

klassischen Polymorphiebegriffe, sondern sein Gitter weist einfach eine Bindungsart auf, die thermisch weniger stabil ist als die des Graphits, und erfordert zu seinem Wachstum eine andere Nährphase als letzterer. Ganz analog dürfte das kubische Bornitrid, der Hartstoff der Zukunft, zu behandeln sein.

Forschungsinstitut Neuhausen der
ALUMINIUM-INDUSTRIE-AKTIEN-GESELLSCHAFT,
Zürich

206. Herzaktive Glykoside aus *Urginea altissima* BAKER

45. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

von H. Lichti und A. von Wartburg

(11. VIII. 60)

Urginea altissima BAKER²⁾ ist eine relativ seltene afrikanische Liliacee, die vorwiegend in den tropischen Gebieten vorkommt. Die Droge ist den Eingeborenen als toxisch bekannt und dient einigen Stämmen zur Bereitung von Arzneimitteln³⁾. Im südlichen Kongogebiet und in Südafrika wird *U. altissima* als gefährliche Giftpflanze für das Vieh gefürchtet³⁾⁴⁾. Die Zwiebeln sollen herzaktive Prinzipien enthalten und sogar als Ersatz für die offizinelle Meerzwiebel *U. maritima* (= *Scilla maritima*) verwendet werden³⁾. Wir konnten jedoch in der Literatur keinerlei Angaben über eine diesbezügliche pharmakologische oder chemische Untersuchung finden.

Für eigene Untersuchungen standen uns zwei Drogensendungen zur Verfügung (Probe SCA-1 und SCA-2), die Herr P. R. O. BALLY⁵⁾ in den Ngong-Bergen südwestlich von Nairobi gesammelt hatte.

Probe SCA-1: 72 kg kopfgrosse Zwiebeln, die während des Transports (Seeweg) lange Blätter ausgetrieben hatten. Nach üblicher Aufarbeitung konnten wir aus diesem Muster ein Glykosidgemisch gewinnen, aus dem sich nach mühsamen Trennungsoperationen ein neues Scilla-Glykosid, das Altosid, in einer Ausbeute von 0,001% isolieren liess⁶⁾.

Probe SCA-2: 43 kg frische Zwiebeln, die uns Herr BALLY per Luftfracht aus Nairobi zustellte. Die Droge befand sich noch im Ruhezustand und wies nach orientierenden Prüfungen einen rund 5mal höheren Glykosidgehalt als Probe SCA-1 auf.

¹⁾ 44. Mitt.: Helv. 43, 686 (1960).

²⁾ J. Linn. Soc. London 13, 221 (1873); W. T. THISELTON-DYER, Flora of Tropical Africa VII, 538, London 1898.

³⁾ J. M. WATT & M. G. BREYER-BRANDWIJK, The Medicinal and Poisonous Plants of Southern Africa, Edinburgh 1932; J. M. DALZIEL, The Useful Plants of West Tropical Africa, 2nd reprint, London 1955.

⁴⁾ P. QUARRÉ, Rev. Bot. appl. 14, 211 (1934).

⁵⁾ Wir möchten Herrn BALLY auch an dieser Stelle für die Beschaffung dieser seltenen Droge bestens danken.

⁶⁾ Vorgetragen von H. L. an der 7. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Arzneipflanzenforschung in Münster, 24. Oktober 1959; vorläufige Mitteilung in Planta medica 7, 451 (1959).

Die Ausbeuten an Glykosiden, insbesondere der niedere Gehalt an Altosid aus der Probe SCA-1, waren mit ähnlichen Befunden bei der nahe verwandten roten Meerzwiebel⁷⁾ vergleichbar und zeigten erneut, dass bei *Urginea*-Arten das Blattstadium die ungünstigste Vegetationsperiode zum Nachweis oder zur Gewinnung herzaktiver Inhaltsstoffe darstellt.

In der vorliegenden Mitteilung beschreiben wir die Aufarbeitung der Probe SCA-2 und die Isolierung von Altosid, dem Hauptglykosid der *U. altissima*, sowie die Konstitutionsermittlung, und machen einige Angaben über das Ergebnis der pharmakologischen Prüfung dieses neuen Scilla-Glykosids.

Isolierung von Altosid. — Die frischen Zwiebeln der Probe SCA-2 wurden zerkleinert und erschöpfend mit Methanol ausgezogen. Die vereinigten Auszüge engte man im Vakuum ein und extrahierte das rein wässrige Konzentrat mit Chloroform, Chloroform-Butanol-(7:3) und Butanol. Aus 43 kg Droge erhielten wir:

Chloroform-Extrakt	124,55 g
Chloroform-Butanol-(7:3)-Extrakt	21,89 g
Butanol-Extrakt	17,39 g

Die für Scilla-Glykoside charakteristische LIEBERMANN-Reaktion⁸⁾ war nur beim Chloroform-Butanol-Extrakt positiv und verlief in einem lebhaften Farbenspiel von gelb über grün nach blau. Auch durch papierchromatographische Bestimmungen liess sich zeigen, dass die gesuchten Scilladienolide ausschliesslich im Chloroform-Butanol-Extrakt vorlagen. Die beiden andern Extrakte wurden deshalb nicht untersucht.

Aus dem Chloroform-Butanol-(7:3)-Extrakt konnten durch Macerieren mit

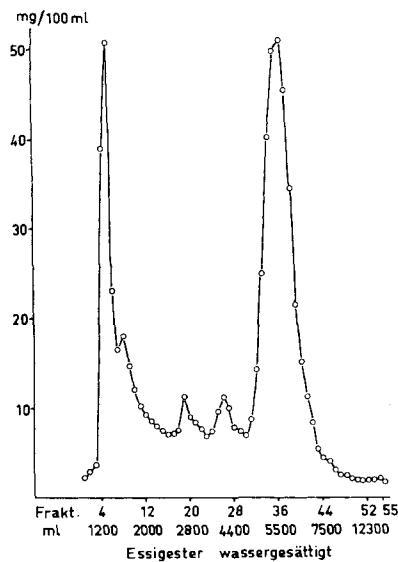


Fig. 1. Fraktionierung des Chloroform-Butanol-Extraktes an Diatomitstein-Säulen

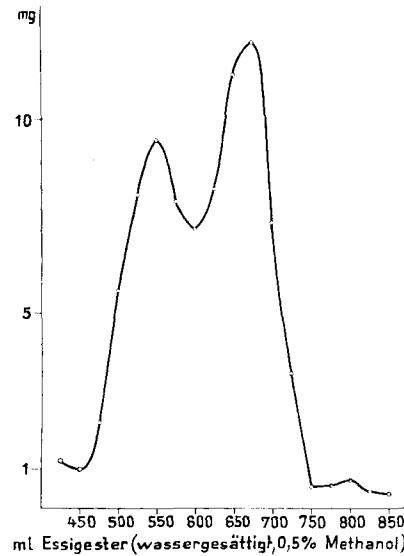


Fig. 2. Chromatographie des Präparates D an Silicagel-Säulen

⁷⁾ A. STOLL & J. RENZ, Helv. 25, 43 (1942).

⁸⁾ A. STOLL & W. KREIS, Helv. 34, 1431 (1951).

Äther leicht lösliche Ballaststoffe mit negativer LIEBERMANN-Reaktion entfernt werden. Den äther-unlöslichen Anteil (18,7 g) fraktionierten wir durch Verteilungschromatographie an Diatomitstein-Säulen⁸⁾.

Bei der Elution bildeten sich 4–5 Konzentrationsmaxima (Fig. 1), Kristallisation liess sich jedoch in keiner Fraktion erzielen. Die Eluate wurden deshalb entsprechend den Maxima und den Farbnuancen bei der LIEBERMANN-Reaktion in die Präparate A–F zusammengefasst. Die Präparate A und B enthielten vorwiegend Begleitstoffe mit negativer oder sehr schwacher Farbreaktion. Bei den übrigen Präparaten waren wesentlich kräftigere Tönungen festzustellen, wobei vor allem das Präparat D sowohl mengenmässig als auch durch die intensivsten Farben bei der LIEBERMANN-Probe für die Gewinnung von reinen Scilla-Stoffen am aussichtsreichsten erschien. (Über die Untersuchung der Präparate C, E und F hoffen wir später berichten zu können.)

