

7. Über Scillirosid, ein gegen Nager spezifisch wirksames
Gift der roten Meerzwiebel¹⁾
(18. Mitteilung über Herzglukoside²⁾)
von Arthur Stoll und Jany Renz.
(25. XII. 41.)

1. Einleitung.

In der Reihe unserer Untersuchungen über Herzglykoside ist in mehreren Abhandlungen dieser Zeitschrift über das Scillaren A, das Hauptglykosid der weissen Meerzwiebel (*Urginea maritima* Baker), berichtet worden. Gestützt auf die Überführung in Derivate von Gallensäuren konnte dessen Konstitution abgeklärt werden²⁾. Neben dem schön krystallisierten Scillaren A wurde, quantitativ etwas zurücktretend, eine amorphe Substanz, das Seillaren B, isoliert, deren Wirksamkeit auf das Herz diejenige des Hauptglykosids noch übertrifft. Das Scillaren B ist schon in unserer ersten Mitteilung dieser Reihe als kompliziertes Gemisch charakterisiert worden, an dessen Auflösung in reine Komponenten und deren Beschreibung wir noch arbeiten.

Gegenüber allen diesen herzwirksamen Glykosiden der weissen Meerzwiebel ist die Ratte relativ unempfindlich; die oral tödliche Dosis liegt bei einigen hundert mg pro kg Ratte³⁾. Auch die Droge selbst, d. h. die weisse Meerzwiebel, ist für Ratten und andere Nager relativ wenig giftig. Ganz anders verhält sich in dieser Hinsicht die rote Meerzwiebel. Sie wird in getrocknetem Zustand als Schnitzel oder Pulver oder in Form von daraus bereiteten Extrakten schon seit langer Zeit als eines der stärksten und zuverlässigsten Mittel zur Rattenverteilung verwendet.

Die älteste uns bekannte Aufzeichnung über die Meerzwiebel als Mäuseverteilungsmittel stammt von dem arabischen Forscher *Muhammed Elgáfaki*, der zu Beginn des 13. Jahrhunderts eine „Anleitung zur Arzneiwissenschaft“ geschrieben hat⁴⁾. Viel häufiger ist in der

¹⁾ Vorläufige Mitteilungen: C. r. **210**, 508 (1940). Bull. Sci. Pharmacol. **47**, 65 (1940). Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. Basel 1941.

²⁾ 17. Mitt. Helv. **24**, 1380 (1941).

³⁾ S. R. Winton (J. Pharmacol. exptl. Therap. **31**, 137 (1927) hatte bei der oralen Verabreichung von 200 mg Seillaren pro Kilogramm Ratte keinerlei Symptome gesehen. Zu ähnlichen Ergebnissen ist in unveröffentlichten Versuchen *E. Rothlin*, Basel, gekommen.

⁴⁾ *Abu Mohammed Abdallah Ben Ahmed*, genannt *Ebn Baithar*, berichtet über die Schrift von *Elgáfaki* in seinem Werk „Grosse Zusammenstellung über die Kräfte der bekannten einfachen Heil- und Nahrungsmittel“, aus dem Arabischen übersetzt von Dr. *Joseph von Sontheimer*, II. Bd., S. 216, Stuttgart 1842.

alten Literatur die Meerzwiebel als Heilmittel erwähnt¹). Selbst in neuerer Zeit wird nicht immer zwischen roter und weisser Zwiebel unterschieden. A. Tschirch schreibt darüber in seinem „Handbuch der Pharmakognosie“²): „Es gibt eine weisse und eine rote Varietät (Schroff, Z. Öster. Apoth. Ver. 1866). Spanien, Portugal, Malta, Cypern und Kleinasien liefern den weissen, Frankreich, Italien, Algier und Marokko den roten Bulbus Scillae. Die Streifen der weissen kommen meist aus Malta. Manche Pharmacopöen (Austr.) fordern die rote, andere (Germ., Helvet.) die weisse, andere lassen beide zu.“

Morphologisch sind die weisse und die rote Meerzwiebel von einander so wenig verschieden, dass die Botaniker zwischen den beiden Formen systematisch keinen Unterschied machen. Die oberirdischen Teile der Pflanze gleichen sich vollkommen; der augenfällige Unterschied besteht lediglich darin, dass bei der weissen Meerzwiebel das Zwiebelfleisch weiss oder gelblich, die äusseren häutigen Zwiebelhüllen braun, bei der roten Form das Zwiebelfleisch intensiv braunrot und die häutigen Hüllen der Zwiebel dunkel braunrot gefärbt sind. Charakteristisch verschieden sind indessen die weisse und die rote Meerzwiebel in bezug auf die Wirkstoffe, wie wir in dieser Untersuchung zeigen werden.

2. Die rote Meerzwiebel als Rattengift.

Die spezifische Toxizität der roten Meerzwiebel gegenüber Ratten und andern Nagern ist heute allgemein bekannt und es sind zahlreiche Präparate im Handel erhältlich, die als wirksamen Bestandteil das Pulver oder Extrakte von roten Meerzwiebeln enthalten. So sind beispielsweise für die Verwendung in Deutschland nach dem Stand vom 1. Oktober 1941 nicht weniger als 40 Meerzwiebelpräparate von der Landesanstalt für Wasser-, Boden- und Lufthygiene in Berlin-Dahlem geprüft und als geeignet zu allgemeinen Rattenvertilgungen befunden worden³). Ohne auf Einzelheiten über die Zusammensetzung und Wirksamkeit dieser Präparate näher eingehen zu wollen, greifen wir im folgenden aus der Literatur der letzten zwei Jahrzehnte einige Beispiele über die Anwendung der roten Meerzwiebel als Rattengift heraus.

So bemerkte C. L. Claremont⁴), dass die weisse Meerzwiebel keine Wirkung auf Ratten besitze, dass das giftige Prinzip der roten Varietät von den herzwirksamen Stoffen verschieden sei und mit warmem oder kaltem Wasser aus der Zwiebel extrahiert werden könne. Auch F. R. Winton⁵) gibt an, dass das Rattengift der roten

¹⁾ Vgl. Helv. 16, 704 (1933). ²⁾ II. Bd., 2. Abtlg., S. 1580 (1917).

³⁾ Ministerial-Blatt des Reichs- und Preussischen Ministeriums des Innern, Ausgabe A, 6 (102), 1843 (1941).

⁴⁾ C. L. Claremont, Analyst 47, 60 (1922).

⁵⁾ F. R. Winton, J. Pharmacol. exptl. Therap. 31, 123 (1927).

Meerzwiebel von den Herzglykosiden verschieden sei. Er macht auch die interessante Beobachtung, dass weibliche Ratten ungefähr doppelt so empfindlich seien wie männliche. *D. Glen Crabtree, Justus C. Ward* und *F. Jack Welch*¹⁾ bestätigen die verschiedene Empfindlichkeit der Geschlechter weisser Ratten gegenüber roter Meerzwiebel und *Justus C. Ward, H. J. Spencer, D. Glen Crabtree* und *F. E. Garlough*²⁾ beobachteten, dass besonders männliche weisse Ratten in der Höhe viel empfindlicher sind als im Tiefland, während die an sich empfindlicheren weiblichen Tiere auf verschiedenen Höhenlagen weniger grosse Unterschiede zeigen. *Winton* gewann den Eindruck, dass bei einer Vergiftung überlebende Ratten für eine zweite Giftgabe eher empfindlicher seien. Er gibt an, dass das Rattengift thermostabil sei und beim Kochen der Lösung nicht zerstört werde. Nach einstündigem Kochen mit 0,2-n. Salzsäure gehe die Wirkung auf weniger als ein Drittel zurück, Kochen mit 0,2-n. Natronlauge hebe die Wirkung ganz auf. Auch *J. H. Franklin*³⁾ betont den Unterschied in der Wirkung zwischen der in der Medizin eingeführten weissen Meerzwiebel und der roten, die für Ratten giftig ist.

F. Wokes und *S. G. Willimott*⁴⁾ haben rote und weisse Meerzwiebeln von Cypern miteinander verglichen und die in folgender Tabelle aufgeführten Vergleichswerte ermittelt.

Zwiebelart	Herzwirksamkeit ⁵⁾ an Fröschen	Toxizität gegen Ratten ⁶⁾
Rote kultiviert . . .	95	100
Rote wild	90	66
Weisse	100	7—10

Daraus ergibt sich, dass die weisse Meerzwiebel für Ratten relativ wenig toxisch ist; andererseits ist zu entnehmen, dass auch die rote Meerzwiebel eine sehr hohe Wirksamkeit auf das Herz aufweist. Die Erklärung für diese Beobachtung ist darin zu erblicken, dass die von uns in reiner und krystallisierter Form isolierte raticide Substanz bei der Toxizitätsbestimmung am Frosch oder an der Katze eine Herzwirkung aufweist, welche derjenigen der stärksten Herzglykoside aus der weissen Meerzwiebel nicht nachsteht.

¹⁾ *D. Glen Crabtree, Justus C. Ward and F. Jack Welch*, *Endocrinology* **25**, 629—632 (1939).

²⁾ *Justus C. Ward, H. J. Spencer, D. Glen Crabtree and F. E. Garlough*, *J. Am. Pharm. Assoc.* **29**, 350—353 (1940).

