

40. Über herzwirksame Glykoside und Aglykone der Samen von *Coronilla glauca*.

21. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

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

(21. XII. 48.)

1. Kurzer Bericht über frühere Arbeiten.

Die Samen der in Mitteleuropa und besonders im Mittelmeergebiet in zahlreichen Arten vertretenen Papilionaceen-Gattung *Coronilla* sind schon seit längerer Zeit als Arzneidroge gegen Herzleiden verwendet worden. Die häufiger auftretenden Arten *C. scorpioides* Koch und *C. varia* L. sind bereits auch mehrfach Gegenstand eingehender pharmazeutisch-chemischer Untersuchungen gewesen. In den Samen von *Coronilla scorpioides* fanden *Schlagdenhauffen* und *Reeb*²⁾ 1884 neben einer krystallisierten aromatischen Substanz einen stark bitteren Stoff, den sie anfänglich für ein Alkaloid hielten. In mehreren späteren Untersuchungen erkannten die Autoren, dass die toxische, bittere Substanz, die sie „Coronillin“ nannten, ein Glykosid sei. Eine sehr ähnliche Substanz wurde dann auch bei anderen *Coronilla*-Arten aufgefunden³⁾, und zwar in *C. varia*, *C. glauca*, *C. juncea* und *C. pentaphylla*. Extrakte und Präparate aus Samen dieser Arten besaßen die typische Wirkung von Herzgiften⁴⁾.

Die Herstellung des Coronillins geschah auf folgende Weise⁵⁾: Die gemahlene und mit Petroläther entfettete Samen wurden mit Alkohol oder mit Wasser⁶⁾ extrahiert. Der Eindampfrückstand so gewonnener Extrakte wurde in Wasser gelöst und das Glykosid mit Natrium- und Magnesiumsulfat ausgesalzen. Die in Alkohol wieder gelöste Fällung wurde mit Bleiacetat behandelt, die von der Bleifällung abfiltrierte Lösung mit Schwefelwasserstoff entbleit und zur Trockene eingedampft. Nach einer weiteren Reinigung der wässrigen Lösung mit Kaolin und schliesslich mit Äther und Chloroform wurde nach dem Eindampfen ein gelbliches, leicht wasserlösliches Pulver, das Coronillin erhalten. Aus den Analysen leiteten die Autoren die Summenformel $(C_7H_{12}O_5)_2$ ab.

Schlagdenhauffen und *Reeb* geben für das Coronillin einige charakteristische Farbreaktionen an: mit starker Schwefelsäure und einem Tropfen Eisenchloridlösung entsteht eine violette, in Grün übergehende Färbung; konz. Salpetersäure liefert, besonders nach Zugabe von etwas Kupferchlorid, eine kirschrote Färbung. Mit dieser Reaktion können noch 2,5 mg Coronillin erkannt und von den Digitalisglykosiden unterschieden werden, da letztere unter denselben Versuchsbedingungen eine violette Färbung geben⁷⁾.

Das Coronillin verhält sich bei der Hydrolyse mit Säuren wie ein Glykosid. Es scheidet nach dem Erhitzen einer sauren, wässrigen Lösung ein Harz ab, und die Lösung enthält sodann Glucose. Das Harz, das Coronillein genannt wurde, ist offenbar ein schon weitgehend verändertes Aglykon; denn es schmeckt nicht mehr bitter und soll auch keine physiologische Wirkung mehr aufweisen.

¹⁾ 20. Mitt. Helv. **26**, 648 (1943).

²⁾ *F. Schlagdenhauffen* und *E. Reeb*, Journ. de Pharm. d'Alsace-Lorraine, Oct. 1884.

³⁾ Dieselben, loc. cit. 103 (1888).

⁴⁾ Dieselben, loc. cit. 180 (1888); 207 (1889).

⁵⁾ *F. Schlagdenhauffen* und *E. Reeb*, Journ. de Pharm. d'Alsace-Lorraine, 303 (1888).

⁶⁾ Dieselben, Zschr. Österr. Apoth. Verein **34**, 487 (1896); C. 1896, II, 430.

⁷⁾ Dieselben, Journ. de Pharm. d'Alsace-Lorraine, 113, 161 (1891).

Aus dem alkoholischen oder dem wässrigen Extrakt von *C. scorpioides* konnte neben dem amorphen Herzglykosid noch eine kristallisierte, aber nicht toxische Verbindung in einer Ausbeute von 0,44%, bezogen auf das Samentrockengewicht, isoliert werden. Sie besitzt nach der Analyse die Zusammensetzung $C_7H_4O_2$, ist flüchtig und riecht cumarinartig, weshalb sie „Pseudocumarin“ genannt wurde. Diese Substanz wird in einer folgenden Arbeit eingehend besprochen; sie ist sehr wahrscheinlich identisch mit dem im Laufe unserer Untersuchungen aufgefundenen und identifizierten Furocumarin.

