

für eine Bestimmung 5 cm³ der Lösung verwendet. Die Zahlen bedeuten cm³ N₂ (20⁰, 721 mm).

	Anfangs- bestimmung	nach 42 Stunden	Zuwachs
Nicht aktiviert	1,50	1,55 } 1,57 } 1,56	0,06
H ₂ S	1,46	2,74 } 2,78 } 2,76	1,30
5 mg Vitamin C.	1,36	2,15 } 2,15 } 2,15	0,79
5 mg Vitamin C.	1,40	2,10 } 2,08 } 2,09	0,69

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

Die herzaktiven Substanzen der Meerzwiebel¹⁾. Scillaren A

(1. Mitteilung über Herzglycoside)

von A. Stoll, E. Suter, W. Kreis, B. B. Bussemaker und A. Hofmann²⁾.

(27. V. 33.)

1. Geschichtliche Einleitung.

Es ist eine der gemeinsamen Aufgaben der Pharmakologie und der Biochemie, aus natürlichen Drogen die aktiven, pharmazeutisch verwendbaren Substanzen in reiner Form zu isolieren. Arbeiten in dieser Richtung erweitern einerseits die Kenntnis der Naturstoffe und geben Einblick in das Schaffen und die Bauweise der Natur; andererseits ermöglichen sie Vereinfachung durch Erhöhung der Zuverlässigkeit und Erweiterung der therapeutischen Verwendung, da der Gehalt an wirksamer Substanz und deren Beständigkeit, sowie die Verträglichkeit bei natürlichen Drogen oft unsicher sind.

Ein altes Problem stellte in dieser Arbeitsrichtung die Meerzwiebel, *Bulbus Scillae*, die Reservezwiebel der an den Küsten des

¹⁾ Vorläufige Mitteilungen: A. Stoll, E. Suter und W. Kreis, Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. 1927, II, 132; A. Stoll, ebenda, 271; A. Stoll, Schweiz. Med. Woch.schr. 57, 1169 (1927); A. Stoll und W. Kreis, Verh. d. Schweiz. Naturforsch. Ges. 1932, 331 und 435, sowie A. Stoll, „Ein Gang durch biochemische Forschungsarbeiten“, Berlin 1933.

²⁾ Meine Mitarbeiter, Dr. E. Suter, Dr. W. Kreis, B. B. Bussemaker und Dr. A. Hofmann sind in der Reihenfolge, in der sie sich zeitlich mit dem Gebiet beschäftigt haben, aufgezählt. Der überwiegende Anteil der experimentellen Bearbeitung, insbesondere die Reindarstellung und Untersuchung von Scillaren A wurde von Herrn Dr. Kreis ausgeführt. — A. Stoll.

Mittelmeeres wachsenden Liliacee *Urginea maritima Baker* oder *Scilla maritima L.* Die Inkonstanz ihrer galenischen Darreichungsformen ist in neuerer Zeit durch pharmakologische Arbeiten von *J. Markwalder*¹⁾ bewiesen worden, der zeigen konnte, dass die Extrakte des Handels häufig weniger wirksam sind als die rohen Zwiebeln und dass Schwankungen von mehreren hundert Prozent auftreten. *C. Focke*²⁾ wies dann ferner nach, dass auch frische Meerzwiebeln verschiedener Provenienzen beträchtliche Unterschiede in der Wirkung zeigen.

Die historische Bedeutung der *Scilla* für die Medizin ist in eingehenden Arbeiten von *G. Sharp*³⁾, von *H. Scheer* und *E. Sigerist*⁴⁾ sowie von *E. Hirschfeld*⁵⁾ gewürdigt worden. Besonders die letztere Arbeit behandelt die medizinisch-historische Seite eingehend und kritisch. Wir verweisen auf diese schöne Studie und beschränken uns auf die Erwähnung einzelner Punkte, soweit diese chemisch-pharmazeutisch von Interesse sind.

Die Meerzwiebel war schon den alten Ägyptern, Griechen und Römern als Heilmittel für vielerlei Krankheiten bekannt und wurde auch kultisch verehrt als allgemeines Abwehrmittel von Unheil. Die Rolle, die sie im Leben der antiken Völker spielte, ist im Schrifttum jener Zeit vielfach erwähnt und beschrieben. Die frühzeitige Benützung der *Scilla* gegen mancherlei Leiden, vor allem als Diureticum und Tonicum, ist von der modernen medizinischen Forschung als berechtigt erkannt worden und die Abwehr von Tieren, namentlich die Bekämpfung der Rattenplage, findet in der hohen Toxicität der Droge ihre Grundlage. Gleich anderem antiken Kulturgut wurde die Kenntnis der Meerzwiebel durch die arabischen Gelehrten den europäischen Forschern des Mittelalters übertragen. Jedoch trat die therapeutische Anwendung allmählich gegenüber dem Gebrauch als Mittel gegen Mäuse und anderes Ungeziefer zurück.

Die hohe Toxicität der Meerzwiebel war zweifellos schon den Völkern des Altertums bekannt und von ihnen gefürchtet. Wurde sie in grösseren Mengen, z. B. als Genussmittel, verwendet, so hat man sie, wie *Dioskurides*⁶⁾ berichtet, in Lehm oder Weizenteig gehüllt, gebacken oder geröstet oder mit Wasser gekocht und dieses weggegossen und mit Wasser neu angesetzt, bis es nicht mehr bitter oder scharf wurde, oder man hat die Zwiebel mit Essig gekocht. Damit wurde sie tatsächlich entgiftet; denn wir wissen heute, dass durch Hitze und durch Säure die empfindlichen herzaktiven Stoffe entweder zerstört oder durch Wasser extrahiert werden. Die seit dem Altertum und bis in die neueste Zeit verwendete Form des Oxymel Scillae ist, wie *J. Markwalder* (loc. cit.) zeigte, fast unwirksam. Rein empirisch sind also die bis vor kurzem unbekanntem herzaktiven Stoffe zerstört worden. So mögen einerseits die Gefährlichkeit der natürlichen Droge mit ihren schon an sich starken Schwankungen in der Wirksamkeit und andererseits die oft unwirksamen galenischen Zubereitungen (z. B. *Tinctura scillae kalina*) einer allgemeinen Verwendung der Meerzwiebel in der Medizin im Wege gestanden haben.

Ganz vergessen blieb die Heilkraft der *Scilla* dennoch nicht, und als *van Swieten*⁷⁾ im 18. Jahrhundert die Droge als Heilmittel

¹⁾ *J. Markwalder*, Schweiz. Med. Woch.schr. 1922, 560, und Klin. Woch.schr. I, 212.

²⁾ *C. Focke*, Arch. Pharm. u. Ber. Deutsch. Pharm. Ges. 1927, 91.

³⁾ *G. Sharp*, Pharmac. J. and Pharmacist, 84, 136 und 170 (1910).

⁴⁾ *H. Scheer* und *E. Sigerist*, Schweiz. Med. Woch.schr. 57, 1168 (1927).

⁵⁾ *E. Hirschfeld*, Kyklos Jahrb. d. Inst. f. Gesch. d. Med. II, 163 (1929).

⁶⁾ *E. Hirschfeld*, S. 166.

⁷⁾ *G. L. B. van Swieten*, Commentaria in Hermanni Boerhaave Aphorismos de cognoscendis et curandis morbis. 4. Bd. (1764).

gegen die Wassersucht neuerdings allgemein bekannt machte, bestanden vielfache, ähnliche Erfahrungen von Zeitgenossen. Die Bedeutung von *van Swieten's* Meerzwiebeltherapie in pharmazeutischer Hinsicht bestand indessen darin, dass er nicht wie die Ärzte der Antike die starke Wirkung der Meerzwiebel fürchtete und diese durch schädigende Zubereitungen abzuschwächen suchte, sondern dass er frische Meerzwiebel mit der vollen Wirkung verwendete und dafür mit der Dosierung herunterging, was ohne Zweifel als grosser Fortschritt gegenüber der damaligen alten Meerzwiebeltherapie zu bezeichnen ist. Damit in Übereinstimmung steht die Tatsache, dass wir bei der Reindarstellung der herzaktiven Substanzen erst Erfolg hatten, als wir von frischer Meerzwiebel ausgingen. *Van Swieten's* Verordnungsweise blieb später vielfach unbeachtet und als *Withering* zu gleicher Zeit (1780) den in der Wirkung viel zuverlässigeren Fingerhut in die Herztherapie erfolgreich einführte, da trat die Meerzwiebel stark in den Hintergrund, obschon *F. Home*¹⁾ gegen Ende des 18. Jahrhunderts die Wirkung der *Scilla* auf das Herz entdeckt, wenn auch falsch gedeutet hatte. Es dauerte mehr als 100 Jahre, bis ihre therapeutische Herzwirkung allgemein anerkannt wurde, als 1918 *F. Mendel*²⁾ sich für ihre Verwendung bei Herzkranken einsetzte.

F. Mendel verschrieb das Meerzwiebelpulver des Handels, was gegenüber *van Swieten*, der die frische Zwiebel verwendet hatte, zweifellos ein Rückschritt war. Das Meerzwiebelpulver des Handels enthält die aktiven Substanzen zum grössten Teil in zersetzter Form und in äusserst schwankenden Mengen und ist daher nicht nur für die Therapie, sondern auch für die Reindarstellung der aktiven Substanzen ungeeignet. Sowohl unzureichenden Methoden, als auch der Wahl von ungeeignetem, d. h. schon zersetztem Ausgangsmaterial ist es zuzuschreiben, wenn die zahlreichen Forscher, die sich über mehr als 100 Jahre mit der Isolierung der wirksamen Stoffe der Meerzwiebel beschäftigten, erfolglos waren und doch harrete dieses Problem immer dringender der Lösung.

Die ersten Versuche einer chemischen Bearbeitung sind schon im 18. Jahrhundert gemacht worden. Die Veröffentlichungen von *Meder*³⁾, *Boerhaave*⁴⁾, *Cartheuser*⁵⁾, *Trommsdorff*⁶⁾ und *Athanasius*⁷⁾ haben in Anbetracht des damaligen Standes der Chemie nur histo-

1) *F. Home*, Chemical experiments, histories and dissections, Edinburgh 1780, S. 357ff.

2) *F. Mendel*, Ther. d. Gegenw. 1918, S. 16 u. Forts.

3) *Meder*, Examen chemicum radice Scillae marinae (1739), Praes. *I. H. Schultze*.

4) *Boerhaave*, Elementa Chemiae et Historia plantarum, Rom 1727, p. 615.

5) *Cartheuser*, Rudimenta materiae medicae rationalis, Frankfurt 1741, p. 224.

6) *Trommsdorff*, Journal der Pharmacie 1, 205 (1794).

7) *Athanasius*, *Trommsdorff's* Journal d. Pharmaz. 3, 156.

rische Bedeutung. Im Laufe der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts folgen zahlreiche weitere Arbeiten von *Buchner*¹⁾, *Landerer*²⁾, *Righini*³⁾, *Vogel*⁴⁾, *Tilloy*⁵⁾, *Marais*⁶⁾, *Wittstein*⁷⁾, *Lebourdais*⁸⁾, *Bley*⁹⁾, *Mandet*¹⁰⁾ und anderen. Allen diesen Forschern fehlte die Möglichkeit, ihre Substanzen, die teils krystallinisch, teils amorph waren und die zum Teil als Bitterstoffe beschrieben und mit Namen wie Scillitin, Scillitit, Scillin und Skulein belegt wurden, hinreichend zu charakterisieren, richtig zu analysieren und auch physiologisch zu prüfen, und es ist daher schwer, sich heute eine Vorstellung zu machen, welche Stoffe damals vorlagen.

1864 konnte dann *Schroff*¹¹⁾ die längst bekannte diuretische Wirkung der Meerzwiebel experimentell feststellen, und 1866 gelang *Fagge* und *Stevenson*¹²⁾ am Frosch der Nachweis der Herzwirkung, die *Home*¹³⁾ schon vor 1780 bei der Scillamedikation am Menschen beobachtet hatte. Diese Ergebnisse wurden 1876 von *Husemann*¹⁴⁾ und *König*¹⁵⁾ bestätigt, und das Tier diente in der Folgezeit auch anderen Forschern als massgebendes Testobjekt bei den Versuchen zur Isolierung der wirksamen Substanz, wodurch ein kritischer Vergleich der Präparate möglich wurde.

*C. Möller*¹⁶⁾ machte 1878 Angaben über die physiologische Wirksamkeit der von *Merck*¹⁷⁾ dargestellten und in den Handel gebrachten Scillapräparate, Scillipikrin, Scillitoxin und Scillin, die in *Merck's* Jahresbericht 1911 näher beschrieben sind. Die charakteristische Wirkung auf das Herz kam dem gelben bis rötlich gelben, amorphen und hygroskopischen Scillipikrin und dem braunen, harzartigen Scillitoxin zu, während bei dem krystallisierenden Scillin toxische, Nausea hervorrufende Eigenschaften festgestellt wurden. *Merck* bezeichnete seine Präparate, deren Darstellungsweise nicht ver-

¹⁾ *Buchner*, *Döbereiner's* Jahrbuch 1811, 1.

²⁾ *Landerer*, Repertorium d. Pharmazie [1] 47, 442.

