerlösung neutralisierten wir mit Bariumcarbonat und dampften sie nach dem Abfiltrieren der Bariumsalze zur Trockne. Der Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen, die Lösung klar filtriert und mit Wasser auf 25 cm³ ergänzt. Eine Probe von 10 cm³ dieser Lösung wurde wieder nach *Fehling-Lehmann-Schoorl* titriert. Den Rest (15 cm³) überliessen wir der Einwirkung von Presshefe während 4 Std. bei 35° und titrierten dann die nicht vergärbare Rhamnose nach dem Abtrennen der Lösung von der Hefe. Auf das Gesamtvolumen von 25 cm³ bezogen, ergaben die Zuckerbestimmungen vor der Vergärung 76 mg Zucker und nach der Vergärung 26 mg (beide als Rhamnose bestimmt). Die Hefe hatte demnach 2/3 des Zuckers vergoren. Da es sich bei den Zuckern, wie wir später sehen werden, um Rhamnose und Glucose handelt, so enthält Glucoscellaren A 1 Mol Rhamnose und 2 Mol Glucose.

2. Saure Hydrolyse von Glucoscellaren A bei 40°. Die Lösung von 0,498 g hochvakuumtrockenem Glucoscellaren A in 50 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure blieb im Wasserbad bei 40° unter häufigem Umschwenken stehen. Schon bald schieden sich aus der anfangs klaren Lösung schwerlösliche Anteile aus, die z. T. aus Aglykon, z. T. indessen aus einer schwerer löslichen Modifikation von Glucoscellaren A bestanden. Nach zweitägigem Aufbewahren bei 40° liess man den Ansatz noch 3 Tage bei Zimmertemperatur stehen und filtrierte dann den Niederschlag ab. Eine kleine Probe (5 cm³) des auf 100 cm³ verdünnten Filtrates wurde eine Std. im Dampfbad erwärmt: es zeigte sich dabei keine weitere Ausscheidung, so dass angenommen werden konnte, dass die gesamte Glykosidmenge zum Aglykon abgebaut worden war.

Das abfiltrierte und mit Wasser neutral gewaschene Aglykon (0,226 g) wurde mit 10 cm³ Methanol verrieben. Zur Abtrennung von eventuell miteingeschlossenem schwerlöslichem Glykosid wurde die Suspension auf dem Dampfbad aufgekocht und dann filtriert, wobei 0,1801 g ungelöst blieben. Den Eindampfrückstand der Lösung behandelte man erneut mit wässriger Schwefelsäure und filtrierte nach dem Erkalten den ungelösten Anteil (33 mg) ab. Die Gesamtausbeute an Scillaridin A betrug demnach 0,2131 g (42,8%; ber. 42,9%).

Die saure Zuckerlösung (95 cm³) wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert und nach dem Abfiltrieren der Bariumsalze im Vakuum eingedampft. Den Eindampfrückstand vertrieb man mit 6 cm³ abs. Alkohol, wobei ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver (0,258 g) zurückblieb, das, wie im folgenden Abschnitt gezeigt wird, im wesentlichen aus einem Trisaccharid bestand. Eine kleine Menge Zucker konnte noch aus der mit der glykosidhaltigen Aglykonfraktion nachträglich ausgeführten Hydrolyse erhalten werden (0,012 g), so dass die Gesamtausbeute an Zucker 0,284 g betrug (57,0%; für ein Trisaccharid bestehend aus 1 Mol Rhamnose und 2 Mol Glucose ber. 57,1%).

3. Reinigung und Eigenschaften der Scillatriose. Zur Gewinnung einer etwas grösseren Menge haben wir aus mehreren Hydrolysen das rohe Trisaccharid gesammelt. 1,5 g davon wurden in 7,5 cm³ Wasser gelöst. Die nicht ganz blankte Lösung versetzte

¹⁾ *A. W. van der Haar*, Monosaccharide und Aldehydsäuren, Gebr. Borntraeger, Berlin 1920, S. 120.

²⁾ Wir haben für das Gemisch Rhamnose-Glucose 1 : 2 eine Tab. aufgestellt, aus der sich die dem Thiosulfatverbrauch entsprechende Menge Zuckergemisch ablesen liess.

³⁾ Wir haben die nicht zur Titration verwendete saure Zuckerlösung nochmals während längerer Zeit auf dem Dampfbad erhitzt und erneut mit einer kleinen Probe eine Zuckerbestimmung ausgeführt; sie ergab denselben Wert.

man langsam mit 37,5 cm³ abs. Alkohol und filtrierte dann. Nach weiterer Zugabe von 112,5 cm³ abs. Alkohol zum klaren Filtrat begann die Kristallisation des Zuckers an den Stellen des Gefäßes, die mit einem Glasstab gekratzt wurden. Nach 3 Tagen wurden die abgeschiedenen Kristalle abfiltriert (1,06 g), worauf man den Zucker durch Umkristallisation aus Wasser-Alkohol weiter reinigte. Man erhielt so 0,85 g eines einheitlichen, schön kristallisierten Präparates (siehe Fig. 3), das bei 216° schmolz. Es ist in Wasser leicht löslich, fast unlöslich in Alkohol. Beim Trocknen im Hochvakuum bei 100° zeigte es keine Gewichtsabnahme.

C₁₅H₃₂O₁₅ (488,44) Ber. C 44,26 H 6,60% Gef. C 44,35; 44,51 H 6,60; 6,58%

Die Analysenwerte stehen im Einklang mit den errechneten Werten für ein Trisaccharid, das aus 1 Mol Rhamnose und 2 Mol Glucose besteht. Die Scillatriose reduziert *Fehling'sche* Lösung; ihr Reduktionsvermögen beträgt rund 1/3 desjenigen der Glucose.

Optische Drehung. 0,2506 g Scillatriose in 20 cm³ Wasser gelöst; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -0,48^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -19,2^\circ \pm 1^\circ$.

Die Scillatriose wird durch Erwärmen mit 2,5-proz. Schwefelsäure in die einzelnen Zuckerkomponenten aufgespalten: Die Lösung von 0,165 g des Trisaccharids in 10 cm³ 2,5-proz. Schwefelsäure wurde 32 Std. im Dampfbad erhitzt und dann im Messkölbchen mit Wasser auf 50 cm³ verdünnt. Mit einem Teil dieser Lösung wurden Zuckerbestimmungen nach *Fehling-Lehmann-Schoorl* durchgeführt, wobei unter Berücksichtigung, dass ein Gemisch aus Rhamnose und Glucose vorlag, Werte erhalten wurden, die zeigten, dass die Hydrolyse des Trisaccharids vollständig war. Die übrigbleibende Zuckerlösung (40 cm³) wurde mit 1,2 g Bariumcarbonat neutralisiert, klar filtriert, konzentriert, nochmals durch eine dünne Talkschiicht filtriert und mit Wasser im Messkölbchen auf 50 cm³ aufgefüllt. Eine erneute Zuckerbestimmung ergab für diese Lösung noch 0,1335 g Monosaccharide (als Rhamnose-Glucose 1:2 abgelesen, siehe Anmerkung 2 auf Seite 2506). In Übereinstimmung mit diesem Gehalt fanden wir für den Drehwert der Lösung $[\alpha]_D^{20} = +38,4^\circ$. Für ein Gemisch von Rhamnose (+8,4°) und Glucose (+52,3°) im Verhältnis 1:2 berechnet sich ein Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = +38,6^\circ$, was bestätigt, dass sich die Scillatriose aus 1 Mol Rhamnose und 2 Mol Glucose aufbaut.

Beim Vergären der Zuckerlösung mit Hefe wurden 29,3% Zucker nicht abgebaut (Ber. für den Rhamnoseanteil: 31,3%).

In einem weiteren Versuch isolierten wir den nicht vergorenen Zuckeranteil durch Einengen der von der Presshefe abgetrennten Lösung zur Trockne und Aufnehmen des Eindampfrückstandes mit Aceton. Aus dieser Lösung schied sich beim langsamen Abdunsten die Rhamnose in kristallisierter Form ab.