Von allen untersuchten Coronilla-Arten erwiesen sich lediglich die Samen von *C. Emerus* L. als ungiftig¹⁾. Die toxische Dosis des Coronillins soll für einen 12 kg schweren Hund, subcutan verabreicht 10 mg, intravenös 1 mg betragen; für einen 40 g schweren Frosch subcutan 0,25 mg. Als Gegengift für Coronillin und Coronilla-Extrakte wird Kaliumpermanganat erwähnt²⁾. Das Coronillin wurde von verschiedener Seite eingehend auf seine physiologischen und therapeutischen Eigenschaften³⁾ geprüft.

Eine Zusammenfassung aller vorangehend zitierten Arbeiten wurde von *Schlagdenhauffen* und *Reeb* 1897 publiziert⁴⁾. Ausser den chemischen und pharmakologischen Arbeiten haben die beiden Autoren auch pharmakognostische Studien an Wurzeln, Stengeln, Blättern und Früchten der Arten *C. scorpioides*, *Emerus*, *glauca*, *varia*, *pentaphylla*, *juncea*, *montana* und *minima* durchgeführt⁵⁾. Herzglykoside scheinen nicht nur in den Samen, sondern auch in Stengeln und Blättern vorzukommen.

Abgesehen von einigen pharmakologischen Versuchen⁶⁾ wurde das Studium über den Wirkstoff der Samen von *C. scorpioides* und *C. varia* erst 1934 von *G. Tanret*⁷⁾ wieder aufgenommen. Das von ihm hergestellte „Coronillosid“ wird als ein weisses, stark bitteres, amorphes und wasserlösliches Glykosid (Ausbeute 0,7–0,8% aus Samen von *C. scorpioides* und etwa 10mal weniger aus *C. varia*) beschrieben. Der Drehwert in wässriger Lösung beträgt $[\alpha]_D = -17,6^\circ$. Nach den Analysen errechnete sich eine Summenformel von $C_{23}H_{33}O_{10}$.

Bei der enzymatischen Hydrolyse mit *Aspergillus niger* oder dem Verdauungssaft von Schnecken wurde ein Mol Glucose abgespalten und es schieden sich z. T. Nadeln ab, die bei 243° schmolzen und einen Drehwert von $[\alpha]_D = +38^\circ$ (in Alkohol) besaßen.

Die letale Dosis des Coronillosidpräparates betrug beim Hund intravenös 0,72 mg/1 kg und beim Meerschweinchen intraperitoneal 2,75 mg/1 kg Körpergewicht. Neuerdings wurde von *Fernandez de Soto* und *Pereira*⁸⁾ für den Infus aus den Samen von spanischer *C. scorpioides* im Mittel eine letale Dosis gefunden, die beim Hund bei intravenöser Applikation einer Menge von 25,7 mg Samen/1 kg Körpergewicht entsprach. Für *Coronilla glauca* fanden dieselben Autoren Letalitätswerte, die beim Hund je nach der Herkunft der Droge zwischen 28,3 und 37,6 mg Samen/1 kg Körpergewicht betragen.

Neuerdings wurde das aus den Samen der *Coronilla varia* L. nach Extrahieren mit Chloroform kristallisiert erhaltene Coronosid⁹⁾ beschrieben. Nähere Angaben darüber sind uns bis jetzt noch nicht zugänglich.

1) *F. Schlagdenhauffen* und *E. Reeb*, Journ. de Pharm. d'Alsace-Lorraine, 146 (1893).

2) Dieselben, loc. cit. 321 (1893).

3) *J. L. Prevost*, Rev. méd. de la Suisse rom. 1896, No. 1, 14; Therap. Monatshefte 10, 285 (1896); C. 1896, II, 397.

4) *F. Schlagdenhauffen* und *E. Reeb*, Arch. de Pharmacodyn. 3, 5 (1897).

5) Dieselben, Journ. de Pharm. d'Alsace-Lorraine 54 (1890).

6) *E. Pérez Noguera*, Estudio de los principios activos de las plantas medicinales p. 321, 327, Madrid 1902.

7) *G. Tanret*, C. r. 198, 1637 (1934); Bull. Soc. chim. biol. 16, 941 (1934).

8) *F. Fernandez de Soto* und *A. Pereira*, Anales Instituto José Celestino Mutis de Farmacognosia 4, 63 (1945).

9) *Z. V. Sova*, Farmatsiya (U.S.S.R.) 9, Nr. 5, 13 (1946); C. A. 41, 7674 (1947).

