

*Pikrat*: Zur konzentrierten Lösung des Produktes in abs. Alkohol gibt man eine gesättigte alkoholische Lösung von Pikrinsäure (kleiner Überschuss). Man dampft zur Trockene ein und kristallisiert aus Essigester um. Nach längerem Stehen bei Raumtemperatur bilden sich orangerote Nadelchen, die bei 100–110° im Vakuum getrocknet werden. Smp. 205° (unkorr.); Aufschäumen unter Zersetzung.

$C_{26}H_{26}O_8N_5$  Ber. C 57,84 H 5,44 N 12,98%  
(539,2) Gef. „ 58,07 „ 5,34 „ 12,80%

Reduktion des Yohimbylalkohol-tritosylates: Unter sehr intensivem Rühren und allmählichem Erwärmen bis zur Siedetemperatur des Lösungsmittels lässt man im Verlaufe einer Stunde die Aufschlammung von 5,5 g gut getrocknetem Yohimbylalkohol-tritosylat in 500 cm<sup>3</sup> trockenem Tetrahydro-furan zur Auflösung von 8 g Lithiumaluminiumhydrid in 400 cm<sup>3</sup> trockenem Tetrahydro-furan zutropfen. Unter fortgesetztem Rühren erhitzt man weitere 24 Std. auf 60–70°. Die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches erfolgt auf dieselbe Weise wie im vorstehenden Beispiel, d. h. nach Reduktion des Yohimbylalkohol-mono-tosylates. Der erhaltene Rückstand wird mehrere Male aus verd. Alkohol unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Es bilden sich feine Nadelchen, die bei 90–100° im Vakuum getrocknet werden. Ausbeute 1 g (50% d. Th.). Smp. 188–190° unter Zersetzung (unkorr.).  $[\alpha]_D^{23} = -57^\circ (\pm 2^\circ)$  ( $c = 0,64$  g in 100 cm<sup>3</sup> abs. Äthanol).

$C_{20}H_{26}N_2$  Ber. C 81,57 H 8,90 N 9,52%  
(294,2) Gef. „ 81,64 „ 8,73 „ 9,37%

*Pikrat*: Herstellung in alkoholischer Lösung, Umkristallisation aus abs. Alkohol (2mal), dann aus Essigester (1mal). Das Pikrat scheidet sich in orangeroten Nadelchen ab, die bei 100–110° im Vakuum getrocknet werden. Smp. 202° (unkorr.); Aufschäumen unter Zersetzung.

$C_{26}H_{29}O_7N_5$  Ber. C 59,60 H 5,60 N 13,38%  
(523,2) Gef. „ 59,71 „ 5,41 „ 13,10%

### Zusammenfassung.

Aus Yohimbinalkohol I wurden der Mono-p-toluolsulfonsäure-ester II und der Tri-p-toluolsulfonsäureester III dargestellt und beide Verbindungen mit  $LiAlH_4$  reduziert. Dabei entstanden aus II 16-Methyl-yohimbol (IV) und aus III 16-Methyl-yohimban (V).

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

## 244. Die Lage der Kerndoppelbindung im Scillarenin.

32. Mitteilung über Herzglykoside<sup>1)</sup>

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

(22. VIII. 52.)

Nachdem uns die Darstellung des primären Aglykons Scillarenin aus Proscillaridin A durch Abspaltung des Rhamnoseresestes mit Hilfe eines adaptiven Enzyms gelungen war<sup>2)</sup>, konnte die bisherige Ansicht über die Lage der Doppelbindung, die wir in  $\Delta^{5,6}$ -Stellung des Steroidgerüsts angenommen hatten, überprüft werden.

<sup>1)</sup> 31. Mitteilung, Helv. **35**, 1324 (1952).

<sup>2)</sup> A. Stoll, J. Renz & A. Brack, Helv. **34**, 2301 (1951).

Es waren vor allem zwei Reaktionen, aus deren Verlauf geschlossen worden war, dass sich die Doppelbindung zwischen den C-Atomen 5 und 6 des Rings B befinde:

1. Bei der katalytischen Hydrierung von Scillaren A, dem Hauptglykosid der weissen Meerzwiebel, in welchem das Scillarenin mit einem aus Rhamnose und Glucose aufgebauten Zuckerrest verbunden ist, entstand vorzugsweise 3  $\beta$ -Oxy-allocholansäure, also eine Verbindung vom Cholestan-Typ<sup>1)</sup>, analog dem Übergang von Cholesterin in Cholestanol<sup>2)</sup>.