Optische Drehung dieses Präparates. 0,0406 g Substanz in 2,05 cm³ Wasser; 0,5-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,085^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +8,6^\circ \pm 2^\circ$ (Endwert).

In der Literatur wird für Rhamnose ein Drehwert $[\alpha]_D^{20} = +8,4^\circ$ angegeben.

4. Enzymatischer Abbau von Glucoscellaren A mit β -Glucosidase zum Scillaren A¹⁾. Die frisch bereitete Lösung von 440 mg Glucoscellaren A in 20 cm³ 0,1-n. Acetatpuffer (pH 4,6) wurde mit einer klaren Lösung von 100 mg eines aus bitteren Mandeln bereiteten Emulsinpräparates²⁾ in 10 cm³ Wasser versetzt und mit Wasser auf 100 cm³ verdünnt. Bei der Zugabe der Enzymlösung entstand eine starke Trübung. Man liess das Gemisch bei Gegenwart von etwas Toluol unter häufigem Umschütteln 36 Std. bei 30° stehen, wobei sich etwas flockige Substanz abgeschieden hatte. Nach Zugabe von weiteren 50 mg Emulsin in 2,5 cm³ Wasser wurde der Ansatz noch weitere 20 Std. bei 30° gehalten. Dann wurde die Lösung mit Alkohol verdünnt und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Den Eindampfrückstand fraktionierte man in einer 90 cm hohen Säule aus 300 g Diatomitstein, der 25% Wasser enthielt, entsprechend der früher angegebenen Technik³⁾. Das

1) Diese Versuche sind von Herrn Dr. J. Renz ausgeführt worden.

2) R. Willstätter & W. Csányi, Z. physiol. Ch. 117, 172 (1921).

3) A. Stoll & W. Kreis, Helv. 34, 1431 (1951).

trockene Präparat wurde mit etwas Diatomitstein vermischt und so auf die Säule gebracht, worauf mit wassergesättigtem Essigester entwickelt wurde. Mit den ersten 100 cm³ Lösungsmittel liess sich keine Substanz eluieren, mit den folgenden 800 cm³ Essigester konnten 28,6 mg Scillaren A, das schön kristallisierte, eluiert werden. Dies entspricht einer Spaltung von ca. 8%; denn bei vollständiger Zerlegung von 440 mg Glucoscellaren A in Scillaren A und Glucose sollten 357 mg Scillaren A gebildet werden.

Ein Versuch, Glucoscellaren A mit α -Glucosidase aus Hefe zu spalten, verlief negativ. 450 mg Glucoscellaren A wurden in 10 cm³ 1/3-m. Phosphatpuffer (pH 6,8) aufgenommen. Nach Zugabe von 2 cm³ einer durch Autolyse von Hefe mit Toluol frisch hergestellten Hefelösung, die gegenüber Maltose stark wirksam war, verdünnte man auf 100 cm³ mit Wasser und hielt das Gemisch bei Gegenwart von etwas Toluol 36 Std. unter häufigem Umschütteln bei 30°. Die Lösung wurde dann eingedampft, und der Eindampfrückstand analog wie im Versuch mit β -Glucosidase in der Diatomitstein-Säule untersucht. Es konnte keine Spur von Scillaren A nachgewiesen werden.

5. Enzymatischer Abbau von Glucoscellaren A mit Strophanthobiase. Die Lösung von 1 g Glucoscellaren A in 50 cm³ Wasser wurde mit der Lösung von 5 g eines Strophanthobiasepräparates¹⁾ in 300 cm³ Wasser und 2,5 cm³ Toluol während 3 Tagen bei Zimmertemperatur geschüttelt, wobei sich die anfänglich klare Lösung durch eine feinkristalline Suspension nach und nach trübte. Man filtrierte diese durch eine dünne Talkschiicht ab und nahm die feinen Kristalle in Methanol auf; die Lösung enthielt 680 mg abgebautes Glykosid. Das wässrige Filtrat wurde auf 50 cm³ eingengt und dann viermal mit je 25 cm³ Alkohol-Chloroform (1:9) ausgeschüttelt. Die Chloroform-Alkohol-Extrakte enthielten nur noch 10 mg ölige Substanz, die verworfen wurde. Die verbleibende wässrige Lösung wurde, wie weiter unten beschrieben wird, auf Zucker verarbeitet.

Die Glykosidfraktion (680 mg) wurde in einer 4 Meter hohen Verteilungssäule aus wasserhaltigem Diatomitstein mit wassergesättigtem Essigester fraktioniert²⁾. Die Hauptmenge der Substanz befand sich bereits in den ersten Fraktionen und kristallisierte beim Eindampfen der Lösungen. Es konnten so 300 mg Kristalle direkt, und aus den Mutterlaugen noch weitere 160 mg Kristalle erhalten werden. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol erhielt man lange, kompakte Prismen, die bei 219–222° schmolzen. Die Kristallisation aus Methanol-Wasser lieferte die für Proscillaridin A charakteristischen Tafeln³⁾, die bei 215–218° schmolzen. Die Präparate ergaben mit authentischem Proscillaridin A in der Mischprobe keine Schmelzpunktsdepression.

*Optische Drehung*⁴⁾. 11,690 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{19} = -1,07^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -91,5^\circ \pm 2^\circ$.

Die wässrige Lösung aus der Fermentation wurde nach Abtrennung von Proscillaridin A im Vakuum zur Trockne eingedampft. Den Rückstand nahm man in 10 cm³

¹⁾ Hergestellt aus Strophanthus-kombé-Samen nach *W. A. Jacobs & A. Hoffmann*, J. Biol. Chem. **69**, 157 (1926); *A. Stoll & J. Renz*, Enzymologia **7**, 368 (1939).

²⁾ Vgl. *A. Stoll & W. Kreis*, Helv. **34**, 1431 (1951).

³⁾ Vgl. *A. Stoll & Mitarb.*, Helv. **16**, 714 (1933), Fig. 2.

⁴⁾ Da der Drehwert des durch enzymatischen Abbau aus Glucoscellaren A erhaltenen Proscillaridins A etwas höher liegt, als in der ersten Arbeit über dieses Glykosid angegeben wurde (Helv. **16**, 730 (1933)), so haben wir die Konstanten von einheitlichem, durch eine Verteilungssäule und die Chromatographie an Aluminiumoxyd gereinigtem Proscillaridin A überprüft. Wir erhielten: Smp. 219–222° (aus Methanol kristallisiert) und $[\alpha]_D^{21} = -91,9^\circ$ (in Methanol). Das früher beim Abbau mit Strophanthusenzym aus Scillaren A isolierte Proscillaridin A hatte einen Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = -94,8^\circ$ (in Methanol, siehe *A. Stoll & J. Renz*, Enzymologia **7**, 375 (1939)); dieser Wert stimmt mit den in der vorliegenden Arbeit ermittelten Werten innerhalb der Fehlergrenze überein. Das früher (loc. cit.) durch fraktionierte Kristallisation aus dem Seilla-Glykosidgemisch abgetrennte Proscillaridin A dürfte auf Grund der angegebenen Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -83^\circ$ (in Methanol) noch nicht ganz einheitlich gewesen sein.

Wasser auf und fällte das Enzymmaterial durch Zugabe von 40 cm³ Methanol. Das klare Filtrat wurde erneut im Vakuum eingedampft und die Ausfällung von Verunreinigungen wiederholt. Beim Eindampfen der filtrierten klaren Lösung erhielt man 770 mg eines bräunlichen Schaumes, der *Fehling'sche* Lösung stark reduzierte. Er wurde in 2 cm³ Wasser gelöst. Beim Verdünnen mit 18 cm³ abs. Alkohol schieden sich nochmals Flocken ab, von denen abfiltriert wurde. Eindampfen und Fällen aus konzentriert wässriger Lösung mit Alkohol wurde noch dreimal wiederholt, und man erhielt schliesslich 340 mg eines schwach gelblichen Sirups. Bei der papierchromatographischen Untersuchung¹⁾ dieses Sirups konnte nur D-Glucose nachgewiesen werden.