2. Die Darstellung der neuen Glykosidpräparate.

Die erste Aufgabe unserer eigenen Untersuchung bestand darin, aus Samen von *Coronilla glauca*, die im Sommer 1947 und Frühjahr 1948 in der Umgebung von Lissabon gesammelt worden waren, möglichst einheitliche Glykosidpräparate herzustellen und sie mit Coronillin von *Schlagdenhauffen* und *Reeb* und Coronillosid von *Tanret* zu vergleichen. Unsere intensiven Bemühungen zur Isolierung eines krystallisierten genuinen Glykosids waren nicht erfolgreich. Doch konnten wir mit Sicherheit feststellen, dass unsere Gesamtglykosidpräparate komplizierte Gemische darstellen, denen mindestens 4 verschiedene Aglykone zugrunde liegen, welche letztere in den genuinen Verbindungen ausschliesslich mit Glucose verbunden sind. Weder bei der Entmischung mit Chloroform-Alkohol-Wasser noch durch Chromatographie der freien Glykoside oder deren Acetate nach der Methode von *Reichstein*¹⁾ konnten wir zu einem krystallisierten Herzglykosid gelangen. Die einzelnen Fraktionen liessen sich z. B. durch die *Liebermann*'sche Farbreaktion wohl deutlich voneinander unterscheiden, blieben aber amorph.

Wie im experimentellen Teil beschrieben wird, haben wir zur Darstellung des Gesamtglykosidpräparates die Samen mit Methanol extrahiert, den Extrakt in wässrig-methanolischer Lösung mit Bleiacetat behandelt und dann die Glykoside aus wässriger Lösung an Kohle adsorbiert. Die von der Kohle mit Methanol wieder eluierten Glykoside wurden in Methanollösung an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die Glykoside können, weitgehend angereichert, mit absolutem Methanol bzw. 50-proz. Methanol aus der Säule herausgelöst werden. Der mit absolutem Methanol eluierte Anteil, der aus den Samen in einer Ausbeute von 0,6—0,7% anfällt, besitzt an der Katze eine Toxizität (nach *Hatcher*) von 0,695 mg/1 kg²⁾. Dieses amorphe Glykosidgemisch liefert bei der sauren Hydrolyse 44% chloroformlösliche Aglykone. Die Zuckerfraktion gibt keine Farbreaktionen, die für Rhamnose oder einen anderen Desoxyzucker charakteristisch sind; es konnte nur Glucose nachgewiesen werden. Aus den Ausbeuten an Aglykon und Zucker kann geschlossen werden, dass in den genuinen Glykosiden durchschnittlich 2 Glucosereside enthalten sind. Nur ein ganz kleiner Teil der bei der Hydrolyse mit Säure entstehenden Aglykone konnte krystallisiert erhalten werden. Der Hauptanteil blieb amorph; denn auch nach chromatographischer Trennung schieden sich nur aus einigen Fraktionen minimale Mengen von Krystallen ab, die für eine nähere Untersuchung nicht ausreichten, deren *Liebermann*- bzw. *Legal*-Reaktion indessen positiv war.

¹⁾ *H. Rosenmund* und *T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **17**, 176 (1942).

²⁾ Die Toxizitätsbestimmungen dieser Arbeit verdanken wir den pharmakologischen Laboratorien der *Sandoz AG.* (Leiter: Prof. *E. Rothlin*), Basel.

3. Die Einwirkung der spezifischen Enzyme auf die Herzglykoside.

Wird bei der Aufarbeitung von Coronilla-Samen ein enzymatischer Abbau vermieden, so enthalten die Extrakte nur sehr wenig chloroformlösliche Anteile. Werden dagegen entfettete und zerkleinerte Samen in wässriger Aufschwemmung einige Zeit sich selbst überlassen, so erhält man nach der Extraktion derselben ein chloroformlösliches Präparat in grösserer Menge. Ein grosser Teil dieser Chloroformfraktion kann aus Alkohol kristallisiert werden. Die Krystalle geben aber weder eine *Liebermann*- noch eine *Legal*-Reaktion. Die Untersuchung dieser Substanz, die bei 163° schmilzt, ergab, dass es sich um ein Furocumarin handelt, worauf wir, wie oben bemerkt, in der folgenden Arbeit eingehen werden. Es liegt in den Coronilla-Samen in Form eines Glykosids vor, das gleichfalls isoliert werden konnte.