2. Bei der sauren Hydrolyse der Glykoside Scillaren A oder Proscillaridin A wird selbst unter den mildesten Bedingungen mit dem Zuckerrest gleichzeitig die Hydroxylgruppe am C-Atom 3 unter Bildung einer neuen Doppelbindung abgespalten. Es konnte aber keine  $\Delta^2$ - und  $\Delta^4$ -ungesättigte Verbindung gefasst werden, sondern stets nur Scillaridin A<sup>3)</sup>, in welchem sich die Doppelbindungen in  $\Delta^3$ - und  $\Delta^5$ -Stellung befinden, also auf die Ringe A und B verteilt sind.

Die leichte Eliminierbarkeit der Hydroxylgruppe am C-Atom 3 mit Hilfe von schwachen Säuren, die nicht nur bei den Glykosiden, sondern auch noch beim freien, primären Aglykon Scillarenin beobachtet wird, entspricht nicht dem Verhalten des Cholesterins, das unter analogen Bedingungen stabiler ist. Es musste daher trotz den Befunden bei der Hydrierung an eine  $\Delta^4$ -Stellung der Kerndoppelbindung im primären Aglykon, Scillarenin, und in den Glykosiden, die es enthalten, gedacht werden.

In dieser Richtung wurden die folgenden Überlegungen angestellt: Berechnet man nach Barton<sup>4)</sup> den Zuwachs der molekularen Drehungen  $[M]_D$  beim Übergang von Scillarenin in Scillarenon einerseits und von Cholesterin bzw.  $\Delta^4$ -Cholestanol-(3  $\beta$ )<sup>5)</sup> in Cholestenon andererseits, so sprechen die Werte, wie aus der Tab. 1 hervorgeht, für die  $\Delta^4$ -Stellung der Doppelbindung im Scillarenin<sup>6)</sup>.

Die Übereinstimmung im Zuwachs der Drehwerte beim Übergang von Scillarenin zum Scillarenon und von der  $\Delta^4$ -Verbindung zum Cholestenon ist auffallend gut (Tab. 1).

<sup>1)</sup> A. Stoll, A. Hofmann & A. Helfenstein, Helv. **18**, 644 (1935).

<sup>2)</sup> Cholestenon mit der Doppelbindung zwischen den C-Atomen 4 und 5 gibt bei der katalytischen Hydrierung mit Pd Koprostanon.

<sup>3)</sup> A. Stoll, A. Hofmann & W. Kreis, Helv. **17**, 1334 (1934); UV.-Spektrum von Scillaridin A siehe Helv. **34**, 2305 (1951). Auch der negative Drehwert von Scillaridin A ( $-58^\circ$  in Chloroform) spricht für diese Anordnung der Doppelbindung.

<sup>4)</sup> D. H. R. Barton, Soc. **1945**, 813.

<sup>5)</sup> R. Schoenheimer & E. A. Evans jr., J. Biol. Chem. **114**, 567 (1936); H. McKennis & G. W. Gaffney, J. Biol. Chem. **175**, 217 (1948).

<sup>6)</sup> Herr Prof. T. Reichstein, Basel, und Herr Dr. H. M. E. Cardwell, Oxford, haben uns ebenfalls auf solche Zusammenhänge aufmerksam gemacht, wofür wir ihnen auch an dieser Stelle verbindlich danken möchten.

**Tabelle 1.**

Spezifische und molekulare Drehungen in Chloroform und die Differenzen beim Übergang vom Alkohol zum Keton.

Verbindung	$[\alpha]_D$	$[M]_D$	Differenz der $[M]_D$ -Werte
Scillarenin . . . . .	+ 17° <sup>1)</sup>	+ 65°	} + 187°
Scillarenon . . . . .	+ 66°	+ 252°	
Cholesterin . . . . .	- 39°	- 151°	} + 493°
Cholestenon . . . . .	+ 89°	+ 342°	
$\Delta^4$ -Cholestenol-(3 $\beta$ ) . . .	+ 44° <sup>2)</sup>	+ 170°	} + 172°
Cholestenon . . . . .	+ 89°	+ 342°	

Vergleicht man hingegen z. B. den Übergang vom Scillarenin in Scillaridin A einerseits mit dem Übergang von Cholesterin, bzw. von  $\Delta^4$ -Cholestenol-(3 $\beta$ ) in  $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien andererseits, so sprechen die Differenzen der molekularen Drehwerte eher für eine Doppelbindung zwischen den C-Atomen 5 und 6 im Scillarenin (s. Tab. 2).

**Tabelle 2.**

Spezifische und molekulare Drehungen in Chloroform und ihre Differenzen beim Übergang der einfach ungesättigten in die doppelt ungesättigten Verbindungen.