190 mg des Zuckersirups wurden während 16 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss mit 20 cm³ n. methanolischer Salzsäure gekocht. Dann neutralisierte man mit frisch bereitetem Silbercarbonat, trennte von den abgeschiedenen Silbersalzen ab und dampfte das Filtrat im Vakuum ein. Aus dem hinterbleibenden gelblich gefärbten Sirup schied sich beim Anreiben mit Methanol-Aceton 110 mg farblose Prismen vom Schmelzpunkt 156—166° ab. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol-Aceton stieg der Schmelzpunkt auf 169—170°. Die Mischprobe mit authentischem α -Methyl-D-glucosid-⟨1,5⟩ ergab keine Depression.

Optische Drehung. 11,765 mg in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +1,97^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +167,4^\circ \pm 2^\circ$.

Das Vergleichspräparat von authentischem α -Methyl-D-glucosid-⟨1,5⟩ hatte den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = +165,1^\circ \pm 2^\circ$ (in Methanol).

II. Glucoscilliphäosid und Scilliphäosid.

Über die wichtigsten Daten der beiden Glykoside Glucoscilliphäosid und Scilliphäosid orientiert die folgende Tab. 4²⁾:

Tabelle 4.
Eigenschaften von Glucoscilliphäosid und Scilliphäosid.

	Bruttoformel	$[\alpha]_D^{20}$ (in Methanol)	Smp.	<i>Liebermann'sche</i> Farbreaktion
Glucoscilliphäosid .	C ₃₆ H ₅₂ O ₁₄	- 68,0°	269—270° ^{a)}	rosa - kupferrot - oliv
Scilliphäosid. . . .	C ₃₀ H ₄₂ O ₉	- 73,9°	249—252° ^{b)}	rosa - kupferrot - oliv

^{a)} Aus Methanol-Wasser kristallisiert.

^{b)} Aus Aceton kristallisiert.

1. Saure Hydrolyse von Glucoscilliphäosid. Die Suspension von 500 mg Glucoscilliphäosid in 250 cm³ Wasser von 60° wurde unter Rühren mit 250 cm³ 2-n. Schwefelsäure versetzt, wobei das Glykosid zum grössten Teil in Lösung ging. Bei weiterem Rühren der Reaktionslösung bei 60° begann nach etwa 10 Min. die Ausscheidung des Aglykons als milchige Trübung. Nach 4 Std. liess man erkalten und filtrierte den weissen, kristallin gewordenen Niederschlag ab, der nach dem Waschen mit Wasser und Trocknen 230 mg wog. Aus dem sauren Filtrat und dem Waschwasser konnten durch Ausschütteln mit Chloroform nur noch 20 mg amorphes Aglykon erhalten werden.

Das kristallisierte Aglykon (230 mg) wurde an 10 g alkalifreiem Aluminiumoxyd chromatographiert. Aus den mit Benzol-Chloroform (1:4) eluierten Fraktionen liessen sich

¹⁾ Vgl. die Methodik von *A. Stoll & A. Rüeegger*, *Helv. physiol. pharmacol. acta* **10**, 385 (1952).

²⁾ *A. Stoll & W. Kreis*, *Helv.* **34**, 1431 (1951).

120 mg Kristalle isolieren, die beim Umkristallisieren aus Aceton-Äther in langen, dünnen Prismen vom Smp. 230—236° (Zers.) erschienen¹⁾.

$C_{24}H_{30}O_4$ (382,48) Ber. C 75,36 H 7,91% Gef. C 75,42 H 8,20%

Die Analyse zeigt, dass ein Anhydrogenin vorliegt. Anhydro-scilliphäosidin enthält kein Methoxyl.

Optische Drehung. 12,620 mg Substanz in 2,00 cm³ Aceton; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -0,52^0 \pm 0,02^0$; $[\alpha]_D^{20} = -41,2^0 \pm 2^0$.

Bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zeigt das Anhydro-scilliphäosidin dasselbe Farbenspiel wie das Glykosid von Rosa über Kupferrot nach Oliv.

Die saure wässrige Lösung des Hydrolysenversuches, die nach dem Abtrennen des Aglykons zurückblieb, wurde auf den Zucker untersucht. Kurzes Erwärmen auf 60° im Vakuum befreite sie von Chloroformresten; die Schwefelsäure wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert. Nach dem Abtrennen der Lösung von den Bariumsalzen und Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in 20 cm³ Methanol aufgenommen, die trübe Lösung durch etwas Talk und Tierkohle filtriert und dann eingedampft. Man erhielt 200 mg einer farblosen, schaumigen Substanz, die in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid acetyliert wurde. Das Reaktionsgemisch wurde nach 24stündigem Stehen bei 20° und einstündigem Erwärmen auf 60° eingedampft. Den zurückbleibenden Sirup nahm man in 40 cm³ Chloroform auf, schüttelte die Chloroformlösung der Reihe nach mit 2-n. Salzsäure, verd. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser aus und verdampfte sie nach dem Trocknen mit Natriumsulfat zur Trockne. Der weisse, schaumige Rückstand (280 mg) kristallisierte beim Anreiben mit abs. Alkohol in zu Büscheln angeordneten Nadelchen. Nach nochmaligem Umkristallisieren aus abs. Alkohol-Petroläther, Smp. 96—97°; Misch-Smp. mit Hexacetyl-scillabiose aus Scillaren A²⁾ ebenfalls 96—97°. Zur Analyse wurde die Acetylverbindung noch aus abs. Alkohol umkristallisiert, dann mehrere Tage bei Zimmertemperatur über P₂O₅ getrocknet und anschliessend im Hochvakuum 4 Std. bei ca. 60° nachgetrocknet.

$C_{24}H_{34}O_{16}$ (578,51) Ber. C 49,82 H 5,92% Gef. C 49,97; 50,01 H 6,11; 6,21%

Optische Drehung. 20,248 mg der wie oben angegeben getrockneten Substanz in 2,00 cm³ Chloroform gelöst; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -1,02^0 \pm 0,02^0$; $[\alpha]_D^{20} = -50,4^0 \pm 2^0$.

Ein aus Scillaren A dargestelltes Vergleichspräparat von Hexacetyl-scillabiose zeigte den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = -49,8^0 \pm 2^0$ (in Chloroform).

2. Saure Hydrolyse von Scilliphäosid. 600 mg reines Scilliphäosid vom Smp. 249—252° wurden fein zerrieben und in 300 cm³ Wasser suspendiert. Man erwärmte auf 60° und liess unter Rühren 300 cm³ 2-n. Schwefelsäure zutropfen, worauf man die Suspension während 4 Std. bei 60° weiterührte. Nach dem Abkühlen wurde von ungelösten Anteilen abfiltriert und mit Wasser neutral gewaschen. Die Fällung (340 mg), die aus Aglykon bestand, wurde zur Reinigung an 15 g alkalifreiem Aluminiumoxyd chromatographiert. Aus den Benzol-Chloroform-(1:4)-Fraktionen erhielt man 140 mg Nadeln, die bei 230—236° unter Zersetzung schmolzen.

$C_{24}H_{30}O_4$ (382,48) Ber. C 75,36 H 7,91% Gef. C 75,53; 75,53 H 7,85; 8,19%

Die Substanz ist methoxylfrei.

Optische Drehung. 12,743 mg Substanz in 2,00 cm³ Aceton; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -0,51^0 \pm 0,02^0$; $[\alpha]_D^{20} = -40,0^0 \pm 2^0$.

Das Spaltprodukt aus Scilliphäosid ist mit dem Anhydrogenin aus Glucoscilliphäosid identisch.