Nach Abtrennung des grössten Teils des Furocumarins durch Kristallisation verbleiben in der Mutterlauge der chloroformlöslichen Fraktion Aglykone als Produkt des enzymatischen Abbaus der Herzglykoside. Beim Aufnehmen des Rückstandes der Alkohol-Mutterlauge in reinem Chloroform bleibt ein schwer lösliches Harz zurück, das noch einen Teil eines der abgebauten Aglykone enthält. Durch Chromatographie der Chloroformlösung an Aluminiumoxyd und Elution mit reinem und methanolhaltigem Chloroform gelingt es, vier verschiedene Krystallfraktionen abzutrennen, die alle eine positive *Legal*-Reaktion und deutlich verschiedene Färbungen bei der *Liebermann*-Reaktion aufweisen. Die Analysen dieser Substanzen und von Derivaten derselben zeigen eindeutig, dass es sich um vier verschiedene Aglykone handelt. Der Abbau der genuinen Glykoside durch das Enzym der Samen führt also bis zur Aglykonstufe. Auch die enzymatische Hydrolyse des chromatographisch gereinigten Gesamtglykosidpräparates mit zerkleinerten Samen, die zur Entfernung der Glykoside mit Alkohol vorextrahiert waren, führt zu denselben kristallisierten Aglykonen. Der Abbau des Gesamtglykosidpräparates gelingt dagegen nicht mit α -Glucosidase der Hefe oder mit einem β -Glucosidasepräparat (Emulsin). Die Spaltung der genuinen Coronilla-Glykoside geschieht also durch spezifische Samenenzyme. Unseres Wissens ist dies der erste mit Sicherheit nachgewiesene Fall einer enzymatischen Spaltung von Herzglykosiden bis zur Aglykonstufe¹⁾.

4. Die Aglykone.

Die vier verschiedenen, kristallisierten Aglykone, die durch Chromatographie gewonnen wurden, bedurften noch der weiteren

¹⁾ Vielleicht verdankt das von *H. Rosenmund* und *T. Reichstein*, Pharm. acta Helv. **17**, 176 (1942), aus dem Handelspräparat „Adovern“ isolierte Aglykon seine Entstehung einem analogen Vorgang.

Reinigung durch fraktionierte Krystallisation oder erneute Chromatographie. Wir möchten für die vier bisher rein dargestellten, untersuchten und analysierten Aglykone die Bezeichnungen vorschlagen, die in den ersten 4 Zeilen der Tabelle 1 zusammen mit ihren Summenformeln und andern charakteristischen Eigenschaften aufgeführt und isomeren Aglykonen anderer Herkunft gegenübergestellt sind.

Tabelle 1.

Eigenschaften von Herzglykosid-Aglykonen aus Samen von *Coronilla glauca* und von Isomeren anderer Herkunft.

Genin	Zusammensetzung	Smp.	[α] _D	Toxizität nach Hatcher ¹⁾	Acetylverbindung	
					Smp.	[α] _D
Allo-glaucotoxigenin	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	235—236 ⁰	+ 27,0 ⁰ (Meth.)	>5 mg	192—193 ⁰	– 9 ⁰ (Meth.)
Corotoxigenin	C ₂₃ H ₃₂ O ₅	221 ⁰	+ 42,3 ⁰ (Meth.)	0,699 mg	256 ⁰	+ 31,8 ⁰ (Meth.)
Coroglaucigenin	C ₂₃ H ₃₄ O ₅	249—250 ⁰	+ 23,0 ⁰ (Meth.)	0,479 mg	222—223 ⁰	
Glaucorigenin	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	228 ⁰	– 86,3 ⁰ (Meth.)	0,607 mg	295—296 ⁰	– 193 ⁰ (Meth.)
Strophanthidin	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	171—175 ^{0 2)} 230 ⁰	+ 43,1 ⁰ Meth.) ²⁾	0,285 mg 8)	246—248 ^{0 4)}	+ 56 ⁰ (Chl.) ³⁾
Allo-strophanthidin	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	258—262 ^{0 4)} 248—250 ^{0 5)}	+ 37 ⁰ (Alk.) ⁵⁾	unwirksam	198—200 ^{0 4)} 223—228 ⁰	
Adonitoxigenin ⁶⁾	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	172—178 ⁰			256—262 ⁰	– 25,5 ⁰ (Chl.)
Sarmentosigenin A ⁷⁾	C ₂₃ H ₃₂ O ₆	256—262 ⁰	– 15,9 ⁰ (Dioxan)		223—226 ⁰	+ 2,2 ⁰ (± 3 ⁰) (Chl.)

Aus 1 kg entfetteten *Coronilla glauca*-Samen konnten durchschnittlich isoliert werden:

von Allo-glaucotoxigenin	1 g,
von Corotoxigenin	0,5 g,
von Coroglaucigenin	0,03—0,05 g und
von Glaucorigenin	0,05 g.

¹⁾ Diese Werte, die an der Katze bestimmt wurden, beziehen sich auf 1 kg Tier bei intravenöser Infusion.

²⁾ W. A. Jacobs und M. Heidelberger, J. Biol. Chem. **54**, 253 (1922).

³⁾ T. Reichstein und H. Rosenmund, Pharm. acta Helv. **15**, 150 (1940).

⁴⁾ A. Katz und T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **19**, 252 (1944).

⁵⁾ W. A. Jacobs, J. Biol. Chem. **88**, 519 (1930).