³⁾ *Righini*, Repertorium d. Pharmazie [2] 13, 87.

⁴⁾ *Vogel*, Ann. chim. 1812, 147.

⁵⁾ *Tilloy*, Journ. d. Pharmac. et des Sciences accessoires [2] 12, 635 (1826) und 23, 406 (1853).

⁶⁾ *Marais*, Annuaire de Thérapeutique 1857, 94, Thèse de Paris 1856, J. Pharmacie, 31, 123 (1857).

⁷⁾ *Wittstein*, *Buchner's* Repertorium f. praktische Pharmazie, 1850, 189; C. 1850, I, 319.

⁸⁾ *Lebourdais*, Ann. chim. 1848, 62.

⁹⁾ *L. Bley*, Arch. Pharm. [2] 61, 141 (1850).

¹⁰⁾ *F. Mandet*, C. r. 1860, 87.

¹¹⁾ *Schroff*, Woch.-blt. d. Ztschr. d. KK. Ges. d. Ärzte in Wien 1864, 381ff.

¹²⁾ *Fagge* und *Stevenson*, Pharmac. J. [2] 7, 421 (1866).

¹³⁾ *F. Home*, Clinical Experiments, Histories and Dissections, Edinburgh, 1780, 357.

¹⁴⁾ *T. Husemann*, Arch. exptl. Path. 5, 254 (1876).

¹⁵⁾ *A. König*, Diss. Göttingen, 1875.

¹⁶⁾ *C. Möller*, Diss. Göttingen, 1878.

¹⁷⁾ *E. Merck*, Pharm. Ztg. 24, 286 (1879).

öffentlicht wurde, selbst als gereinigte Extrakte, nicht als Reinstoffen und teilte daher auch keine Analysen mit.

Durch Extraktion der Meerzwiebel mit Wasser, Reinigung des Extraktes mit Bleiessig, Ausfällen des wirksamen Stoffes mit Gerbsäure und Reinigung durch Adsorption an Tierkohle gelangte *E. von Jarmersted*¹⁾ zu einem Präparat, das er als farblose oder leicht gelbliche pulverisierbare Substanz beschreibt. Das Produkt erhielt den Namen Scillain und wurde als stickstoffreies Glucosid bezeichnet, das bei der physiologischen Prüfung digitalisartige Wirkung zeigte. Ein ähnliches Präparat gewann *Kurtz*²⁾ durch Extraktion der Meerzwiebeln mit Alkohol, wobei im übrigen das Reinigungsverfahren *Jarmersted's* befolgt wurde. *Kurtz* teilt zwar Analysen mit, doch zeigt seine Beschreibung, dass keine einheitliche Verbindung vorlag. Drei krystallisierte und wirksame Scillasubstanzen: Scillipikrin, Scillenin und Scillamarin beschreibt *1894 Waliszewski*³⁾, doch fehlen bei diesem Autor die zur Beurteilung notwendigen Angaben über die Gewinnung, Analyse und physiologische Wirkung.

Einen wesentlichen Fortschritt erreichte *A. I. Ewins*⁴⁾ 1911, ausgehend von einer konzentrierten Tinctura Scillae der britischen Pharmakopoe. Durch Extraktion derselben mit Chloroform und Alkohol, und Umfällen des eingedampften Extraktes aus Alkohol und Äther wurden zwei Fraktionen erhalten. Die eine, die leicht löslich in Wasser und in Alkohol war, besass bereits einen Wirkungswert von etwa 600 Froschdosen, also ungefähr die Hälfte der Wirksamkeit des hier später beschriebenen Scillarens. Durch Umlösen aus kaltem Wasser stieg der Wirkungswert bis auf 830 Froschdosen, jedoch misslangen weitere Reinigungs- und Krystallisationsoperationen. Das Endprodukt war immer noch tiefgelb gefärbt und nicht krystallisierbar. Aus den Eigenschaften, besonders der Wasserlöslichkeit dieses Präparates von *Ewins* darf geschlossen werden, dass es sich dabei um noch unreines oder teilweise zersetztes Scillaren B handelte. Die zweite Fraktion in der Arbeit von *Ewins* war ein ätherlösliches Harz und wurde von *Ewins* als eine reinere Form des *Merck'schen* Scillitoxins betrachtet.

Die Untersuchung der chemischen Bestandteile von Bulbus Scillae durch *E. Buschmann*⁵⁾ bietet in Bezug auf die herzaktiven Stoffe nichts Neues, da nur geringe Mengen einer gelblichen krystallinen Substanz erhalten wurden, die nach *Buschmann* dem Scillipikrin oder Scillitoxin entsprechen sollen. *Kopaczewski*⁶⁾ teilte 1914

¹⁾ *E. von Jarmersted*, Arch. exptl. Path. 11, 22 (1879).

²⁾ *F. Kurtz*, Diss. Erlangen 1894.

³⁾ *S. Waliszewski*, L'Union Pharm., 34, 251 (1894).

⁴⁾ *A. I. Ewins*, J. Pharmacol. 3, 155 (1912).

⁵⁾ *E. Buschmann*, Arch. Pharm. 257, 79 (1919).

⁶⁾ *W. Kopaczewski*, C. r. 158, 1520 (1914).

Analysen seines Scillitins mit, einer gelben, bittern und nicht kristallisierbaren Substanz vom Smp. 152°, und leitete daraus eine Zusammensetzung $C_{17}H_{25}O_6$ ab. Das Scillitin wurde von *Kopaczewski*¹⁾ an verschiedenen Tieren physiologisch geprüft und besonders für Ratten toxisch befunden. Die letale Dosis an der Katze, die mit den Werten von *Rothlin*²⁾ vergleichbar ist, zeigt etwa eine Katzeinheit pro mg, was ungefähr einem Fünftel der Wirksamkeit des Scillarens entspricht. Bei dem pharmakologisch ebenfalls geprüften Scillidiuretin *Kopaczewski*'s¹⁾, das besonders bei Kaninchen die

Tabelle I³⁾.

Präparate	Froschdosen pro 1 mg	Katzeinheit in mg pro 1 kg Katze	Wirksamkeit bezogen auf Scillaren „Sandoz“	Literatur
Scillipikrin . . . <i>Merck</i>	3		0,25%	4)
Scillitoxin . . . <i>Merck</i>	260		22%	4)
Scillin <i>Merck</i>	sehr geringe Wirksamkeit			4)
Scillain <i>Jarmersted</i>	200 (Rana temp.) 40 (Rana escu.)	2,0	17% 3,3%	5)
Wasserlösl. Präp. <i>Ewins</i>	830		69%	6)
Ätherlösl. Präp. . <i>Ewins</i>	260		22%	6)
Scillitin <i>Kopaczewsky</i>		ca. 1	ca. 20%	7)
Scillaren ⁸⁾ . . . „Sandoz“	1200	0,181	100%	9)
Scillaren A ¹⁰⁾ .	1000	0,226		9)
Scillaren B ¹⁰⁾ .	1600	0,144		9)

1) *W. Kopaczewski*, Bioch. Z. **66**, 501 (1914).

2) *E. Rothlin*, Schweiz. Med. Woch.-schr. **57**, 1171 (1927).

3) Die in der Tabelle angeführten Werte der älteren Literatur in Froschdosen und Katzeinheiten sind nur unter Vorbehalt mit den neuen Bestimmungen vergleichbar, da die standardisierten Methoden erst später geschaffen worden sind.

4) *C. Möller*, Diss. Göttingen 1878.

5) *E. von Jarmersted*, Arch. exptl. Path. **11**, 22, (1879).

6) *A. I. Ewins*, J. Pharmacol. **3**, 155 (1912).

7) *W. Kopaczewsky*, Bioch. Z. **66**, 501 (1914).

8) Scillaren „Sandoz“ besteht aus $\frac{2}{3}$ Scillaren A und $\frac{1}{3}$ Scillaren B.

9) *E. Rothlin*, Schweiz. Med. Woch.-schr. **57**, 1171 (1927).

10) Nach einer unveröffentlichten Privatmitteilung von *E. Rothlin* wurden bei neuen Bestimmungen 1200 F. D. und eine Katzeinheit von 0,145 mg für Scillaren A und bis 2000 F. D. und eine Katzeinheit von 0,100 mg für besonders aktive Fraktionen von Scillaren B gefunden.

Harmmenge beträchtlich erhöhen soll, fehlen chemische Angaben. 1926 betrachtete *Kopaczewski* gemeinsam mit *Henrijean*¹⁾, doch wohl zu Unrecht, eine Verbindung $C_{11}H_{22}O_4$ als das herzaktive Prinzip der Meerzwiebel.

Von keinem unter allen diesen Scillapräparaten kann gesagt werden, dass es eine einheitliche oder gar reine, krystallisierte chemische Verbindung sei, sondern die angegebenen chemischen Eigenschaften zeigen im Gegenteil, dass die Präparate eher als angereicherte Extrakte mit Zersetzungsprodukten betrachtet werden müssen. Die nebenstehende tabellarische Zusammenstellung der physiologischen Wirkungswerte in Froschdosen und Katzeinheiten zeigt den ungefähren, auf Scillaren bezogenen Prozentsatz an aktiver Substanz, den die älteren Präparate besaßen.

Der Pharmakologe *W. Straub*²⁾ gelangte auf verhältnismässig einfache Weise durch die Wahl geeigneter Extraktionsmittel zu Meerzwiebelpräparaten, die in ihrer Wirksamkeit nahe an das beste Präparat von *Ewins* heranreichten.

Auf Veranlassung von *W. Straub* übernahm das wissenschaftliche Laboratorium der *Chemischen Fabrik vorm. Sandoz* die chemische Bearbeitung der Meerzwiebel, wobei allerdings der von *Straub* eingeschlagene Weg, sowohl im Hinblick auf das Ausgangsmaterial, wie die Extraktionsmethode bald verlassen werden mussten. Trotz ihrer relativ hohen Wirksamkeit enthielten die *Straub'schen* Präparate Zersetzungsprodukte und waren unkrystallisierbar.

2. Extraktion und Reindarstellung von Scillaren.

Die wichtigsten Ergebnisse unserer Versuche, die zu reinen, krystallisierten und auch einheitlichen Scillapräparaten führten, haben wir in vorläufigen Mitteilungen³⁾ bereits bekannt gegeben und teilen nun im folgenden zusammenfassend das experimentelle Belegmaterial ausführlich mit. Dadurch, dass wir erst heute, nach mehr als 10 Jahren seit Beginn unserer Untersuchungen mit der Publikation der Resultate anfangen, sind wir in der Lage, aus der Fülle der vorliegenden Beobachtungen das Wesentliche und das Positive auszuwählen. Um ein Bild der Entwicklung zu geben, teilen wir auch einzelne ursprünglich angewandte, aber später verlassene Verfahren mit, ohne jedoch alle Wege, die schliesslich zum Ziel führten, wiederzugeben; das geschieht im Interesse der Kürze und Übersichtlichkeit.

Die Verwandtschaft in der Wirkung von Fingerhut und Meerzwiebel auf das Herz liess vermuten, dass in letzterer Glycoside vorkommen, die den bereits bekannten Digitalisglycosiden ähnlich

1) *W. Kopaczewski* und *Henrijean*, C. r. **183**, 376 (1926).

2) Unveröffentlichte Privatmitteilung.

3) loc. cit.

sein mussten, obschon die charakteristischen schönen Farbreaktionen der Digitalisglycoside bei aus Meerzwiebel hergestellten Extrakten völlig negativ ausfielen. Wir wandten also zunächst die Methoden zur Isolierung von Herzglycosiden aus dem Fingerhut auf die Meerzwiebeldrogé an und zwar, wie oben bereits bemerkt, auf solche des Handels. Unsere an und für sich richtige Arbeitshypothese versagte aber in doppelter Hinsicht; denn einmal enthielt die Handelsdroge die wirksame Substanz nur noch als kleinen Rest und in zersetzter Form, und ferner war die für die Reindarstellung von Digitalisglycosiden so wichtige Extraktion dieser Stoffe aus der von Gerbstoffen befreiten wässerigen Lösung mit Chloroform bei ähnlich zubereiteten und gereinigten Meerzwiebelextrakten zunächst erfolglos. Ausgangsmaterial und Reinigungsverfahren mussten geändert werden. Wir verschafften uns frische, d. h. noch lebende Meerzwiebeln, um diesen von Anfang an eine schonende Behandlung angedeihen zu lassen, und wir verwendeten zum Ausziehen der wirksamen Stoffe aus gerbstofffreier, wässriger Lösung andere Lösungsmittel, wie Essigester, und beschleunigten den Übergang der wirksamen Substanz aus der wässerigen Phase in diesen durch Zusatz von Salz zum Wasser und von Alkohol zum Essigester¹⁾.