¹⁾ Das Anhydro-scilliphäosidin verändert sich beim Umkristallisieren aus Methanol. Die Analysenresultate sprechen für die Bildung eines Halbacetals; denn die neue Verbindung enthielt Methoxyl. Wir werden in einer späteren Arbeit darauf zurückkommen.

²⁾ A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker & A. Hofmann, Helv. **16**, 729 (1933).

Die wässrige Lösung der Hydrolyse, in welcher der Zucker enthalten ist, wurde mit Chloroform ausgeschüttelt und dann mit einer heissen Aufschlammung von Bariumcarbonat neutralisiert. Die durch Kieselgur (Hyflo) klar filtrierte Lösung wurde im Vakuum konzentriert, von etwas abgeschiedenen Bariumsalzen filtriert und dann ganz zur Trockne gebracht. Den Eindampfrückstand zog man mit 20 cm³ Wasser aus, filtrierte durch wenig Talk und etwas Tierkohle und dampfte erneut ein. Den zurückbleibenden gelben Schaum nahm man nun in 10 cm³ Methanol auf, filtrierte die trübe Lösung und verdampfte erneut zur Trockne. Es blieben im Kolben ca. 200 mg eines etwas klebrigen, gelben Schaumes zurück, der mit 3 Tropfen Wasser zu einem Sirup gelöst wurde. Dieser wurde nun tropfenweise mit Aceton versetzt, ohne dass eine Trübung auftrat, und mit L-Rhamnose angeimpft, worauf nach ca. 1 Std. die Kristallisation einsetzte. Die Kristalle wurden nach 2 Tagen abfiltriert, mit wenig kaltem Aceton gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther lag der Smp. bei 70–90°. Ein authentisches Präparat von L-Rhamnosehydrat zeigte denselben unscharfen Smp. und gab mit Zucker aus Scilliphäosid keine Depression.

$C_6H_{12}O_5$ (164,16) Ber. C 43,90 H 7,37% Gef. C 43,99 H 7,35%

Optische Drehung. 20,000 mg Zucker in 2,00 cm³ Wasser; nach 5 Std. konstant; 1-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,09^0 \pm 0,02^0$; $[\alpha]_D^{20} = +9^0 \pm 2^0$.

L-Rhamnose zeigt nach Literaturangaben in Wasser den Endwert von $[\alpha]_D^{20} = +8,5^0 \pm 2^0$.

p-Bromphenylhydrazon. 190 mg sirupöse Mutterlaugen der oben beschriebenen Kristallisation des Zuckers und 290 mg frisch im Hochvakuum sublimiertes p-Bromphenylhydrazin wurden in 2 cm³ Methanol aufgenommen und 20 Min. am Rückfluss gekocht. Der nach dem Eindampfen der gelben Lösung im Vakuum hinterbliebene Rückstand kristallisierte nach Zufügen von 0,4 cm³ abs. Alkohol. Vorsichtige Ätherzugabe vervollständigte die Kristallisation. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther wurden 90 mg des in quadratischen Plättchen kristallisierenden p-Bromphenylhydrazon erhalten, Smp. 168–168,5°; Misch-Smp. mit L-Rhamnose-p-bromphenylhydrazon (168–168,5°¹⁾) ebenfalls 168–168,5°.

Optische Drehung. 13,765 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr;

nach ca. 5 Min.: $\alpha_D^{19} = -0,15^0 \pm 0,02^0$; $[\alpha]_D^{19} = -10,9^0 \pm 2^0$

nach 24 Std.: $\alpha_D^{19} = +0,29^0 \pm 0,02^0$; $[\alpha]_D^{19} = +21,1^0 \pm 2^0$

Für L-Rhamnose-p-bromphenylhydrazon wird der Drehwert $[\alpha]_D^{20} = +24,7^0 \pm 4^0$ (nach 24 Std. in Methanol²⁾) angegeben.

3. Abbau von Glucoscelliphäosid zum Scilliphäosid mit Strophanthobiose. 500 mg fein gepulvertes Glucoscelliphäosid wurden mit der Lösung von 3 g eines Strophanthobiasepräparates aus Strophanthus kombé³⁾ in 500 cm³ Wasser vermischt und nach Zugabe von 2,5 cm³ Toluol 3 Tage bei Zimmertemperatur geschüttelt. Dann wurde die trübe Lösung im Vakuum vorsichtig auf etwa 60 cm³ konzentriert, wobei starke Schaumbildung auftrat. Die eingeengte Lösung wurde viermal mit je 150 cm³ Chloroform-Äthanol (9:1) ausgeschüttelt. Die vereinigten, jeweils durch Zentrifugieren abgetrennten Chloroform-Alkohol-Auszüge ergaben nach dem Eindampfen 302 mg gelben Schaum, der nach Benetzen mit einigen Tropfen 96-proz. Methanol sofort kristallisierte. Das rohe Glykosid wurde in einer 4 m hohen Diatomitsteinsäule⁴⁾ zwischen Wasser und Essigester verteilt. Das Ergebnis dieser Verteilung ist in Fig. 5 wiedergegeben.

Die Spitzenfraktionen 4, 5 und 6 wurden vereinigt und ergaben 188 mg Substanz, die aus Methanol und dann aus Aceton umkristallisiert wurde. Man erhielt farblose Kristalle, Smp. 249–252°. Sowohl nach der Lage des Maximums in der Verteilungskurve als

¹⁾ E. Votoček, B. 43, 481 (1910).

²⁾ N. M. Shah, K. Meyer & T. Reichstein, Pharm. acta Helv. 24, 140 (1949).

³⁾ Vgl. A. Stoll & J. Renz, Enzymologia 7, 362 (1939).

⁴⁾ Vgl. A. Stoll & W. Kreis, Helv. 34, 1431 (1951).

auch durch seine übrigen Eigenschaften erweist sich das Abbauprodukt aus Glucosylliphäosid als identisch mit Scylliphäosid.

$C_{30}H_{42}O_9$ (546,64) Ber. C 65,91 H 7,74% Gef. C 66,12; 65,66 H 7,91; 7,75%
Optische Drehung. 17,861 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -1,29^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -72,2^\circ \pm 5^\circ$.

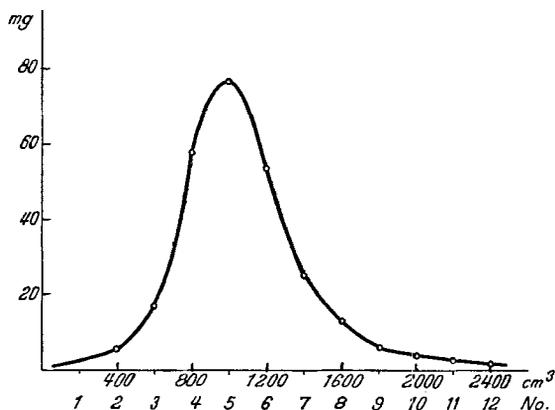


Fig. 5.

Verteilung des durch enzymatischen Abbau gewonnenen Produktes aus Glucosylliphäosid zwischen Essigester und Wasser.