⁶⁾ A. Katz und T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **22**, 437 (1947).

⁷⁾ J. Schmutz und T. Reichstein, Pharm. acta Helv. **22**, 167 (1947).

⁸⁾ E. Rothlin, Schweiz. med. Wschr. **70**, 577 (1940).

Die beiden erstgenannten überwogen bei weitem, weshalb sie auch eingehender untersucht werden konnten. Mit dem Coroglaucigenin und dem Glaucorigenin konnten wir nur wenige, orientierende Versuche anstellen.

Die *Liebermann'sche* Farbreaktion zeigt bei den 4 Coronillageninen die folgenden Farbübergänge:

Allo-glaucotoxigenin:	hellrosa – graurosa – gelblichgrün – hellgelb.
Corotoxigenin:	rosa – grauviolett – bräunlichviolett – grünbraun – braun – gelb – orange (nach 24 Stunden).
Coroglaucigenin:	grünlich – intensiv grasgrün – grüngelb – beständig rot.
Glaucorigenin:	rosaviolett – dunkelgrün (beständig) – gelbbraun.

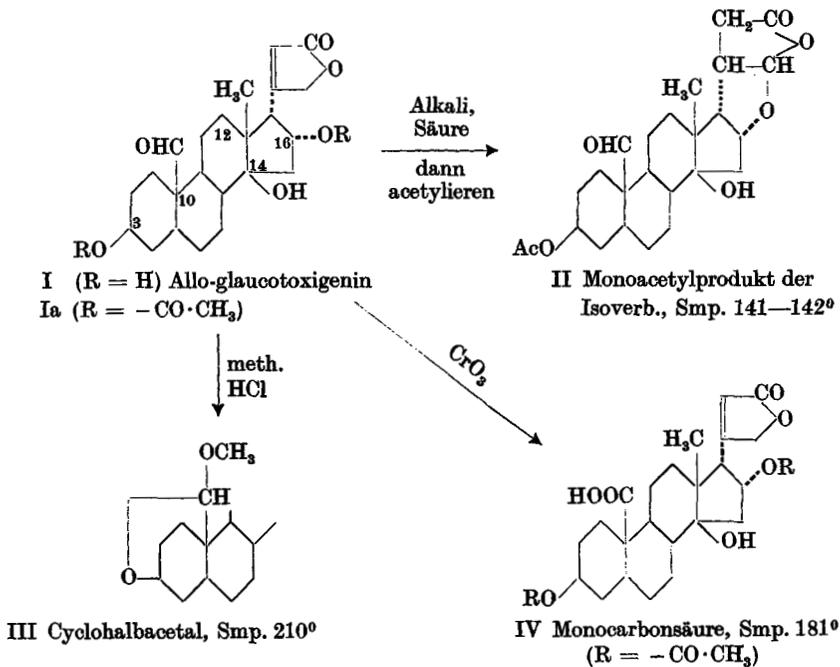
Wie aus den Bruttoformeln, die durch Analysen mehrerer Derivate bestätigt sind, hervorgeht, sind das Allo-glaucotoxigenin und das Glaucorigenin isomer und enthalten je 6 Sauerstoffatome; zwei davon gehören dem fünfgliedrigen Lactonring an, der sowohl im Ultraviolettpektrum wie im positiven Ausfall der *Legal*-Reaktion in Erscheinung tritt. Das Corotoxigenin und das Coroglaucigenin, die sich nur um 2 Atome Wasserstoff voneinander unterscheiden, enthalten je 5 Sauerstoffatome; auch ihnen ist ein fünfgliedriger Lactonring eigen.

Das Allo-glaucotoxigenin liefert bei der Acetylierung eine Diacetylverbindung $C_{27}H_{36}O_8$ (Ia), was die Anwesenheit von 2 sekundären Hydroxylgruppen beweist. Wird die Diacetylverbindung mit Hydroxylamin umgesetzt, so entsteht ein kristallisiertes Oxim $C_{27}H_{37}O_8N$. Dass das Aglykon eine Aldehydgruppe besitzt, wird auch durch die Oxydation der Diacetylverbindung mit Chromsäure bestätigt. Hierbei entsteht ohne Verlust eines Kohlenstoffatoms eine Monocarbonsäure $C_{27}H_{36}O_9$ (IV). Die folgende Beobachtung macht es sehr wahrscheinlich, dass die Aldehydgruppe wie beim Strophanthidin am Kohlenstoffatom 10 sitzt. Bei der Einwirkung von methylalkoholischer Salzsäure auf das Genin entsteht nämlich eine methoxylhaltige Verbindung III; sie ist als Cyclohalbacetal, das sich aus der Hydroxylgruppe an C_3 und der Aldehydgruppe an C_{10} gebildet hat, aufzufassen. Die Stellung der beiden genannten Gruppen an C_3 bzw. an C_{10} ist durch die Bildung des Cyclohalbacetals erhärtet. Damit ein Ringschluss überhaupt stattfinden kann, müssen die beiden Substituenten die gleiche räumliche Lage haben, so dass das Hydroxyl an C_3 β -ständig sein muss.