Orientierende Trennversuche an Verteilungssäulen und in der CRAIG-Apparatur zeigten, dass sich Präparat D aus mindestens 3 Glykosiden zusammensetzte, die sehr ähnliche Verteilungszahlen und Rf-Werte aufwiesen. Die Abtrennung einer einheitlichen Glykosidkomponente (Altosid) gelang durch Chromatographie an wasser gesättigtem Silicagel⁹⁾. Bei der Elution wurde eine Aufspaltung der Konzentrationskurve in zwei Maxima beobachtet (Fig. 2). Die Fraktionen des ersten Maximums waren durch eine blaugrüne LIEBERMANN-Reaktion ausgezeichnet und liessen sich mit Methanol zur Kristallisation bringen. Sie enthielten vorwiegend das Hauptglykosid der Droge, das wir als Altosid bezeichnen. Die Fraktionen des zweiten Maximums fielen durch intensive Blaufärbung bei der LIEBERMANN-Reaktion auf und stellten ein Gemisch der verbleibenden Nebenglykoside dar. Die Isolierung von kristallisiertem Altosid gestaltete sich sehr mühsam, da eine saubere Trennung nur an kleinen, 36 oder 72 g Silicagel fassenden Säulen gelang bei einer Beschickung von 100 mg bis höchstens 500 mg Glykosidpräparat D. Bei grösser dimensionierten Säulen war die Trennschärfe verwischt; kristallisierbare Anteile konnten nicht gefasst werden. Aus rund 30 Einzelchromatogrammen gewannen wir insgesamt 2,17 g Altosid-Rohkristallisat (0,005% bezogen auf Frischdroge) sowie 0,68 g Mischfraktion und 1,63 g amorphe Nebenglykoside. Der gegenüber der ersten Drogensedung (SCA-1) rund 5mal höhere Altosidgehalt erklärt sich, wie erwähnt, durch die günstigere Vegetationsperiode (Ruheperiode), in der die Probe SCA-2 zur Aufarbeitung gelangte. Ein Altosid-Rohkristallisat besass den Smp. 222–235° und die Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 11^\circ$ (in Methanol). Mehrmaliges Nachchromatographieren einer Probe entfernte geringe Mengen an Nebenglykosiden mit blauer LIEBERMANN-Reaktion und lieferte ein Spitzenpräparat, das aus Methanol in farblosen Stäbchen kristallisierte. Reinstes Altosid schmolz bei 222–228°, zeigte die Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 26,3^\circ$ (in Methanol) und gab bei der LIEBERMANN-Reaktion eine rein meergrüne Färbung.

Die Auf trennung der Nebenglykoside (Fraktionen des zweiten Maximums in Fig. 2) ist uns erst teilweise gelungen. Durch wiederholte Verteilungschromatographie konnten wir 420 mg eines amorphen Glykosids fassen, dem die intensive Blaufärbung bei der LIEBERMANN-Reaktion zukommt. Das neue Glykosid wies im Papierchromatogramm den gleichen Rf-Wert auf wie Altosid. Bei einem orien-

⁸⁾ A. STOLL, E. ANGLIKER, F. BARFUSS, W. KUSSMAUL & J. RENZ, Helv. 34, 1460 (1951).

tierenden Hydrolyseversuch liess sich als einziger Zucker D-Glucose feststellen. Auf Grund der optischen Drehung $[\alpha]_D^{20} = -40,1^\circ$ (in Pyridin) dürfte es sich bei diesem Nebenglykosid um ein β -D-Glucosid handeln.

Die Konstitution des Altosids. -- Für Altosid ergab sich auf Grund der Analysen die Bruttoformel $C_{30}H_{40}O_{10}$; es zeigte im UV. das für Scillaglykoside charakteristische Absorptionsmaximum des ungesättigten Lacton-Sechsringes bei $300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,74$). Das Vorliegen eines α -Pyronrings ging auch aus dem IR.-Spektrum (Fig. 3) durch die Banden bei 1700 , 1640 und 1540 cm^{-1} hervor. Neben einer breiten Bande bei 3400 cm^{-1} , die assoziierten OH-Gruppen zukam, war bei 2750 cm^{-1} eine weitere, allerdings schwache Bande festzustellen, die der C-H-Schwingung eines Aldehyds entsprechen könnte. Eine Carbonylfunktion im Altosid liess sich eindeutig durch die Bildung eines Oxims $C_{30}H_{41}O_{10}N$ (amorph) nachweisen. Acetylierung und Benzoylierung des Altosids lieferten Tetra-O-acetyl-Derivate, die nicht zur Kristallisation zu bringen waren. Die hydrolytische Spaltung des Altosids mit verd. Schwefelsäure verlief uneinheitlich. Zwar konnte die Zuckerkomponente als D-Glucose papierchromatographisch und in Form des gut kristallisierenden α -Methyl-D-glucosids- $<1,5>$ bestimmt werden; die Geninfaktion erwies sich jedoch als schwer trennbares Gemisch. Nach mehrfacher Chromatographie liess sich daraus in geringer Menge ein kristallisiertes Anhydro-aglykon isolieren, dessen UV.-Maxima bei 226 , 235 und $297 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,31$; $4,17$ und $3,78$) einem 3,5-Dien vom Typ des Scillaridins A¹⁰) entsprachen. Wesentlich günstiger verlief die enzymatische Spaltung von Altosid mit einem käuflichen β -glucosidasereichen Pilzferment¹¹⁾. Dabei konnte in guter Ausbeute das intakte Aglykon $C_{24}H_{30}O_5$ vom Smp. $244\text{--}248^\circ$ und der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{20} = +49^\circ$ (in Methanol) gefasst werden. Die physikalischen Konstanten und die meergrüne Färbung, die das Genin bei der LIEBERMANN-Reaktion zeigte, stimmten mit den Eigenschaften des bekannten Scilliglaucosidins¹²⁾¹³⁾ überein. Die

Tabelle 1. Identifizierung des Genins aus Altosid

Präparat	aus Altosid		aus Scilliglaucosid	
	Smp.	$[\alpha]_D^{20}$	Smp.	$[\alpha]_D^{20}$
Scilliglaucosidin	$244\text{--}245^\circ$	$\left\{ \begin{array}{l} +49,1^\circ (\text{Me}) \\ +11,2^\circ (\text{Py}) \end{array} \right.$	$245\text{--}248^\circ$	$\left\{ \begin{array}{l} +49,5^\circ (\text{Me}) \\ +13,1^\circ (\text{Py}) \end{array} \right.$
3-O-Acetylscilliglaucosidin . . .	$216\text{--}220^\circ$	$+27,5^\circ (\text{Chf})$	$224\text{--}227^\circ$	$+30,6^\circ (\text{Chf})^{14)}$
3-O-Benzoylscilliglaucosidin . . .	$193\text{--}195^\circ$	$+ 5,8^\circ (\text{An})$	$189\text{--}190^\circ$	$+ 8,8^\circ (\text{An})$
Scilliglaucosidin-semicarbazone . .	$195\text{--}196^\circ$	$+53,5^\circ (\text{Me})$	$194\text{--}196^\circ$	$+57,1^\circ (\text{Me})$

An = Aceton, Chf = Chloroform, Me = Methanol, Py = Pyridin

¹⁰⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. 34, 2301 (1951).

¹¹⁾ Dieses Pilzferment (Präparat C 1290) erhielten wir vor einigen Jahren ohne Provenienzangabe von der Firma LAB. DR. WEBER, Küschnacht-Zürich. Bei orientierenden Fermentierungsversuchen an Herzgiften mit β -glykosidisch gebundenen Glucoseeinheiten entwickelte es eine hohe Aktivität. Die Spaltungsquoten betrugen z. B. bei Scillirosid praktisch 100%, bei Desacetyl-lanatosid A ca. 50% und bei Scillaren A ca. 30% d. Th.

¹²⁾ A. STOLL, W. KREIS & A. VON WARTBURG, Helv. 35, 2495 (1952).

¹³⁾ A. STOLL, A. VON WARTBURG & J. RENZ, Helv. 36, 1531 (1953).

¹⁴⁾ Früher wurde für Acetylscilliglaucosidin $[\alpha]_D^{20} = +40,7^\circ$ angegeben¹⁴⁾. Dieser Wert ist zu hoch; spätere Messungen ergaben $[\alpha]_D^{20} = +31^\circ$ (in Chf).