³⁾ *J. H. Franklin*, *J. Pharm.* **121**, 598 (1928).

⁴⁾ *F. Wokes and S. G. Willimott*, *Quart. J. Pharm. and Pharmacol.* **7**, 565 (1934).

⁵⁾ für weisse Zwiebel = 100 gesetzt.

⁶⁾ für kultivierte rote Zwiebel = 100 gesetzt.

Über die chemische Natur des Rattengifts gingen bis vor kurzem die Meinungen auseinander, sofern überhaupt Vorstellungen geäussert wurden. Die erwähnte Extrahierbarkeit mit warmem oder kaltem Wasser, der Rückgang in der Wirkung beim Kochen mit verdünnter Säure und die völlige Aufhebung der Wirkung beim Behandeln mit Lauge erinnern an Merkmale der typischen Herzglykoside. Andererseits haben *J. C. Munch*, *J. Silver* und *E. E. Horn*¹⁾ angegeben, dass das Rattengift wohl löslich sei in Alkohol, nicht aber in Wasser, Aceton oder Chloroform. Sie machten die Beobachtung, dass wilde Ratten empfindlicher seien als die gezüchteten weissen, zahmen Tiere und berichten über die Toxizitätsbestimmung mit weissen Ratten.

*L. A. Danzel*²⁾ gibt eine allgemeine Beschreibung der Droge, der Darstellung von wirksamen Präparaten und ihrer Gehaltsbestimmung und nimmt an, dass das giftige Prinzip ein Chromogen von glykosidischer oder tanno-glykosidischer Natur sei, also mit dem roten Farbstoff in engem Zusammenhang stehe. Das Chromogen sei löslich in Essigsäure, Alkohol, Aceton und Wasser, unlöslich in Benzin, Äther, Chloroform, Amylalkohol und werde mit Essigsäure oder Essigsäuredämpfen intensiv rot gefärbt. Der Autor beschreibt als wirksames Präparat für die Rattenvertilgung die „Scille rouge stable-activée“, welche durch die Einwirkung von heissem Alkohol stabilisiert und durch Essigsäuredämpfe aktiviert worden sei. Auch *P. Fourment* und *H. Roques*³⁾ schreiben in ihrer Untersuchung dem Farbstoff der roten Meerzwiebel, den sie in die Flavone mit Fluoreszenz einreihen, eine gewisse Bedeutung bei der Wirkung zu. Sie diskutieren die Möglichkeit, dass die fluoreszierenden Flavonfarbstoffe die Wirkung der Herzglykoside und des Rattengifts durch Photosensibilisation verstärken. Die Autoren geben an, dass die rote Meerzwiebel in der heissen Periode, nachdem die grünen Blätter vertrocknet sind, gesammelt werden, dass sich die Schuppen der Zwiebel mit Essigsäure rot, mit Ammoniak gelb färben, woraus auf Flavonfarbstoffe geschlossen wird.

Viel näher ist *F. H. J. Picard*⁴⁾ der Lösung der Frage über die chemische Natur des Rattengiftes gekommen. Nach den Richtlinien einer alten Arbeit von *L. F. Bley* „Zur Kenntnis des Scillitins“⁵⁾ hat *Picard* das Rattengift folgendermassen angereichert: die rote Meerzwiebel wurde nach *Winton*⁶⁾ mit Aceton extrahiert, der eingedampfte

¹⁾ *J. C. Munch, J. Silver and E. E. Horn*, Technical Bull. No. 134 (1929).

²⁾ *L. A. Danzel*, Ann. d'Hygiène **13**, 677 (1935).

³⁾ *P. Fourment et H. Roques*, Bull. Soc. d'Hist. nat. de l'Afrique du Nord **30**, 98 (1939).

⁴⁾ *F. H. J. Picard*, De werkzame Bestanddeelen van Bulbus Scillae, Diss. Utrecht 1936. Kurzes Referat dieser Dissertation: *U. G. Blijlsma* und *F. H. J. Picard*, J. act. Brevia Neerland. Physiolog. Pharmacol. Microbiol. **6**, 94 (1936) und Pharm. Abstr. **3**, 122 (1937). ⁵⁾ Arch. Pharm. **111**, 141 (1850).

⁶⁾ *F. R. Winton*, J. Pharmacol. exptl. Therap. **31**, 123 (1927).

Extrakt in Wasser aufgenommen und einer Bleisalzfällung unterworfen. Die entbleite Lösung wurde zur Trockne verdampft und der Rückstand, um die Herzglykoside zu zerstören, 4 Stunden lang auf 105—110° erhitzt. Aus wässriger Lösung wurde alsdann das wirksame Prinzip an Tierkohle adsorbiert und hierauf nach dem Trocknen bei 100° mit Alkohol eluiert, wiederum zur Trockne verdampft und aus Essigester-Äther umgefällt. *Picard* erhält aus frischer roter Meerzwiebel ein helles, amorphes Präparat mit einer mittleren letalen Dosis von 0,25—0,30 mg/kg Ratte. Er bezeichnete das Rattengift als ein Glykosid von der Zusammensetzung $C_{15}H_{20}O_6$, Analyse: C 60,80%; H 6,77%; M.G. = ± 300.

Nach unseren heutigen Kenntnissen über die hohe Empfindlichkeit des genuinen raticiden Stoffes aus roter Meerzwiebel musste derselbe bei der Zerstörung der Herzglykoside durch Hitze weitgehend verändert werden, ohne dass die Giftigkeit des Präparates stark gelitten hätte; sie erscheint im Gegenteil, wahrscheinlich infolge Spaltung der Molekel, gegenüber dem genuinen Reinstoff für die Gewichtseinheit noch erhöht, vorausgesetzt allerdings, dass die Ermittlung der mittleren letalen Dosis auf gleiche Weise erfolgte wie in unserem Laboratorium.

Andere Arbeiten über die rote Meerzwiebel der neueren Zeit beschäftigen sich vorwiegend mit der Bereitung der für Vergiftungszwecke geeigneten Extrakte und Köder und mit der Standardisierung. *M. G. O'Connor, R. E. Buck* und *C. R. Fellers*¹⁾ machten interessante Studien über die Ernte und Trocknung und die Wirkungsweise von Meerzwiebelpräparaten, woraus wir folgendes entnehmen: Die Zwiebeln sollen im August und September, also in ihrer Ruhezeit und vor dem Trieb des Blütenstandes, der im Herbst erfolgt, gesammelt werden. Sie werden vorzugsweise im Trockenschränke und nicht an der Sonne getrocknet. Das Pulver aus roter Meerzwiebel verursacht bei Nicht-Nagern Erbrechen und ist für Hühner relativ ungiftig. Große Ratten sollen widerstandsfähiger sein als leichte, im übrigen machten auch diese Autoren die altbekannte Erfahrung, dass Ratten, die infolge von Genuss eines Meerzwiebelpräparates erkrankt aber nicht gestorben sind, von derselben Darreichungsform nicht mehr fressen, wohl aber, wenn ihnen ein Meerzwiebelpräparat z. B. ein alkoholischer Extrakt mit einem andern Köder verabreicht wird. *R. E. Buck* und *C. R. Fellers*²⁾ berichten über die Fortsetzung der eben zitierten Arbeit und geben verschiedene Extraktionsmethoden der roten Meerzwiebel an, wobei sie Methyl- und Äthyl-Alkohol sowie Äthylenglykol-monoäthyläther (Cellosolve) als geeignet erachten, während Wasser, Äther und Äthylenglyklorid für die Extraktion aus-

¹⁾ *M. G. O'Connor, R. E. Buck and C. R. Fellers, Ind. Eng. Chem.* **27**, 1377 (1935).

²⁾ *R. E. Buck und C. R. Fellers, Ind. Eng. Chem.* **27**, 1497 (1935).

scheiden. Die erschöpfende Extraktion im *Soxhlet* gibt wirksamere Produkte als das einfache Ausschütteln oder Ausröhren der Droe. Die Autoren beobachteten, dass mit Extrakten vermischt Köder von den Ratten gegenüber Präparaten mit Meerzwiebelpulver bevorzugt werden.

In ähnlicher Richtung wie die Arbeiten der genannten Autoren bewegen sich die Untersuchungen von *D. Mann*¹⁾ und von *Justus C. Ward, D. Glen Crabtree* und *F. E. Garlough*²⁾. *J. C. Munch, J. C. Ward, E. M. Mills, R. E. Buck* und *F. N. Jarvis*³⁾ beschäftigen sich mit der Standardisierung der biologischen Prüfung und geben als durchschnittliche letale Dosis für 1 kg männliche weisse Ratten 300—450 mg Zwiebelpulver an. Auch *K. Koch*⁴⁾ gibt eine Übersicht über den Wirkungswert der roten und weissen Meerzwiebel im Hinblick auf die Herzglykoside und empfiehlt, ein standardisiertes Drogenpulver (*Bulbus scillae „Stada“*) zu verwenden. *A. Tournade, P. Fourment, H. Roques* und *G. Chardon*⁵⁾ prüfen das Pulver von roter Meerzwiebel („stable-activée“) mit Hunden und stellen als tödliche Dosis 20—30 mg pro kg fest, wobei zu bemerken ist, dass bei diesen Versuchen bestimmt die Wirkung auf das Herz, die sich von der Giftwirkung auf Ratten wesentlich unterscheidet, zur Geltung kam. Durch die Essigsäurebehandlung der Droe soll eine Wirkungssteigerung erzielt worden sein, was in dem erwähnten Zusammenhang und im Hinblick darauf, was wir über die hohe Empfindlichkeit der Herzglykoside der Meerzwiebel gegenüber Säure wissen, schwer zu erklären ist. *F. J. Leblanc* und *C. O. Lee*⁶⁾ reinigen einen mit 80-proz. Alkohol in der Kälte aus gepulverter roter Meerzwiebel gewonnenen Extrakt ähnlich wie *Picard*⁷⁾ durch Absorption an Tierkohle und haben ein Präparat erhalten, das den wirksamen Stoff gegenüber dem Ausgangsmaterial etwa 100-fach angereichert enthält.