Die vom Scylliphäosid befreite wässrige Lösung aus dem eben beschriebenen Versuch wurde auf den darin enthaltenen Zucker verarbeitet. Sie wurde eingedampft und der verbleibende braune Schaum mit 80-proz. Methanol ausgezogen. Die Methanolextrakte wurden durch Filtrieren geklärt und wieder eingedampft. Den Eindampfrückstand nahm man erneut in 10 cm³ 80-proz. Methanol auf, filtrierte von etwas flockigem Material ab, kochte das Filtrat mit etwas Tierkohle auf und dampfte nach dem Filtrieren wiederum ein. Dieser Rückstand wurde nun in 5 cm³ Methanol aufgenommen, wobei nochmals einige Flocken ungelöst blieben, von denen abfiltriert wurde. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man ca. 180 mg eines gelben, klebrigen Schaumes, der *Fehling'sche* Lösung rasch und stark reduzierte. Nach zwölfstündigem Trocknen im Vakuum über Calciumchlorid und einstündigem Nachtrocknen im Hochvakuum bei 60° wurde der Schaum im Kölbchen mit 16 cm³ n. methanolischer Salzsäure versetzt. Man kochte die gelbliche Lösung über Nacht unter Feuchtigkeitsausschluss am Rückfluss und neutralisierte anschließend mit frisch gefälltem Silbercarbonat. Die durch Filtration geklärte Methanol-lösung wurde mit wenig Kohle behandelt und eingedampft. Der Eindampfrückstand wurde mit 5 cm³ Methanol aufgenommen, die entstandene trübe Lösung durch Talk und etwas Tierkohle filtrierte und wieder eingedampft, wobei ein hellgelbes, zähes Öl zurückblieb, das mit 2 Tropfen Methanol versetzt wurde. Nach dem Impfen mit α -Methyl-D-glucosid-(1,5) trat Kristallisation ein, die man durch vorsichtigen Zusatz von Aceton bei 0° vervollständigte. Die gelblichen Nadelchen (50 mg) schmolzen bei 150—160°. Zur Reinigung wurde die Substanz im Hochvakuum bei 140—160° Badtemperatur und 0,01 mm sublimiert, und das Sublimat aus Methanol umkristallisiert: farblose Nadeln, Smp. 164—166°; Misch-Smp. mit α -Methyl-D-glucosid-(1,5)¹⁾ (Smp. 164—166°) ohne Depression.

Optische Drehung. 13,055 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +2,15^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +164,7^\circ \pm 2^\circ$.

¹⁾ B. Helferich & W. Schäfer, Organic Synth. Coll. Vol. I, 364.

Das Vergleichspräparat von authentischem α -Methyl-D-glucosid hatte den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = +165,1^\circ \pm 2^\circ$ (in Methanol).

Der beim enzymatischen Abbau von Glucoscelliphäosid zu Scilliphäosid erhaltene Zucker ist daher D-Glucose.

III. Scilliglaucosid.

Scilliglaucosid¹⁾ ist bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion durch einen Farbübergang von Rosa nach Blaugrün gekennzeichnet. Sein Smp. liegt bei 164–166°. Gegenüber den Glykosiden der Scillaren-A-Gruppe und der Scilliphäosid-Gruppe, die eine negative optische Drehung aufweisen, unterscheidet sich das Scilliglaucosid besonders auch durch seinen positiven Drehwert ($[\alpha]_D^{20} = +106^\circ$, in Methanol).

Als gut kristallisierendes Derivat wurde das Tetraacetyl-scilliglaucosid hergestellt. 300 mg Scilliglaucosid blieben in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid bei Zimmertemperatur 2–3 Tage stehen, worauf man im Vakuum eindampfte und den Eindampfrückstand in Chloroform aufnahm. Die zunächst mit verdünnter Salzsäure, dann mit verdünnter Sodalösung und dann mit Wasser gewaschene Chloroformlösung hinterliess beim Eindampfen 400 mg einer weissen, schaumigen Substanz, die, mit Aceton angerieben sofort in Nadeln kristallisierte. Aus Chloroform-Benzol büschelförmig angeordnete Prismen, Smp. 150–180°. Zur weitem Reinigung wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform eluierten Fraktionen wurden aus Methanol umkristallisiert. Die dabei erhaltenen Prismen zeigten einen Doppel-Smp. bei 154–156° und bei 199–200°. $C_{38}H_{48}O_{14}$ (728,76) Ber. C 62,62 H 6,64% Gef. C 62,71; 62,74 H 6,82; 6,95%

Nach der Analyse liegt eine Tetraacetylverbindung vor.

1. Saure Hydrolyse von Scilliglaucosid in der Wärme. Eine im Dampfbad erwärmte Suspension von 3 g fein gepulvertem Scilliglaucosid in 75 cm³ Wasser wurde mit 75 cm³ 2-proz. Schwefelsäure versetzt. Bei 1½stündigem Erwärmen auf dem Dampfbad bildete sich eine Ausscheidung, die abfiltriert und neutral gewaschen wurde. Sie bestand aus 2 g eines hellgelb gefärbten, kristallisierten Aglykon-Gemisches. Durch Ausschütteln des Filtrats mit Chloroform liess sich keine nennenswerte Menge von Aglykon mehr fassen. Das kristallisierte Aglykonpräparat löste man in warmem Chloroform, engte die Lösung etwas ein und versetzte sie mit Benzol bis zum Verhältnis Benzol-Chloroform 3:1. Die schwach getrübe Lösung wurde filtriert²⁾ und dann an 60 g alkalifreiem Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Säule wurde mit den in der folgenden Tab. 5 aufgeführten Lösungsmitteln eluiert.

Aus der Fraktion 1 kristallisierten aus Aceton 370 mg eines Präparates, das nach dem Umkristallisieren aus Chloroform und aus Methanol in farblosen Plättchen vom Smp. 222–228° erhalten wurde.

$C_{24}H_{28}O_4$ (380,46) Ber. C 75,76 H 7,42% Gef. C 75,49 H 7,39%

Die Analyse lässt auf ein Monoanhydro-scilliglaucosidin schliessen.

Optische Drehung. 0,0312 g Substanz in 5,00 cm³ Chloroform; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -1,87^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -149,8^\circ \pm 3^\circ$.

Die Fraktionen 8–12 des Chromatographieversuchs lieferten 640 mg rohe Kristalle, die nach dem Umkristallisieren aus wenig Aceton, dann aus Methanol-Wasser und aus Aceton-Äther schliesslich in farblosen Polyedern erschienen. Sie schmolzen bei 245–248° unter Braunfärbung und Aufschäumen.

$C_{24}H_{30}O_5$ Ber. C 72,33 H 7,60 akt. H 0,51%
(398,48) Gef. „ 72,04; 72,08 „ 7,70; 7,61 „ „ 0,52%

Die Analysenwerte sprechen für das Vorliegen des primären Aglykons, des Scilliglaucosidins.

¹⁾ A. Stoll & W. Kreis, Helv. 34, 1431 (1951).

²⁾ Diese Trübung bestand fast ausschliesslich aus Scilliglaucosidin.

Tabelle 5.

Chromatographie der Aglykon-Fraktion aus Scilliglaucosid.

No.	Lösungsmittel	g Rückstand	Smp. *)	$[\alpha]_D^{20}$
0	Benzol	—	—	—
1	Benzol-Chloroform 3:1 . .	0,56 krist.	180—250 ⁰	- 125 ⁰
2	„ „ 3:1 . .	0,15 „	228—234 ⁰	- 168 ⁰
3	„ „ 3:1 . .	0,06 „	220—230 ⁰	- 83 ⁰
4	„ „ 3:1 . .	0,08 „	185—188 ⁰	+ 130 ⁰
5	„ „ 3:1 . .	0,05 Öl	—	—
6	„ „ 3:1 . .	0,02 „	—	—
7	„ „ 1:1 . .	0,06 „	—	—
8	„ „ 1:1 . .	0,15 krist.	243—245 ⁰	+ 49 ⁰
9	„ „ 1:1 . .	0,11 „	240—244 ⁰	+ 48 ⁰
10	„ „ 1:4 . .	0,24 „	239—243 ⁰	+ 45 ⁰
11	„ „ 1:4 . .	0,15 „	242—246 ⁰	+ 44 ⁰
12	Chloroform	0,13 „	244—247 ⁰	+ 46 ⁰
13	Methanol	0,12 Schaum	—	—

*) Vor der Schmelzpunktsbestimmung wurden die Kristalle mit wenig Aceton und Aceton-Äther gewaschen.

Optische Drehung. 11,913 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,59^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $[\alpha]_D^{20} = +49,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$.

Bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zeigte das Aglykon den gleichen Farbwechsel wie das Glykosid, nämlich von Rosaviolett nach Blaugrün. Mit konz. Schwefelsäure färbt sich eine Probe von Scilliglaucosidin intensiv grün-schwarzviolett-braunviolett.