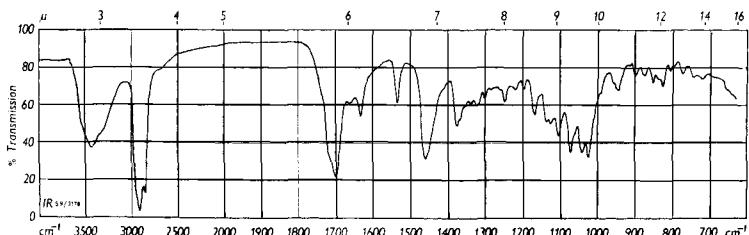
IR.-Absorptionsspektren¹⁵⁾

Fig. 3. Altosid in Nujol

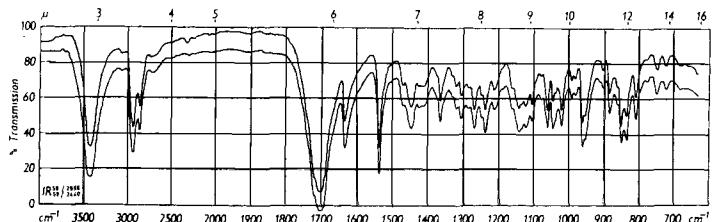


Fig. 4. Scilliglaucosidin in KBr
obere Kurve: Scilliglaucosidin aus Altosid
untere Kurve: Scilliglaucosidin aus Scilliglaucosid

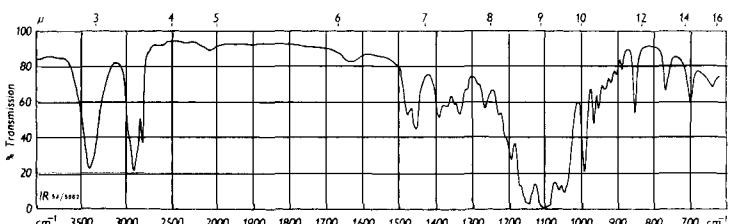


Fig. 5. 2, 3, 4, 6-Tetra-O-methyl-D-glucose in KBr

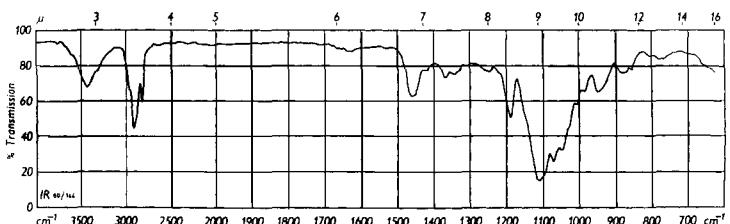
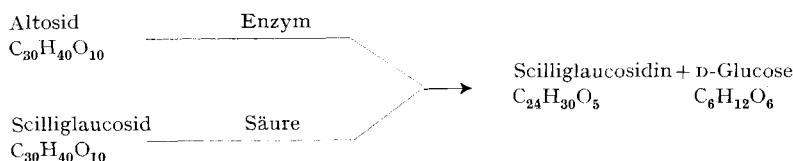


Fig. 6. 2, 3, 5, 6-Tetra-O-methyl-D-glucose (flüssig)

¹⁵⁾ Alle IR.-Spektren wurden auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Mod. 21, aufgenommen.

sichere Identifizierung des aus Altosid erhaltenen Aglykons erfolgte durch Misch-Smp. mit einem authentischen Scilliglaucosidin-Präparat und durch den Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 4). Zur weiteren Charakterisierung wurden ferner die 3-O-Acetyl- und die 3-O-Benzoyl-Verbindung sowie das Semicarbazon bereitet und mit den entsprechenden Derivaten des Scilliglaucosidins verglichen (Tab. 1).

Die Hydrolyse des Altosids ist nach diesen Befunden wie folgt zu formulieren:



Die gleichen Spaltstücke waren schon früher bei der sauren Hydrolyse von Scilliglaucosid, einem Nebenglykosid aus der roten und weissen Meerzwiebel^{7) 8) 12)}, erhalten worden. Altosid und Scilliglaucosid zeigen somit eine weitgehende Ähnlichkeit in ihrem chemischen Bau: *beide Herzgäste sind D-Glucoside des Scilliglaucosidins.*

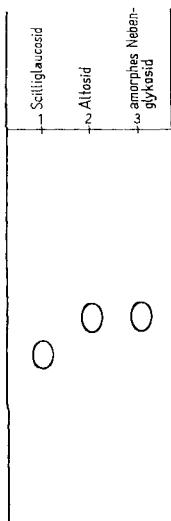


Fig. 7. Papierchromatographie der Glykoside aus *U. altissima*

1. 0,1 mg Scilliglaucosid (Vergleichssubstanz)
2. 0,1 mg Altosid
3. 0,1 mg amorphes Nebenglykosid. System:
Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid (KAIser II¹⁶)).
Entwicklung: SbCl_3

Eine eventuelle Identität der beiden Glucoside konnte mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Neben charakteristischen Unterschieden in den spez. Drehwerten, den IR.-Spektren und im Verhalten gegenüber Enzymen war besonders die leichte Differenzierung der beiden Stoffe bei der Papierchromatographie wichtig. Im System Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid (KAIser II¹⁶)) zeigte Scilliglaucosid eine deutlich längere Laufstrecke als Altosid (relatives Verhältnis $10:8,3 \pm 0,2$) (Fig. 7).

Für die Konstitutionsermittlung des Altosids waren deshalb die spezifischen strukturellen Unterschiede gegenüber dem Scilliglaucosid zu bestimmen. Unter den

¹⁶⁾ F. KAISER, Chem. Ber. 88, 556 (1955).

denkbaren Möglichkeiten für eine Isomerie¹⁷⁾ kamen vor allem zwei in Frage: Altosid könnte sich vom Scilliglaucosid durch eine konfigurativ entgegengesetzte Glykosidbindung (Anomerie an C-1 der Glucose) unterscheiden oder durch verschiedene Ringgrössen der Glucose, wobei z. B. beim Scilliglaucosid eine Furanosidstruktur zu diskutieren wäre¹⁸⁾. Für eine Isomerie an der Glykosidverknüpfung sprachen vor allem die weit auseinanderliegenden Drehwerte der beiden Glucoside. Berechnet man den molekularen Drehungsbeitrag der Glucose nach KLYNE¹⁹⁾, so ergibt sich für Altosid eine β -glykosidische Bindung des Zuckers, während sich für Scilliglaucosid die α -Konfiguration ableiten lässt (Tab. 2).

Tabelle 2. Drehungsbeitrag der D -Glucose

Präparat	$[\text{M}]_D$	Beitrag der Glucose
Altosid	+ 151° (Me)	
Scilliglaucosidin	+ 197° (Me)	{ - 44°
Scilliglaucosid	+ 598° (Me)	
Scilliglaucosidin	+ 197° (Me)	} + 401°
α -Methyl- D -glucopyranosid . . .	+ 320° (Me)	
β -Methyl- D -glucopyranosid . . .	- 64° (90-proz. Äthanol)	
α -Methyl- D -glucofuranosid . . .	+ 264° (Me)	
β -Methyl- D -glucofuranosid . . .	- 148° (Wasser)	

Zu diesen Resultaten passte auch die glatt verlaufende enzymatische Hydrolyse des Altosids durch das erwähnte Pilzferment, das sich speziell bei der Spaltung von β -Glucosiden bewährt hatte¹¹⁾. Andererseits erwies sich Scilliglaucosid gegenüber β -Glucosidasen als inert. Dies ist mit der postulierten α -glykosidischen Zuckerverknüpfung verständlich.

Jetzt war noch die Frage offen, ob eines der beiden Glucoside in der Furanosidform vorliegen könnte, da aus dem Vergleich der Rotationsdifferenzen allein kein sicherer Entscheid über die Ringgrösse der Zuckerkomponente zu treffen war. Eine Furanosidstruktur war insbesondere für Scilliglaucosid zu berücksichtigen, da dieses Isomere durch Säuren mit grosser Leichtigkeit hydrolysiert wird¹³⁾.