Das Allo-glaucotoxigenin gibt unter der Einwirkung von Alkali, unter Beteiligung des Lactonringes, eine für Herzglykoside charakteristische Isoverbindung. Diese Isoverbindung ist aber nicht unter Einbezug der tertiären Hydroxylgruppe an C_{14} , die wir in Analogie zu den übrigen Herzglykosiden auch im Allo-glaucotoxigenin annehmen, entstanden. Bei der Acetylierung der Isoverbindung tritt nämlich nur noch eine Acetylgruppe ein, es entsteht die Verbindung

$C_{25}H_{34}O_7$ (II). Bei der Bildung des Isoringes hat sich also eine der beiden sekundären Hydroxylgruppen und nicht das Hydroxyl an C_{14} beteiligt.

Aus diesen Beobachtungen können folgende Schlüsse gezogen werden: Die zweite sekundäre Hydroxylgruppe muss in einer Lage sein, die sie befähigt, mit der Lactonseitenkette den Isoring zu bilden. Dafür kommen nur Hydroxylgruppen an C_{12} , C_{15} oder an C_{16} in Frage. Da die Hydroxylgruppe an C_{12} im allgemeinen schwer acetylierbar ist, das vorliegende Genin aber bereits unter sehr milden Bedingungen acetyliert wird, so liegt die sekundäre Hydroxylgruppe sehr wahrscheinlich an C_{15} oder an C_{16} . Herzgiftgenine mit einer Hydroxylgruppe an C_{15} sind noch keine bekannt geworden, weshalb wir die Stellung an C_{16} bevorzugen. Aus diesen Umsetzungen kann ferner geschlossen werden, dass die Lactonseitenkette nicht dieselbe normale Lage hat wie bei den wirksamen Aglykonen, was mit der Tatsache im Einklang steht, dass das Allo-glaucotoxigenin praktisch biologisch unwirksam ist. Da aber das Glykosidgesamtpräparat, dessen Hauptbestandteil ein Glykosid dieses Genins sein muss, gut wirksam ist und die anderen Aglykone keine grossen Differenzen in der Wirkung zeigen, so scheint es, dass während der Fermentierung eine Allomerisierung des Hauptglykosids in eine unwirksame Form stattgefunden hat. Eine analoge Allomerisierung findet bekanntlich bei den Strophanthusglykosiden statt. Durch die Allomerisierung kommt



die Lactonseitenkette sterisch in eine Lage, die es ihr nicht mehr ermöglicht, den Isoring mit der Hydroxylgruppe an C_{14} zu schliessen. Die zweite sekundäre Hydroxylgruppe, die den Isoring beim Coronilla-Aglykon ermöglicht, muss somit die gleiche räumliche Lage haben wie die Seitenkette in der Alloform. Die Formel I, die wir für das Allo-glaucotoxigenin mit einem gewissen Vorbehalt vorschlagen, trägt den eben besprochenen Ergebnissen unserer Untersuchung Rechnung.

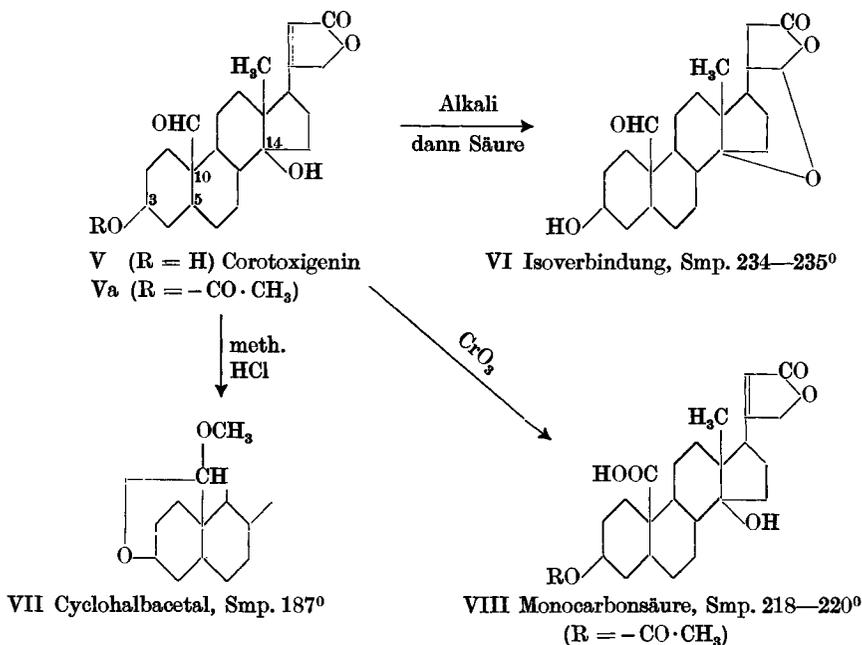
Isomer mit dem Allo-glaucotoxigenin ist das in geringer Ausbeute anfallende, gut wirksame Glaucorigenin. Es unterscheidet sich vom ersteren charakteristisch in der Farbfolge bei der *Liebermann*-Reaktion und in seinem hohen negativen Drehwert. Bei der Acetylierung liefert es ebenfalls eine Diacetylverbindung $C_{27}H_{36}O_8$, die erst bei $295\text{--}296^\circ$ schmilzt und den hohen Drehwert $[\alpha]_D^{20} = -193^\circ$ (in Methanol) besitzt. Die Diacetylverbindung gibt beim Umsetzen mit Hydroxylamin ein krystallisiertes Oxim, so dass auch hier die Aldehydgruppe nachgewiesen ist. Von den drei Hydroxylgruppen sind zwei sekundär und eine tertiär. Aus Analogiegründen kann man annehmen, dass die tertiäre OH-Gruppe an C_{14} und eine der sekundären Gruppen an C_3 sitzt. Die Lage der zweiten sekundären Hydroxylgruppe ist noch ungewiss.