Verbindung	$[\alpha]_D$	$[M]_D$	Differenz der $[M]_D$ -Werte
Scillarenin . . . . .	+ 17°	+ 65°	} - 278°
Scillaridin A . . . . .	- 58° <sup>3)</sup>	- 213°	
Cholesterin . . . . .	- 39°	- 151°	} - 290°
$\Delta^{3,5}$ -Cholestadien <sup>4)</sup> . . .	- 120°	- 441°	
$\Delta^4$ -Cholestenol-(3 $\beta$ ) . . .	+ 44° <sup>2)</sup>	+ 170°	} - 612°
$\Delta^{3,5}$ -Cholestadien . . .	- 120°	- 442°	

Die Gegenüberstellung des Zuwachses der molekularen Drehwerte bei der Oxydation von Scillarenin zum Scillarenon einerseits und bei der Wasserabspaltung aus Scillarenin zum Scillaridin andererseits im Vergleich mit den entsprechenden Übergängen beim Cholesterin ( $\Delta^5$ -Verbindung) und beim  $\Delta^4$ -Cholestenol-(3 $\beta$ ) weist also einander widersprechende Zahlen auf und lässt daher keinen eindeutigen Hinweis auf die Lage der Doppelbindung im Scillarenin gewinnen.

<sup>1)</sup> Nach neueren Bestimmungen der Drehwerte von verschiedenen Präparaten haben wir durchschnittlich etwas höhere Werte erhalten, als sie in unserer früheren Mitteilung (Helv. **34**, 2308 (1951)) angegeben sind.

<sup>2)</sup> Dieser Drehwert ist in Benzollösung bestimmt worden, wodurch sich eine gewisse Ungenauigkeit ergibt, die den Vergleich aber nicht wesentlich beeinflusst.

<sup>3)</sup> Der spez. Drehwert von Scillaridin A in Chloroform-Methanol (4:1) wird bei - 63° angegeben (Helv. **16**, 727 (1933)). Da die Verbindung in reinem Chloroform sehr schwer löslich ist, haben wir für den obigen Vergleich den Drehwert noch in 1-proz. methanolhaltigem Chloroform bestimmt, und zwar zu - 58,3°  $\pm$  4° (c = 0,12, 2-dm-Rohr).

<sup>4)</sup> A. E. Sobel & M. J. Rosen, Am. Soc. **63**, 3536 (1941).

Wir haben daher die Lage der Kerndoppelbindung im Scillarenin durch Reduktion der Ketogruppe im Scillarenon zum entsprechenden Alkohol zu ermitteln versucht. Im Scillarenon muss die Doppelbindung auf Grund des UV.-Spektrums in Konjugation zur CO-Gruppe, also sicher zwischen den C-Atomen 4 und 5 liegen. Bei der Reduktion der Ketogruppe sind zwei Verbindungen, die sich nur in der räumlichen Lage der Hydroxylgruppe am C-Atom 3 unterscheiden, zu erwarten. Wenn im Scillarenin die Doppelbindung zwischen den C-Atomen 4 und 5 liegt, sollte es mit einem dieser Reduktionsprodukte identisch sein. Durch Reduktion von Scillarenon nach *Meerwein-Ponndorf* erhielten wir tatsächlich vorwiegend ein Produkt, das in allen seinen Eigenschaften mit Scillarenin übereinstimmte.

Da Scillarenin mit Digitonin nicht gefällt wird, obwohl sich die Hydroxylgruppe am C-Atom 3 in  $\beta$ -Stellung befindet, so war die Abtrennung des einen bei der Reduktion der Ketogruppe entstehenden Isomeren über das Digitonid nicht möglich. Aus dem Isomeren-gemisch, das wir vom unveränderten Keton durch Chromatographie an Aluminiumoxyd abtrennten, gelang es aber, das durch Reduktion aus Scillarenon gewonnene Scillarenin durch Kristallisation abzuscheiden, zu reinigen, mit aus Proscillaridin A enzymatisch gewonnenem Scillarenin zu identifizieren und so zu zeigen, dass die in ihm enthaltene Kerndoppelbindung sich in  $\Delta^4$ -Stellung befindet.