Die ersten Extraktions- und Reinigungsversuche wurden zunächst mit der physiologischen Wertbestimmung durch *K. Spiro* am Frosch kontrolliert. Man muss sich vergegenwärtigen, dass die Toxicitätsbestimmung zu Beginn unserer Arbeit die einzig brauchbare, wenn auch verhältnismässig umständliche Methode war, mit der man die Extraktions- und die Reinigungsoperationen der ja noch gänzlich unbekanntem herzaktiven Substanz verfolgen konnte. Ihre Glycosidnatur war zwar vermutet worden, aber keineswegs bewiesen, und chemische oder physikalische Merkmale mussten erst an relativ hochwertigen Präparaten gefunden werden. Es war daher eine bedeutende Förderung der Arbeit, als wir fanden, dass bei wirksamen Fraktionen die *Liebermann'sche* Cholesterinreaktion mit Essigsäureanhydrid und konz. Schwefelsäure stark positiv ausfiel und dass Intensität dieser Farbreaktion und Toxicität der Präparate parallel gingen. Eine einfache und schnelle qualitative, schätzungsweise auch mengenmässig verwertbare Reaktion im Reagensglas war damit gefunden. Die aktiven Extrakte zeigen nämlich bei dieser Reaktion eine charakteristische intensive Rotfärbung, die rasch über Blau nach Blaugrün übergeht. Später wurde dann gefunden, dass diese Farbenfolge für das reine Gesamtglycosidpräparat charakteristisch ist.

Physiologisch als glycosidreich erkannte Meerzwiebeln wurden in dünne Scheiben zerschnitten und diese bei niedriger Temperatur

¹⁾ Schweiz. Pat. 102 141 (1923); D. R. P. 446 782 (1927); U. S. A. P. 1 516 552 (1924).

in strömender Luft getrocknet und fein gemahlen. Ein Schnell-extrakt mit hochprozentigem Alkohol entfernt aus dem Pulver fast die ganze wirksame Substanz, die nach dem Eindampfen des Alkohols im Vakuum bei niedriger Temperatur als gelbliche bis rötliche glasige Masse hinterbleibt. Löst man diese in Wasser, beseitigt aus der wässerigen Lösung gerbstoffartige Substanzen, mit denen die Glycoside als sogenannte Tannoide verbunden sind, so erhält man eine zur Weiterverarbeitung geeignete wässrige Lösung. Nach Sättigen mit Kochsalzlösung werden die freien Glycoside mit Methylalkohol-haltigem Chloroform oder Essigester durch Ausschütteln extrahiert, aus dem organischen Lösungsmittel in frisches Wasser übergeführt, und es hinterbleibt nach dem Eindampfen bei niedriger Temperatur im Vakuum, Aufnehmen in etwas Methylalkohol und Abdampfen des Lösungsmittels eine leicht pulverisierbare, helle Substanz. Das weiße bis leicht gelbliche ascherefreie Pulver besitzt bereits einen Wirkungswert von etwa 1200 Froschdosen (F. D. pro 1 mg). Es hatte in zahlreichen Darstellungen die gleiche Wirksamkeit und wurde als „*Scillaren Sandoz*“ vor etwa 12 Jahren in die Therapie eingeführt. Die Einzeldosis pro cm^3 Lösung, pro Tablette oder pro Ampulle (für die Injektion) beträgt je nach der Form 0,5—0,8 mg, was die starke Wirksamkeit des Präparates auch beim Menschen zeigt. Schon bei diesem Präparat wurde die hohe Empfindlichkeit gegen hydrolysierende Agentien beobachtet und ein zuckerfreies Spaltprodukt, nämlich das *Scillaridin A*, isoliert, von dem später die Rede sein soll.

Ein etwas abgeändertes Verfahren¹⁾ arbeitete rationeller. Durch dieses wurde die herzwirksame Substanz schon in Form ihres „Tannoids“ gereinigt, d. h. mit organischen Lösungsmitteln wie Essigester u. a. aus salzgesättigtem Wasser ausgeschüttelt und ein sehr hoch wirksames Präparat als sogenanntes „Reintannoid“ erhalten. Verwendete man zur Fällung der Gerbstoffe unlösliche Gerbstofffällungsmittel, so fiel die Nachbehandlung zur Entfernung von überschüssigen Bleisalzen weg und man erhielt sehr rasch eine blei- und gerbstofffreie Glycosid-lösung von hoher Reinheit. Aus ihr konnte durch Verdampfen des Lösungsmittels bei niedriger Temperatur im Vakuum ein ebenfalls sehr hellfarbiges und gleich hochwirksames Präparat erhalten werden.

Bei dem immerhin ziemlich lang dauernden Trocknen der fleischigen Meerzwiebelscheiben war eine Veränderung der empfindlichen herzwirksamen Substanzen noch möglich. Dem trug Dr. W. Kreis²⁾ Rechnung, wenn er in Fortentwicklung der schonenden

¹⁾ Schweiz. Pat. 105 412 (1924) u. a.

²⁾ Schweiz. Pat. 130 021 (1929); D. R. P. 511 794 (1930); U. S. A. Pat. 1 725 652 (1929).

Behandlung die Extraktion der Glycoside bei gleichzeitig weitgehender Abtrennung von Begleitstoffen gewissermassen auf die lebensfrische Meerzwiebelzellschubstanz übertrug¹⁾. Die Trocknung der Meerzwiebelscheiben fiel dadurch in Wegfall, der Zellsaft der Zwiebel wurde als wässrige Rohglycosidlösung aufgefasst. Durch Salzzusatz zu gemahlener frischer Meerzwiebelschubstanz erreichte man eine Coagulation der schleimigen Bestandteile und damit eine Erleichterung der Zerkleinerungsoperation, ferner wie sich später zeigte, eine Ausfällung hydrolytisch wirksamer Enzyme, wodurch diese unwirksam wurden. Gleichzeitig wurden in Analogie zu den vorherigen Verfahren die Herzglycoside in Tannoidform ausgesalzen und ihre Überführbarkeit in das mit Wasser nicht mischbare organische Lösungsmittel erleichtert; der so gewonnene Essigester-auszug der sogenannten Reintannoide war fast frei von Ballaststoffen. Fettartige Bestandteile, Phytosterine etc. konnten nach dem schonenden Eindampfen der Essigesterlösung im Vakuum durch Behandeln mit Äther, in dem die Tannoide unlöslich sind, beseitigt werden. Ein Salzzusatz zu frischer Meerzwiebel wie z. B. Ammoniumsulfat wirkt zugleich konservierend, so dass es nicht einmal nötig ist, die Zwiebel-Salzmasse sofort aufzuarbeiten. Man kann sie ohne Verlust abpressen, wobei nur sehr wenig der wirksamen Substanz in den Presssaft geht, trocknen und längere Zeit ohne Einbusse an Wirksamkeit aufbewahren. Getrocknete Meerzwiebelsalzmischung muss freilich vor der Extraktion mit Essigester wiederum angefeuchtet werden. Die Herstellung des Reinglycosidpräparates aus der Tannoidform bereitete keine Schwierigkeiten und geschieht in der oben angegebenen Weise.

Die Bezeichnung „Reinglycosid“ bedeutet, dass unsere so gewonnenen Meerzwiebelpräparate frei von Ballaststoffen sind und eine Wirksamkeit von etwa 1200 Froschdosen (F. D.) pro 1 mg besitzen. Sie stellen indessen ein Gemisch dar und es gelingt schon durch Auflösen des „Reinglycosids“ in wenig Methyl- oder Äthylalkohol und Zusatz von Wasser oder Äther einen grossen Teil des Präparates zur Krystallisation zu bringen. Durch wiederholtes

¹⁾ In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, dass auch das Verfahren zur Gewinnung empfindlicher Pflanzenalkaloide von A. Stoll (siehe z. B. D. R. P. 357 272 (1922), Naturwissenschaften 1923, S. 90; „Ein Gang durch biochemische Forschungsarbeiten“, Berlin 1933, S. 18 u. ff.) das Ausgangsmaterial, z. B. Mutterkorn, in lebendfrischem Zustand benützt. Der dort geübte Zusatz von Elektrolyten wie Aluminiumsulfat hat allerdings noch den besonderen Zweck, die Alkaloide zunächst an die Zellschubstanz zu fixieren, damit die löslichen nicht basischen Bestandteile alkaloidfrei aus der Droge herausgelöst werden können. Auch bei diesem Verfahren werden hierauf die Alkaloide (nach alkalischer Umstimmung der Zellschubstanz) fast frei von Begleitstoffen extrahiert. Die Hauptreinigung erfolgt vor der Extraktion. So wurde das Ergotamin erstmalig rein dargestellt und mit den gleichen Verfahren auch gezeigt, dass frische Tollkirschenblätter primär ihr Hauptalkaloid nicht in der Form des racemischen Atropins, sondern als l-Hyoscyamin enthalten.

Umkrystallisieren erhält man einen Stoff mit einer physiologischen Wirksamkeit von nur etwa 1000 F. D. Die schön krystallisierte, schwerer lösliche Fraktion haben wir mit „Scillaren A“ bezeichnet; sie konnte schliesslich in vollkommen einheitlicher Form gewonnen und eingehend untersucht werden. Ihre Beschreibung folgt im nächsten Abschnitt. Es gelang auch, den nicht krystallisierenden Anteil frei von Scillaren A zu erhalten. Diese Substanz, die wir mit Scillaren B bezeichneten, besteht nicht aus einem einzigen chemischen Individuum, wenn auch ihre Wirksamkeit bis zu 1600, in einzelnen Fraktionen sogar bis zu 2000 F. D. angestiegen war.

Äusserlich lassen sich die beiden Komponenten rasch dadurch voneinander unterscheiden, dass Scillaren A wie das A-reiche Gesamtglycosidpräparat bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion zunächst eine Rotfärbung aufweist, die bald über Blau zu einem beständigen Grün übergeht, während Scillaren B sogleich eine blaue Farbe aufweist, die bestehen bleibt.

Für eine rationelle präparative Darstellung von Scillaren A und Scillaren B ist es zweckmässig, die Fraktionierung und Komponenten-Trennung bereits mit dem „Reintannoid“ vorzunehmen, da die Löslichkeitsunterschiede der Tannoide grösser sind¹⁾. Das „Reintannoid“ wird mit kaltem Wasser verrieben bis die anfangs zähe Masse flockig geworden ist. Zur Suspension wird dann etwas gesättigte Kochsalzlösung gegeben und filtriert. Während im Rückstand hauptsächlich Scillaren A enthalten ist, das nach Entfernung der Gerbstoffe durch Umkrystallisation gereinigt werden kann, enthält die Lösung die leichter wasserlöslichen Anteile der Scillaglycoside, die wir unter dem Namen Scillaren B zusammenfassen, fast vollständig frei von der Komponente A.

3. Scillaren A.

Das noch rohe, wenn auch krystallinische Scillaren A, wovon im vorigen Abschnitt die Rede war, besitzt die Eigentümlichkeit, in heissem Methanol zunächst relativ leicht löslich zu sein (etwa 1 : 30). Mit steigender Reinheit sind für die Umkrystallisation immer grössere Mengen von heissem Holzgeist (zuletzt im Verhältnis 1 : 120) nötig, um Scillaren A in Lösung zu bringen. Besonders schöne Krystalle entstehen durch Auflösen des reinen Scillarens A in heissem 80-proz. Methylalkohol und Zusatz von warmem Wasser bis zu einem Endgehalt von 50%. Die bis 1 cm langen 6-seitigen Krystallblättchen (vgl. Fig. 1) enthalten 1 Mol. Methylalkohol und 1 Mol. Wasser. In lösungsmittelfreier Form krystallisiert Scillaren A nach Auflösen in der 20-fachen Menge 85-proz. Äthylalkohols nach dem Erwärmen auf dem Wasserbade aus.

¹⁾ Schweiz. Patent 134 217 und 142 364 und D. R. P. 486 770 (1929); U. S. A. Pat.-Anmeldg. 218 366 (1933).

Die Einheitlichkeit des Scillarens A wurde durch Verteilungsversuche zwischen Wasser und Essigester unter Zusatz von Methylalkohol, wie im experimentellen Teil ausführlich wiedergegeben ist, sichergestellt. Weitere Beweise dafür lieferten die Analysen und die quantitativen Ausbeuten an Aglycon und Zuckern bei der hydrolytischen Spaltung.

Bei der Analyse zeigte Scillaren A nach dem Trocknen im Hochvakuum einen durchschnittlichen Gehalt von 62,8% Kohlenstoff und 7,8% Wasserstoff. Mit diesen Werten stimmt die Zusammensetzung $C_{37}H_{54}O_{13}$ gut überein. Diese Formel wurde hauptsächlich durch die Spaltungsgleichung, die Bestimmung der glycosidisch gebundenen Zucker und die besonders gründlich durchgeführte Analyse und Molekulargewichtsbestimmung des unten beschriebenen Aglycons *Scillaridin A*, sowohl wie des Progenins, des Proscillaridins A bewiesen. Scillaren A ist linksdrehend und besitzt in 1- bis 3-proz. Lösung in 75-proz. Alkohol die mittlere spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -73,8^\circ$. Der Schmelzpunkt des krystalllösungsmittelfrei krystallisierten Scillarens A ist unscharf und liegt bei 270° (korr.). Aus wasserhaltigem Methylalkohol mit 1 Mol. Methylalkohol und 1 Mol. Wasser krystallisiertes Scillaren A schmilzt unter Gelbfärbung unscharf bei $230\text{--}240^\circ$ (korr.).