Zur Ermittlung der Glucosestruktur wurden Altosid und Scilliglaucosid in Dimethylformamid nach R. KUHN *et al.*²⁰⁾ methyliert. Beide Glucoside lieferten dabei amorphe Tetra-O-methyl-Verbindungen. Durch saure Hydrolyse liess sich aus den Methylderivaten ein farbloser Zuckersirup gewinnen, der FEHLING'sche Lösung reduzierte. Nach der Destillation im Hochvakuum kristallisierten beide Präparate, und es zeigte sich, dass in beiden Fällen die pyranoide 2,3,4,6-Tetra-O-methyl- D -glucose vorlag. Die Identifizierung erfolgte auf Grund der Schmelzpunkte, der

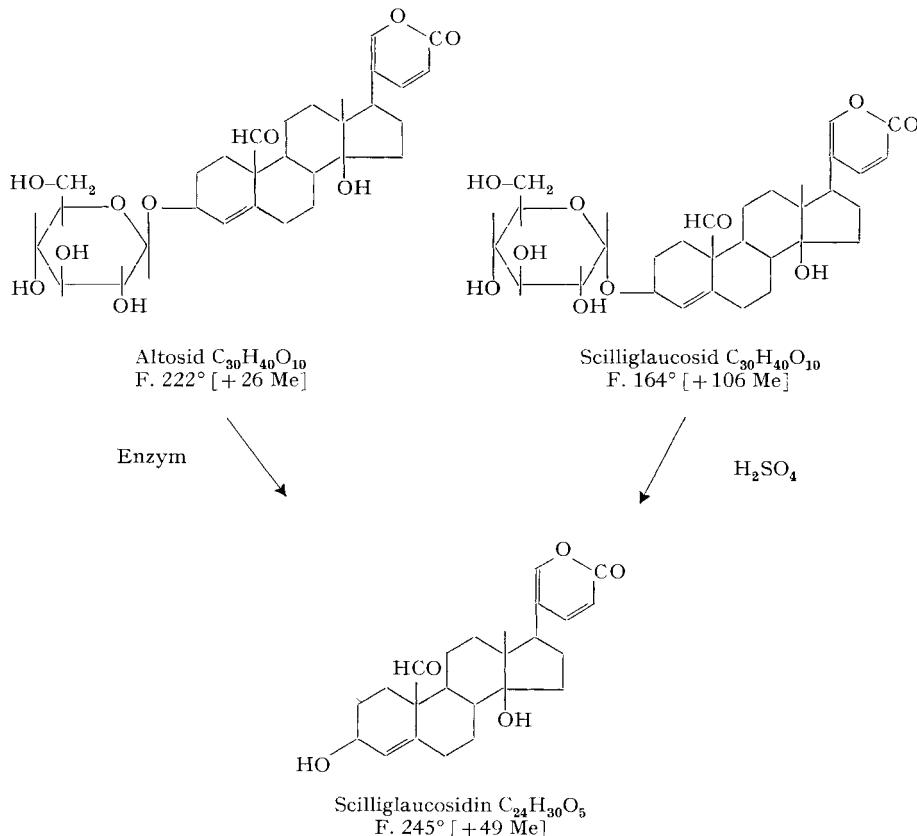
¹⁷⁾ Eine Isomerie im Aglykonteil der Glykoside, z. B. durch verschiedene Lage der Doppelbindung, wäre ebenfalls denkbar. Bei der Hydrolyse müsste sich ein derartiges Aglykon-Isomeres in Scilliglaucosidin umlagern. Dies ist aber unter den angewandten milden Hydrolysenbedingungen wenig wahrscheinlich.

¹⁸⁾ Auf die Möglichkeit einer α -Glucofuranosid-Struktur beim Scilliglaucosid wurde schon früher hingewiesen¹³⁾.

¹⁹⁾ W. KLYNE, Biochem. J. 47, XLI (1950).

²⁰⁾ R. KUHN, H. TRISCHMANN & I. LÖW, Angew. Chem. 67, 32 (1955).

optischen Drehung, der Rf-Werte und der IR.-Spektren (Fig. 5). Zum Vergleich ist in Fig. 6 die deutlich verschiedene IR.-Absorption der furanoiden 2,3,5,6-Tetra-O-methyl-D-glucose abgebildet. Zur weiteren Charakterisierung wurden noch die leicht kristallisierenden p-Nitrobenzolsulfonylhydrazone (= p-Nitrobesylhydrazone)²¹⁾ hergestellt, die untereinander ebenfalls in den Eigenschaften völlig übereinstimmten (IR.-Spektren, Fig. 8).



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehwerte für Na-Licht an. Me = Methanol.

Mit der Isolierung der pyranoiden Tetramethylglucose ist die Ringgrösse der D-Glucose in Altosid und Scilliglaucosid eindeutig als 6-gliedrig festgelegt; es handelt sich also bei beiden Herzgiften um Glucopyranoside, die sich nur in der Konfiguration ihrer Zuckerverknüpfung unterscheiden. Die Konstitution des Altosids als Scilliglaucosidin- β -D-glucosid und des Scilliglaucosids als isomeres α -D-Glucosid ist nach diesen Untersuchungen gut begründet.

Altosid und Scilliglaucosid bilden unseres Wissens unter den natürlichen Herzglykosiden das erste Paar von Anomeren. In Scilliglaucosid liegt ferner erstmals ein herzaktives Glykosid vor, das der KLYNE'schen Regel, wonach alle natürlichen

²¹⁾ O. WESTPHAL, H. FEIER, O. LÜDERITZ & I. FROMME, Biochem. Z. 326, 139 (1954).

Glykoside der D-Reihe eine β -glykosidische Zuckerverknüpfung aufweisen, nicht entspricht¹⁹⁾.

Pharmakologische Wirksamkeit des Altosids. — Altosid erwies sich bei der Toxizitätsbestimmung nach HATCHER (Infusion) als stark herzwirksam; der HATCHER-Wert betrug 0,077 mg/kg²²⁾. In Tab. 3 sind zum Vergleich die Werte einiger bekannter Monoglykoside aufgeführt.

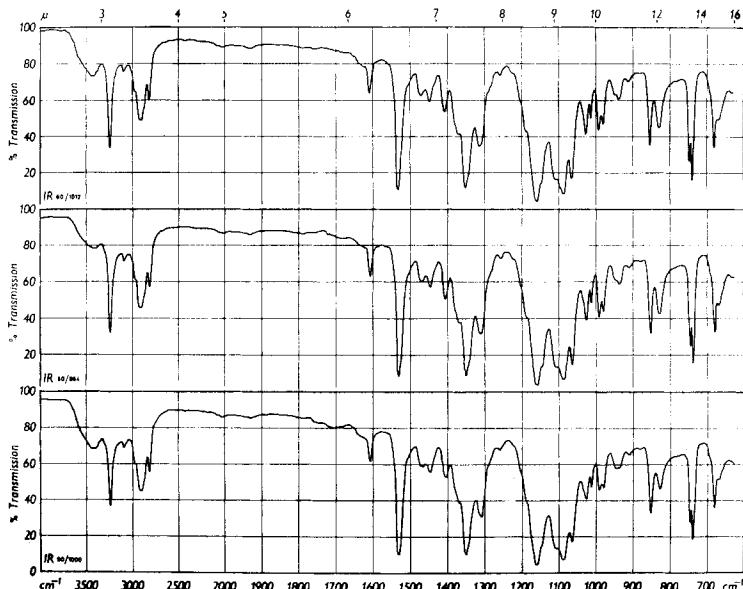


Fig. 8. IR-Spektren¹²⁾ der *p*-Nitrobesylhydrazone der 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose (in KBr)

Obere Kurve: Derivat des Zuckers aus Scilliglaucosid

Mittlere Kurve: authentisches Vergleichsmaterial

Untere Kurve: Derivat des Zuckers aus Altosid

Tabelle 3. HATCHER-Werte von Monoglykosiden

Glykosid	Zucker	glykosid. Verknüpfung	HATCHER-Wert mg/kg
Altosid	D-Glucose	β	0,077 ²²⁾
Scilliglaucosid	D-Glucose	α	0,069 ⁸⁾
Scillicyanosid	D-Glucose	(α ?)	0,100 ⁸⁾
Scillirosid	D-Glucose	β	0,120 ²³⁾
Proscillarin A	L-Rhamnose	α	0,157 ⁸⁾
Scilliphäosid	L-Rhamnose	(?)	0,087 ⁸⁾
Desgluco-hellebrin	L-Rhamnose	α	0,086 ²⁴⁾

²²⁾ Bestimmt von Dr. W. R. SCHALCH in unserem pharmakologischen Labor (Dr. A. CERLETTI).