Die Hauptursache, warum es früheren Autoren nicht gelungen ist, das gegen Ratten und andere Nager spezifisch wirksame Gift in der ursprünglich vorhandenen, der genuinen Form rein zu gewinnen, beruht auf der relativ grossen Empfindlichkeit der wirksamen Substanz, auf die bei den Isolierungsmethoden nicht genügend Rücksicht genommen worden ist. Wenn wir die vorliegende Untersuchung, die zum krystallisierten genuinen Reinstoff führte, in die Reihe unserer

¹⁾ *D. Mann*, Seifensieder-Ztg. **63**, 721 (1936); **64**, 255, 273 (1937).

²⁾ *J. Am. Pharm. Assoc.* **29**, 354—357 (1940).

³⁾ *J. C. Munch, J. C. Ward, E. M. Mills, R. E. Buck* and *F. N. Jarvis*, *J. Am. Pharm. Assoc.* **26**, 27 (1937).

⁴⁾ *K. Koch*, Deutsche Apotheker-Ztg. **54**, 385 (1939).

⁵⁾ *A. Tournade, P. Fourment, H. Roques et G. Chardon*, *Bull. Sci. pharmacol.* **46**, 209 (1939).

⁶⁾ *F. J. Leblanc and C. O. Lee*, *J. Am. Pharm. Assoc.* **28**, 151 (1939).

⁷⁾ *F. H. J. Picard*, loc. cit.

Mitteilungen über Herzglykoside einreihen, so geschieht es einmal deshalb, weil die raticide Substanz, das Scillirosid, wie bereits erwähnt, auch auf das Herz eine ausserordentlich starke Wirksamkeit zu entfalten vermag und andererseits, weil Scillirosid in seinem Aglykonanteil dem Scillaridin A sehr nahesteht.

3. Isolierung und Beschreibung des Scillirosids.

Nachdem heute der enge chemische Zusammenhang zwischen dem gegen Nager spezifisch giftigen Stoff der roten Meerzwiebel und den typischen Herzglykosiden feststeht, so ist es naheliegend, dass auch die Methoden für die Isolierung und die Untersuchung des Scillirosids sich an die Arbeitsweise, die bei den Herzglykosiden ausgebildet worden ist, anlehnern. Bis vor kurzem wurde indessen, wie besonders aus der neueren Literatur hervorgeht, stets auf die Verschiedenheit des Giftes der roten Meerzwiebel gegenüber den bekannten Herzglykosiden hingewiesen. Die neueren Autoren verwandten die bei den Herzglykosiden üblichen Isolierungsmethoden nicht, und auch wir versuchten zunächst, abweichende Wege zu gehen, bis wir beobachteten, dass die Giftwirkung unserer Rohpräparate auf Ratten fast parallel ging mit der Intensität von Farbreaktionen, wie wir sie von den herzwirksamen Substanzen der weissen Meerzwiebel kennen und die auf die nahe Verwandtschaft des Rattengifts mit den bekannten Herzglykosiden, vor allem dem Scillaren A, hinwiesen. Die Grundzüge der Isolierung der raticiden Substanz waren nun im wesentlichen gegeben, sowohl in bezug auf die Wahl der Extraktionsmittel wie die Abtrennung von Begleitstoffen durch Entmischung zwischen wässerigen Lösungen und mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmitteln, Beseitigung von gerbstoffartigen Produkten durch Bleisalzfällung, Krystallisation aus wässrigem Alkohol usw.

Die nahe Verwandtschaft des Rattengiftes mit den eigentlichen Herzglykosiden der Meerzwiebel und daher das Nebeneinanderhergehen aller dieser Stoffe in derselben Fraktion, stellten nun die Aufgabe, die Herzglykoside von dem in seinem Verhalten sehr ähnlichen Rattengift abzutrennen. Das wurde dadurch ermöglicht, dass das letztere in Wasser relativ schwerer, in butylalkoholhaltigem Chloroform dagegen leichter löslich ist als die begleitenden Herzglykoside. Während ein wässriger Rohextrakt der Gesamtwirkstoffe, begleitet von einem Vielfachen inaktiver Extraktivstoffe, an reines Chloroform nur Fette, Phytosterine und andere Lipoide abgibt, so gehen beim darauffolgenden Ausschütteln mit Chloroform, das 20 % Butylalkohol enthält, die wirksamen Glykoside in ihrer Gesamtheit in die Chloroformschicht über, während Salze, Pflanzensäuren, Kohlehydrate usw. in der wässerigen Schicht zurückbleiben. Die Glykosidfraktion kann alsdann in wässrig-alkoholischer Lösung einer

Behandlung mit Bleihydroxyd, die gerbstoffartige Substanzen entfernt, unterworfen werden, wenn nicht schon der Rohextrakt mit Bleihydroxyd behandelt wurde. Nun folgt die Abtrennung des Rattengiftes von den Herzglykosiden durch Ausschütteln der rein wässerigen Lösung der Glykoside mit Chloroform, das 5% Butylalkohol enthält und das nur das Rattengift, nicht aber die Herzglykoside aufnimmt. Die Letzteren bleiben in der wässerigen Schicht und können daraus gesondert isoliert und identifiziert werden. Das Chloroform mit 5% Butanol enthält die raticide Substanz bereits in so reiner Form, dass sie nach vorsichtigem Verdampfen zur Trockne, Aufnehmen in Methylalkohol und allmählichem Versetzen mit Wasser zu krystallisieren beginnt.

Die Ausbeute an krystallisiertem Scillirosid schwankt ausserordentlich mit der Herkunft der Droge und namentlich mit der Jahreszeit, in der die Droge geerntet wurde. In Algier im August und September geerntete rote Meerzwiebeln liefern bis zu 350 mg pro kg frische Zwiebeln.

Durch mehrfaches Umkrystallisieren aus heissem, wässrigem Methylalkohol wird das Scillirosid rein erhalten. Es krystallisiert aus Methylalkohol-Wasser 1:2 in dachförmig abgeschrägten Prismen (siehe Fig. 1). Es ist leicht löslich in niederen Alkoholen, Dioxan, Äthylenglykol und Eisessig, schwerer in Aceton, schwer in den übrigen Lösungsmitteln, auch in Wasser.

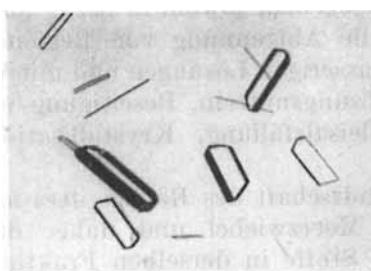


Fig. 1.
Scillirosid aus wässrigem Methylalkohol.

Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion, d. h. beim Versetzen einer Lösung der Substanz in Essigsäure-anhydrid mit einigen Tropfen konz. Schwefelsäure, tritt zuerst eine intensiv violette Farbe auf, die sich bald über Blau in Blaugrün verwandelt. Die *Legal*'sche Probe mit Natriumpentacyanonitrosoferrat(III) ist negativ. Die hochvakuumtrockene Substanz schmilzt unter Zersetzung und Gelbfärbung bei 168—170^{°1}); in methyl-alkoholischer Lösung dreht das

¹⁾ Alle Schmelzpunkte dieser Arbeit sind korrigiert.

neue Glykosid die Ebene des polarisierten Lichts nach links, $[\alpha]_D^{20} = -59^\circ$ ($c = 1$).

Weitere physikalische und chemische Merkmale des Scillirosids und seiner Derivate finden sich im folgenden Abschnitt und im experimentellen Teil dieser Arbeit.

4. Die chemische Charakterisierung des Scillirosids.

Die Elementaranalyse des Glykosids und seiner Derivate ergab für Scillirosid die Zusammensetzung $C_{32}H_{44}O_{12}$. Beim Scillirosid selbst stimmten die Analysen nur unter Annahme von $\frac{1}{2}$ Mol. Kry stallwasser, eine Beobachtung, die auch bei anderen Glykosiden gemacht worden ist. Bei der angegebenen Formel besteht noch eine gewisse Unsicherheit in bezug auf den Wasserstoff. In den vorläufigen Mitteilungen¹⁾ ist nämlich auf Grund der ersten Analysen eine um H_2 reichere Zusammensetzung vorgeschlagen worden. Die Berichtigung erfolgt nun besonders auf Grund der Analyse der nicht hygro skopischen Acyl-Verbindungen.