Der Hydrolyse mit 1-proz. Schwefelsäure in 50-proz. Methylalkohol unterworfen, zerfällt Scillaren A in das krystallisierende Aglycon Scillaridin A und ein neues Disaccharid, die Scillabiose, die bisher nicht krystallisiert werden konnte. Die Scillabiose besitzt den Drehwert $[\alpha]_D^{20} = -24,8^\circ$ und ist sehr schwer spaltbar. Erst bei 16-stündigem Erhitzen mit 1-proz. wässriger Schwefelsäure erfolgt Spaltung in Rhamnose und Glycose, die beide, wie im experimentellen Teil gezeigt wird, einwandfrei identifiziert werden konnten. Als krystallisiertes Derivat der neuen Biose wurde eine Hexacetylverbindung vom Smp. 97° (korr.) dargestellt.

4. *Scillaridin A*.

Bei der Spaltung: Scillaren A \rightarrow Scillaridin A + Rhamnose + Glycose, deren exakte Formulierung weiter unten gegeben wird, erhält man das Aglycon Scillaridin A in quantitativer Ausbeute (53% vom angewandten Scillaren A) und in krystallisierter, nahezu reiner Form. Es kann aus der 450-fachen Menge absoluten Alkohols umkrystallisiert werden und wird so in derben kleinen Prismen (vgl. Fig. 3) abgeschieden, die kein Krystalllösungsmittel gebunden enthalten und beim Erhitzen im Kapillarrohr unter Verfärbung von 205° an unscharf zwischen 245 und 250° (korr.) schmelzen. In 0,5- bis 1-proz. Lösung in einem Gemisch von Chloroform und Methylalkohol 4:1 besitzt Scillaridin A die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = -62,7^\circ$.

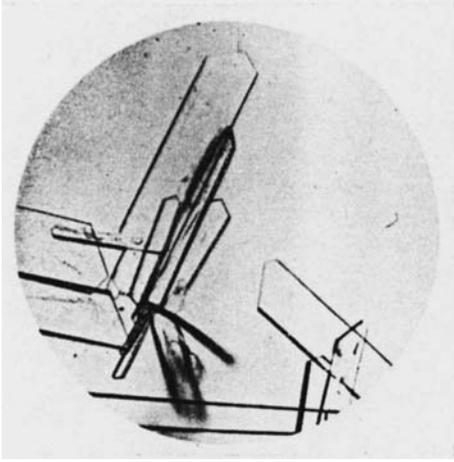


Fig. 1
Scillaren A
(aus 50-proz. Methylalkohol)



Fig. 2
Proscillaridin A
(aus Methylalkohol)

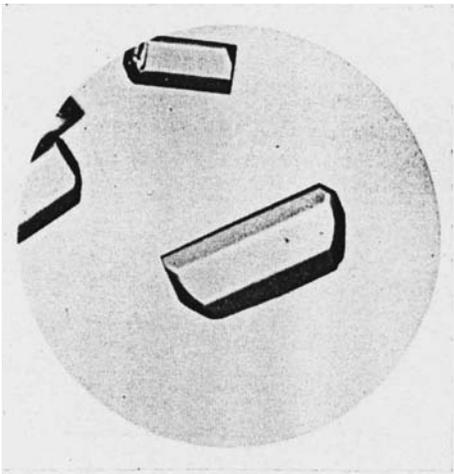


Fig. 3
Scillaridin A (aus absolutem Äthyl-
alkohol)

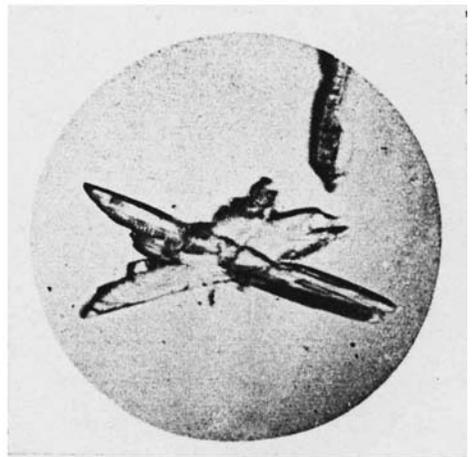
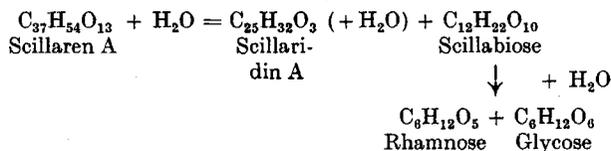


Fig. 4
Anhydroscillaridin A (aus absolutem
Äthylalkohol)

Besondere Gründlichkeit und daher auch vielfache Wiederholung der Elementaranalysen¹⁾ von Scillaridin A waren notwendig, weil unsere Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen auf eine Zusammensetzung des Scillaridins A von $C_{25}H_{32}O_3$ hinweisen. Dieser Befund weicht von den Aglyconformeln mit C_{23} aller bisher gut untersuchten Herzglycoside der Digitalis- und Strophanthusreihe um 2 C-Atome ab. Da die an verschiedenen Orten ausgeführten Analysen mit Präparaten verschiedener Herstellung stets mit der Bruttoformel $C_{25}H_{32}O_3$ übereinstimmten und die Analysen des Scillarens A auf die daraus abgeleitete Zusammensetzung $C_{37}H_{54}O_{13}$ passten, und da auch die später zu besprechenden Derivate Anhydroscillaridin A und namentlich auch Proscillaridin A keine Abweichung zeigten, nehmen wir an, dass die Formel mit 25 Kohlenstoffatomen für das Scillaridin A bewiesen ist. Das Aglycon des Herzgiftes der Meerzwiebel nimmt daher unter den bekannten herzaktiven Substanzen eine Sonderstellung ein, die durch weitere Unterschiede im konstitutionellen Bau (z. B. Zahl der Doppelbindungen) noch mehr betont ist. Die in den ersten Mitteilungen²⁾ über die Herzglycoside und in einigen Patenten angegebenen Formeln für Scillaren A: $C_{36}H_{52}O_{13}$ und für Scillaridin A: $C_{24}H_{30}O_3$ werden durch diese neueren Befunde abgeändert.

Die wichtigsten Ergebnisse unserer analytischen Bearbeitung von Scillaren A finden ihren kurz zusammengefassten Ausdruck in der folgenden Spaltungsgleichung:



Nach dieser Gleichung enthält allerdings das Scillaren A 1 Mol. Wasser mehr als ihm auf Grund der Formel von Scillaridin A zukommen würde. Die Annahme, dass bei der Verseifung 1 Mol. Wasser abgespalten wurde und Scillaridin A ein sekundäres Spaltprodukt sei, ist in Analogie zu den Befunden von *Cloetta*³⁾ beim Digitoxin und von *Windaus*⁴⁾ beim Digitalinum verum naheliegend. Die Spaltung des Scillarens A geht indessen unter verhältnismässig milden Hydrolysenbedingungen vor sich, und es konnte bisher in besonderen Versuchen kein wasserreicheres Aglycon nachgewiesen werden. An

¹⁾ Die Elementaranalysen wurden teils in unserem Laboratorium von Dr. E. Wiedemann, teils bei Dr. Schöller in Berlin ausgeführt. Für einige weitere Bestimmungen sind wir Herrn Prof. R. Kuhn in Heidelberg zu Dank verpflichtet.

²⁾ A. Stoll, E. Suter und W. Kreis, Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges. 1927, II, 132 und A. Stoll, Schweiz. Med. Woch.-Schr. 57, 1169 (1927).

³⁾ M. Cloetta, Arch. expt. Path. Pharmakol. 88, 113 (1920).

⁴⁾ A. Windaus, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math. Physik. Kl. 1927, 422.

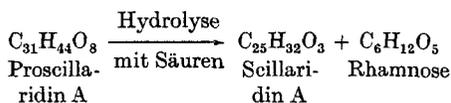
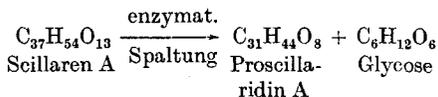
der Aufklärung der Frage, wo und wie die Molekel Wasser abgespalten wird, arbeiten wir noch. Als wichtiges konstitutionelles Merkmal sei erwähnt, dass Scillaridin A, wie auch Scillaren A einen Lactonring enthält, der sich mit Lauge öffnen und so titrieren lässt, wobei wie bei den Aglyconen der Digitalis eine tiefergreifende, konstitutionelle Veränderung eintritt.

5. *Proscillaridin A.*

Bei der Spaltung von Scillaren A mit Säure, wie sie in der oben angeführten Spaltungsgleichung zum Ausdruck kommt, greift die Hydrolyse zwischen Aglycon und Zuckerrest an und spaltet diesen auf einmal als Biose ab. Ganz anders verläuft eine von uns beobachtete enzymatische Hydrolyse; sie spaltet 1 Mol. Glycose, die doch in der Scillabiose so fest an Rhamnose gebunden ist, ab und lässt die gegen schwache Säure so empfindliche Bindung zwischen Rhamnose und Aglycon unberührt.

In einzelnen Versuchen zur Darstellung von Scillaren, die eigentlich dem Studium von oxydativen Fermentwirkungen dienen sollten, blieb das Extraktionsmittel (Essigester) vor dem Salzzusatz tagelang in Berührung mit der Meerzwiebelsubstanz, die sich unter Oxydasewirkung an einzelnen Stellen braun anfärbte. Bei der darauf folgenden Verarbeitung wurde ein besonders leicht krystallisierendes, farbloses Glycosid erhalten, das anfangs für Scillaren A gehalten wurde, sich aber dann als zuckerärmer bzw. aglyconreicher erwies. Diese Beobachtung führte zu der Annahme, dass in den Meerzwiebeln ein zuckerabspaltendes Enzym enthalten sei und es gelang, diese Vermutung zu bestätigen und zu zeigen, dass das enzymatische Abbauprodukt, welches wir als Proscillaridin A bezeichneten, 1 Mol. Glycose weniger enthält als Scillaren A. Die Spaltung mit dem Enzym, das wir Scillarenase nannten, gelang auch mit der Reinsubstanz Scillaren A, wobei krystallisierte Glycose gewonnen werden konnte und führte ebenfalls zum Proscillaridin A. Die spezifische Drehung des neuen Glycosids beträgt $[\alpha]_D^{20} = -82,6^\circ$ in 3- bis 5-proz. methylalkoholischer Lösung; es schmilzt bei 213° (Korr.) unter Gelbfärbung. Wie die Figur 2¹⁾ zeigt, krystallisiert Proscillaridin A aus Methylalkohol in prächtigen 4-6seitigen farblosen Tafeln, die 2 Mol. Krystallmethylalkohol enthalten. Proscillaridin A liefert schon bei gelinder saurer Hydrolyse glatt Scillaridin A und Rhamnose, die leicht krystallisiert erhalten werden kann. Die stufenweise Hydrolyse, erst durch Scillarenase, dann mit Säure, wird durch die nachfolgenden Gleichungen wiedergegeben:

¹⁾ In einer vorläufigen Mitteilung von A. Stoll, Schweiz. Med. Woch.schr. 57, 1169 (1927) wurde eine Krystallphotographie eines Präparates wiedergegeben, das irrtümlicherweise für Scillaren A gehalten wurde; es handelte sich dabei, wie wir später gefunden haben, um die schönen Krystalle von Proscillaridin A.



Aus diesen beiden Gleichungen kann man herauslesen, wie man arbeiten muss, um intaktes, d. h. genuines Scillaren zu erhalten. Säuren und höhere Temperaturen bei Gegenwart von Wasser sind der hydrolytischen Spaltung wegen zu vermeiden, und es ist von Anfang an darauf zu achten, dass hydrolytische Enzyme nach der Zerstörung der Zellstruktur ihre abbauende Wirkung auf die genuinen Glycoside nicht entfalten können¹⁾, sonst erhält man eben Präparate, die entweder Aglycon oder Progenin (Proscillaridin A) oder beides enthalten.

Eine ähnliche enzymatische Spaltung ist von *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*²⁾ bei Strophanthusglycosiden beobachtet worden. Diese Autoren konnten nachweisen, dass die Strophanthussamen ein Enzym enthalten, das sie Strophanthobiase nannten und das k-Strophanthin in Cymaridin und Glycose zu spalten vermag. Der Parallelismus der Enzymwirkung in der Strophanthusreihe und in unseren Versuchen an der Meerzwiebel besteht darin, dass in beiden Fällen die Enzyme Glycose, die an einen Desoxyzucker, bei k-Strophanthin Cymarose, bei Scillaren A Rhamnose, gebunden ist, abspalten.

Das weitere Studium der Enzymwirkung führte zur Darstellung eines aus den Zellen herausgenommenen Scilla-Enzympräparates, das in Wasser nicht löslich war, jedoch in Suspension die Untersuchung der für den Beweis der Enzymnatur wesentlichen Abhängigkeit der Abbaugeschwindigkeit von Temperatur und Wasserstoffionenkonzentration ermöglichte. Die Ergebnisse unserer Enzymversuche mit Scillarenase sollen gemeinsam mit ähnlichen Studien über den partiellen enzymatischen Abbau der Digitalisglycoside andernorts veröffentlicht werden.