²³⁾ A. STOLL & J. RENZ, Helv. 33, 286 (1950); E. ROTHLIN & W. R. SCHALCH, Helv. physiol. pharmacol. Acta 10, 427 (1952).

²⁴⁾ J. SCHMUTZ, Pharmac. Acta Helv. 22, 373 (1947); Helv. 32, 1442 (1949).

Die anomeren Glucoside Altosid und Scilliglaukosid liefern ferner einen Beitrag zur Beziehung Konstitution und Wirksamkeit bei Herzgiften. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, spielt in diesem Fall die Konfiguration der Zuckerbindung für die Toxizität der Herzglykoside nur eine untergeordnete Rolle; Scilliglaukosid mit anomaler α -glykosidischer Verknüpfung ist etwas toxischer als Altosid.

Experimenteller Teil²⁵⁾

43 kg frische Zwiebeln von *Urginea altissima* wurden in Streifen geschnitten, dann maschinell weiter zerkleinert und mit insgesamt 380 l Methanol ausgerührt. Nach Zentrifugieren des Drogenbreis extrahierte man den Rückstand noch zweimal mit je 100 l Methanol. Die vereinigten Methanolauszüge (ca. 600 l) wurden im Vakuum unter Einsaugen von Wasser auf 50 Liter eingengegt. Das jetzt rein wässrige Konzentrat ($\text{pH} = 6,15$) schüttelte man dreimal mit je 20 l Chloroform, fünfmal mit je 20 l Chloroform-Butanol-(7:3) und viermal mit je 8 l Butanol aus. Die wässrige Lösung wurde hierauf verworfen. Die jeweils über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge lieferten nach dem Eindampfen:

Extrakt	g	LIEBERMANN-Reaktion
Chloroform-Extrakt	124,55	schwach oliv
Chloroform-Butanol-(7:3)-Extrakt .	21,89	grünblau-int. blau
Butanol-Extrakt	17,39	gelb

Das extrahierte Drogenpulver wog nach Trocknung bis zur Gewichtskonstanz 3,44 kg.

Durch orientierende Papierchromatographie und Verteilungsanalyse an Silicagel-Säulen⁹⁾ konnten Scillaglykoside nur im Chloroform-Butanol-(7:3)-Extrakt nachgewiesen werden. Die beiden andern Extrakte wurden deshalb nicht bearbeitet.

Untersuchung des Chloroform-Butanol-(7:3)-Extraktes. Nach Macerieren des Extraktes mit 1 Liter trockenem Äther liessen sich 3,19 g ätherlösliche Ballaststoffe mit negativer LIEBERMANN-Reaktion abtrennen. Der äther-unlösliche Anteil (18,7 g) wurde durch Verteilungschromatographie an Diatomitstein-Säulen⁸⁾ wie folgt fraktioniert:

800 mg Diatomitstein wurden mit 400 ml Wasser vermengt und gleichmässig in eine Glasröhre von 5 cm Durchmesser eingefüllt. Die Beschickung der ca. 1 m hohen Säule erfolgte mit dem Gemisch aus 2,5 g Substanz, 50 g Diatomitstein und 25 ml Wasser. Zum Auswaschen diente wasser-sättigter Essigester (Tab. 4) (vgl. Konzentrationskurve Fig. 1).

Zur Auftrennung des gesamten äther-unlöslichen Materials wurden 8 derartige Chromatogramme ausgeführt. Da mit den üblichen Lösungsmitteln in keiner Fraktion Kristallisation eintrat, wurden die Eluate auf Grund ihrer LIEBERMANN-Reaktion und gemäss den Maxima der Konzentrationskurve (siehe Fig. 1 im theoret. Teil) in folgende Präparate zusammengefasst:

Präparat A	Fr. 1-16	1,48 g
"	Fr. 17-23	0,46 g
"	Fr. 24-30	0,73 g
"	Fr. 31-44	5,40 g
"	Fr. 45-55	1,19 g
"	Fr. 56	3,50 g (Methanoleluat)

²⁵⁾ Alle Schmelzpunkte sind auf dem KOFLER-Block bestimmt. Zur Bestimmung der optischen Drehung wurde im Hochvakuum getrocknet: Glykoside und Aglykone 1 Std. bei 70–80°, Zucker bei 25°, Zuckerderivate bei 60°. Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Dr. W. SCHÖNIGER) ausgeführt. Die Spektren wurden in unserer Spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. LEEMANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen. Den Herren A. GUTZWILLER † und K. BAUMGARTNER danken wir für geschickte experimentelle Mitarbeit, insbesondere für die sorgfältige Ausführung der zahlreichen Verteilungssäulen.

Tabelle 4. Verteilungschromatographie des Chloroform-Butanol-(7:3)-Extraktes
(äther-unlöslicher Teil)

Frakt.	Essigester, wasserges.	mg	LIEBERMANN- Reaktion	Frakt.	Essigester, wasserges.	mg	LIEBERMANN- Reaktion
0	800 ml	—		29	200 ml	15,00	
1	100	2,20		30	200	14,35	grün-blaugrün
2	100	2,95		31	200	17,80	
3	100	3,75		32	200	28,85	
4	100	39,05	farblos-oliv (sehr schwach)	33	200	49,75	
5	100	50,90		34	200	80,40	
6	100	23,05		35	200	99,60	
7	100	16,50		36	300	153,15	
8	100	18,00		37	300	136,45	rosa-lila-blau (maximale Intensität)
9	100	14,60		38	300	103,45	
10	100	12,10		39	300	64,90	
11	100	10,30		40	300	45,65	
12	100	9,35		41	300	34,15	
13	100	8,70	schwach hellgrün	42	300	25,35	
14	100	8,10		43	300	17,00	
15	100	7,55		44	300	14,05	
16	100	7,10		45	300	12,75	
17	100	7,15		46	500	15,55	
18	100	7,50		47	500	13,00	
19	100	11,45	oliv-blaugrün-	48	500	12,90	
20	100	9,10	hellgrün (schwach)	49	500	11,05	rosa-lila- blaugrün
21	200	17,00		50	500	10,80	
22	200	15,45		51	500	10,00	
23	200	13,55		52	500	10,20	
24	200	15,20		53	500	10,20	
25	200	19,55		54	500	11,10	rosa-lila- violettblau
26	200	22,60	grün-blaugrün	55	500	9,60	
27	200	20,30		56	21 Methanol	439,35	
28	200	15,85					

Auf der Säule verblieben 5,93 g (ca. 32%) Ballaststoffe mit negativer LIEBERMANN-Reaktion.

Wir beschränkten unsere Untersuchungen auf das Präparat D, das die Hauptmenge der Glykoside enthielt und die intensivsten Farbreaktionen zeigte.

Altosid-Rohkristallisat aus Präparat D. Die Fraktionierung des Präparates D erfolgte an wassergesättigten Silicagel-Säulen nach der früheren Methodik⁹). Wir benutzten vorwiegend Säulen aus 72 g Silicagel, an denen sich 500 mg Substanz noch sauber trennen liessen. Die höchste Trennschärfe wurde an Säulen mit 36 g Silicagel erzielt, wobei jedoch nur 100 mg Präparat D eingesetzt werden konnten.

36 g hochaktives Silicagel²⁶) wurden mit 57,6 ml Wasser vermischt und das stäubende Pulver mit wassergesättigtem Essigester, der 0,5% Methanol enthielt, in eine Glasröhre ($d = 23$ mm) eingeschlämmt. Nach Beschicken mit dem Gemisch aus 100 mg Substanz und 1 g Silicagel eluierte man nach Tab. 5.

Die Fraktionen 20–24 enthielten vorwiegend das neue Glykosid Altosid, das aus Methanol in Stäbchen kristallisierte. Die LIEBERMANN-Reaktion zeigte bei diesen Fraktionen ein über rosa-lila-mcegrün verlaufendes Farbspiel und eine blaustrichig-grüne Endfarbe.

Aus den späteren Fraktionen konnten keine kristallisierbaren Anteile abgetrennt werden. Bei der LIEBERMANN-Reaktion traten intensive Blaufärbungen auf.