Die Fähigkeit gewisser Mikroorganismen, Steroide zu oxydieren, ist schon mehrfach beobachtet worden<sup>1</sup>). Wir haben daher versucht, das für unsere Versuche benötigte Scillarenon auf enzymatischem Wege direkt aus Scillaren A oder Proscillaridin A zu gewinnen. Im Gegensatz zu den früher beschriebenen Versuchen<sup>2</sup>), bei denen das Glykosid mit dem Kulturfiltrat des auf Rhamnose gezüchteten Pilzes einer Hydrolyse unter Abspaltung des Zuckerrestes unterlag, haben wir jetzt das Glykosid in konzentrierter wässrig-alkoholischer Lösung direkt in die lebenden Pilzkulturen eingetragen. Die alkoholische Substrat-Lösung wurde zu den etwa 8tägigen Kulturen hinzugegeben, das pH der Nährlösung fiel dann von 7–7,5 auf ca. 5–6 und stieg in den folgenden Tagen allmählich wieder an. Nach weiteren 5 bis 6 Tagen haben wir die Versuche aufgearbeitet. Sowohl Scillaren A als auch Proscillaridin A wurden mit dem gleichen Er-

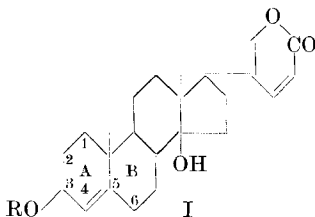
<sup>1</sup>) *L. Mamoli & A. Vercellone*, B. **71**, 1686 (1938); *L. Mamoli*, B. **71**, 2701 (1938); *C. Arnaudi*, Boll. sez. ital. soc. intern. microbiol. **11**, 208 (1939); *A. Ercoli*, Boll. scient. fac. chim. ind. Bologna **1940**, 279; *C. Arnaudi*, Zbl. Bakt. **105**, II, 352 (1942); *L. H. Schmidt & H. B. Hughes*, J. Biol. Chem. **143**, 771 (1942); *L. H. Schmidt, H. B. Hughes, M. H. Green & E. Cooper*, J. Biol. Chem. **145**, 229 (1942); *W. M. Hoehn, L. H. Schmidt & H. B. Hughes*, J. Biol. Chem. **152**, 59 (1944); *W. Zimmermann & G. May*, Zbl. Bakt. **151**, I, 462 (1944); *G. E. Turfitt*, Biochem. J. **40**, 79 (1946); *M. Welsch & C. Hensghem*, C. r. Soc. Biol. **142**, 1074 (1948); *D. Perlmann*, Science **115**, 529 (1952); *D. H. Peterson & H. C. Murray*, Am. Soc. **74**, 1871 (1952); U. S. Patent 2.602.769.

<sup>2</sup>) *A. Stoll, J. Renz & A. Brack*, Helv. **34**, 2301 (1951).

gebnis und in ähnlichem Verhältnis hydrolytisch gespalten. Der grössere Teil des Aglykons war dann nicht mehr als Scillarenin vorhanden, sondern zum Keton oxydiert worden und konnte durch Chromatographie und Kristallisation als reines Scillarenon gewonnen werden.

Auffallenderweise besitzt auch Scillarenon eine hohe Wirksamkeit auf das Herz. Die Toxizität nach *Hatcher*<sup>1)</sup> liegt bei 0,152 mg. Das Keton ist demnach nicht so viel weniger wirksam als der entsprechende Alkohol Scillarenin (letale Infusionsdosis = 0,125 mg) und etwa gleich toxisch wie das Glykosid Scillaren A (letale Infusionsdosis 0,145 mg).

Da die Konstitution von Scillarenin bis auf die Lage der Kern-doppelbindung aufgeklärt war, so ist durch die Überführung von Scillarenon in Scillarenin auch diese letzte Unsicherheit behoben worden. Das Scillarenin entspricht dem Formelbild Ia; die drei in der weissen Meerzwiebel vorkommenden Glykoside Proscillaridin A, Scillaren A und Glucoscellaren A, die Scillarenin als Aglykon enthalten, besitzen die Konstitutionsformeln Ib, Ic und Id.



Ia R = H

Ic R = Rhamnose-Glucose (= Scillabiose)

Ib R = Rhamnose

Id R = Rhamnose-Glucose-Glucose (= Scillatriose)