Die quantitative gelinde alkalische Verseifung des Scillirosids unter Bedingungen, wie sie bei der Untersuchung von Scillaren A und von Digitalis-Glykosiden ausgearbeitet worden sind, zeigte den Verbrauch von 2 Äquivalenten. Davon entspricht eines einem un gesättigten Lactonring, wie er in allen Herzglykosiden nachgewiesen worden ist. Das zweite Äquivalent Alkali wird durch einen Essig säurerest verbraucht, der durch Acetyl-Bestimmungen und Isolierung der Essigsäure als Silberacetat identifiziert werden konnte. Da bei der Hydrierung des Scillirosids, wie wir sehen werden, die Essigsäure reduktiv abgespalten wird und ihre Lage an einer Doppelbindung, also im Lactonring infolgedessen wahrscheinlich ist, musste die Frage geklärt werden, ob die abgespaltene Essigsäure nicht von einer O-Acetyl-acetessigester-Gruppierung stammt. Die Verseifung des Scillirosids mit starkem Alkali unter den Bedingungen der Säure spaltung ergab jedoch ebenfalls den Verbrauch von nur 2 Äquivalen ten, so dass das Vorliegen eines Acetessigesters ausgeschlossen ist.

Bei der Hydrolyse mit Mineralsäuren wird Scillirosid erst unter verhältnismässig energischen Bedingungen in Aglykon und Zucker zerlegt. Als Zucker wurde 1 Mol. Glucose gefunden, die durch die Vergärbarkeit mit Hefe und als Phenylglucosazon identifiziert werden konnte.

Es gelang bisher nicht, das Aglykon zur Krystallisation zu bringen und auch Versuche, Derivate desselben in einheitlicher Form herzustellen, schlugen fehl. Diese Tatsache erschwerte bisher die Untersuchung der Struktur und auch die Interpretation der mit dem Scillirosid und seinen Derivaten erhaltenen analytischen Befunde. Im

¹⁾ loc. cit.

Hinblick auf schonende Gewinnung des Aglykons und die Abklärung der Konfiguration der Glucose ausgeführte Versuche, das Scillirosid mit spezifischen Glucosidasen zu spalten, schlugen fehl. Sowohl die β -Glucosidase des Emulsins als auch α -glucosidasehaltige Strophanthobiase-Präparate zeigten keine messbare Abspaltung des Zuckers¹⁾.

Als charakteristische Derivate des Scillirosids wurden Acyl-Verbindungen hergestellt, die sich sowohl für die Identifizierung als auch für die analytische Untersuchung gut eignen. Tetracetyl-scillirosid wurde durch Veresterung des Scillirosids mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin dargestellt und durch Umkrystallisation aus Methylalkohol in langgestreckten, gebündelten Prismen erhalten (vgl. Fig. 2). Sein Schmelzpunkt liegt scharf bei 199°; sein Drehvermögen in 1-proz. methylalkoholischer Lösung beträgt $[\alpha]_D^{20} = -48,4^\circ$. Die Verbindung enthält 5 Acetyl-Gruppen; der ursprüngliche Essigsäure-rest des Scillirosids ist in der Bezeichnung nicht mitgezählt. Es kann angenommen werden, dass die 4 Acetylgruppen in den Glucoserest eintreten. Sie verhalten sich bei der Verseifung anders als die Acetylgruppe des Scillirosids, da es mit Ammoniak in absolut methylalkoholischer Lösung gelingt, Tetracetyl-scillirosid zum Scillirosid zu entacetylieren.

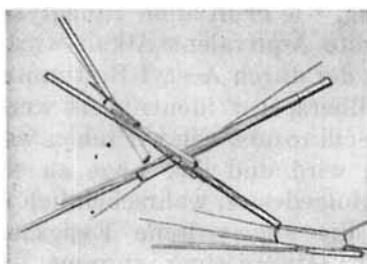


Fig. 2.

Tetracetyl-Scillirosid aus Methylalkohol.

Das in analoger Weise gewonnene Tetra-propionyl-scillirosid schmilzt scharf bei 188° und zeigt in 1-proz. methylalkoholischer Lösung den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = -47,4^\circ$. Die entsprechend hergestellte Tetrabenzoyle-Verbindung des Scillirosids schmilzt bei 168—170°.

Besonders die mit Tetracetyl-scillirosid ausgeführten Analysen gaben die Möglichkeit, die Funktion der 12 Sauerstoffatome des Scillirosids zu untersuchen. 2 O-Atome gehören zur Lactongruppe, 2 weitere zum Essigsäurerest und 6, von denen 4 acylierbar sind, zur

¹⁾ Vorversuche mit Hepatopancreas-Saft von Weinbergschnecken, deren Anregung wir Herrn Prof. P. Karrer verdanken und die wir in der günstigeren Jahreszeit fortsetzen werden, deuten eine langsame Abspaltung der Glucose an.

Glucose, deren Stellung, in Analogie zu den Herzglykosiden, insbesondere zu Scillaren A, an C₃¹⁾ angenommen werden kann. Die 2 verbleibenden O-Atome sind nicht acylierbar, sie werden jedoch bei der Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach *Zerewitinoff*, die mit Tetracetyl-scillirosid ausgeführt wurde, als Hydroxylgruppen charakterisiert. Eine davon wird wie bei den Herzglykosiden als tertiär an C₁₄ angenommen, wozu das Verhalten des Scillirosids bei der Aufspaltung des Lactonringes mit Alkali und nachfolgendem Übergang unter Bildung eines Oxydringes in Verbindungen, die dem Iso-scillaren-A-säure-methylester²⁾ entsprechen, ermutigt. Auf diese Umsetzung soll in einer folgenden Arbeit näher eingegangen werden.

Über das verbleibende Sauerstoffatom kann noch nichts Endgültiges ausgesagt werden. Da Tetracetyl-scillirosid bei der Bestimmung nach *Zerewitinoff* 2 freie Hydroxylgruppen anzeigt, ist die Annahme berechtigt, dass eine weitere nicht acylierbare Hydroxylgruppe im Scillirosid vorhanden ist. Oxydationsversuche, die noch nicht abgeschlossen sind, machen es wahrscheinlich, dass diese Hydroxylgruppe sekundär ist. Auch unter energischeren Bedingungen der Acylierung, unter denen sich z. B. das Hydroxyl an C₁₂ der Cholsäure nach *H. Wieland* und *W. Kapitel*³⁾ verestern liess, gelingt es nicht, in das Tetracetyl-scillirosid eine weitere Acylgruppe einzuführen. Das Verhalten des zwölften O-Atoms des Scillirosids erinnert an Beobachtungen, die mit der OH-Gruppe an C₁₁ von Corticosteron gemacht worden sind⁴⁾.

Bei der katalytischen Hydrierung des Scillirosids mit Palladium in Alkohol werden 2 Doppelbindungen reduziert, wobei gleichzeitig der Essigsäurerest abgespalten wird, was auf seine Lage an einer hydrierbaren Doppelbindung schliessen lässt. Die Zusammensetzung des Scillirosids, die sich aus der Analyse seiner Acyl-Verbindungen ableitet, weist jedoch bei Annahme eines ähnlichen Baus wie beim Scillaren A auf eine weitere Doppelbindung hin, die weder mit Palladium noch mit Platin hydrierbar wäre. Für ihre Lage kommen die bei anderen Steroiden garnicht oder nur unter extremen Bedingungen hydrierbaren Stellungen 47,8, 48,9 und 49,11 in Betracht. Auch in bezug auf die isolierte Doppelbindung gleicht das Scillirosid dem Scillaren A, bei dem die Kerndoppelbindung in 5,6-Stellung allerdings leicht hydrierbar ist.

Die Unsicherheit, die in bezug auf die Natur und Stellung des zwölften Sauerstoffatoms und die Lage einer Doppelbindung noch

¹⁾ Vgl. die übliche Nummerierung des Cyclopentano-perhydro-phenanthren-Gerüstes, beispielsweise beim Periplocin, *Helv.* **22**, 1198 (1939) und die Formel von Scillaren A, *Helv.* **24**, 1384 (1941).

²⁾ *A. Stoll* und *A. Hofmann*, *Helv.* **18**, 82 (1935).

³⁾ *Z. physiol. Ch.* **212**, 269 (1932).

⁴⁾ *T. Reichstein*, *Helv.* **20**, 953 (1937).

besteht, veranlasst uns, mit der Aufstellung einer Strukturformel des Scillirosids noch zuzuwarten bis zu einer nächsten Mitteilung. Dass aber das Scillirosid den Herzglykosiden und ganz besonders dem Scillaren A nahesteht und dass sein Kerngerüst, sowie der die Lichtabsorption hauptsächlich bedingende, doppelt ungesättigte Lactonring, wie im Scillaren A gebaut sind, wird durch das U.V.-Absorptionsspektrum belegt¹⁾. Die Absorptionskurven von Scillirosid und Proscillarin A (vgl. Fig. 3) fallen praktisch zusammen. Es kann daher auf eine weitgehende Ähnlichkeit im strukturellen Bau der beiden Substanzen geschlossen werden.