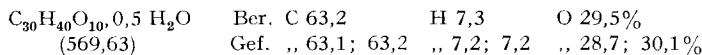
²⁶⁾ Zur Abtrennung von kristallisierbaren Altosid-Fraktionen eigneten sich nur hochaktive Silicagelcharge mit einer Aufnahmefähigkeit von mindestens 160% Wasser⁹).

Tabelle 5. Trennung von Präparat D an Silicagel

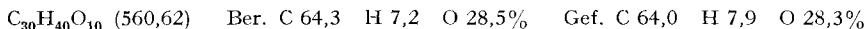
Frakt.	Essigester nass + 0,5% Methanol	mg	Eindampfrückstand Habitus
1–16	400 ml	–	
17	25	1,21	amorph
18	25	1,02	amorph
19	25	2,19	amorph
20	25	5,58	Prismen aus Methanol
21	25	8,06	Prismen aus Methanol
22	25	9,47	Prismen aus Methanol
23	25	7,87	Prismen aus Methanol
24	25	7,17	Prismen aus Methanol
25	25	8,20	amorph
26	25	11,15	amorph
27	25	12,00	amorph
28	25	7,33	amorph
29	25	3,46	amorph
30	25	0,55	amorph
31	25	0,58	amorph
32	25	0,71	amorph
33	25	0,45	amorph
34	25	0,37	amorph
35	25	0,95	amorph

Fraktionierung des Präparates D lieferte 2,17 g Altosid-Rohkristallisat, 0,68 g Mischfraktionen (die noch ca. 100 mg Altosid enthielten) sowie 1,63 g amorphe Nebenglykoside.

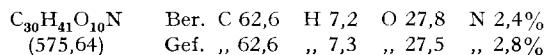
Altosid. Altosid-Rohkristallisat (2,17 g) schmolz bei 222–235°; $[\alpha]_D^{20} = +11,4^\circ$ ($c = 0,483$ in Methanol). Dieses Präparat war für die folgenden Umsetzungen genügend rein. Eine Probe von 500 mg wurde noch viermal an Silicagel nachchromatographiert, wobei jeweils nur die kristallisierten Anteile weiter verarbeitet wurden. Auf diese Weise liessen sich geringe Anteile von Nebenglykosiden entfernen, die durch ihre intensiv blaue LIEBERMANN-Reaktion leicht erkennbar waren. Das Spaltenpräparat zeigte nach der 4. Verteilung eine praktisch symmetrische Konzentrationskurve. Die einzelnen Fraktionen besaßen die gleichen optischen Drehwerte und entwickelten mit LIEBERMANN-Reagens eine meergrüne Färbung ohne Blaustich. Reinstes Altosid kristallisierte aus Methanol in farblosen, zu Büscheln angeordneten Stäbchen vom Smp. 222–228°; $[\alpha]_D^{20} = +26,3^\circ$ ($c = 0,376$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -45,3^\circ$ ($c = 0,719$ in Pyridin). UV.-Spektrum: $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,74$) in Methanol; IR.-Spektrum siehe Figur 3. Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° im HV. getrocknet.



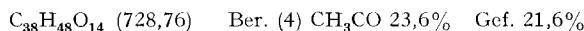
Nach 4-stdg. Trocknung bei 120° im HV.:



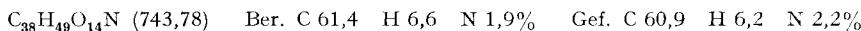
Altosidoxim. 80 mg Altosid (Rohkristallisat) in 10 ml Methanol wurden mit 54 mg Hydroxylamin-hydrochlorid und 84 mg krist. Natriumacetat 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Verdünnen mit 4 ml Wasser entfernte man das Methanol im Vakuum und schüttelte die wässrige Lösung fünfmal mit je 10 ml Chloroform-Butanol-(7:3) aus. Die vereinigten Chloroform-Butanol-Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand bildete ein farbloses amorphes Pulver (65 mg), das bei 170–173° schmolz. Zur Analyse wurde 4 Std. im HV. bei 100° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.



Tetra-O-acetyl-altosid. 100 mg krist. Altosid wurden mit 1 ml abs. Pyridin und 1 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 18 Std. bei 20° unter Ausschluss von Feuchtigkeit stehengelassen. Übliche Aufarbeitung lieferte 105 mg gelb gefärbten Schaum. Das Spitzenpräparat wurde nach Chromatographie an Aluminiumoxyd als farbloses Pulver erhalten, das aus den üblichen Lösungsmitteln nicht kristallisierte.



Tetra-O-acetyl-altosidoxim. 65 mg amorphes Tetra-O-acetyl-altosid in 5 ml Methanol wurden unter Rückfluss mit 32 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 49 mg krist. Natriumacetat in 0,25 ml Wasser erhitzt. Nach 2 Std. gab man 4 ml Wasser zu, engte die Lösung im Vakuum ein und schüttelte mit Chloroform aus. Die mit Wasser neutral gewaschenen Chloroformphasen ergaben nach Trocknen und Eindampfen 56 mg farblosen Schaum. Nach Chromatographie an Silicagel wurde ein amorphes Präparat vom Smp. 124–127° gewonnen. Zur Analyse wurde eine Probe 4 Std. im HV. bei 80° getrocknet.



Saure Hydrolyse von Altosid. 100 mg krist. Altosid wurden in 10 ml heissem Wasser suspendiert, mit 10 ml 2N H₂SO₄ versetzt und 1 Std. auf dem Dampfbad erwärmt. Schon nach 1–2 Min. trat eine milchige Trübung und Ausscheidung von weissen Flocken auf. Nach dem Abkühlen wurde die Hydrolysenlösung fünfmal mit je 20 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformphasen wusch man mit eiskalter KHCO₃-Lösung und mit Wasser neutral und trocknete über Na₂SO₄. Nach dem Eindampfen konnten 54 mg Aglykongemisch gewonnen werden. Die saure wässrige Lösung wurde durch Einengen im Vakuum von Chloroform befreit, mit BaCO₃ neutralisiert und nach Abfiltrieren der Bariumsalze eingedampft. Es resultierten 30,3 mg farbloser Sirup.

Das Gemisch der Aglykone wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Aus den mit Benzol-Chloroform-(1:1) eluierten Fraktionen kristallisierten 30 mg eines noch nicht völlig einheitlichen Präparates. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurden 7 mg Aglykon (*Monoanhydro-scilliglaucosidin?*) vom Smp. 218–226° erhalten. UV-Spektrum: $\lambda_{\text{max}} = 226, 235$ und $297 \mu\text{m}$ ($\log \epsilon = 4,31, 4,17$ und $3,78$).

Zuckerkomponente. Eine Probe des Zuckersirups wurde im System Butanol-Alkohol-Wasser-(4:1:5) an WHATMAN-Papier chromatographiert (Entwicklung mit Anilinphtalat). Ausser D-Glucose konnten keine weiteren reduzierenden Zucker nachgewiesen werden.

α -Methyl-D-glucose-<1,5>. 29 mg Zuckersirup wurden 5 Std. im Hochvakuum über P₂O₅ getrocknet und dann 16 Std. mit 1N methanolischer Salzsäure gekocht. Nach dem Neutralisieren mit frisch gefälltem Ag₂CO₃ und Behandlung der geklärten Lösung mit H₂S wurde filtriert und die farblose Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand kristallisierte spontan aus Methanol zu schlanken Prismen vom Smp. 169–170°; $[\alpha]_D^{20} = +164^\circ$ ($c = 0,360$ in Methanol). Die Identifizierung mit α -Methyl-D-glucosid-<1,5> erfolgte durch Misch-Smp. und Vergleich der IR-Spektren.