Man könnte sich fragen, ob das Allo-glaucotoxigenin nicht die Alloform des Glaucorigenins darstelle. Die grossen Unterschiede in den Drehwerten und bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion sprechen gegen diese Auffassung. Der Vergleich der Drehwerte von Strophanthidin und Allo-Strophanthidin (Tabelle 1) und von Periplogenin und Allo-Periplogenin (Tabelle 2) ergibt nur geringe Unterschiede.

Das um ein Sauerstoffatom ärmere, ebenfalls wirksame Corotoxigenin kann aus den Samen in grösserer Menge dargestellt werden. Bei der Acetylierung wird es in eine Monoacetylverbindung $C_{25}H_{34}O_6$ (Va) übergeführt, die bei der Behandlung mit Hydroxylamin ebenfalls ein Oxim bildet. Dass dieses Genin gleichfalls eine Aldehydgruppe besitzt, geht auch aus der Oxydation der Acetylverbindung mit Chromsäure hervor. Es entsteht dabei ohne Kohlenstoffverlust eine Monocarbonsäure VIII. Die leichte Bildung eines Halbacetals VII bei der Behandlung des Corotoxigenins mit methylalkoholischer Salzsäure beweist die Anwesenheit der Aldehydgruppe an C_{10} und einer Hydroxylgruppe an C_3 . Die tertiäre Hydroxylgruppe an C_{14} ermöglicht bei alkalischer Behandlung die Bildung des charakteristischen Isorings (in VI). Diese Isoverbindung gibt keine *Legal*-Reaktion mehr.

Dem Corotoxigenin kommt auf Grund dieser Umsetzungen mit grosser Wahrscheinlichkeit die Formel V zu. Das Genin unterscheidet sich vom Digitoxigenin nur durch die Aldehydgruppe anstelle einer Methylgruppe an C_{10} .

Die räumliche Lage der Hydroxylgruppen an C_3 und C_{14} ist durch die Bildung des Halbacetals bzw. der Isoverbindung festgelegt. Beide müssen β -ständig sein. Das Aglykon unterscheidet sich somit vom Strophanthidin nur durch das Fehlen der OH-Gruppe an C_5 .



Das vierte kristallisierte Aglykon, das Coroglaucigenin, ist ebenfalls gut wirksam; es enthält nach den Analysendaten zwei Wasserstoffatome mehr als die andern Aglykone. Dieses Plus im Wasserstoffgehalt beruht auf der Tatsache, dass das Coroglaucigenin keine Aldehydgruppe besitzt; denn es gelang nicht, ein Oxim darzustellen. Es bildet aber eine Diacetylverbindung. Da uns nur sehr geringe Substanzmengen zur Verfügung standen, konnten weitere Umsetzungen noch nicht durchgeführt werden; doch steht fest, dass das Aglykon drei Hydroxylgruppen, zwei sekundäre und eine tertiäre besitzt.