6. Anhydroscillaridin A.

Beim Erhitzen im Hochvakuum auf 150—200° zersetzen sich Scillaren A, Proscillaridin A und Scillaridin A unter Abscheidung kleiner, farbloser, glitzernder Kryställchen an den kälteren Stellen des Destillationsgefäßes. Die analytische Untersuchung zeigte, dass

¹⁾ Das klassische Beispiel eines „enzymhindernden“ Isolierungsverfahrens unter Anwendung lebensfrischen, sehr enzymreichen Ausgangsmaterials bildet bekanntlich die Darstellung von Insulin aus Pankreas von *Banting* und *Best*.

²⁾ J. Biol. Chem. **69**, 153 (1926).

in den Krystallen ein Anhydroscillaridin A von der Zusammensetzung $C_{25}H_{30}O_2$ vorliegt, das also aus Scillaridin A durch Abspaltung von 1 Mol. Wasser unter Bildung einer Doppelbindung entstanden ist. Anhydroscillaridin A kann ferner aus Scillaridin A durch Behandlung mit Salzsäure in alkoholischer Lösung dargestellt werden¹⁾. Es krystallisiert aus absolutem Äthylalkohol in den in Figur 4 abgebildeten charakteristischen Formen.

Das Anhydroscillaridin A enthält nach dem Ergebnis der Lactontitration noch den Lactonring, jedoch zeigte die Analyse nach *Zerewitinoff* keine Hydroxylgruppe mehr an; die beiden noch vorhandenen Sauerstoffatome gehören zum Lactonring. Charakterisiert ist die Verbindung durch den Schmelzpunkt bei 208° (korr.) und die spezifische Drehung in 11,6-proz. Chloroformlösung $[\alpha]_D^{20} = -148,5^\circ$. Anhydroscillaridin A ist lichtempfindlich und färbt sich besonders in Lösung rasch gelb.

7. Konstitutionelle Fragen.

Versuche, noch andere Derivate und Abbauprodukte des Scillaridins A darzustellen, die es ermöglichen sollten, konstitutionelle Fragen zu lösen und den Zusammenhang zu den besonders von *Kilian*, *Jacobs* und *Windaus* eingehend untersuchten Herzgiften der *Strophanthus*- und *Digitalis*arten zu zeigen, sind im Gang. Wie oben bemerkt, verbraucht Scillaridin A bei der Titration mit Alkalien unter gewissen Bedingungen (siehe experimenteller Teil) 1 Mol. Lauge, was auf das Vorliegen eines Lactonringes hinweist und mit den Befunden bei den andern Aglyconen der Herzglycoside übereinstimmt. Zwei Sauerstoffatome sind auf diese Weise im Lactonring festgelegt. Eine Bestimmung der aktiven Wasserstoffatome nach *Zerewitinoff* ergab bei Scillaridin A 1 Mol. Methan, so dass das dritte Sauerstoffatom als Hydroxylgruppe nachgewiesen ist.

Als weitere, mehr vorläufige Resultate wären etwa folgende zu nennen:

Eine Acylierung des Scillaridins A ist bisher trotz entsprechenden Versuchen unter verschiedenen Bedingungen nicht gelungen. Hingegen konnte durch Einwirkung von Natriummethylat oder Dimethylsulfat eine Monomethylverbindung dargestellt werden, die jedoch bei der Verseifung kein Scillaridin A zurücklieferte. Dieses Verhalten ist in Analogie zu entsprechenden Beobachtungen von *Windaus* und *Jacobs* am *Strophanthidin*²⁾, die Isomerisierung beim Verseifen gezeigt hatten, zu erwarten. Die Methylverbindung und ihr Verseifungsprodukt zeigten nicht mehr die schöne rote und

¹⁾ Vgl. auch die Darstellung von Anhydrodigitoxigenin aus Digitoxigenin durch *M. Cloetta*, Arch. exp. Path. Pharmacol. **88**, 113 (1920).

²⁾ *A. Windaus* und *L. Hermanns*, B. **48**, 979 (1915), und *W. A. Jacobs* und *M. Heidelberg*, J. Biol. Chem. **54**, 253 (1922).

grüne Färbung bei der *Liebermann'schen* Farbreaktion wie Scillaren A und Scillaridin A, sondern eine bräunliche Missfarbe.

Hydrierungs- und Halogenisierungsversuche wiesen auf das Vorliegen von 3 bis 4 Doppelbindungen im Scillaridin A hin, woraus sich gleichzeitig 4 bis 5 Kohlenstoffringe berechnen lassen. Wir wollen jedoch diese Versuche gemeinsam mit Angaben über die Oxydation, Methylierung und Isomerisierung des Scillaridins A einer späteren Mitteilung, wo wir auch das dazugehörige experimentelle Material bringen werden, vorbehalten.

8. Scillaren B.

Während die Komponente A der Scillaglycoside wie vorstehend beschrieben, rein und krystallisiert dargestellt und analytisch und präparativ untersucht werden konnte, ist es bisher noch nicht gelungen, das Gemisch der übrigen Glycoside, das wir auf S. 713 unter dem Namen Scillaren B zusammenfassten, aufzulösen. Auch im Scillaren B liegen Glycoside vor, die bei der hydrolytischen Spaltung in Aglycone und Zucker zerfallen. Bei der Hydrolyse trat jedoch weitgehende Verharzung des Aglyconteiles ein, so dass nur eine sehr geringe Menge als krystallisierte Substanz gewonnen werden konnte. Analyse und Molekulargewichtsbestimmung der gereinigten, aber nicht mit Sicherheit als einheitlich erkannten Krystalle wiesen auf die früher publizierte¹⁾ Zusammensetzung $C_{15}H_{18}O_3$ für ein Scillaridin B hin, doch darf diese Formel auch in Anbetracht ihrer geringen Verwandtschaft mit den Formeln des Scillaridins A und der übrigen Aglycone der Herzglycoside nicht als endgültig betrachtet werden.

Die Nichteinheitlichkeit des Scillarens B wird bewiesen durch die Gewinnung von Fraktionen mit verschiedenen Eigenschaften, besonders mit Unterschieden im optischen Drehvermögen und durch die Unmöglichkeit, aus den analytischen Bestimmungen der qualitativ nachgewiesenen Zucker, Rhamnose und Glycose, einfache molekulare Verhältnisse abzuleiten.

Bei der relativen Leichtlöslichkeit von Scillaren B in Wasser ist dessen hohe physiologische Wirksamkeit von 1600—2000 F. D. pro mg (nach *Houghton-Straub*²⁾) je nach Fraktionen überraschend, nahm man doch von den Digitalisglycosiden bisher an, dass die in Wasser schwer löslichen, wie Digitoxin, die wirksamsten seien. Es ist indessen wohl möglich, dass die an und für sich schwer löslichen, in Scillaren B zusammengemischten verschiedenartigen Stoffe durch gegenseitige Beeinflussung die gute Wasserlöslichkeit und durch Synergismus in der Wirkung eine so hohe Toxicität

¹⁾ A. Stoll, E. Suter und W. Kreis, Verh. Schweiz. Naturf. Ges. 1927, II. T., 132; A. Stoll, Schweiz. Med. Woch.schr. 57, 1169 (1927).

²⁾ E. Rothlin, unveröffentlichte Privatmitteilung.

zustande bringen. Es wird daher eine lohnende Aufgabe sein, Scillaren B genauer zu erforschen. Wir werden die Untersuchung dieses Teilproblems im Rahmen weiterer Arbeiten über die Glycoside der Meerzwiebel fortsetzen.

Experimenteller Teil.

Isolierung des reinen Glycosidgesamtpräparates.

Im folgenden geben wir zwei Beispiele, die zeigen, wie wir am Anfang und in einem viel späteren Stadium unserer Arbeit ballastfreie Glycosidpräparate herstellten. Der erste Verfahrenstyp lehnt sich noch an die Gewinnung von Digitalisglycosiden an, freilich in den besonderen Verhältnissen der Meerzwiebel angepasster Form und unter Verwendung von frischem Ausgangsmaterial, das indessen vor der Verarbeitung noch getrocknet wurde. Die spätere Arbeitsweise, wie sie im zweiten Verfahren beschrieben wird, geht direkt von frischer Meerzwiebel aus und vollzieht Extraktion und gleichzeitig Abtrennung fast der ganzen Menge von Begleitstoffen bei Gegenwart der frischen Meerzwiebelsubstanz. Im ersten Verfahren arbeiteten wir noch ohne Kenntnis der Anwesenheit eines hydrolytischen Enzyms, so dass die damit hergestellten Glycosidpräparate sicher eine teilweise enzymatische Hydrolyse (Abspaltung von Glycose) erlitten hatten. Das neuere zweite Verfahren verhindert die Enzymwirkung vollständig und erfasst die Gesamtheit der Scillaglycoside in ihrer genuinen Form.

Ursprüngliches Verfahren: 8 kg frische Meerzwiebeln werden sorgfältig in feine Scheiben geschnitten, auf Siebe verteilt und in einem Trockenschrank einem ca. 40° warmen Luftstrom ausgesetzt. Die getrockneten Schnitzel (ca. 1 kg) werden fein pulverisiert und mit 5 Liter 95 Vol.-proz. Alkohol in der Kälte rasch extrahiert. Die Verwendung hochprozentigen Alkohols ist wesentlich, da wässriger Alkohol bedeutend mehr Begleitstoffe aufnimmt.

Der im Vakuum unterhalb 35° zur Trockne eingeengte alkoholische Extrakt (ca. 50 g) wird in 2,5 Liter Wasser gelöst. Die Lösung versetzt man mit 50 cm³ käuflicher doppelt basischer Bleiacetatlösung vom spez. Gew. 1,56—1,62, filtriert und wäscht den Niederschlag mit 1 Liter Wasser aus. Das Filtrat wird mit ca. 50 cm³ einer lauwarmen, 30-gewichtsproz. Dinatriumphosphatlösung entbleit. Man filtriert wiederum und wäscht die Fällung mit 1 Liter Wasser aus; das gesammelte Filtrat, das man mit etwas Soda neutral hält, engt man im Vakuum unterhalb 30° auf 250 cm³ ein und fügt Kochsalz bis zur Sättigung hinzu. Unter dessen aussalzender Wirkung wird nun das Glycosid mit 2 Liter Chloroform, das 10% Methylalkohol enthält, ausgeschüttelt. Die Chloroformmethylalkohollösung

trocknet man mit wasserfreiem Natriumsulfat, filtriert und führt aus dem Filtrat durch zweimaliges Schütteln mit je 250 cm³ Wasser das Glycosid von neuem in wässrige Lösung über. Die ausgeschüttelte Chloroformlösung wird durch Zusatz von Chloroform und Methylalkohol auf zwei Liter mit 10% Methylalkohol versetztes Chloroform ergänzt und für eine weitere Ausschüttlung der kochsalzhaltigen wässrigen Glycosidlösung verwendet usw. Nach siebenmaligem Ausschütteln mit je 2 Liter Chloroform-Methylalkoholgemisch ist die Lösung frei von wirksamem Glycosid. Die vereinigten wässrigen Ausschüttlungen (3,5 Liter) werden im Vakuum unterhalb 30° zur Trockne eingengt. Um die Substanz zu sammeln und leichter zu trocknen, nimmt man den Rückstand in wenig Methylalkohol auf, destilliert das Lösungsmittel wieder ab und trocknet das Glycosid im Exsikkator.

Das so dargestellte Gemisch der reinen Glycoside der Meerzwiebel ist ein weisses bis schwach gelbliches, aschefreies Pulver, das *Fehling'sche* Lösung nicht reduziert und eine physiologische Wirkung von 1200 Froschdosen (F. D.) pro mg (nach *Houghton-Straub*) besitzt.

Neues Verfahren: 2 kg frische Meerzwiebeln werden nach Entfernung der häutigen äusseren Schalen in grobe Stücke geschnitten und dann gemeinsam mit 1,6 kg Ammonium-sulfat energisch zerstampft, um rasch eine innige Mischung zu erreichen. Der so erhaltene dicke Brei wird durch Coliertücher abgepresst und der feste Rückstand noch feiner zerstampft.

Die abgetrennte salzige Lösung enthält nur etwa 5% der in der Meerzwiebel ursprünglich enthaltenen Glycoside, die zweckmässig vernachlässigt werden, aber durch Ausschütteln mit Essigester und Filtrieren der Emulsion durch Talk und Aufarbeiten der Essigesterlösung wie unten angegeben, ebenfalls gewonnen werden können.

Das fein zerriebene Zwiebel-Salzgemenge wird zur Vermeidung von Schwierigkeiten beim späteren Filtrieren zum Schluss hydraulisch abgepresst und hierauf in einer Rührapparatur 12 Stunden lang mit 6 Liter Essigester behandelt. Dann wird filtriert und mit 1 Liter Essigester nachgewaschen. Im Filtrat sind etwa $\frac{2}{3}$ des gesamten Glycosidgehalts enthalten. Zur erschöpfenden Extraktion der Glycoside muss die Meerzwiebelsubstanz noch 2—4 mal mit je 6 Liter Essigester nachbehandelt werden, da die letzten Reste sehr schwer extrahierbar sind.