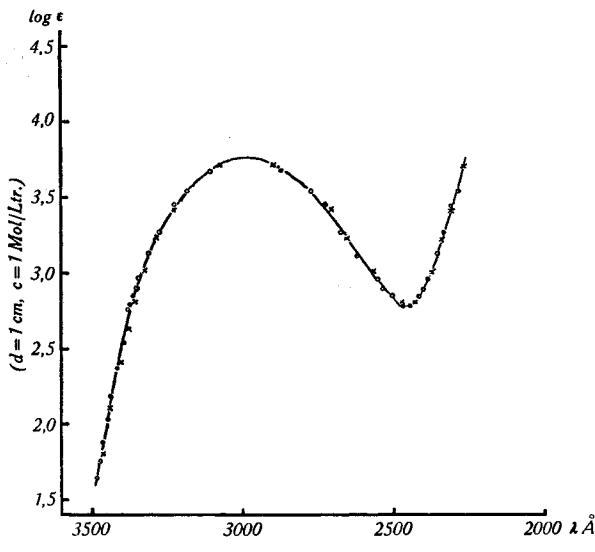


Fig. 3.

—○— Proscillarin A in Alkohol.
—×— Scillirosid in Alkohol.

Die physiologische Wirksamkeit des Scillirosids wurde sowohl durch Toxizitätsbestimmungen mit Ratten als auch durch Prüfung auf Herzwirkung am isolierten Froschherzen von *E. Rothlin*²⁾ untersucht. Die mittlere letale Dosis nach *Kärber*, wobei 50 % der Tiere der Vergiftung erliegen, beträgt für männliche Ratten 0,7 mg/kg, für weibliche 0,43 mg/kg. Die absolute letale Dosis für Ratten, d. h. diejenige verabreichte Menge, bei der alle Versuchstiere sterben, liegt für männliche Ratten bei 1,2 mg/kg und für weibliche bei 0,6 mg/kg. Für die Tetra-acetylverbindung sind die Werte höher, für männliche Tiere 5 mg/kg, für weibliche 2,5 mg/kg. Am isolierten Froschherzen

¹⁾ Wir verdanken die Aufnahmen Hrn. P.D. Dr. *F. Almasy* in Zürich.

²⁾ Die Angaben verdanken wir einer unveröffentlichten Privatmitteilung von Herrn Prof. *E. Rothlin*.

zeigte Scillirosid typische cardioaktive Eigenschaften und stimmte qualitativ und quantitativ mit einem Scillaren-Standard-Präparat überein, woraus sich eine Wirksamkeit von ca. 1400 Froschdosen pro mg ergibt.

Es sei abschliessend hervorgehoben, dass das Scillirosid, welches für Nager spezifisch toxisch ist, ausschliesslich in der roten Meerzwiebel angetroffen wurde und hier gegenüber den andern Glykosiden stark überwiegt. In der weissen Meerzwiebel wurden neben dem Hauptglykosid Scillaren A und „Scillaren F“¹⁾ eine Reihe weiterer durch typische Färbungen bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion charakterisierte Glykoside gefunden, die der roten Meerzwiebel anscheinend fehlen.

Experimenteller Teil.

1. Ausgangsmaterial.

Wie bei allen zersetzlichen Drogen erweist es sich auch bei der Verarbeitung der roten Meerzwiebel als notwendig, entweder von der möglichst frisch geernteten Droge oder von schonend getrockneten und sorgfältig aufbewahrten Meerzwiebelschnitzeln auszugehen, um eine befriedigende Ausbeute von genuinem Reinstoff zu erhalten. Auch im Hinblick auf den Standort und die Jahreszeit unterliegt bei der Meerzwiebel der Gehalt an wirksamen Stoffen, wie es von vielen andern Drogen bekannt ist, grossen Schwankungen.

Der eine von uns (*J. R.*) beobachtete auf einer Studienreise im Küstengebiet von Algier, dass die beiden Formen der Meerzwiebel streng gesondert verbreitet vorkommen. Die weisse Form und, selten damit vergesellschaftet, Zwiebeln mit hellrosa angefärbtem Fleisch bewohnt den westlichen Teil in der Umgebung von Oran bis gegen Tenes, die rote Meerzwiebel ausschliesslich das ganze östlich davon gelegene Gebiet.

Weisse und hellrosa gefärbte Zwiebeln enthalten kein Scillirosid, rote je nach der Jahreszeit sehr unterschiedliche Mengen, umgekehrt fehlen der roten Form nachweisbare Mengen einer Reihe von Herzglykosiden, die für die weisse Zwiebel charakteristisch sind. Der wesentliche Unterschied zwischen den beiden Formen der Meerzwiebel, die man morphologisch kaum als Varietäten ansprechen kann, beruht also auf ihrem Gehalt an verschiedenen Wirkstoffen, die vielleicht auch im Leben der Pflanze im Verlauf der Vegetationsperiode, in denen sie auf- oder abgebaut werden, eine Rolle spielen.

Die Meerzwiebel entwickelt in den Wintermonaten bis in den Monat Mai, also während der hauptsächlichsten Regenperiode der Mittelmeerküstengebiete, saftige Blätter, die im Verlauf der sommerlichen Dürre vollständig vertrocknen, wobei die Zwiebel ein Ruhe-

¹⁾ Vgl. Anmerkung ¹⁾, S. 57, im experimentellen Teil.

stadium durchmacht, bis sie im August/September den Blütenschaft mit einer langen Traube weisser oder schwach rötlich gefärbter Blüten emporschiessen lässt. Die Blätter erscheinen erst wieder eine gewisse Zeit nach der Blüte und versorgen die Zwiebel während der grünen Vegetationsperiode neuerdings mit Reservestoffen. Erst beim Absterben der Blätter steigt der Gehalt an Wirkstoffen bedeutend an, der während der Ruhezeit, d. h. unmittelbar vor der Blüte, im August sein Maximum erreicht. Er sinkt nachher ab und bleibt während der Blattperiode tief. In der folgenden Tabelle sind einige Bestimmungen von Scillirosid, die durch Isolierung und Wägen des Wirkstoffes durchgeführt wurden, aus verschiedenen Vegetationsperioden zusammengestellt.

mg Scillirosid in 1 kg frischer algerischer Zwiebel während verschiedener Vegetationsperioden.

Ort	Blütezeit Aug./Sept.	Ruheperiode nach der Blüte vor der Blatt- entwicklung	Blattstadium April
Cherchell . . .	370		10
El Miliá . . .		60	Spuren
Miliana . . .	170—200		40—70

Die Schwankungen im Gehalt von Scillirosid sind sehr beträchtlich, im April, also zur Zeit voller Blattentwicklung, ist noch wenig Scillirosid in der Zwiebel vorhanden.

2. Darstellung des Scillirosids.

10 kg frische rote Meerzwiebeln werden in dünne Scheiben geschnitten, in einem Luftstrom bei etwa 60° getrocknet und dann fein gemahlen. Sie verlieren beim Trocknen 70—85 %, im Mittel etwa 80 % Wasser. 2 kg des hellroten Zwiebelmehls werden dreimal mit je 5 Liter absolutem Alkohol, gegebenenfalls unter leichtem Erwärmen und Umrühren, während je 1—2 Stunden extrahiert. Die auf der Nutsche abgesaugten, tief rot gefärbten und vereinigten Extrakte werden im Vakuum bei niederer Temperatur zur Trockne verdampft. Der Rückstand, der etwa 120 g wiegt, wird in 5 Liter Wasser aufgenommen und mit einer Suspension von frisch hergestelltem und neutral gewaschenem Bleihydroxyd (40—50 g) versetzt. Mit den gerbstoffartigen Verunreinigungen wird auch der rote Farbstoff (wahrscheinlich ein Anthocyan) durch das Bleihydroxyd ausgefällt, so dass beim Filtrieren eine klare, nur noch wenig gefärbte Lösung abläuft, die im Vakuum bei niederer Temperatur auf 1/2—1 Liter eingedampft wird. Mehrmaliges Ausschütteln mit Chloroform entzieht der Lösung lipoidartige Stoffe, aber keine Glykoside, dagegen wird durch fünf-

maliges Ausschütteln mit je 200 cm³ Chloroform, dem 20 % n-Butylalkohol zugesetzt worden sind, der wässerigen Lösung die Gesamtheit der Glykoside entzogen. Der durch Eindampfen im Vakuum erhaltene Rückstand der vereinigten Ausschüttelungen wiegt nur noch 5—8 g; er ist hellgelb gefärbt und gibt eine intensiv blaugrüne *Liebermann*-sche Farbreaktion.

Die getrocknete, fein pulverisierte Substanz wird in 200 cm³ Wasser suspendiert, gegebenenfalls mit 100 cm³ Chloroform, das einen Rest von gelber und schmieriger Substanz entfernt, nochmals ausgeschüttelt, während andererseits durch die Sättigung der wässerigen Lösung mit Chloroform ein grosser Teil der vorübergehend gelösten Substanz wieder ausgefällt wird. Ungeachtet der Ausfällung wird die wässerige Lösung nun 8—10mal mit je 100 cm³ Chloroform, dem 5 % Butylalkohol zugesetzt sind, ausgeschüttelt. Das Rattengift geht dabei vollständig in die Chloroform-Butylalkohollösung über; die eigentlichen Herzglykoside bleiben grösstenteils in der wässerigen Lösung zurück¹⁾.