Acetyl-scilliglaucosidin. 840 mg rohes Scilliglaucosidin wurden in 8 cm³ abs. Pyridin gelöst und blieben nach Zugabe von 8 cm³ Essigsäureanhydrid 24 Std. bei 20⁰ und noch 1 Std. bei 60⁰ stehen. Der Rückstand der im Vakuum eingedampften Lösung wurde in Chloroform aufgenommen, und dieses mit 2-n. Salzsäure, dann verd. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung und mit Wasser ausgeschüttelt, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, wobei 870 mg bereits kristallisiertes Acetat erhalten wurden. Durch Umkristallisieren aus Chloroform-Benzol (1:2) und Chloroform-Aceton erhielt man farblose Kristalle, Smp. 218—221⁰. Zur Analyse wurde die Substanz noch aus Methanol kristallisiert — sie schmolz dann unter Zersetzung bei 224—227⁰ —, fein gepulvert und 4 Std. bei 100⁰ im Hochvakuum getrocknet.

C₂₆H₃₂O₆ (440,52) Ber. C 70,89 H 7,32% Gef. C 70,73; 70,97 H 7,10; 7,83%

Die Analyse stimmt auf eine Monoacetylverbindung.

Optische Drehung. 0,0412 g Substanz in 5,00 cm³ Chloroform; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{21} = +0,67^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $[\alpha]_D^{21} = +40,7^{\circ} \pm 2^{\circ}$.

2. Saure Hydrolyse von Scilliglaucosid in der Kälte. 5 g reines Scilliglaucosid löste man in 1 Liter Wasser und versetzte die auf 0—2⁰ abgekühlte Lösung mit 80 cm³ verd. Schwefelsäure (hergestellt aus 16 g konz. H₂SO₄ und 80 cm³ Wasser), worauf man die klare, farblose Lösung im Eiskasten aufbewahrte. Schon nach 30 Min. begann die Abscheidung des Aglykons in weissen kristallinen Körnern. Nach 3 Tagen wurde das ausgeschiedene Aglykon abfiltriert, mit Wasser neutral gewaschen und im Vakuum über CaCl₂ getrocknet (2,45 g). Aus dem Filtrat hatten sich nach einwöchigem Stehen bei 0⁰ nochmals 0,2 g Aglykon abgeschieden, so dass die Gesamtausbeute 2,65 g (ca. 70% d.Th.) betrug. Durch Umkristallisieren aus Aceton und Aceton-Äther erhielt man ein Präparat,

das mit dem primären Aglykon Scilliglaucosidin identisch war. Der Smp. lag bei 245—248°, und die optische Drehung betrug $[\alpha]_D^{20} = +49^\circ$ (in Methanol).

$C_{24}H_{30}O_5$ (398,48) Ber. C 72,33 H 7,60% Gef. C 72,15 H 7,46%

Auch das daraus hergestellte Acetat stimmte mit dem oben beschriebenen Acetylscilliglaucosidin vom Smp. 224—227° überein.

Bei der Hydrolyse in der Kälte entstand also vorwiegend das primäre Aglykon.

Das saure Filtrat aus dem Spaltungsversuch in der Kälte wurde zur Identifizierung des Zuckers zuerst mit Chloroform ausgeschüttelt, dann mit Bariumcarbonat neutralisiert und nach dem Abfiltrieren der Bariumsalze eingedampft. Den zurückbleibenden farblosen Schaum nahm man in 10 cm³ Methanol auf, filtrierte die etwas trübe Lösung und verdampfte das Lösungsmittel im Vakuum. Es wurden 1,61 g roher Zucker (ber. für Glucose 1,61 g) als hellgelber Schaum erhalten, der zur weiteren Reinigung in Wasser gelöst und mit etwas Tierkohle behandelt wurde. Beim Eindampfen der klaren Lösung erhielt man einen farblosen Sirup, aus dem sich nach Anfeuchten mit Methanol 880 mg Kristalle vom Smp. 136—145° abschieden. Durch Umkristallisieren aus Wasser-Eisessig (1:4) stieg der Smp. auf 146—148°; Misch-Smp. mit D-Glucose: 145—147°.

Optische Drehung (nach Ablauf der Mutarotation): 0,1960 g Zucker in 20 cm³ Wasser; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +1,03^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +52,6^\circ \pm 2^\circ$.

Zur weiteren Identifizierung wurde wie unter I. 5 beschrieben aus den sirupösen Mutterlaugen das α -Methyl-D-glucosid-⟨1,5⟩ hergestellt. Das durch Sublimation im Hochvakuum gereinigte Präparat schmolz bei 168—169°; Misch-Smp. mit authentischem α -Methyl-D-glucosid-⟨1,5⟩ ohne Depression.

Optische Drehung. 20,632 mg Substanz in 2,00 cm³ Wasser; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +3,22^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +156,1^\circ \pm 2^\circ$.

Der im Scilliglaucosid enthaltene Zucker ist demnach D-Glucose.

IV. Scillicyanosid.

Vor allen andern in dieser Arbeit besprochenen Glykosiden und Aglykonen ist das Scillicyanosid durch eine tiefblaue *Liebermann'sche* Farbreaktion ausgezeichnet. Sein Smp. liegt bei 221—223°, die optische Drehung beträgt $[\alpha]_D^{20} = +104^\circ$ (in Methanol). Wir haben in unserer 26. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾ für Scillicyanosid eine vorläufige Formel $C_{32}H_{42}O_{12}$ angegeben. Auf Grund der Analysen des Aglykons ist auch für das Glykosid nun eher eine um zwei Wasserstoffatome reichere Formel in Betracht zu ziehen. Ein aus Wasser kristallisiertes Präparat wurde zwei Std. im Hochvakuum bei 100° getrocknet und dann analysiert.

$C_{32}H_{42}O_{12}$ (618,66) Ber. C 62,12 H 6,84%

Gef. C 62,02 H 7,28%

$C_{32}H_{44}O_{12}$ (620,67) Ber. C 61,92 H 7,15%

Die neuen Analysen sprechen für die wasserstoffreichere Formel.

1. Saure Hydrolyse von Scillicyanosid. Zu einer durch Rühren und Erwärmen auf dem Dampfbad hergestellten Lösung von 3,0 g Scillicyanosid in 180 cm³ Wasser wurden 90 cm³ auf 60° vorgewärmte 2-n. Schwefelsäure hinzugefügt. Es erfolgte zunächst eine milchige Trübung, die allmählich in eine kristalline Ausscheidung überging. Man erwärmte noch während 8 Min. auf dem Dampfbad, filtrierte anschliessend die gelblichen Kristallnadeln ab und nahm diese sofort in 150 cm³ Chloroform auf. Die Chloroformlösung hinterliess nach dem Neutralwaschen mit Wasser, Trocknen mit Natriumsulfat und Eindampfen das rohe Aglykon als gelben Schaum (1,94 g), der beim Anreiben mit wenig Aceton sofort durchkristallisierte. Der schwefelsauren Hydrolysenlösung konnte nach weiterem Erwärmen während 20 Min. und durch Ausschütteln mit Chloroform noch 0,19 g Aglykon entzogen werden, das mit Aceton teilweise kristallisierte. Die Gesamtausbeute an rohem Aglykon beträgt 2,13 g (71%, ber. 71%).

¹⁾ A. Stoll & W. Kreis, Helv. 34, 1431 (1951).

Das rohe, z. T. kristallisierte Aglykon (2,13 g) wurde in wenig Chloroform gelöst und auf eine Säule aus trockenem Silicagel¹⁾ (60 g) aufgegossen. Die Elution erfolgte mit Chloroform-Methanol (99:1), wobei die Hauptmenge der Substanz die Säule in wenigen Fraktionen verliess. Diese Spitzenfraktionen wurden vereinigt und enthielten 800—900 mg Aglykon. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton-Äther erhielt man flache Prismen, die bei 250—260° unter Braunfärbung schmolzen.