Die vereinigten Essigesterlösungen werden mittels Filtration durch Talk geklärt und im Vakuum bei 25—30° zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit trockenem Äther angerührt, filtriert und so lange mit Äther nachbehandelt, als dieser noch Verunreinigungen aufnimmt. Nach der Reinigung mit Äther enthält das Pulver bisweilen noch geringe Mengen Ammoniumsulfat, die durch Lösen des Glycosids in absolutem Alkohol, Filtration

und Eindampfen der Glycosidlösung entfernt werden können. Das in einer Ausbeute von 1—10 g erhaltene, je nach der Abart der Scilla gelbliche bis rötliche Produkt ist eine Verbindung der Glycoside mit Gerbstoffen, die wir als „Scilla-Reintannoid“ bezeichnen.

Zur Entfernung der Gerbstoffe werden z. B. 4 g dieses „Reintannoids“ in 1 Liter 50-proz. Äthyl- oder Methylalkohols gelöst und 30 g frisch dargestelltes, alkalifrei gewaschenes und scharf abgepresstes, aber noch feuchtes Bleihydroxyd zugegeben und das gleichmässig suspendierte Gemisch 1—2 Stunden gerührt. Dann wird filtriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand (etwa 3 g) ist wie bei der ersten Darstellungsvorschrift das ballastfreie Gemisch der Meerzwiebelglycoside. Die Produkte aus beiden Verfahren liessen keine Unterschiede erkennen und zeigten den gleichen physiologischen Wirkungswert (1 mg = 1200 F. D.).

Darstellung von Scillaren A aus dem Gemisch der Reinglycoside.

30 g natürliches Reinglycosidgemisch, wie es nach den vorstehenden Vorschriften erhalten wird, werden in 200 cm³ Methanol gelöst, worauf man in diese Lösung 1 Liter Wasser unter Rühren einträgt. Hierbei fällt die Hauptmenge der schwerlöslichen Komponente A als weisser Niederschlag aus, der sich beim Abtreiben des Methanols im Vakuum bei niederer Temperatur noch vermehrt, während Scillaren B in der wässrigen Lösung bleibt. Die Ausscheidung wird abgenutscht und scharf abgepresst. Für die Krystallisation löst man das noch feuchte Präparat in 50 cm³ Methylalkohol, woraus es sich sehr bald wieder krystallinisch ausscheidet, ein Zeichen für die hohe Reinheit des Ausgangspräparates. Tritt die Krystallisation auch nach einigem Stehen im Eisschrank nicht ein, was bei weniger gutem Ausgangsmaterial der Fall sein kann, so wird die konzentrierte methylalkoholische Lösung nochmals in etwa die fünffache Menge Wasser gegossen, einige Zeit in der Kälte stehen gelassen, abfiltriert und wie oben mit wenig Methylalkohol zur Krystallisation angesetzt, die in der Regel bald beginnt und durch Kratzen oder Impfen beschleunigt werden kann. Stehen im Eisschrank vervollständigt die Krystallisation des Scillarens A, das durch weitere Umkrystallisationen aus Methylalkohol bis zur Einheitlichkeit gereinigt werden kann.

Das, wie oben erwähnt, in der wässrigen Lösung enthaltene Glycosidgemisch Scillaren B kann, wenn auch nur in langwierigen Operationen, von Scillaren A befreit werden. Es ist jedoch zweckmässiger, die Trennung nach dem folgenden Verfahren mit den „Reintannoiden“ vorzunehmen.

*Trennung der Glycosidkomponenten in Form ihrer „Reintannoide“.
Scillaren B.*

40 g der nach dem neuen Verfahren (S. 721) dargestellten Meerzwiebel-, „Reintannoide“ werden in einer Reibschale mit wenig Wasser zunächst zu einem homogenen Brei verrieben und dieser unter weiterer Wasserzugabe und Reiben verdünnt, bis die schwerlösliche Komponente A flockig ausfällt. Sich bildende Klumpen werden durch Kneten mit etwas Wasser ebenfalls in den körnigen Zustand übergeführt. Im ganzen wird ein Liter Wasser verwendet. Durch Zusatz von 25 cm³ einer gesättigten Kochsalzlösung wird die Ausscheidung der Komponente A vervollständigt, die man nach kurzem Stehen abfiltriert und trocknet.

Die Entfernung der Gerbstoffe wird nach den Angaben bei der Darstellung der Gesamtglycoside (S. 721) vorgenommen. Das erhaltene Glycosid besteht zu etwa zwei Dritteln aus Scillaren A, das durch Umlösen aus Wasser und Umkrystallisieren aus Methylalkohol, wie oben angegeben, rein erhalten wird. Das restliche Drittel besteht aus einem Gemisch von Scillaren A und in Wasser verhältnismässig schwer löslichen Anteilen von Scillaren B, deren Trennung ausserordentlich schwierig ist und hier nicht besprochen werden soll.

Die nach dem Abtrennen der Tannoidkomponente A erhaltene wässrige Lösung des Scillaren B-Gemisches reagiert zumeist schwach sauer und wird nach vorsichtiger Neutralisation z. B. durch verdünnte Natronlauge mit kleinen Portionen eines unlöslichen Gerbstofffällungsmittels wie Bleihydroxyd so oft geschüttelt, bis letzteres weiss bleibt. Aus der zuletzt abfiltrierten Lösung entfernt man geringe Mengen Verunreinigungen saurer Natur durch Ansäuern mit 1 cm³ 2-n. H₂SO₄ pro Liter und wiederholtes Ausschütteln mit Chloroform und dampft die wieder neutral gemachte wässrige Lösung der Glycoside B nun im Vakuum sorgfältig zur Trockne ein. Absoluter Alkohol löst aus dem Rückstand das Scillaren B in ballast- und Scillaren A-freier Form heraus. Nach dem Verjagen des Lösungsmittels hinterbleibt Scillaren B als weisses Pulver.

Scillaren B konnte durch Trennungsoperationen in verschiedenartige Fraktionen zerlegt und so als Gemisch erkannt werden, doch gelang bisher in keinem Falle eine Krystallisation. Im Gegensatz zu Scillaren A ist es in Wasser und in den Alkoholen leicht löslich. In Chloroform, Äther und Essigester ist Scillaren B schwer löslich, aber auch hierin leichter als die Komponente A. Im Gegensatz zu dem linksdrehenden Scillaren A dreht das Glycosidgemisch B die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts. Scillaren B scheint gegen hydrolytische Spaltung zwischen Zuckerrest und Aglycon beständiger zu sein, denn verdünnte Mineralsäuren verseifen es unter den Bedingungen, wie sie für Scillaren A angegeben sind, viel langsamer.

Durch diese Hydrolyse konnte in sehr geringer Ausbeute ein krystallisierendes Aglycon vom Schmelzpunkt 228—229° (korr.) nach Sintern bei 225° (korr.) gewonnen werden, dessen Analysen 73,1% Kohlenstoff und 7,4% Wasserstoff im Durchschnitt ergaben. Der bei der Molekulargewichtsbestimmung in Phenol gefundene auffallend niedrige Wert (Mol.-Gew. gef.: 244), der für eine Formel $C_{15}H_{18}O_3$ sprechen würde, muss nachgeprüft werden, da Fehlerquellen, wie Krystallwassergehalt der Substanz oder Abspaltung von Wasser in Phenol nicht ausgeschlossen sind.

Die Liebermann'sche Farbreaktion der Meerzwiebelsubstanzen.

Ungefähr 1 mg Substanz wird im Reagensglas in ein paar Tropfen Eisessig gelöst und dann 3 cm³ einer Mischung von 50 Teilen Essigsäure-anhydrid und 1 Teil konz. Schwefelsäure zugegeben. Scillaren A, Proscillaridin A, Scillaridin A und Anhydroscillaridin A zeigen eine rasch vorübergehende karminrote, dann eine andauernde grüne Farbe der Lösung, während das Scillaren B ohne anfängliche rote Phase eine längere Zeit beständige, reinblaue Färbung gibt.

Reinigung, Krystallisation und Beschreibung von Scillaren A.

Das aus dem schwerlöslichen Anteil des „Reintannoides“ erhaltliche Glycosid A kann entweder, wie dort beschrieben, durch Umfällen aus Methylalkohol mit Wasser und Krystallisation aus Methylalkohol in den krystallinen Zustand übergeführt werden, oder man schlämmt zur weiteren Reinigung das rohe Glycosid A in der 5-fachen Menge absoluten Alkohols auf, wobei fast vollständige Lösung eintritt. Beim Stehen scheidet sich aus der gelben Mutterlauge das Glycosid als schon fast weisse Substanz aus, die aber noch bis zu 6 mal aus Methanol umkrystallisiert wird. Je nach dem Reinheitsgrad löst sich Scillaren A in der 30- bis 120-fachen Menge heissen Methylalkohols. Ist die Substanz rein weiss und die grösste Schwerlöslichkeit in Methanol erreicht, so löst man in der 80-fachen Menge heissem 80-proz. Methylalkohol und verdünnt mit soviel warmem Wasser, dass die Lösung 50% Methylalkohol enthält. Beim Erkalten krystallisiert dann das Scillaren A in prächtigen, zu Büscheln vereinigten, bis 1 cm langen Krystallen aus, die aus flachen sechsseitigen Tafeln bestehen, deren Habitus aus Fig. 1 ersichtlich ist.

Die so dargestellten Krystalle schmelzen unscharf bei 230—240° (korr.) und enthalten 1 Mol. Methylalkohol und 1 Mol. Wasser fest gebunden. Zur Überführung in eine krystalllösungsmittelfreie Form wird Scillaren A in der 20-fachen Menge 85-proz. Alkohol durch Erwärmen auf dem Dampfbad gelöst und dann weiter erwärmt, bis nach ungefähr 5 Minuten die viel schwerer lösliche, alkohol- und wasserfreie Modifikation in feinen Nadelchen auszukrystallisieren beginnt. So krystallisiertes Scillaren A schmilzt im Kapil-

larrohr unter Gelbfärbung unscharf bei 270° (korr.). Für die Elementaranalyse wurde das Scillaren A bei 100° im Hochvakuum getrocknet. Die aus 50-proz. Methylalkohol krystallisierte Substanz ist nach dem Trocknen hygroskopisch und muss unter Feuchtigkeitsausschluss eingewogen werden. Das aus 85-proz. Alkohol ohne gebundenes Lösungsmittel krystallisierte Scillaren A ist hingegen nicht hygroskopisch und gab bei der Analyse folgende Werte:

I. 4,145 und 3,397 mg Subst. gaben 9,500 und 7,847 mg CO₂ und 2,870 und 2,390 mg H₂O.

Ein hygroskopisches Präparat wurde unter Feuchtigkeitsausschluss analysiert:

II. 3,328 und 3,710 mg Subst. gaben 7,485 und 8,510 mg CO₂ und 2,335 und 2,590 mg H₂O.

C ₃₇ H ₅₄ O ₁₃	Ber. C 62,86	H 7,70%
	Gef. I „ 62,50; 63,02	„ 7,75; 7,87%
	II „ 63,06; 62,58	„ 8,07; 7,81%

Polarisation: 0,4328 (I) und 0,719 (II) g Subst. getrennter Darstellung gelöst in je 25 cm³ 75-proz. Alkohol drehten bei 20° im 2 dm-Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes um 2,54° und 4,26° nach links.

$$I [\alpha]_D^{20} = -73,4^{\circ} \quad II [\alpha]_D^{20} = -74,1^{\circ}$$

Die Löslichkeit von Scillaren A, ausgedrückt in g gelöster Substanz pro 100 cm³ Lösung beträgt bei 20°:

in absol. Alkohol	0,08
„ 75-proz. „	1,60
„ absol. Methylalkohol	0,50
„ 80-proz. „ „	0,36

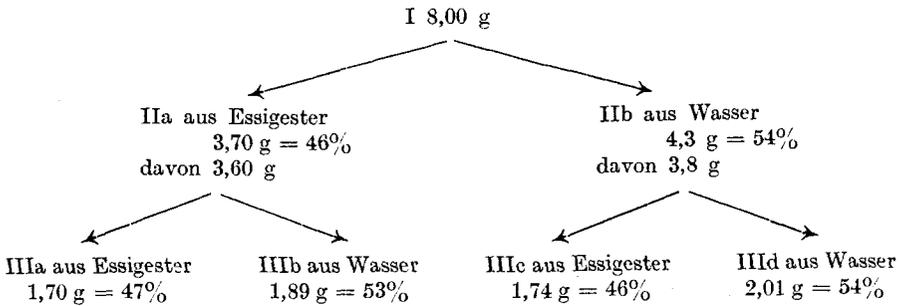
Scillaren A ist sehr schwer löslich in Wasser und fast unlöslich in Chloroform, Essigester und Äther.

Lactontitration: 0,500 g krystall-lösungsmittelfreies Scillaren A wurden in 40 cm³ 75-proz. Alkohol heiss gelöst und nach raschem Abkühlen 15,0 cm³ 0,1-n. NaOH zugesetzt. Nach 20 Stunden wurde das überschüssige Alkali mit 0,1-n. HCl gegen Phenolphthalein zurücktitriert. Verbraucht waren 7,4 cm³ 0,1-n. NaOH.

C ₃₇ H ₅₄ O ₁₃	Ber. Äquiv.-Gew. 706
Gef. „ „	676

Prüfung des Scillarens A auf Einheitlichkeit.