Enzymatische Hydrolyse von Altosid. Zu 1,00 g Altosid-Rohkristallat in 10 ml Alkohol gab man eine Lösung von 1 g käuflichem Pilzferment C 1290¹¹), gelöst in 200 ml Acetatpuffer (pH = 5,0). Nach Überschichten mit 2 ml Toluol wurde die Lösung 24 Std. bei 37° langsam gerührt. Anschliessend schüttelte man zweimal mit Petroläther-Benzol-(1:1), neunmal mit Chloroform und dreimal mit Chloroform-Butanol-(2:1) aus. Die einzelnen Auszüge passierten jeweils folgende Waschflüssigkeiten: Wasser, gesättigte Na₂SO₄-Lösung, 10-proz. KHCO₃-Lösung und erneut gesättigte Na₂SO₄-Lösung. Nach dem Eindampfen der organischen Phasen resultierten folgende Rückstände:

Petroläther-Benzol-(1:1)-Extrakt	20,3 mg
Chloroform-Extrakt	518,0 mg
Chloroform-Butanol-(2:1)-Extrakt	12,5 mg

Der Chloroform-Extrakt gab aus Methanol-Äther-Pentan 350 mg schmierige Kristalle vom Smp. 248–251°, die noch nicht völlig einheitlich waren. Kristalle und Mutterlaugen wurden deshalb an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-(6:4) und -(1:1) und mit reinem Chloroform eluierten Anteile (280 mg) lieferten nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther-Pentan 114,0 mg reinstes Aglykon vom Smp. 237–245°; $[\alpha]_D^{20} = +72,5^\circ$

($c = 0,493$ in Chloroform-Methanol-(49:1)); $[\alpha]_D^{20} = +49,1^\circ$ ($c = 0,480$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = +11,2^\circ$ ($c = 0,945$ in Pyridin)²⁷⁾. UV.-Spektrum: $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 3,72$). IR.-Spektrum siehe Fig. 4 im theoret. Teil. Zur Analyse wurde 5 Std. bei 100° im HV. getrocknet.



Das durch enzymatische Spaltung von Altosid erhaltene Aglykon ist mit Scilliglaucosidin¹²⁾ identisch (Misch-Smp., Vergleich der IR.-Spektren Fig. 4).

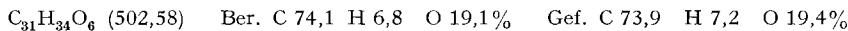
Zur genauen Bestimmung der Spaltungsquote wurde die enzymatische Hydrolyse unter gleichen Bedingungen mit 110 mg reinstem Altosid wiederholt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben, wobei 63,3 mg rohes Aglykon (= 81% d. Th.) erhalten wurden. Nach Umkristallisation resultierten 46,2 mg reines Scilliglaucosidin vom Smp. 246–250°. Die Identifizierung erfolgte wiederum durch Misch-Smp. und Vergleich des IR.-Spektrums (Fig. 4).

3-O-Acetylscilliglaucosidin. 21,6 mg Scilliglaucosidin (aus Altosid) wurden mit 0,5 ml Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 20 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung ergab 23,4 mg farblosen Schaum, der aus Aceton-Äther-Pentan Kristalle vom Smp. 215–220° lieferte. Nach Chromatographie an Aluminiumoxyd und Umkristallisieren aus Aceton-Pentan erhielten wir 14,1 mg Kristalle vom Smp. 216–220°; $[\alpha]_D^{20} = +27,5^\circ$ ($c = 0,815$ in Chloroform).

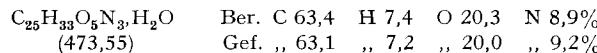
Ein frisch hergestelltes Vergleichspräparat aus authentischem Scilliglaucosidin zeigte nach Chromatographie folgende Werte: Smp. 226–228°; $[\alpha]_D^{20} = +30,6^\circ$ ($c = 0,364$ in Chloroform). Der optische Drehwert liegt etwas tiefer als früher angegeben¹²⁾. Die Mischprobe mit obigem Präparat schmolz bei 220–225°.

3-O-Benzoylscilliglaucosidin. 60,9 mg reinstes Scilliglaucosidin aus Altosid wurden in 1,2 ml Pyridin gelöst, bei 0° mit 0,4 ml Benzoylchlorid versetzt und 3 Tage stehengelassen. Das nach üblicher Aufarbeitung gewonnene Rohprodukt, ein gelbes Öl, ergab nach Chromatographie an trockenem Silicagel und an Aluminiumoxyd 27,9 mg O-Benzoylderivat. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther-Pentan wurden 16,6 mg Kristalle vom Smp. 193–195° gewonnen; $[\alpha]_D^{20} = +5,8^\circ$ ($c = 0,750$ in Aceton).

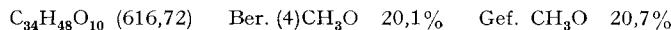
Das Vergleichspräparat wurde in gleicher Weise aus 76,0 mg Scilliglaucosidin (aus Scilliglaucosid) hergestellt. Erhalten wurden 20,3 mg 3-O-Benzoylscilliglaucosidin vom Smp. 189–190° und 20 mg weniger reines Material; $[\alpha]_D^{20} = +8,8^\circ$ ($c = 0,768$ in Aceton). Misch-Smp. mit obigem Präparat ohne Depression. Zur Analyse wurde 3 Std. im HV. bei 80° getrocknet.



Scilliglaucosidin-19-semicarbazone. 48,5 mg Scilliglaucosidin (aus Altosid) wurden mit 2 ml einer filtrierten methanolischen Semicarbazidlösung (aus 102 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 150 mg Natriumacetat-trihydrat) 2 Tage bei 22° stehengelassen. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt (52,3 mg) lieferte nach zweimaliger Kristallisation aus Methanol-Äther 39,2 mg reines Semicarbazon vom Smp. 195–196°; $[\alpha]_D^{20} = +53,5^\circ$ ($c = 0,615$ in Methanol). Misch-Smp. mit einer authent. Probe¹³⁾: 194–196°. Zur Analyse wurde 3 Std. im HV. bei 80° getrocknet.



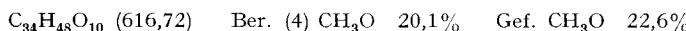
Tetra-O-methyl-scilliglaucosid. 201 mg reinstes Scilliglaucosid wurden in 2,5 ml Dimethylformamid²⁰⁾ gelöst und mit 1 ml Methyljodid versetzt. Unter kräftigem Rühren gab man 1 g frisch hergestelltes und fein pulverisiertes Silberoxyd zu. Nach 16-stdg. Röhren bei 22–30° unter Lichtausschluss wurden die Silbersalze abfiltriert und mit Dimethylformamid und Chloroform ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate schüttete man zuerst mit einer Lösung von 150 mg KCN in 15 ml Wasser, dann noch zweimal mit Wasser und gesättigter Na_2SO_4 -Lösung. Die vereinigten organ. Phasen lieferten nach Trocknen und Eindampfen im Vakuum 228,7 mg farblosen Schaum. Eine Probe (50 mg) wurde an Silicagel chromatographiert und ergab 48,5 mg farblose einheitliche Tetramethyl-Verbindung, die nicht kristallisierte. $[\alpha]_D^{20} = +106^\circ$ ($c = 0,315$ in Chloroform).



²⁷⁾ Scilliglaucosidin¹²⁾ aus Scilliglaucosid zeigte folgende Werte: Smp. 245–248°; $[\alpha]_D^{20} = +78,0^\circ$ (in Chloroform-Methanol-(49:1)); $[\alpha]_D^{20} = +49,5^\circ$ (in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = +13,1^\circ$ ($c = 0,986$ in Pyridin); neue Bestimmung.

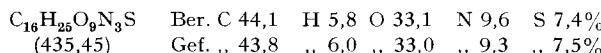
Hydrolyse von Tetra-O-methyl-scilliglaucosid. 174,3 mg amorphes Tetra-O-methyl-scilliglaucosid wurden mit 8 ml 0,1N H₂SO₄ 8,5 Std. unter Rückfluss erwärmt. Die jetzt hellgelbe Lösung engte man zur Entfernung des Methanols im Vakuum ein, versetzte das wässrige Konzentrat mit 3 ml Chloroform und erhitzte das zweiphasige Gemisch während 2,5 Std. zum Sieden (Rückfluss). Die trübe wässrige Phase wurde 4mal mit je 5 ml Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff-(1:2) ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen organischen Phasen lieferten nach Trocknen und Eindampfen 86,5 mg Aglykon als farblosen Schaum (verworfen). Die vereinigten wässrigen Phasen konzentrierte man im Vakuum auf 8 ml und neutralisierte mit frischem BaCO₃. Das Filtrat (pH = 7,0) wurde im Vakuum eingedampft und der farblose sirupöse Rückstand im Molekularkolben bei 0,8 Torr und 80–100° Badtemp. destilliert. Als Destillat gewannen wir 40,6 mg farblosen Sirup, der spontan zu Kristallen vom Smp. 63–98° erstarrte; [α]_D²⁰ = +77,3° (c = 0,850 in Wasser)²⁸⁾. Das Präparat stimmte im Verhalten bei der Papierchromatographie (System: Toluol-Butanol-Wasser-(9:1:1)) und im IR.-Spektrum (Fig. 5) mit 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucosid²⁸⁾ überein.