$C_{26}H_{30}O_6$ (438,50)	Ber. C 71,21	H 6,90	$COCH_3$ 9,82	H akt. 0,46%
$C_{26}H_{32}O_6$ (440,52)	Ber. „ 70,88	„ 7,32	„ 9,77	H akt. 0,46%
	Gef. „ 70,92; 70,94	„ 7,21; 7,29	„ 10,62	H akt. 0,46; 0,44%

Auf Grund der Analysen muss angenommen werden, dass bei der sauren Hydrolyse des Scillicyanosids ein Monoanhydro-scillicyanosidin gebildet wird.

Optische Drehung. 13,539 mg Substanz in 2,00 cm³ Chloroform; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = -2,26^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = -166,9^\circ \pm 2^\circ$.

Alkalische Titration. 0,0378 g; 0,0342 g hochvakuumtrockenes Aglykon wurden in 20,00 cm³ Methanol gelöst, mit 9 cm³ 0,1-n. Natronlauge versetzt und bei 20° nach 20; 25 Std. gegen Phenolphthalein titriert. Es wurden 1,72 cm³; 1,55 cm³ 0,1-n. NaOH verbraucht.

$C_{26}H_{32}O_6$ (440,52) Äquiv.-Gew. Ber. 220,3 Gef. 219,8; 220,6

Das Äquivalentgewicht entspricht dem halben Molekulargewicht; es wurden der Lactonring und eine Acetylgruppe titriert. Bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zeigt das Aglykon wie das Glykosid die charakteristische dunkelblaue Farbe.

Nachweis der Glucose. Aus der vom Aglykon befreiten schwefelsauren Lösung verjagte man das Chloroform im Vakuum, neutralisierte mit Bariumcarbonat, filtrierte von den Bariumsalzen ab und dampfte im Vakuum zur Trockne ein. Den Rückstand löste man in wenig Wasser, filtrierte von ungelösten Flocken ab, behandelte mit etwas Tierkohle und dampfte die klare Zuckerlösung erneut zur Trockne ein. Der Eindampfrückstand wurde jetzt in Methanol aufgenommen und nach erneutem Behandeln mit Tierkohle wiederum zur Trockne gebracht. Beim Aufnehmen des Sirups in wenig Wasser und Versetzen mit der vierfachen Menge Eisessig kristallisierte eine weisse körnige Substanz, nach dem Umkristallisieren aus Wasser-Eisessig (1:4) Smp. 144—146°; Misch-Smp. mit D-Glucose ohne Depression.

Optische Drehung. 20,861 mg Zucker in 2,00 cm³ Wasser; 1-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,55^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +52,7^\circ \pm 2^\circ$ (Endwert).

Aus den Mutterlauge wurde, wie schon weiter oben beschrieben, mit n. methanolischer HCl das α -Methylglucosid dargestellt. Die auf übliche Weise isolierte Substanz kristallisierte in Prismen vom Smp. 166—168°.

Optische Drehung des α -Methylglucosids. 14,590 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +2,40^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +164,5^\circ \pm 2^\circ$.

Der Zucker des Scillicyanosids ist demnach D-Glucose.

2. *Nachweis einer Acetylgruppe im Scillicyanosid.* 490 mg Scillicyanosid wurden mit 750 mg KOH in 50 cm³ Wasser 1 Std. auf dem Dampfbad erwärmt, worauf man die klare, gelbliche Lösung mit Phosphorsäure gerade kongosauer machte und dann bei 80 mm bis auf etwa 1/3 des Volumens einengte. Diese konzentrierte Lösung wurde mit 10 cm³ Wasser verdünnt und erneut destilliert. Die vereinigten Destillate wurden einer nochmaligen analogen Destillation unterworfen. Bei der Titration mit 0,1-n. NaOH und Phenolphthalein wurden vom Destillat 5,76 cm³ 0,1-n. NaOH verbraucht. Die neutrale

¹⁾ Es bestehen Anhaltspunkte dafür, dass das Aglykon, das eine Acetylgruppe enthält, an Aluminiumoxyd z. T. desacetyliert wird. Die desacetylierende Wirkung von Aluminiumoxyd wurde schon mehrfach beobachtet, so z. B. bei Oleandrigenin (= 16-Acetyl-gitoxigenin, vgl. *K. Meyer*, *Helv.* **29**, 718 (1946); *A. Aebi & T. Reichstein*, *Helv.* **33**, 1013 (1950)). Über die Anwendung des trockenen Silicagels siehe *A. Stoll, E. Angliker, F. Barfuss, W. Kussmaul & J. Renz*, *Helv.* **34**, 1460 (1951).

Lösung engte man auf 5 cm³ ein, schüttelte sie zur Entfernung des Phenolphthaleins mit etwas Äther aus und dampfte sie zur Trockne ein. Den Eindampfrückstand versetzte man mit 162 mg p-Bromphenacylbromid in 20 cm³ 95-proz. Alkohol, kochte 1 Std. am Rückfluss und engte im Vakuum stark ein, wobei sich eine kristalline Ausscheidung bildete, die abfiltriert und mit Wasser ausgewaschen wurde. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther erhielt man farblose Blättchen vom Smp. 70–72°. Die Lösung dieser Kristalle in Äther-Petroläther (1:5) liess man durch eine Säule von Aluminiumoxyd laufen. Mit Äther-Petroläther (1:4) wurde ein Präparat eluiert, das bei 82–83° schmolz und mit authentischem p-Brom-phenacyl-acetat¹⁾ vom Smp. 82–83° keine Depression ergab.

V. Scillicocelosid.

Dieses Glykosid²⁾ besitzt die Bruttoformel C₃₀H_{40–42}O₁₁. Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion zeigt es eine himmelblaue Farbe, ohne dass eine anfängliche Rosafärbung auftritt. Auch beim Scillicyanosid fehlt die anfängliche Rosafärbung, die für die Glykoside der Scillaren-A-Gruppe und der Scilliphäosid-Gruppe charakteristisch ist. Scillicocelosid lässt sich aber gegenüber Scillicyanosid gut abgrenzen, da das letztere bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion durch einen tiefen blauen Ton ausgezeichnet ist. Scillicocelosid schmilzt bei 165–167° und hat den Drehwert $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +97^{\circ}$ (in Methanol).

1. Saure Hydrolyse von Scillicocelosid. Die Lösung von 1,0506 g Scillicocelosid in 50 cm³ Wasser blieb nach Zugabe von 50 cm³ 3-proz. Schwefelsäure während ½ Std. bei Zimmertemperatur und anschliessend während 3 Tagen bei 0–5° stehen, während welcher Zeit ein Teil des Aglykons sich in schönen Rosetten abgeschieden hatte. Die Kristalle wurden abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet (0,4148 g). Nach dem Erwärmen des Filtrates auf dem Dampfbad konnte eine weitere Menge (0,3170 g) von allerdings amorphem Aglykon abgetrennt werden. Den Rest des gebildeten Aglykons gewann man durch Ausschütteln der sauren Lösung mit Chloroform (0,0162 g), so dass insgesamt 0,7480 g an kristallisiertem und amorphem Aglykon (= 71,2%, ber. 72%) erhalten wurden. 300 mg der ersten, kristallisierten Aglykonfraktion wurden an 15 g alkaliarmem Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Chloroform-Methanol (95:5) liessen sich 220 mg Substanz eluieren, die, aus Aceton-Äther umkristallisiert, 160 mg farblose Kristalle lieferte. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Wasser und Aceton-Äther ist das Aglykon in analysenreiner Form erhalten worden. Das Scillicocelosidin schmolz bei 233–234° (aus Methanol-Wasser kristallisiert) oder bei 240–246° (aus Aceton-Äther kristallisiert).

C ₂₂ H ₃₀ O ₆ (414,48)	Ber. C 69,54	H 7,30%	Gef. C 69,59	H 7,55%
C ₂₄ H ₃₂ O ₆ (416,50)	Ber. „ 69,20	„ 7,75%	„ 69,21	„ 7,38%

Die Substanz enthält kein Methoxyl. Die Analyse spricht für das Vorliegen des primären Aglykons.