### Experimenteller Teil.

1. Darstellung von Scillarenin und Scillarenon durch enzymatischen Abbau von Proscillaridin A oder Scillaren A. Für die enzymatische Spaltung benützten wir den schon früher verwendeten, an Rhamnose adaptierten *Penicillium*-stamm 889<sup>2)</sup>, der auf einer Nährlösung gezüchtet war, die als einzige Kohlenstoffquelle Rhamnose enthielt. Die Züchtung erfolgte wiederum in *Fernbach*-Kolben von je 1,6 l Inhalt mit je 300 cm<sup>3</sup> Nährlösung bei 24°. Der Pilz entwickelte sich im allgemeinen in 8–10 Tagen nach dem Animpfen reichlich; das pH der Nährlösung war dann auf 7–7,4 angestiegen. Zu diesem Zeitpunkt versetzte man die Kulturen mit der Lösung des Substrates, und zwar mit 200 mg Proscillaridin A in 1,5 cm<sup>3</sup> 70-proz. Alkohol bzw. mit 240 mg Scillaren A in 3 cm<sup>3</sup> 70-proz. Alkohol unter sterilen Bedingungen. Um ein Ausfallen des Glykosids aus den übersättigten Lösungen zu vermeiden, mussten sie sofort nach ihrer Herstellung der Nährlösung, die sie dann in Lösung hielt, zugefügt werden. Das pH der Nährlösung fiel im Verlauf von 1–2 Tagen auf ca. 5,5–6; die Entwicklung des Pilzes wurde aber dadurch nicht gestört. Die Ansätze wurden weiter bei 24° gehalten und öfters vorsichtig umgeschwenkt, so dass die auf der Oberfläche der Nährlösung schwimmende

<sup>1)</sup> Den Wert, der an der Katze bestimmt wurde und sich auf 1 kg Tier bei intravenösen Infusion bezieht, verdanken wir Herrn Dr. W. Schälch, Basel.

<sup>2)</sup> Vgl. A. Stoll, J. Renz & A. Bruck, *Helv.* **34**, 2301 (1951).

Myceldecke intakt blieb. Nach 5 bis 8 Tagen war das pH allmählich wieder auf 7,4–7,6 angestiegen, und nun wurden Mycel und Nährlösung getrennt extrahiert. Die letztere wurde mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt, das Mycel dagegen mit Alkohol gemischt, in einem „Turmix“ zerkleinert und dann noch zweimal mit Alkohol extrahiert. Den Eindampfrückstand des Alkoholextraktes nahm man in Wasser auf und schüttelte die wässrige Lösung ebenfalls mit Chloroform erschöpfend aus. Nun wurden die beiden Chloroform-Fractionen, sowohl die aus der Nährlösung wie die aus dem Mycel, vereinigt und zur Trockne eingedampft. Aus einem Versuch mit 10 *Fernbach*-Kolben, wobei 2 g Proscillaridin A bzw. 2,4 g Scillaren A eingesetzt worden waren, erhielten wir in günstigen Fällen 800–1000 mg eines rötlichbraunen Präparates, mitunter ohne sichtliche Abänderung der Versuchsbedingungen bedeutend weniger. Auch enthielten die Rohpräparate Scillarenin und Scillarenon in wechselnden Mengen. Um die beiden voneinander zu trennen, wurde das Rohprodukt in reinem Chloroform gelöst und durch Chromatographie an Aluminiumoxyd in zwei Fraktionen aufgeteilt. Mit reinem Chloroform wurde aus der Säule vorwiegend das Scillarenon, mit methanolhaltigem Chloroform scillarenonhaltiges Scillarenin herausgelöst. Bei den meisten Abbaubersuchen wurde vorwiegend Scillarenon erhalten. Unter günstigen Umständen konnten aus einem Versuchsansatz mit 10 *Fernbach*-Kolben 200–400 mg Scillarenon-Fraktion und 100–300 mg Scillarenin-Fraktion erhalten werden.

Die Aufarbeitung dieser Präparate auf reines Scillarenon bzw. reines Scillarenin geschah auf folgendem Wege:

a) *Reinigung der Scillarenon-Fraktion.* Die Fraktionen von mehreren Ansätzen wurden vereinigt und erneut der Chromatographie an Aluminiumoxyd unterworfen. Die Lösung von 2,5 g des Präparates in 250 cm<sup>3</sup> reinem Chloroform passierte eine Säule von 75 g neutralgewaschenem und bei 180° getrocknetem Aluminiumoxyd. Beim Nachwaschen mit den in der Tab. 3 angegebenen Lösungsmitteln wurden in je 250 cm<sup>3</sup> Fraktionen erhalten, die sich in ihren Drehwerten unterschieden.