Der im Vakuum erhaltene Abdampfrückstand der vereinigten Chloroform-Butylalkoholfraktionen wiegt je nach dem Scillirosidgehalt der Droge 1—5 g. Er wird in möglichst wenig, d. h. etwa der doppelten Gewichtsmenge von Methylalkohol aufgenommen und dann vorsichtig bis zum Beginn einer Trübung mit Wasser versetzt. Sollte die Trübung stehenbleiben, so wird sie mit einigen Tropfen Methylalkohol wieder zum Verschwinden gebracht. Nach einigem Stehen beginnt die Krystallisation des Scillirosids, dessen Ausbeute je nach dem Gehalt des Ausgangsmaterials, aus bester bisher untersuchter Droge bis 350 mg pro kg Frischgewicht sein kann.

Zur vollständigen Reinigung wird das Rohkrystallisat in heissem Methylalkohol gelöst (je 1 g in 5 cm³) und die Lösung mit der gleichen bis doppelten Menge warmen Wassers versetzt; eventuell muss die heisse Lösung vor dem Stehenlassen zur Krystallisation durch eine

1) Aus dieser Fraktion konnte in unserem Laboratorium Herr Dr. W. Kreis neben einer geringen Menge des wohlbekannten Scillaren A in ansehnlicher Ausbeute ein ebenfalls krystallisiertes, in der Literatur noch nicht beschriebenes Glykosid, das die Laboratoriumsbezeichnung „Scillaren F“ trägt, isolieren. Er hatte dieses Glykosid erstmals bei der Fraktionierung des Scillaren-B-Komplexes aus weisser Meerzwiebel erhalten. „Scillaren F“ steht in bezug auf die *Liebermann*-sche Farbreaktion dem Scillirosid und dem Scillaren A nahe, besitzt einen unscharfen Schmelzpunkt bei 160—165° und den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = + 106^\circ$ (0,8% in Methylalkohol). Die Analyse von „Scillaren F“ spricht für die Zusammensetzung $C_{30}H_{42}O_{10}$ oder für eine um H_2 ärmere Formel. Als Zucker enthält dieses Glykosid 1 Mol. Glucose.

Die Ausbeute der 3 erwähnten Glykoside in Form ihrer Rohkrystallivate betrug bei der Verarbeitung von 650 kg frischer roter Meerzwiebel aus Sardinien:

44 g Scillirosid,
1,6 g Scillaren A,
7,2 g „Scillaren F“

dünne Talkschicht geklärt werden. Die Substanz wird so lange umkrystallisiert, bis beim Versetzen der gesättigten methylalkoholischen Lösung mit Wasser keine Opaleszenz, die noch vorhandene Verunreinigungen anzeigen würde, mehr auftritt.

3. Beschreibung und Analyse des Scillirosids.

Reines Scillirosid krystallisiert aus wässrigem Methylalkohol in dachförmig abgeschrägten Prismen (s. Fig. 1) oder in bis 1 cm langen Spiessen. Es ist leicht löslich in den niederen Alkoholen, Äthylenglykol, Dioxan, Eisessig, schwerer in Aceton, sehr wenig in Wasser, Chloroform und Essigester, praktisch unlöslich in Kohlenwasserstoffen und Äther. Die Krystalle enthalten Lösungsmittel und verlieren beim scharfen Trocknen im Hochvakuum bei 50° 8 % ihres Gewichts. Der Schmelzpunkt der getrockneten Substanz ist nicht sehr charakteristisch, er liegt unscharf bei 168—170°; bei etwa 200° findet Zersetzung statt.

Farbreaktionen: Die *Legal'sche* Probe mit Natriumpentacyanonitrosoferrat(III) ist negativ. Die *Keller-Kiliani'sche* Reaktion zeigt einen nicht charakteristischen, schwach bräunlichen Ring an der Grenzfläche zwischen konz. Schwefelsäure und Eisessig; der überstehende Eisessig färbt sich an der Grenzfläche grasgrün. Die *Liebermann'sche* Sterin-Reaktion mit Essigsäure-anhydrid—konz. Schwefelsäure ergibt einen Farbübergang von Violett über Grün nach Blaugrün. Die *Baljet'sche* Pikrinsäureprobe ist negativ, ebenso die *Rosenheim'sche* Ergosterinreaktion mit Trichloressigsäure. Scillaren A gibt damit eine intensiv blaue Färbung; beim vollständig hydrierten Scillaren A, dem Hexahydro-scillaren A, fällt die Reaktion wie beim Scillirosid negativ aus. Beim Erwärmen mit wenig Ameisensäure findet ein Farbübergang von Blaugrün nach Grün statt, beim Scillaren A von Violett nach Kobaltblau. Mit Eisen(III)-chlorid gibt Scillirosid keine Färbung.

Fehling'sche Lösung wird erst bei längerem Kochen von Scillirosid reduziert. Wird die konz. alkoholische Lösung von Scillirosid mit etwas 2-n. Schwefelsäure erwärmt, so entsteht eine Fällung; das Filtrat davon reduziert *Fehling'sche* Lösung stark.

Elementaranalyse: Die Substanz wurde im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

2,733; 3,228; 3,115; 3,323 mg Subst. gaben 6,093; 7,184;

6,950; 7,392 mg CO₂ und 1,849; 2,095; 2,147; 2,248 mg H₂O

4,045; 5,305 mg Subst. verbrauchten 0,67; 0,94 cm³ 0,01-n. NaOH

C ₃₂ H ₄₄ O ₁₂ · ½ H ₂ O	Ber. C 61,0	H 7,2	CO·CH ₃ 6,8%
	Gef. „ 60,8;	60,7 „ 7,6; 7,3 „ 7,1; 7,6%	
	„ 60,85;	60,7 „ 7,7; 7,6	

Molekulargewichtsbestimmung nach *Barger-Rast*: 7,0; 10,2 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Subst. gaben mit 108,0; 168,7 mg Campher eine Schmelzpunktserniedrigung von 3,66; 3,40°.

C₃₂H₄₄O₁₂ Ber. Mol.-Gew. 620 Gef. Mol.-Gew. 708; 711

Optische Drehung: Die Substanz wurde im Hochvakuum bei 50° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

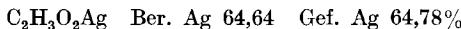
0,2857; 0,2181; 0,2537; 0,2064; 0,2094 g in 25 cm³ Methylalkohol (c = 1,1428; 0,8724; 1,0148; 0,8256; 0,8376) gelöst, drehen bei 20° im 2 dm-Rohr um – 1,35°; – 1,03°; – 1,20°; – 0,98°; – 1,00°.

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -59,1^\circ; -59,0^\circ; -59,1^\circ; -59,4^\circ; -59,7^\circ$$

Qualitativer Nachweis der Acetylgruppe.

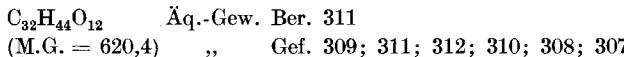
a) 250 mg Scillirosid werden in 10 cm³ 0,1-n. wässriger Lauge kurz erwärmt, dann mit Phosphorsäure schwach angesäuert, mit etwas Wasser versetzt und davon 20 cm³ Lösung, bis fast zur Trockene, abdestilliert. Das Destillat wird mit Natronlauge neutralisiert und eingedampft. Das hinterbleibende Salz gibt eine deutliche Kakodylreaktion, ist also Natriumacetat.

b) 2,0 g Scillirosid werden in 20 cm³ Wasser aufgeschwemmt und mit 10 cm³ 2-n. Natronlauge versetzt. Der Ansatz wird bis zur vollständigen Lösung auf dem Dampfbad gehalten, wobei er sich rotbraun verfärbt. Nach dem Ansäuern mit 2-n. Phosphorsäure schlägt die Farbe nach Gelb um und es entsteht ein dicker, schmieriger Niederschlag, der abfiltriert und mit reichlich Wasser gewaschen wird. Filtrat und Waschwasser (ca. 100 cm³) werden bis fast zur Trockene abdestilliert. Der Rückstand wird nochmals mit ca. 100 cm³ Wasser digeriert und das Filtrat fast ganz eingedampft. Das sorgfältig gesammelte essigsäurehaltige Destillat (ca. 200 cm³) wird mit 0,1-n. Lauge gegen Phenolphthalein titriert. Laugenverbrauch 26,5 cm³ (für 1 Mol. Essigsäure ber. 32,2 cm³). Die neutralisierte Lösung wird auf ca. 10 cm³ konzentriert, das Konzentrat durch ein Faltenfilterchen von einigen Flocken geklärt und mit 2 cm³ 10-proz. Silbernitratlösung versetzt. Es bildet sich bald eine dicke, krystallinische Ausscheidung, die abfiltriert und mit 50-proz. Methylalkohol nachgewaschen wird. Man erhält auf diese Weise 150 mg essigsaurer Silber, wie die Analyse bestätigt:



Alkalische Titrationen:

Die Substanz wurde im Hochvakuum bei 50° getrocknet: 0,1559; 0,1713; 0,1541; 0,1601; 0,1526; 0,1576 g Substanz werden in 20 cm³ Methylalkohol gelöst und mit 10,00 cm³ 0,1-n. Natronlauge ca. 1 Stunde im Dampfbad gehalten. Dann wird gegen Phenolphthalein mit 0,1-n. Schwefelsäure titriert. Laugenverbrauch: 5,05; 5,50; 4,93; 5,16; 4,95; 5,13 cm³.