Tetra-O-methyl-altosid. 164 mg reinstes Altosid wurden wie Scilliglaucosid methyliert. Das Rohprodukt (159,6 mg) lieferte nach Chromatographie an Silicagel 140,7 mg farbloses Tetra-O-methyl-altosid, das nicht kristallisierte. [α]_D²⁰ = +12,4° (c = 1,04 in Chloroform).



Hydrolyse von Tetra-O-methyl-altosid. 132,6 mg amorphes Tetra-O-methyl-altosid wurden wie das entspr. Scilliglaucosid-Derivat hydrolysiert und lieferten 91,8 mg Aglykonfraktion. Die Zuckerkomponente ergab nach Destillation im Hochvakuum 14,6 mg kristallisierte 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose vom Smp. 66–83°; [α]_D²⁰ = +76° (c = 0,470 in Wasser, Enddrehung nach 17 Std.). Das IR.-Spektrum stimmte mit der Absorptionskurve eines Vergleichspräparates überein (Fig. 5).

p-Nitrobenzolsulfonylhydrazone der 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose. a) *Vergleichspräparat:* 250 mg reinste 2,3,4,6-Tetramethylglucose und 250 mg p-Nitrobesylhydrazid²¹⁾ wurden vermischt, mit 5 ml Acetonitril übergossen und 2 Std. auf 73–75° erwärmt. Nach dem Einengen im Vakuum erhielt man 544 mg dickflüssiges Öl, das an trockenem Silicagel chromatographiert wurde. Aus den mit Chloroform-Methanol-(99:1) eluierten Fraktionen liessen sich insgesamt 285,1 mg Kristalle gewinnen. Der Smp. lag bei 123–125° (aus Methanol-Äther) oder bei 138–139° (aus Äther-Pentan).



b) aus *Tetra-O-methyl-scilliglaucosid:* 19,3 mg kristallisierte Tetramethylglucose aus Tetra-methylscilliglaucosid wurden mit 19,3 mg p-Nitrobesylhydrazid in 0,5 ml Acetonitril umgesetzt. Nach Chromatographic an Silicagel und Kristallisation aus Äther-Pentan resultierten 12,7 mg Nitrobesylhydrazone vom Smp. 138–140°. Die Identifizierung erfolgte durch Misch-Smp. (137–140°) und Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 8, obere Kurve).

c) aus *Tetra-O-methyl-altosid:* 10,5 mg kristallisierte Tetra-O-methyl-glucose aus permethyliertem Altosid wurden wie oben beschrieben mit p-Nitrobesylhydrazid in das Hydrazone übergeführt. Wir erhielten 8,3 mg Reinpräparat vom Smp. 140–141°. Der Misch-Smp. mit authentischem p-Nitrobesylhydrazone der 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose lag bei 139–140°; die IR.-Spektren der beiden Präparate sind identisch (Fig. 8, mittlere und untere Kurve).

2,3,5,6-Tetra-O-methyl-D-glucose. α, β -Methyl-D-glucofuranosid (« β -Methylglucosid»), hergestellt nach E. FISCHER²⁹⁾, wurde in Dimethylformamid²⁰⁾ methyliert. Zur milden Hydrolyse wurden 6,3 g des so gewonnenen α, β -Methyl-2,3,5,6-tetra-O-methyl-D-glucosids in 100 ml 0,01N wässriger Salzsäure gelöst und 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Abkühlen auf 25°, Neutralisation mit Ag₂CO₃ und Filtration behandelten wir die farblose, klare Lösung mit H₂S und nutzten das ausgeschiedene Ag₂S ab. Das klare Filtrat hinterliess beim Eindampfen im Vakuum 5,0 g rohe 2,3,5,6-Tetra-O-methyl-D-glucose als fast farblosen Sirup. Destillation im Hochvakuum

²⁸⁾ Nach Organic Syntheses, Coll. Vol. III, 800 (1955), herstellte 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose zeigte nach Sublimation im HV. folgende Daten: Smp. 90–93°; [α]_D²⁰ = +81,5° (c = 1,03 in Wasser; Endwert nach 3,5 Std.).

²⁹⁾ E. FISCHER, Ber. deutsch. chem. Ges. 47, 1980 (1914).

lieferte 4,9 g eines FEHLING-positiven farblosen Sirups; $[\alpha]_D^{20} = -7,4^\circ$ ($c = 0,832$ in Wasser, Enddrehung) und $[\alpha]_D^{20} = -27,4^\circ$ ($c = 0,875$ in Chloroform). Dieses Präparat war noch nicht völlig einheitlich. Durch wiederholte Chromatographie an wassergesättigtem Silicagel konnten wir ca. 40% eines ebenfalls flüssigen Nebenproduktes abtrennen, das mit FEHLING-Reagens negativ reagierte. Die vereinigten FEHLING-positiven Fraktionen lieferten nach Hochvakuum-Destillation einen farblosen Sirup mit folgenden Konstanten: $[\alpha]_D^{20} = -15,7^\circ$ ($c = 3,00$ in Wasser, Enddrehung) und $[\alpha]_D^{20} = -32,9^\circ$ ($c = 2,20$ in Chloroform)³⁰⁾. IR.-Spektrum siehe Fig. 7.

$C_{10}H_{20}O_6$	Ber. C 50,8 (236,26)	H 8,5	O 40,7	CH_3O	52,5%
	Gef. ..	50,9 ..	8,3 ..	41,0 ..	51,7%

p-Nitrobenzolsulfonylhydrazone der 2,3,5,6-Tetra-O-methyl-d-glucose. 244,3 mg 2,3,5,6-Tetramethylglucose wurden, wie bei der pyranoiden Form beschrieben, mit *p*-Nitrobesylhydrazid in Acetonitril umgesetzt. Die Ausbeute betrug 181,6 mg analysenreines Hydrazon, das aus Äther-Pentan kristallisiert bei 110–111° schmolz.

$C_{16}H_{25}O_9N_3S$	Ber. C 44,1 (435,45)	H 5,8	O 33,1	N 9,6	S 7,4%
	Gef. ..	44,5 ..	5,9 ..	33,3 ..	9,5 ..

ZUSAMMENFASSUNG

Aus der afrikanischen Liliacee *Urginea altissima* BAKER konnte ein kristallisiertes herzaktives Scilla-Glykosid, das Altosid, isoliert werden. Altosid, $C_{30}H_{40}O_{10}$, lieferte bei der Spaltung mit einem Pilzferment d-Glucose und Scilliglaucosidin. Die gleichen Spaltstücke waren schon früher aus Scilliglaucosid, einem Nebenglykosid aus der weissen und der roten Meerzwiebel, erhalten worden. Altosid und Scilliglaucosid erwiesen sich als Isomere, die sich in der Konfiguration der glykosidischen Bindung voneinander unterscheiden: Altosid ist das β -d-Glucosid, Scilliglaucosid das α -d-Glucosid des Scilliglaucosidins. Nach Hydrolyse der Tetra-O-methyl-Derivate des Altosids bzw. Scilliglaucosids wurde 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-d-glucose erhalten, wodurch die Pyranosidstruktur der Zuckerkomponente in beiden Glykosiden bewiesen war. Altosid und Scilliglaucosid bilden das erste natürlich vorkommende Anomerenpaar; Scilliglaucosid ist zudem das erste in der Natur aufgefundene Glykosid, das der KLYNE'schen Regel nicht entspricht.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium SANDOZ, Basel

³⁰⁾ Die in der Literatur beschriebenen Drehwerte von nicht chromatographierten Präparaten schwanken zwischen $-7,2^\circ$ und $-13,5^\circ$ (in Wasser) bzw. $-23,6^\circ$ und $-28,8^\circ$ (in Chloroform); siehe z.B.: J. C. IRVINE, A. W. FYFE & T. P. HOGG, J. chem. Soc. 107, 524 (1915); P. A. LEVENE & G. M. MEYER, J. biol. Chemistry 74, 701 (1927); H. H. SCHLUBACH & H. VON BOMHARD, Ber. deutsch. chem. Ges. 59, 845 (1926); F. MICHEEL & K. HESS, Liebigs Ann. Chem. 450, 21 (1926).