**Tabelle 3.**  
Fraktionierung der Scillarenonfraktion an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Lösungsmittel	Nr.	mg	Aussehen	$[\alpha]_D$ in Chloroform- Methanol 4:1
Chloroform	1	Spur	gelb	
	2	1090	krist. in Prismen beim Anreiben mit Methanol	+ 55,4°
	3	260		+ 60,0°
	4	135		+ 56,3°
	5	100		+ 29,0°
	6	90		
Chloroform-Methanol 99,5:0,5	7	545	Prismen schwerlöslich in Methanol u. Chloroform	+ 22,5°
	8	240		+ 9,7°

Die über 50° drehenden Fraktionen 2 bis 4 enthielten hauptsächlich Scillarenon; sie wurden vereinigt und in siedendem Aceton aufgenommen, wofür ca. 100 cm<sup>3</sup> notwendig waren. Aus der im Dampfbad auf etwas mehr als die Hälfte eingeeengten klaren Lösung schieden sich allmählich grosse, wasserklare Prismen (0,90 g) ab. Zur Analyse wurde das Keton nochmals aus siedendem Methanol umkristallisiert, wovon bis zur vollständigen Lösung die 60fache Menge benötigt wurde. Bei mehrstündigem Stehen schieden sich grosse Prismen ab, die bei 238–245° (letzte Reste bei 257°) schmolzen.

C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (382,48) Ber. C 75,36 H 7,91% Gef. C 75,60 H 8,21%

*Optische Drehung.* 22, 8 mg Substanz in 1,964 cm<sup>3</sup> Chloroform, c = 1,16, 1 dm-Rohr.  
 $\alpha_D^{20} = +0,77^\circ \pm 0,01^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +66,3^\circ \pm 1^\circ$ .

b) *Reinigung der Scillareninfraktion.* Die Scillareninfraktionen aus mehreren Ansätzen wurden vorerst einer Behandlung mit Digitonin unterworfen. Eine Lösung von 1,34 g des rohen Präparates in 135 cm<sup>3</sup> 95-proz. Alkohol versetzte man mit 270 cm<sup>3</sup> einer 1-proz. alkoholischen Digitoninlösung. Das Gemisch blieb anfangs klar, bildete aber bald eine Ausscheidung, die nach 24 Std. abfiltriert wurde (0,96 g). Im Rückstand, den die Mutterlauge beim Eindampfen hinterliess (3,05 g), war das Scillarenin enthalten.

Die Digitoninfällung (0,96 g) lieferte nach dem Zerlegen mit Pyridin-Äther ein in Methanol sehr schwer lösliches und daraus in dünnen Blättchen kristallisierendes Präparat (170 mg), das bei 161—164° schmolz und in Chloroform einen Drehwert von  $[\alpha]_D^{20} = -142,4^\circ$  ( $c = 0,33$ ) aufwies. Bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zeigte es einen raschen Übergang von rosa über violett-blaugrün zu einem während mehrerer Std. beständigen Dunkelgrün. Die Analyse dieser stark negativ drehenden Verbindung lieferte noch keine einheitlichen Werte. Für ein weiteres Studium derselben lag noch zu wenig Material vor.

Die Hauptmenge der Scillareninfraktion war vom Digitonin nicht gefällt worden. Aus der Lösung des Präparates der Mutterlauge (3,05 g) in 40 cm<sup>3</sup> Pyridin wurde das Digitonin durch Zugabe von 400 cm<sup>3</sup> Äther ausgefällt und mittels Filtration durch eine dünne Talksicht abgetrennt. Der beim Eindampfen des Filtrates hinterbleibende Rückstand wog nach dem Trocknen über konz. Schwefelsäure 1,13 g. Er wurde mit wenig kaltem Methanol gewaschen, wobei 0,97 g ungelöst blieben. Der relativ hohe Drehwert dieses in Methanol schwer löslichen Anteils,  $[\alpha]_D^{20} = +26,8^\circ$  ( $c = 1,383$  in Chloroform-Methanol 4:1), sprach dafür, dass das Präparat noch Scillarenon enthält. Es wurde daher nochmals einer Fraktionierung durch Chromatographie an Aluminiumoxyd unterworfen, wobei die Fraktionen der Tab. 4 erhalten wurden.

**Tabelle 4.**  
Fraktionierung eines scillareninhaltigen Präparats.

Lösungsmittel	Nr.	mg	$[\alpha]_D$ in Chloroform- Methanol 4:1
Chloroform	1	2,9	
	2	487,9	+ 46,2°
	3	139,0	+ 21,0°
	4	73,5	+ 3,7°
	5	55,3	+ 9,5°
Chloroform-Methanol 99,5:0,5	6	161,5	+ 9,5°
	7	68,8	+ 5,5°
	8	3,6	

Die Fraktionen Nr. 4—7 wurden vereinigt (0,327 g) und nochmals, wie oben beschrieben, einer Digitoninbehandlung unterworfen, wobei allerdings nur noch eine Spur einer Fällung beobachtet wurde. Die Mutterlauge wurde erneut wie oben aufgearbeitet und das daraus erhaltene Präparat mit etwas reinem Chloroform gewaschen, wobei 0,26 g Kristalle ungelöst zurückblieben. Man nahm sie in der gerade ausreichenden, d. h. der ca. 100fachen Menge siedendem Aceton auf und dunstete die klare Lösung auf dem Dampfbad auf etwa das halbe Volumen ein. Das Scillarenin schied sich dann in kleinen Polyedern (100 mg) ab; nach dem Umkristallisieren aus Methanol lag dessen Smp. bei 225—238° (Gelbfärbung und Zersetzung).