Die Lactongruppe und die Acetylgruppe verbrauchen je 1 Mol. Alkali.

Verseifung mit starkem Alkali und Bestimmung der abgespaltenen Essigsäure: 0,1229; 0,1842 g hochvakuumtrocknes Scillirosid werden in 3 cm³ Methanol gelöst und mit 3 cm³ 30-proz. methylalkoholischer Kalilauge während 10 Minuten bzw. 1 Stunde am Rückfluss gekocht. Darauf gibt man zur Lösung 20 cm³ 10-proz. Phosphorsäure und engt die Lösung weitgehend ein. Nach Zugabe von zweimal je 20 cm³ Wasser wird jeweils stark konzentriert. Das Destillat wird mit 0,1-n. Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert.

Verbrauch für 1 Mol. Essigsäure: Ber. 2,0; 3,0 cm³ 0,1-n. Lauge
Gef. 2,1; 3,1 cm³

Bei diesem Versuch wird also nur 1 Mol. Essigsäure abgespalten. Wäre im Lactonring eine Acetessigestergruppierung vorhanden, so müsste unter der Wirkung des starken Alkalies noch ein zweites Mol. Essigsäure gebildet werden (Säurespaltung).

4. Tetracetyl-Scillirosid.

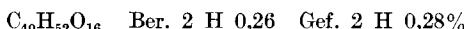
Die Lösung des Scillirosids in Pyridin wird bei Zimmertemperatur mit Essigsäure-anhydrid versetzt und nach mehrstündigem Stehen in Wasser eingegossen, worauf man das ausgefallene Präparat abfiltriert, mit Wasser nachwäscht und aus Methylalkohol umkristallisiert. Die Tetracetylverbindung krystallisiert in langen Nadeln, die zu Rosetten gruppiert sind; sie ist fast unlöslich in Wasser, leicht löslich dagegen in Chloroform. Der Schmelzpunkt der getrockneten Substanz liegt scharf bei 199°.

Elementaranalyse: Die Substanz wurde bei 60° im Hochvakuum getrocknet. 3,236; 3,099; 3,179; 3,108 mg Subst. gaben 7,255; 6,932; 7,108; 6,968 mg CO₂ und 1,944; 1,928; 1,844; 1,826 mg H₂O.

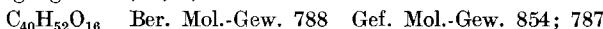
4,420; 4,427; 4,344; 3,417 mg Substanz verbrauchten 2,96; 2,805; 2,82; 2,24 cm³ 0,01-n. NaOH.

C ₄₀ H ₅₂ O ₁₆	Ber. C 60,9	H 6,65	CO·CH ₃ 27,3%
(M.G. = 788,4)	Gef. „ 61,14; 61,00	„ 6,72; 6,96	„ 28,8; 27,3%
	60,98; 61,14	6,49; 6,57	27,9; 28,2%

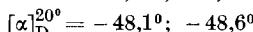
Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach Zerevitinoff: 13,322 mg bei 80° im Luftstrom getrocknete Subst. gaben 0,832 cm³ CH₃ (0° 760 mm) (Analyse von H. Gubser, Zürich).



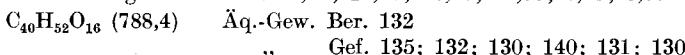
Molekulargewichtsbestimmung nach Barger-Rast: 10,8; 8,9 mg im Hochvakuum bei 70° getrocknete Subst. gaben mit 194,6; 189,3 mg Campher eine Schmelzpunktserniedrigung von 2,60; 2,39°.



Optische Drehung: 0,2260; 0,2624 g in 25 cm³ Methylalkohol gelöst (c = 0,904; 1,0496) drehen im 2 dm-Rohr bei 20° - 0,87°; - 1,02°.



Alkalische Titration: 0,1375; 0,2078; 0,2099; 0,1562; 0,0980; 0,1145 g werden in 10 cm³ Methylalkohol gelöst und mit 20 cm³ 0,1-n. Natronlauge versetzt. Die Lösung bleibt 1—2 Stunden im Dampfbad, und wird dann mit 0,1-n. Schwefelsäure gegen Phenolphthalein titriert. Laugenverbrauch: 10,17; 15,70; 16,10; 11,75; 7,49; 8,78 cm³.



Zum Lactonring und dem ursprünglich vorhandenen Acetyl sind durch die Acetylierung 4 weitere Acetylgruppen hinzugekommen, so dass 6 Äquivalente Lauge verbraucht werden.

5. Partielle Entacetylierung des Tetracetyl-scillirosids zum Scillirosid.

Beim Aufarbeiten der neutralisierten Lösungen der alkalischen Titration erhält man nur amorphe Produkte, in denen auch die genuine Acetylgruppe abgespalten und der Lactonring geöffnet und verändert wurde. Auch die Behandlung mit absoluter alkoholischer Lauge oder mit Bariummethyletat in der Kälte führt zu einer Veränderung des Scillirosids, wie in späteren Arbeiten gezeigt werden soll.

Es gelingt jedoch, die am Zucker sitzenden Acetylreste allein abzuspalten und den sehr alkaliempfindlichen Lactonring mit der daran haftenden Acetylgruppe intakt zu lassen, wenn man das Tetracetyl-scillirosid mit absolutem methylalkoholischem Ammoniak behandelt.

200 mg Tetracetyl-Scillirosid werden in 5 cm³ Methylalkohol gelöst und mit 5 cm³ einer ca. 0,3-n. absoluten methylalkoholischen Ammoniaklösung versetzt. Die Lösung bleibt 24 Stunden im Eisschrank und wird dann bei niedriger Temperatur zur Trockne verdampft. Der Rückstand krystallisiert aus Methylalkohol-Wasser in den für das Scillirosid charakteristischen Formen. Die getrockneten Krystalle schmelzen gegen 170°.

Optische Drehung: 0,0375 g hochvakuumtrockene Substanz in 5 cm³ Methylalkohol gelöst (c = 0,75) drehen im 2 dm-Rohr bei 20° = -0,88°.

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -59,3^\circ$$

6. Tetrapropionyl-scillirosid.

250 mg hochvakuumtrockenes Scillirosid werden in 4 cm³ Pyridin gelöst und mit 2 cm³ Propionsäure-anhydrid versetzt. Nach dem Stehen über Nacht bei 20° wird die Lösung in Wasser eingegossen. Das rohe Acylprodukt (340 mg) wird aus Methanol umkristallisiert und in langen, dünnen Nadeln, die bei 188° scharf und ohne Zersetzung schmelzen, erhalten.

Elementaranalyse: 3,080; 3,088; 3,088 mg Substanz (im Hochvakuum bei 100° getrocknet) gaben 2,043; 2,112; 2,065 mg H₂O und 7,105; 7,095; 7,106 mg CO₂.

$$\begin{array}{ll} \text{C}_{44}\text{H}_{60}\text{O}_{16} (844,5) & \text{Ber. C } 62,52 \quad \text{H } 7,17\% \\ & \text{Gef. , } 62,91; 62,66; 62,76 \quad , 7,42; 7,65; 7,48\% \end{array}$$

Optische Drehung: 47,4 mg in 5 cm³ Methanol bei 20° im 2 dm-Rohr = 0,90°.

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = -47,4^\circ$$

7. Tetra-benzoylverbindung des Scillirosids.

Auch diese Substanz ist zur Charakterisierung des Scillirosids herangezogen worden. 750 mg trockenes Scillirosid werden in 20 cm³ Pyridin gelöst und unter Eiskühlung mit 5 cm³ Benzoylchlorid versetzt. Nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wird die Lösung in Äther eingegossen. Man wäscht die Ätherlösung mit verdünnter Schwefelsäure und Wasser, konzentriert und versetzt sie mit einem Überschuss von Petroläther. Die dabei ausfallende Substanz wird abfiltriert und mehrmals aus Methylalkohol umkristallisiert: 1,1 g feine, biegsame, lange Nadeln, die bei 168—170° schmelzen.

Elementaranalyse: Die Substanz wurde bei 80° im Hochvakuum getrocknet. 3,183; 3,070 mg. Subst. gaben 8,157; 7,845 mg CO₂ und 1,740; 1,705 mg H₂O

$$\begin{array}{ll} \text{C}_{60}\text{H}_{60}\text{O}_{16} (1036,5) & \text{Ber. C } 69,46 \quad \text{H } 5,84\% \\ & \text{Gef. , } 69,89; 69,69 \quad , 6,12; 6,21\% \end{array}$$

8. Saure Hydrolyse des Scillirosids. Nachweis der Glucose.

Bei der sauren Verseifung in wässerigen oder alkoholischen Medien gelang es bisher nicht, ein krystallisiertes Aglykon zu fassen; der Zucker ist schwer abspaltbar. Bei Verwendung von 1-n. Säure ist längeres Erwärmen nötig. Mit methylalkoholischer Salzsäure tritt fast sofort Gelbfärbung der Lösung ein, die in der Wärme schwarz wird.

a) Verseifung mit 1-n. wässriger Schwefelsäure: 0,350 g hochvakuumtrockenes Scillirosid wird in 10 cm³ n. Schwefelsäure suspendiert und 5 Stunden im Dampfbad erwärmt. Dann wird mit Wasser verdünnt, worauf die gelben Schmieren in Chloroform aufgenommen werden. Der Rückstand der eingedampften Chloroformlösung beträgt 0,2352 g = 67 % (ber. 74 %).