8,00 g Scillaren A wurden in 1200 cm³ 80-proz. Methylalkohol gelöst und im Scheidetrichter mit 1,6 Liter Wasser und 3 Liter Essigester 1 Minute lang durchgeschüttelt. Sobald sich zwei Schichten gebildet hatten, wurden diese rasch getrennt, um eine Auskrystallisation von Scillaren A zu vermeiden. Durch Eindampfen der Lösungen im Vakuum wurde ihr Gehalt an Substanz ermittelt. Beide Fraktionen wurden nochmals mit den entsprechenden Mengen der gleichen Lösungsmittel fraktioniert. Das Ergebnis der Fraktionierung zeigt folgendes Schema:



Die Konstanz des Verteilungskoeffizienten und die Tatsache, dass die beiden Endfraktionen IIIa und IIId dieselben Eigenschaften, nämlich diejenigen des unveränderten Scillarens A besaßen, beweisen dessen Einheitlichkeit.

Quantitative Hydrolyse von Scillaren A mit Säure.

1,314 g trockenes Scillaren A wurden in 66 cm³ heissem Methylalkohol gelöst und 66 cm³ warme 2-proz. Schwefelsäure hinzugefügt. Die Lösung wurde eine Viertelstunde auf dem Dampfbad am Rückflusskühler gekocht. Nach Beginn des Siedens begann die Abscheidung des Aglucons in glitzernden Kryställchen. Der Rückflusskühler wurde nun entfernt und das offene Gefäß während 2 Stunden auf dem Dampfbad weiter erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Kolbeninhalt durch ein vorher gewogenes Filter gegossen, mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion nachgewaschen und das zurückbleibende Scillaridin A nach dem Trocknen im Filter gewogen. Ausbeute: 0,698 g.

Das Filtrat wurde soweit eingedampft, bis eine Schwefelsäurekonzentration von 1% erreicht war und die Lösung dann zur vollständigen Spaltung des Disaccharids 15 Stunden auf dem Dampfbad unter Beibehaltung des Volumens erhitzt. Nach dem Abkühlen und Neutralisieren wurde die Menge der Monosaccharide nach der Reduktionsmethode von *Fehling-Lehmann-Schoorl* bestimmt. Parallelversuche mit einem Gemisch von Scillaridin A, Rhamnose und Glycose unter gleichen Bedingungen ergaben für die Zuckerbestimmung einen Korrekturfaktor 1,025, der berücksichtigt wurde. Ausbeute an Zuckern: 0,636 g.

I. 1,314 g Scillaren A gaben 0,698 g Scillaridin A und 0,636 g Rhamnose + Glycose.

II. Bei einem weiteren in gleicher Weise, aber mit entsprechend reduzierter Menge der Lösungsmittel durchgeführten Versuche gaben 0,1527 g Scillaren A 0,080 g Scillaridin A und 0,074 g Rhamnose + Glycose.

Nach der Spaltungsgleichung

	Scillaren A = Scillaridin A + Glycose + Rhamnose			
Ber.	53,8%	Scillaridin A und	48,7%	Glycose + Rhamnose
Gef. I.	52,9%	„ „ „	48,3%	„ + „
II.	52,5%	„ „ „	48,5%	„ + „

Scillaridin A.

Die Hydrolyse von Scillaren A kann zur präparativen Darstellung des Scillaridins A in gleicher Weise wie bei der quantitativen Spaltung ausgeführt werden. Das rohe Scillaridin A wird aus der 450-fachen Menge heissen absoluten Alkohols umkrystallisiert und so in stark lichtbrechenden einseitig abgerundeten kurzen Prismen erhalten, die in Fig. 3 wiedergegeben sind. Die Krystalle zeigen nach dem Trocknen über Calciumchlorid im Hochvakuum bei 78° keine Gewichtsabnahme und enthalten daher kein Lösungsmittel gebunden.

Scillaridin A färbt sich im Kapillarrohr beim Erhitzen von 205° (korr.) an gelb und schmilzt dann unscharf zwischen 245° und 250° (korr.). Die Löslichkeit von Scillaridin A beträgt bei Zimmertemperatur in 100 cm³ absolutem Alkohol 0,045 g, in Chloroform 0,56 g. Praktisch unlöslich ist die Substanz in Äther und in Wasser.

Polarisation: I. 0,2275 g Scillaridin A gelöst in 25 cm³ eines Gemisches von Chloroform und Methylalkohol im Verhältnis 4:1 drehten bei 20° im 2 dm-Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes um 1,14° nach links.

II. 0,1952 g eines Präparats getrennter Darstellung zeigten in 25 cm³ des gleichen Lösungsmittels im 1 dm-Rohr die Drehung -0,49°.

$$\text{I } [\alpha]_D^{20} = -62,6^\circ \qquad \text{II } [\alpha]_D^{20} = -62,8^\circ$$

Zur Analyse wurde Scillaridin A im Hochvakuum bei 78° getrocknet.

Analysen unseres Laboratoriums:

I. 3,835 und 3,445 mg Subst. gaben 11,095 und 9,975 mg CO₂ und 2,885 und 2,655 mg H₂O.

Analysen des Instituts von Prof. *Kuhn* in Heidelberg:

II. 4,255 und 3,941 mg Subst. gaben 12,31 und 10,41 mg CO₂ und 3,185 und 3,005 mg H₂O.

Analysen von Dr. *Schöller*, Berlin:

III. 4,879, 5,080 und 4,880 mg Subst. gaben 14,110, 14,660 und 14,125 mg CO₂ und 3,670, 3,780 und 3,600 mg H₂O.

C ₂₅ H ₃₂ O ₃	Ber.	C 78,90	H 8,48%
	Gef.	I. „ 78,93; 78,99	„ 8,42; 8,62%
		II. „ 78,89; 78,96	„ 8,38; 8,53%
		III. „ 78,91; 78,74; 78,97	„ 8,42; 8,33; 8,26%

Arithmetisches Mittel aus diesen 7 Bestimmungen 78,91% C und 8,42% H.

I. 0,641 g Subst. gaben in 20,9 g Phenol eine Gefrierpunktserniedrigung = 0,58°

II. 14,0 mg Subst. zeigten in 150 mg Campher nach der Methode von *Rast* eine Schmelzpunktserniedrigung von 10,0°.

C ₂₅ H ₃₂ O ₃	Ber.	Mol.-Gew. 380
	Gef.	„ „ I. 370, II. 373

Zur Bestimmung des aktiven Wasserstoffs nach *Tschugaeff-Zerewitinoff* durch Dr. *H. Roth* in Heidelberg wurde Scillaridin A feinst pulverisiert und dann 4 Stunden lang bei 100° im Hochvakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet. 13,860 und 15,590 mg

Subst. gaben gelöst in heissem Anisol bei einer Reaktionstemperatur von 95° 0,79 und 0,97 cm³ CH₄ (Red. auf 0° und 760 mm Hg).

C₂₅H₃₂O₃ mit 1 Hydroxylgruppe Ber. OH 4,46%
Gef. „ 4,33; 4,73%

Lactontitration: I. 0,100 g Scillaridin A wurden in 50 cm³ Alkohol heiss gelöst und nach raschem Abkühlen 5,0 cm³ 0,1-n. NaOH zugesetzt. Nach 24 Stunden wurde das überschüssige Alkali mit 0,1-n. HCl gegen Phenolphthalein zurücktitriert. Verbraucht waren 2,65 cm³ 0,1-n. NaOH.

II. In einem zweiten Versuch verbrauchten 0,100 g Scillaridin 2,60 cm³ 0,1-n. NaOH.

C₂₅H₃₂O₃ Ber. Äquiv.-Gew. 380
Gef. „ „ I.: 377, II.: 384

Darstellung und Untersuchung der Scillabiose.

4,0 g Scillaren A wurden in 160 cm³ warmem Methylalkohol gelöst, 160 cm³ warme 2-proz. Schwefelsäure hinzugefügt und das Gemisch auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Nach einer halben Stunde wurde abgekühlt, das ausgeschiedene Scillaridin abfiltriert und das Filtrat durch Einengen im Vakuum von Methylalkohol befreit, wobei sich noch eine kleine Menge Scillaridin ausschied. Die filtrierte Lösung wurde durch dreimaliges Ausschütteln mit je 50 cm³ Chloroform von den letzten Resten gelösten Aglycons befreit, dann mit einem Überschuss von Bariumcarbonat neutralisiert und das Ganze im Vakuum zur Trockne eingedampft. Aus dem Trockenrückstand konnten mit Wasser 1,9 g Zucker herausgelöst werden, der nach neuerlichem Eindampfen als spröde weisse Masse zurückblieb. Krystallisationsversuche der Scillabiose waren erfolglos. An der Luft wird die Substanz feucht und zähflüssig.

Inversion der Scillabiose: 0,83 g Substanz gelöst in 25 cm³ Wasser drehten die Ebene des polarisierten Lichtes im 2 dm-Rohr um 1,64° nach links. $[\alpha]_D^{20} = -24,8^\circ$. Die Lösung wurde dann mit 25 cm³ 2-proz. Schwefelsäure verdünnt und zur Spaltung der Biose auf dem Dampfbad erwärmt, wobei die Änderung des optischen Drehvermögens verfolgt wurde. Nach 16 Stunden veränderte sich die Drehung nicht weiter. Die Ablesung im 2 dm-Rohr betrug dann + 1,98°, woraus sich $[\alpha]_D^{20} = +29,8^\circ$ berechnet, was dem arithmetischen Mittel aus den spezifischen Drehwerten von d-Glycose und Rhamnose entspricht.

Nachweis der d-Glycose: Das invertierte Zuckergemisch wurde mit Phenylhydrazin umgesetzt und durch mehrmaliges Umkrystallisieren des Reaktionsproduktes eine kleine Menge eines Osazons vom Smp. 106° (korr.) erhalten, das mit d-Glycose-phenylosazon identisch war. Ferner wurden 2 g des invertierten Zuckergemisches nach *Gans* und *Tollens* unter Benützung der Vorschrift von *Van der Haar*¹⁾ mit Salpetersäure oxydiert. Nach Neutralisation mit Kaliumcarbonat und Ansäuern mit Essigsäure konnten aus dem Reaktionsprodukt nach zweimaligem Umkrystallisieren die typischen Krystalle

¹⁾ Anleitung zum Nachweis, zur Trennung und Bestimmung der Monosaccharide und Aldehydsäuren, S. 100. (Berlin 1920).

des sauren Kaliumsalzes der Zuckersäure dargestellt werden. Zur Analyse wurde dieses in das Silbersalz übergeführt.

0,0710 g Subst. gaben 0,0362 g Ag
 $C_6H_8O_6Ag_2$ Ber. Ag 50,86%
 Gef. „ 50,99%

Nachweis der Rhamnose: 0,8 g invertiertes Zuckergemisch wurden in 10 cm³ Wasser gelöst und mit 1,2 g Presshefe während 3 Stunden der Gärung bei 35° unterworfen. Nach anfangs lebhafter Kohlendioxyd-Entwicklung, die nach der zweiten Stunde gänzlich aufhörte, wurde abfiltriert und nach gründlichem Nachwaschen durch Eindampfen des Filtrats 0,4 g Zucker erhalten. Dessen Identität mit Rhamnose wurde einerseits durch Umkrystallisation und Vergleich der Krystalle mit einem Rhamnosepräparat im Smp. und Mischsmp. von 103° (korr.) und durch die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{20} = +8,4^{\circ}$ bewiesen.

4,02 g Subst., die in einem grösseren Gärungsversuch gewonnen worden waren, drehten in 100 cm³ Wasser gelöst bei 20° im 1 dm-Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes um 0,34° nach rechts.

$$[\alpha]_D^{20} = +8,4^{\circ}$$

Ferner gab der Zucker beim Destillieren mit Salzsäure Methylfurfurol, das an seiner lichtroten Färbung mit Resorcin in Salzsäure als solches erkannt wurde. Durch Umsatz des Zuckers mit p-Nitrophenylhydrazin wurde ein Hydrazon vom Smp. 186° (korr.) erhalten, das für Rhamnose charakteristisch ist.

Acetylieren der Scillabiose.

Zu 3,0 g Scillabiose gelöst in 60 cm³ Pyridin wurden 15 cm³ Essigsäure-anhydrid gegeben und das Gemisch 4 Tage stehen gelassen. Die Acetylverbindung fiel beim Eingiessen in Eiswasser aus und wurde nach dem Trocknen durch Lösen in absolutem Alkohol unter Zusatz von Benzin bis zur beginnenden Trübung nach mehreren Tagen krystallin erhalten, durch weiteres Umkrystallisieren aus Alkohol und Benzin gereinigt und schliesslich noch zweimal aus Alkohol umkrystallisiert. Die Hexacetyl-scillabiose bestand dann aus feinen Nadelchen vom Smp. 97° (korr.).

3,247 und 4,845 mg Subst. gaben 5,895 und 8,800 mg CO₂ und 1,930 und 2,485 mg H₂O.

$C_{24}H_{34}O_{16}$ Ber. C 49,81 H 5,93%
 Gef. „ 49,53; 49,54 „ 6,65; 5,74%

Acetylbestimmung nach Pregl: 2,770 und 3,238 mg Subst. verbrauchten 2,85 und 3,35 cm³ 0,01-n. NaOH.

$C_{26}H_{34}O_{16}$ (mit 6 Acetylgruppen) Ber. COCH₃ 44,6%
 Gef. „ 44,2; 44,5%

Darstellung von Proscillaridin A aus frischen Meerzwiebeln.