*Optische Drehung.* 7,1 mg Substanz in 1,99 cm<sup>3</sup> Methanol,  $c = 0,357$ , 1 dm-Rohr.  $\alpha_D^{20} = -0,06^\circ \pm 0,01^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -16,8^\circ \pm 3^\circ$ .

7,7 mg Substanz in 1,975 cm<sup>3</sup> Chloroform,  $c = 0,39$ , 1 dm-Rohr.  $\alpha_D^{20} = -0,07^\circ \pm 0,01^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +17,9^\circ \pm 3^{(1)}$ .

2. Überführung von Scillarenon in Scillarenin durch Reduktion nach *Meerwein-Ponndorf*. Die Lösung von 500 mg reinem Scillarenon in abs. Benzol wurde i. V. zur Trockne eingedampft und der Rückstand im Kolben noch einige Zeit über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> getrocknet. In den gleichen Kolben wurden nun ca. 500 mg Aluminiumisopropylat hineindestilliert und dann noch 50 cm<sup>3</sup> frisch destillierter wasserfreier Isopropylalkohol hinzugefügt. Dann kochte man in einem Ölbad von 100–110° während 18 Std. am Rückfluss und dampfte hierauf die vollkommen klare Lösung zur Trockne ein, worauf man den Eindampfrückstand durch Schütteln mit Chloroform und überschüssiger verdünnter *Seignette*-Salzlösung in Lösung brachte. Nach dem Abtrennen der Chloroformschicht wurde die wässrige Lösung noch mehrmals mit etwas Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten, mit wenig Wasser gewaschenen und mit CaCl<sub>2</sub> getrockneten Chloroformauszüge hinterliessen beim Eindampfen zur Trockne 550 mg Rückstand, der nun in Chloroform-Benzol (1:1) gelöst und an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Die Säule wurde zuerst mit Chloroform-Benzol (1:1), dann mit reinem Chloroform und schliesslich mit Chloroform-Methanol (99,5:0,5) entwickelt. Die spez. Drehwerte der mit Chloroform-Benzol und mit reinem Chloroform erhaltenen Fraktionen lagen über +20° (in Chloroform-Methanol = 4:1) und enthielten demnach unverändertes Scillarenon. Die erste mit methanolhaltigem Chloroform eluierte Fraktion (60,2 mg) hatte einen spez. Drehwert von +9,8° ( $c = 0,917$  in Chloroform-Methanol 4:1), die folgende (56,8 mg) von +6,5° ( $c = 0,917$ ), während die weiteren Fraktionen nur noch sehr wenig Substanz enthielten. Die beiden aus methanolhaltigem Chloroform erhaltenen Fraktionen (120 mg) wurden aus 4 cm<sup>3</sup> siedendem Methanol umkristallisiert, wobei sich die Substanz in Form der charakteristischen, kleinen, meist doppelten 4seitigen Pyramiden und Prismen (85 mg) abschied. Zur Analyse wurde das Präparat nochmals aus Methanol umkristallisiert und dann im Hochvakuum bei 90° getrocknet. Die Verbindung schmolz bei 218–236° unter Gelbfärbung und Zersetzung.

C<sub>24</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub> (384,50) Ber. C 74,96 H 8,39% Gef. C 74,79 H 8,47%

*Optische Drehung*. 11,5 mg Substanz in 1,956 cm<sup>3</sup> Chloroform,  $c = 0,588$ , 1 dm-Rohr.  $\alpha_D^{20} = +0,10^\circ \pm 0,01^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = +17,0^\circ \pm 2^\circ$ .

*Acetylierung*. 68,9 mg Substanz wurden in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid (0,25 cm<sup>3</sup>) acetyliert. Nach 20 Std. wurde die Reaktionslösung eingengt, der Eindampfrückstand mit Wasser gewaschen und getrocknet (73,5 mg). Die Kristallisation des Rohprodukts aus siedendem Methanol (5 cm<sup>3</sup>) ergab Polyeder (41 mg), die nach dem Trocknen im Hochvakuum bei 80° bei 234–239° unter Gelbfärbung und Zersetzung schmolzen. Der Misch-Smp. mit authentischem Acetylscillarenin lag bei 235–239°.