Die wässrige Zuckerlösung wird durch vorsichtiges Konzentrieren vom gelösten Chloroform befreit und dann mit destilliertem Wasser auf 100 cm³ aufgefüllt. Davon werden 3 Proben von je 10 cm³ abpipettiert. Die erste Probe wird sofort nach *Fehling-Lehmann-Schoorl* mit Thiosulfat titriert. Die zweite Portion bleibt 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und wird anschliessend an die dritte Probe, die mit 5 cm³ Hefeaufschwemmung (100 mg nasse Hefe) vergoren wurde, titriert. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle ersichtlich.

Nr.	Ansatz	0,1-n. cm ³ Thiosulfat	mg Glucose	ganzer Ansatz	% Glucose
1	sofort titriert . .	3,12	9,7	97	27,7%
2	nach 20 Stunden ohne Hefe . . .	3,18	9,7	97	27,7%
3	nach 20 Stunden mit Hefe ¹⁾ . . .	0	0	0	0%

Für 1 Mol. Glucose im Scillirosid berechnet sich 29 %. Der Zucker wird von der Hefe glatt vergoren.

Aus dem Rest der Zuckerlösung wurde nach dem Konzentrieren auf ein kleines Volumen das Phenylglucosazon dargestellt. Man erwärmt mit salzaurem Phenylhydrazin und wasserfreiem Natriumacetat, worauf bald eine reichliche Krystallisation von gelben Nadeln einsetzte, die, aus 60-proz. Alkohol umkrystallisiert, in den charakteristischen Nadelbüscheln vom Smp. 210° erschienen.

b) Verseifung in wässrig-methylalkoholischer Säure: 0,090 g hochvakuumtrockenes Scillirosid werden in 2 cm³ Methylalkohol gelöst und mit 2 cm³ 2-n. Schwefelsäure und 4 cm³ Wasser

¹⁾ Ein analog angesetzter Blindversuch mit Hefe ohne Zuckerlösung verbrauchte ebenfalls kein Thiosulfat.

versetzt. Die Lösung bleibt 4 Stunden im Dampfbad, wird hierauf mit n. Natronlauge neutralisiert, worauf man die entstandene Fällung abfiltriert und mit Wasser nachwäscht. Der Rückstand lässt sich leicht in Chloroform aufnehmen und wiegt 0,0570 g = 63,5% (Ber. 74%).

Die Zuckerlösung wird mit 0,1-n. Thiosulfat titriert, Verbrauch 8,39 cm³. Diese entsprechen 26,8 mg Glucose, das ist 29,8% (Ber. 29%).

Zwei weitere analog durchgeführte Versuche ergaben folgende Werte: Die Glucose aus 0,1096; 0,0753 g Scillirosid verbrauchte 9,26; 6,93 cm³ 0,1-n. Thiosulfat entsprechend 30,2; 22,1 mg Glucose oder 27,6; 29,4%.

9. Versuche zur enzymatischen Spaltung des Scillirosids.

Eine Abspaltung des Zuckerrestes mit β -Glucosidase oder mit einem α -glucosidasehaltigen Strophanthobiasepräparat ist uns nicht gelungen. Von unseren Versuchen führen wir zwei Beispiele an:

a) Mit Emulsin bei $p_H = 5$. 100 mg feinst pulverisiertes und getrocknetes Scillirosid werden mit einer Lösung von 100 mg Emulsin¹⁾ in 50 cm³ Wasser versetzt. Nach einem Zusatz von 0,42 cm³ 30-proz. Essigsäure (p_H der Lösung wird dadurch = ca. 5) wird 24 Stunden bei 25° geschüttelt. Die Lösung wird dann klar zentrifugiert. Die mit Methylalkohol aus dem Bodenkörper ausgezogene und beim Eindampfen der Lösung hinterbleibende Substanz wird aus Methylalkohol-Wasser umkristallisiert und schmilzt nach dem Trocknen bei 170°; sie ist unverändertes Scillirosid.

b) Mit einem Strophanthobiasepräparat. 0,2535 g hochvakuumtrockenes und fein gepulvertes Scillirosid werden in 20 cm³ Wasser suspendiert und mit der Lösung von 150 mg eines α - und β -glucosidasehaltigen Strophanthobiasepräparates²⁾ in 20 cm³ Wasser 48 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Dann wird die Lösung durch eine dünne Talkenschicht filtriert und nach *Fehling-Lehmann-Schoorl* titriert. Es wird kein Thiosulfat verbraucht.

10. Die Hydrierung des Scillirosids mit Palladium-Katalysator.

Die Hydrierung des Scillarens A³⁾ ist mit dem Platinoxyd-Katalysator nach *Adams* durchgeführt worden und hatte unter Absättigung der Doppelbindungen und teilweiser Öffnung des Lactonrings zu sauren und neutralen Fraktionen geführt, die krystallisiert gewonnen werden konnten. Bei der Anwendung dieses Katalysators für die Hydrierung von Scillirosid zeigten sich kompliziertere Verhältnisse, da zu den erwähnten Reaktionen noch eine teilweise Abspaltung des Essigsäurerestes hinzukommt und kein krystallisiertes Hydrierungsprodukt erhalten werden konnte. Dagegen gelang es, die Hydrierung des Scillirosids mit einem Palladium-Katalysator in einheitlichem Reaktionsverlauf unter quantitativer Abspaltung der

¹⁾ Das verwendete β -Glucosidase-Präparat wurde aus bitteren Mandeln in üblicher Weise dargestellt, d. h. durch Essigsäurefällung und anschliessende Alkohol-Umfällung gereinigt. Amygdalin wurde von diesem Präparat kräftig gespalten.

²⁾ Vgl. *Enzymologia* 7, 368 (1939).

³⁾ *Helv.* 17, 1348 (1934).

Essigsäure ohne wesentliche Öffnung des Lactonrings durchzuführen und ein neutrales Hydrierungsprodukt in krystallisierter Form abzuscheiden.

a) Präparativer Versuch: 880 mg trockenes Scillirosid werden in 50 cm³ 90-proz. Methylalkohol gelöst und mit 90 mg Palladium-Katalysator (dargestellt aus Palladium(II)-chlorid mit Formaldehyd) hydriert. Nach 2 1/2 Stunden ist die Wasserstoffaufnahme fast zum Stillstand gekommen und es sind genau 3 Mol. H₂ (108 cm³) aufgenommen worden. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wird im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand, der nach Essigsäure riecht, erstarrt beim Anreiben mit Methylalkohol zum grossen Teil krystallin. Die Ausbeute beträgt 0,57 g. Durch vorsichtiges Konzentrieren einer Lösung des Rohkrystallisats in wässrigem Methylalkohol werden einheitliche Nadeln erhalten. Der Schmelzpunkt der nochmals aus wässrigem Äethylalkohol umkrystallisierten Substanz liegt scharf bei 284°. Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion wird ein Übergang von rosa-violett nach schmutzig-braungrün beobachtet.

Elementaranalyse: 3,362; 3,075 mg Subst. gaben 7,810; 7,135 mg CO₂ und 2,587; 2,288 mg H₂O.

C ₃₀ H ₄₆ O ₁₀ (566,4)	Ber. C 63,56	H 8,19%
	Gef. „ 63,35; 63,28	„ 8,61; 8,33%

Optische Drehung: 0,0422 g getrocknetes Hydrierungsprodukt in 5 cm³ Methylalkohol gelöst (c = 0,844) drehen im 2 dm-Rohr bei 20° = + 0,57°.

$$[\alpha]_D^{20} = + 34^\circ$$

b) Bestimmung der abgespaltenen Essigsäure: 250 mg getrocknetes Scillirosid werden mit 50 mg Palladium-Katalysator in 15 cm³ 90-proz. Methylalkohol hydriert. Nach Aufnahme von 3 Mol. Wasserstoff wird die Lösung vom Katalysator abfiltriert und mit 0,1-n. Natronlauge (3,85 cm³) gegen Phenolphthalein genau neutralisiert. Die neutrale Lösung wird im Vakuum eingedampft und der Rückstand mehrmals mit Wasser ausgezogen. Die gesammelte wässrige Lösung wird nach Ansäuern mit Phosphorsäure dreimal abdestilliert. Das Destillat verbraucht, gegen Phenolphthalein titriert, wiederum 3,85 cm³ 0,1-n. Natronlauge. Dies entspricht 23,1 mg Essigsäure (ber. 24,1 mg). Durch Eindampfen des neutralisierten Destillats auf ein kleines Volumen, Versetzen mit einigen Tropfen 10-proz. Silbernitratlösung und Hinzufügen von etwas Methylalkohol wird eine reichliche Abscheidung von Silberacetat erhalten.

Chemisch-pharmazeutisches Laboratorium „Sandoz“ Basel.