2 kg Meerzwiebeln werden in einer Hackmaschine zerkleinert und der Brei, mit Essigester überschichtet, 7 Tage bei Raumtem-

peratur oder 1 Tag bei 38° stehen gelassen. Darauf setzt man nach Abgiessen des Essigesters 2 kg Ammoniumsulfat zu und zerstampft das Gemisch zu einem feinen Brei. Die auf diese Weise vorbereitete Meerzwiebelsubstanz wird nach dem verbesserten Verfahren zur Isolierung des Glycosidgemisches (S. 721) weiter behandelt, und durch erschöpfende Extraktion mit Essigester das entsprechende Gemisch der „Reintannoide“ dargestellt. Aus diesem trennt man Scillaren B nach der auf Seite 723 beschriebenen Methode ab und erhält nach Entfernung der Gerbstoffe eine Reinglycosidfraktion A in einer Ausbeute von ca. 2,4 g, die im wesentlichen aus Proscillaridin A besteht.

Zur Reinigung des Proscillaridins A krystallisiert man das Rohprodukt wiederholt aus Methylalkohol um. Anfangs genügt die fünffache Menge heissen Methanols, um das Glycosid in Lösung zu bringen, doch steigt bei grösserem Reinheitsgrad die dazu nötige Menge Lösungsmittel bis zu 20 Teilen Methylalkohol auf 1 Teil Proscillaridin A.

Proscillaridin A krystallisiert aus Methylalkohol in bis 1 cm langen 4—6 seitigen, stark lichtbrechenden, farblosen Tafeln (siehe Fig. 2), die nur in einer Methylalkoholatmosphäre haltbar sind. Schon bei kurzem Stehen an der Luft verwittern sie unter Verlust des Krystalllösungsmittels.

Bestimmung des Gehalts an Methylalkohol: 0,6182 g der unversehrten Krystalle verloren im Hochvakuum bei 78° 0,0643 g an Gewicht.

$C_{31}H_{44}O_8 \cdot 2 CH_3OH$	Ber.	Krystallmethylalkohol	10,51%
	Gef.	„	10,40%

Die Löslichkeit von Proscillaridin A in 100 cm³ absolutem Alkohol beträgt bei Zimmertemperatur 4,8 g. Nach dem Trocknen schmilzt Proscillaridin A unter Gelbfärbung bei 213° (korr.).

Polarisation: 1,059 und 0,958 g Proscillaridin A gelöst in je 25 cm³ Methylalkohol drehten die Ebene des polarisierten Lichtes im 2 dm-Rohr bei 20° um 6,96° und 6,35° nach links.

$$[\alpha]_D^{20} = -82,2^\circ \quad \text{und} \quad [\alpha]_D^{20} = -82,9^\circ$$

Zur Elementaranalyse wurde die Substanz bei 78° im Hochvakuum getrocknet. Sie ist hygroskopisch und musste deshalb unter Feuchtigkeitsausschluss eingewogen werden.

I. 4,665 und 4,075 mg Subst. gaben 11,655 und 10,160 mg CO₂ und 3,510 und 3,090 mg H₂O.

Ein getrennt hergestelltes Präparat wurde im Laboratorium von Prof. Dr. R. Kuhn in Heidelberg analysiert:

II. 3,774 und 3,867 mg Subst. gaben 9,440 und 9,645 mg CO₂ und 2,780 und 2,815 mg H₂O.

$C_{31}H_{44}O_8$	Ber.	C	68,34	H	8,14%
	Gef.	„	I. 68,16; 68,02	„	8,42; 8,49%
		„	„ II. 68,22; 68,20	„	8,24; 8,15%

Hydrolyse von Proscillaridin A mit Säure.

10 g Proscillaridin A werden in 400 cm³ warmem Methylalkohol gelöst, das gleiche Volumen warmer 1-proz. Schwefelsäure zugesetzt und die Lösung ½ Stunde unter Rückfluss gekocht. Gleich nach Beginn des Siedens setzt eine Trübung ein, die von einer Abscheidung glitzernder Kryställchen gefolgt ist. Nach dem Abkühlen wird filtriert und der Rückstand aus der 450-fachen Menge absoluten Alkohols umkrystallisiert. Das auskrystallisierende Scillaridin A ist identisch mit dem bei der Hydrolyse von Scillaren A erhaltenen.

Das Filtrat wird im Vakuum von Methylalkohol befreit und dann das noch gelöste Scillaridin A mit Chloroform erschöpfend ausgeschüttelt. Nach dem Neutralisieren der wässerigen Lösung mit einem Überschuss von Bariumcarbonat und Eindampfen zur Trockne im Vakuum konnten aus dem Rückstand mit wenig Wasser ungefähr 2,5 g Zucker herausgelöst werden, der durch Eindunsten und Verreiben mit Alkohol krystallinisch wurde. Durch Umkrystallisieren aus wässrigem Methylalkohol wurden grosse Krystalle vom Smp. 103° (korr.) erhalten, die durch die optische Drehung $[\alpha]_D^{20} = + 8^\circ$, die Destillation zu Methylfurfurol und das p-Nitrophenylhydrazon vom Smp. 186° (korr.) als Rhamnose-hydrat identifiziert werden konnten.

Die quantitative Scillaridinbestimmung wurde wie beim Scillaren A angegeben durchgeführt. I. 0,2790 g Subst. ergaben 0,1911 g Scillaridin A. II. Zur quantitativen Zuckerbestimmung wurden 0,4870 g Proscillaridin in einem starkwandigen Reagensglas mit 20 cm³ 1-proz. Schwefelsäure unter stetigem Verreiben der sich bildenden Knöllchen während 2½ Stunden auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Filtrieren und Nachwaschen mit Wasser bis zur neutralen Reaktion des Filtrats wurde der Rückstand getrocknet, pulverisiert und nochmals wie oben mit 1-proz. Schwefelsäure 2½ Stunden lang erhitzt. Die vereinigten Filtrate wurden neutralisiert und auf ein kleines Volumen eingengt. In dieser Zuckerlösung konnten nach der Methode von *Fehling-Lehmann-Schoorl* 0,1480 g Rhamnose festgestellt werden. III. In einem weiteren Versuch ergaben 0,486 g Proscillaridin A nebeneinander 0,340 g Scillaridin A und 0,142 g Rhamnose.

Nach der Spaltungsgleichung

	Proscillaridin A = Scillaridin A + Rhamnose			
Ber.	69,8%	Scillaridin A und	30,1%	Rhamnose
Gef. I.	68,5%	„	II. 30,4%	„
„ III.	69,9%	„	29,2%	„

Anhydroscillaridin A.

Beim Erhitzen im Hochvakuum auf 150—200° färben sich Scillaren A, Proscillaridin A und Scillaridin A gelb bis braun und

zersetzen sich unter Abscheidung von farblosen glänzenden Kryställchen an den kühleren Stellen des Gefässes. Aus 0,20 g Scillaridin A erhielten wir so in 2×10 Stunden 0,060 g Sublimat, das, aus der 100-fachen Menge absoluten Alkohols umkrystallisiert, in schönen dünnen Spiessen erhalten wurde. Als charakteristisches Merkmal zeigen die einzelnen Krystalle oft Formen, die wie Fig. 4 zeigt, an Klingen von Taschenmessern erinnern.

Derselbe Körper konnte in einer besseren Ausbeute durch Erwärmen von Scillaridin A in alkoholischer Salzsäure dargestellt werden. 5,0 g fein pulverisiertes Scillaridin A wurden in einem Gemisch von 680 cm³ absolutem Alkohol und 128 cm³ 35-proz. Salzsäure suspendiert und auf dem Dampfbad am Rückflusskühler erhitzt. 8 Minuten nach Eintritt des Siedens war der grösste Teil des Scillaridins A in Lösung gegangen. Nach Abtrennen eines Rückstandes von 0,65 g durch rasche Filtration in der Hitze setzte im Filtrat Krystallisation ein. Nach 12 Stunden hatten sich 2,1 g Anhydroscillaridin A in langen dünnen Nadeln abgeschieden. Weitere 0,6 g lieferte das Filtrat nach Zusatz von 250 cm³ Wasser. Das Rohprodukt wurde aus der 100-fachen Menge absoluten Alkohols umkrystallisiert und erwies sich dann in allen Eigenschaften identisch mit dem durch Sublimation erhaltenen Präparat. Anhydroscillaridin A ist, wie eine Probe zeigte, im Hochvakuum bei 150° quantitativ und unverändert sublimierbar.

Zur Analyse wurden die Präparate bei 90° im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz getrocknet.

I. Elementaranalyse von durch Sublimation dargestelltem Anhydroscillaridin A: 4,390 und 4,448 mg Subst. gaben 13,310 und 13,490 mg CO₂ und 3,160 und 3,240 mg H₂O.

II. Analyse von Anhydroscillaridin A, das durch die Einwirkung alkoholischer Salzsäure dargestellt wurde:

4,533 und 4,324 mg Subst. gaben 13,780 und 13,090 mg CO₂ und 3,267 und 3,285 mg H₂O.

C ₂₅ H ₃₀ O ₂	Ber.	C 82,82	H 8,35%
	Gef. I. „	82,69; 82,71	„ 8,06; 8,15%
	Gef. II. „	82,90; 82,57	„ 8,06; 8,50%

0,357 g Anhydroscillaridin A gaben in 19,1 g Phenol eine Gefrierpunktserniedrigung = 0,43°

C ₂₅ H ₃₀ O ₂	Ber. Mol.-Gew.	362
	Gef. „ „	353

Zur Lactontitration wurden 0,100 g Substanz in 30 cm³ absolutem Alkohol gelöst und nach Zusatz von 5,0 cm³ n. NaOH 24 Stunden stehen gelassen; dann ergab die Rücktitration mit 0,1-n. HCl gegen Phenolphthalein einen Verbrauch von 2,80 0,1-n. NaOH.

C ₂₅ H ₃₀ O ₂	Ber. Äquiv.-Gew.	362
	Gef. „ „	357

Anhydroscillaridin A zeigte, nach *Tschugaeff-Zerewitinoff* analysiert, keine Hydroxylgruppen an.

Besonders in Lösung färbt sich Anhydroscillaridin A unter der Einwirkung von Licht rasch gelb. Seine Löslichkeit in 100 cm³ absolutem Alkohol beträgt bei Zimmertemperatur 0,35 g. Im Kapillarrohr erhitzt, schmilzt Anhydroscillaridin A unter Gelbfärbung scharf bei 208° (korr.).

Polarisation: 2,904 g Anhydroscillaridin A drehen in 25 cm³ Chloroform gelöst bei 20° im 2 dm-Rohr die Ebene des polarisierten Lichtes um 34,5° nach links.

$$[\alpha]_D^{20} = -148,5^{\circ}$$

Basel, Wissenschaftliches Laboratorium der Chem. Fabrik
vorm. Sandoz.

Beziehungen zwischen der Struktur der Antigene und der Spezifität der Antikörper.

(7. Mitteilung)¹⁾

von H. Erlenmeyer, E. Berger und Martin Leo

(31. V. 33.)

Antigene, in geeigneter Weise dem Organismus zugeführt, veranlassen denselben zur Bildung von Antikörpern. Die ersten serologischen Untersuchungen, in denen als Antigene Stoffgemische von vollständig unbekannter Zusammensetzung zur Verwendung kamen, erbrachten die wichtige Beobachtung, dass die Reaktion des Organismus eine ausgesprochen spezifische ist, da der erzeugte Antikörper in der Regel²⁾ nur mit dem erzeugenden Antigen und nicht noch mit anderen Antigenen reagiert.

Das Problem der immunologischen Spezifität wurde einer eingehenden struktur-chemischen Bearbeitung zugänglich durch die Untersuchungen von K. Landsteiner³⁾, der nach den Vorarbeiten von Obermayer und Pick⁴⁾ in zahlreichen Beispielen zeigen konnte, dass es gelingt, die natürlichen Eiweissarten durch chemische Ein-

¹⁾ 5. Mitteilung s. Bioch. Z. **262**, 196 (1933). — 6. Mitteilung im Druck.

²⁾ So erzeugt das Blutserum einer jeden Tierart einen spezifisch nur mit diesem Serum reagierenden Antikörper. Über einige Ausnahmen siehe H. G. Wells, „Die chemischen Anschauungen über Immunitätsvorgänge“, 2. Aufl., Fischer, Jena 1932.

Was die Reaktionsweise anbelangt, so sei hier nur darauf hingewiesen, dass die Vorstellungen hierüber sich zurückführen lassen einmal auf die Anschauung von P. Ehrlich (siehe H. G. Wells loc. cit. S. 136) und S. Arrhenius (Immunochemie 1907), nach denen es sich um eine Neutralisationsreaktion handelt, die dem Massenwirkungsgesetz gehorcht, und sodann auf J. Bordet, der die Ansicht ausgesprochen hat, dass es sich bei der Bindung des Antigens durch den Antikörper um eine spezifische Adsorption handelt (Studies in Immunity 1909).

³⁾ Zusammenfassung siehe K. Landsteiner, Naturwiss. **18**, 653 (1930).

⁴⁾ Siehe H. G. Wells, loc. cit. S. 184.