Optische Drehung. 12,010 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 2-dm-Rohr; $\alpha_{\text{D}}^{20} = +1,02^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +84,9^{\circ} \pm 2^{\circ}$.

Die *Liebermann*'sche Farbreaktion stimmt qualitativ mit derjenigen des Glykosids überein.

Nachweis der D-Glucose. Die saure Lösung vom Spaltungsversuch wurde mit Bariumcarbonat neutralisiert, von den ausgefallenen Bariumsalzen abfiltriert, im Vakuum eingedampft und der Eindampfrückstand mit Methanol ausgezogen. Die mit etwas Kohle behandelte Methanollösung lieferte nach dem Eindampfen einen Zuckersirup, der mit 2 cm³ Methanol angerieben alsbald kristallisierte. Die Kristalle (260 mg) wurden zur weiteren Reinigung in Wasser aufgenommen, die wässrige Lösung mit Tierkohle behandelt und wieder eingedampft. Nach dem Aufnehmen des Rückstands in 0,13 cm³ Wasser und Zugabe von 0,52 cm³ Eisessig kristallisierte über Nacht der Zucker in weissen Körnern aus,

¹⁾ *W. Lee Judefind & E. Emmet Reid*, Am. Soc. **42**, 1043 (1920), geben für p-Bromphenacyl-acetat den Smp. 85° an.

²⁾ *A. Stoll & W. Kreis*, Helv. **34**, 1431 (1951).

die abfiltriert, mit Alkohol gewaschen und über CaCl_2 getrocknet wurden (75 mg). Der Zucker schmolz bei 145—147° und gab in der Mischung mit D-Glucose keine Schmelzpunktsdepression.

Optische Drehung. 21,237 mg Substanz in 2,00 cm³ Wasser; 1-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +0,55^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +51,8^\circ \pm 2^\circ$ (Endwert).

Zur weiteren Charakterisierung wurde der Zucker noch in das α -Methylglykosid übergeführt. Nach der oben beschriebenen Aufarbeitung und Sublimation im Hochvakuum erhielt man bei 165—166° schmelzende Kristalle, die in Mischung mit authentischem α -Methyl-D-glucosid-⟨1,5⟩ keine Schmelzpunktsdepression zeigten.

Optische Drehung. 20,000 mg Substanz in 2,00 cm³ Methanol; 1-dm-Rohr; $\alpha_D^{20} = +1,66^\circ \pm 0,02^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +166^\circ \pm 2^\circ$.

Der Zucker des Scillicoelosids ist demnach D-Glucose.

Zusammenfassung.

Von den in letzter Zeit aus der weissen Meerzwiebel (*Scilla maritima L.*) isolierten Glykosiden wurden Glucoscillaren A, Scilliphäosid und Glucoscilliphäosid, Scilliglaucosid, Scillicyanosid und Scillicoelosid der sauren und enzymatischen Hydrolyse unterworfen. Die dabei entstandenen Aglykone und Zucker wurden beschrieben und konnten zum Teil mit schon bekannten Verbindungen identifiziert werden.

Glucoscillaren A erwies sich als ein Triglykosid, das bei der milden sauren Hydrolyse in Scillaridin A (= Anhydro-scillarenin) und ein neues Trisaccharid, die Scillatriose, zerlegt wird. Die Scillatriose besteht aus 1 Mol L-Rhamnose und 2 Mol D-Glucose. Der enzymatische Abbau mit einem β -Glucosidase-Präparat aus bitteren Mandeln führte von Glucoscillaren A zu dem schon bekannten Scillaren A. Auf Grund dieser Befunde enthält das Glucoscillaren A einen Glucoserest mehr als das Scillaren A; die Zucker sind β -glykosidisch miteinander verknüpft.

Glucoscilliphäosid gibt bei der Spaltung mit Säuren Anhydro-scilliphäosidin, $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_4$, und Scillabiose. Dieses Glykosid enthält demnach den gleichen Zuckerrest wie Scillaren A. Bei der enzymatischen Hydrolyse mit einem Strophanthobiase-Präparat aus Strophanthussamen konnte das Glucoscilliphäosid in Scilliphäosid übergeführt werden. Letzteres, das in der weissen Meerzwiebel auch als solches vorkommt, zerfällt bei der Spaltung mit Säure in Anhydro-scilliphäosidin und L-Rhamnose.

Die Glykoside Scilliglaucosid, Scillicyanosid und Scillicoelosid sind Monoside, deren Aglykone mit D-Glucose verbunden sind.

Scilliglaucosid lässt sich mit verdünnten Säuren schon bei 0° in Aglykon und Glucose spalten; es bildet sich unter diesen milden Bedingungen das primäre Aglykon Scilliglaucosidin $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5$. Wird die Hydrolyse bei etwas höherer Temperatur durchgeführt, so entsteht neben primärem Aglykon auch ein Anhydro-scilliglaucosidin, $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$.

Scillicyanosid wird von Säuren in Anhydro-scillicyanosidin, $C_{26}H_{30}O_4$, und Glucose gespalten. Dieses Aglykon enthält als einzige unter den bisher aus der weissen Meerzwiebel isolierten herzaktiven Substanzen eine Acetylgruppe.

Scillicoelosid wird von verdünnten Säuren ebenfalls schon bei 0° in das primäre Aglykon, das Scillicoelosidin, $C_{24}H_{30-32}O_6$, und Glucose zerlegt.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium *Sandoz*, Basel.

308. Über Bakankosin

von K. Balenović, H. U. Däniker, R. Goutarel, M. M. Janot und V. Prelog.

(13. X. 52.)

Im Jahre 1907 haben *E. Bourquelot & H. Hérissé*¹⁾ ein Glykosid-Alkaloid aus den Samen einer *Strychnos*-Art aus Madagascar beschrieben, dem sie auf Grund der Annahme, dass es sich um *Strychnos Bakanko* handle, den Namen Bakankosin gaben. Bald nachher hat man die Pflanze, aus der Bakankosin isoliert worden war, als *Strychnos Vacacoua Baillon* identifiziert²⁾.

Die französischen Forscher fanden, dass das Bakankosin die Bruttoformel $C_{16}H_{23}O_8N + H_2O$ besitzt, und dass es bei der sauren Hydrolyse Glucose liefert. Die Glucose wurde auch bei der enzymatischen Hydrolyse mit Emulsin abgespalten. Es wurde daraus geschlossen, dass Bakankosin das β -Glucosid eines Aglykons $C_{10}H_{13}O_3N$ darstellt. Dieses letztere wurde jedoch aus dem Produkt der Hydrolyse nicht isoliert, und es konnte nichts Näheres über seine Natur ermittelt werden. Da wir vermuteten, dass es sich beim Bakankosin um einen Naturstoff von ungewöhnlicher Konstitution handle, haben wir nach mehreren Jahrzehnten, während deren sich niemand damit befasste, seine Untersuchung wieder aufgenommen.

Zuerst konnten wir die Angaben von *Bourquelot & Hérissé* betreffend die Zusammensetzung und Eigenschaften sowie das Verhalten bei der sauren und enzymatischen Hydrolyse bestätigen. Es liess sich weiter feststellen, dass Bakankosin weder nach *Zeisel* bestimmbare Alkoxy- oder N-Methyl-Gruppen noch nach *Kuhn-Roth* bestimmbare C-Methyl-Gruppen enthält. Die elektrometrische Titration zeigte die Abwesenheit von sauren und basischen Gruppen

¹⁾ C. r. **144**, 575 (1907); J. Pharm. Chim. [6] **25**, 417 (1907); Arch. Pharmacie **247**, 56 (1907).

²⁾ *E. Bourquelot & H. Hérissé*, C. r. **147**, 750 (1908); J. Pharm. Chim. [6] **28**, 433 (1908).