C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub> (426,53) Ber. C 73,21 H 8,03% Gef. C 72,99 H 7,98%

*Optische Drehung der Acetylverbindung*. 13,7 mg Substanz in 1,98 cm<sup>3</sup> Chloroform,  $c = 0,692$ , 1 dm-Rohr.  $\alpha_D^{20} = -0,16^\circ \pm 0,01^\circ$ ;  $[\alpha]_D^{20} = -23,1^\circ \pm 1,5^\circ$ .

Auch die Acetylverbindung des Reduktionsproduktes stimmt in ihren Eigenschaften mit authentischem Acetylscillarenin, wie es früher beschrieben wurde<sup>2)</sup>, überein.

### Zusammenfassung.

Die Glykoside Scillaren A und Proscillaridin A sind durch einen *Penicillium*-stamm in einer Nährlösung, die als einzige Kohlenstoffquelle Rhamnose enthielt, nicht nur bis zum Scillarenin, sondern

<sup>1)</sup> Gegenüber der Angabe in unserer 1. Mitteilung über Scillarenin (*Helv.* **34**, 2308 (1951)) fanden wir jetzt den Drehwert in Chloroform durchschnittlich etwas höher (früher +13,5°  $\pm$  2°). Möglicherweise enthielt die Verbindung damals noch Spuren der stark negativ drehenden Verbindung, die wir jetzt mit Digitonin abtrennen konnten.

<sup>2)</sup> *Helv.* **34**, 2301 (1951).



überwiegend bis zum entsprechenden Keton, dem Scillarenon, abgebaut worden. Wird die Ketogruppe des Scillarenons, dessen Kerndoppelbindung zwischen den C-Atomen 4 und 5 liegt, nach *Meerwein-Ponndorf* reduziert, so entsteht Scillarenin, was beweist, dass sich auch die Kerndoppelbindung im Scillarenin zwischen den C-Atomen 4 und 5 befinden muss. Das primäre Aglykon Scillarenin, bzw. die sich davon ableitenden Glykoside Proscillaridin A, Scillaren A und Glucoscellaren A besitzen die Konstitution, wie sie im Formelbild I wiedergegeben ist.

Pharmazeutisch-Chemisches Laboratorium „Sandoz“, Basel.

## 245. Derivate des Cevadins und des Cevagenins und über die Eigenschaften und die vermutliche Lage der Sauerstoffatome im Cevagenin.

4. Mitteilung über Veratrum-Alkaloide<sup>1)</sup>

von A. Stoll und E. Seebeck.

(22. VIII. 52.)

### A. Acetyl- und Anhydroverbindungen des Cevadins und des Cevagenins.

In unserer 2. Mitteilung<sup>2)</sup> berichteten wir über die schonende Hydrolyse des Cevadins und des Veratridins. Cevadin zerfällt dabei in Cevagenin und Angelikasäure, das Veratridin in Cevagenin und Veratrum-säure. Beim Erwärmen mit 20-proz. alkoholischer Kalilauge wird das Cevagenin in das schon länger bekannte  $\alpha$ -Cevin<sup>3)</sup> umgelagert. Während die Infrarotspektren des Cevadins und des Cevagenins eine für Ketone charakteristische Bande bei  $1707\text{ cm}^{-1}$  aufweisen, fehlt diese beim  $\alpha$ -Cevin. Damit war der Beweis erbracht, dass das Cevagenin und nicht das  $\alpha$ -Cevin das genuine Alkamin der beiden Esteralkaloide ist.

Für unsere weiteren Untersuchungen in dieser Reihe verwendeten wir als Ausgangsmaterial vorwiegend das Cevadin, den Monoangelikasäureester des Cevagenins. Einerseits ist das Cevadin aus dem Veratrin des Handels leichter zugänglich als das Cevagenin, und anderseits kristallisieren die Derivate des Cevadins wesentlich besser als die des Cevagenins.

<sup>1)</sup> 3. Mitteilung: A. Stoll & E. Seebeck, Veratrobasin und Geralbin, zwei neue Alkaloide aus *Veratrum album*, Am. Soc. (im Druck).

<sup>2)</sup> A. Stoll & E. Seebeck, Helv. **35**, 1270 (1952).

<sup>3)</sup> Über drei isomere Cevine werden wir später berichten; das „Cevin“ unserer 2. Mitteilung ist identisch mit dem  $\alpha$ -Cevin von H. Jaffe & W. A. Jacobs, J. Biol. Chem. **193**, 325 (1951).