5. Vergleich der Aglykone von *Coronilla glauca* mit verwandten Verbindungen anderer Herkunft.

Aus dem Gemisch der Herzglykoside der von uns untersuchten Samen von *Coronilla glauca* sind drei Aglykone erhalten worden, die an C_{10} eine Aldehydgruppe besitzen. Herzglykoside mit einer Aldehydgruppe am Aglykonanteil sind nur wenige beschrieben; mit Sicherheit konnte sie nur beim Strophanthidin, beim Adonitoxigenin¹⁾

¹⁾ A. Katz und T. Reichstein, *Pharm. acta Helv.* **22**, 437 (1947).

aus *Adonis vernalis* und beim Hellebrin¹⁾ aus *Helleborus niger* nachgewiesen werden. Letzteres besitzt als Unterscheidungsmerkmal wie die Scillaglykoside einen doppelt ungesättigten Lactonsechsring. Sehr wahrscheinlich enthalten auch *Sarmentosigenin A*²⁾ und das *Genin* des *Antiarin*³⁾ aus *Antiaris toxicaria* an C_{10} eine Aldehydgruppe.

Sowohl das *Allo-glaucotoxigenin* als auch das *Glaucorigenin* sind isomer mit dem *Strophanthidin*, dem *Adonitoxigenin* und dem *Sarmentosigenin A*, dessen Konstanten in der Tabelle 1 zum Vergleich mit angeführt sind. Zum *Adonitoxigenin* haben die beiden Substanzen aus *Coronilla* besondere Beziehungen, da *Adonitoxigenin* ebenfalls zwei sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe besitzt. Möglicherweise ist das *Allo-glaucotoxigenin* die Alloform des *Adonitoxigenins*.

Ein Isomeres des *Corotoxigenins*, das ein Sauerstoffatom weniger, aber ebenfalls eine Aldehydgruppe enthält, ist bisher noch nicht beschrieben worden. Es unterscheidet sich vom *Digitoxigenin* lediglich durch die Aldehydgruppe.

Das *Coroglaucigenin* besitzt anstelle der Aldehydgruppe eine Methylgruppe und ist isomer mit *Digoxigenin*, *Gitoxigenin*, *Sarmentogenin*, *Periplogenin* und *Allo-Periplogenin*, denen gleichfalls die Formel $C_{23}H_{34}O_5$ zukommt. Die drei ersten Aglykone besitzen ebenfalls je zwei sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe wie das *Coroglaucigenin*. Die Eigenschaften der sechs isomeren Verbindungen sind in der Tabelle 2 vergleichsweise zusammengefasst.

Dem *Coroglaucigenin* steht das *Sarmentogenin* am nächsten. Wie die Tabelle zeigt, unterscheiden sich ihre Acetylverbindungen jedoch sehr stark in den Schmelzpunkten.

6. Vorkommen von herzaktiven Glykosiden bei den *Coronilla*-Arten.

Nicht nur *Coronilla glauca*, sondern auch die meisten anderen Arten dieser Gattung bilden in ihren Samen Herzglykoside. Botanisch wird die Gattung *Coronilla* in die drei Sektionen: *Scorpioides* Benth., *Eucoronilla* Benth. und *Emerus* Desv. eingeteilt. Keine Herzglykoside enthalten nur die beiden einzigen Arten, die zu der letzteren Sektion gehören, nämlich *C. Emerus* L. und *C. emeroides* Boiss. et Sprun. Zur Sektion *Scorpioides* gehört nur eine Art, *C. scor-*

¹⁾ W. Karrer, *Helv.* **26**, 1353 (1943); J. Schmutz, *Pharm. acta Helv.* **22**, 373 (1947); T. Reichstein und A. Buzas, *Helv.* **31**, 110 (1948).

²⁾ J. Schmutz und T. Reichstein, *Pharm. acta Helv.* **22**, 167 (1947).

³⁾ R. Tschesche und W. Haupt, *B.* **69**, 1377 (1936).

Tabelle 2.

Zum Vergleich von Coroglaucigenin mit Isomeren anderer Herkunft.

Genin C ₂₃ H ₃₄ O ₅	Smp.	Drehwert	Acetylverbindung	
			Smp.	Drehwert
Coroglaucigenin	249—250 ⁰	$[\alpha]_D^{20} = +23,0^0$ (Meth.)	222—223 ⁰	
Sarmentogenin	265—275 ^{0 1)}	$[\alpha]_D^{19} = +21,1^0$ (Meth.) ¹⁾	130—155 ^{0 1)}	$[\alpha]_D^{20} = +9,4^0$ (Chl.) ¹⁾
Digoxigenin	222 ^{0 2)}	$[\alpha]_{5461}^{20} = +27,0^0$ (Meth.) ²⁾		
Gitoxigenin	234 ^{0 3)}	$[\alpha]_D = +32,6^0$ (Meth.) ⁴⁾ $[\alpha]_{5461}^{20} = +38,4^0$ (Meth.) ³⁾	249—250 ^{0 5)}	
			264—265 ^{0 6)}	
Periplogenin	232 ^{0 7)} 135—140 ^{0 7)} / 233—235 ^{0 9)}	$[\alpha]_D^{20} = +29,8^0$ (Meth.) ⁸⁾	230—242 ^{0 9) 10)}	$[\alpha]_D^{14} = +46,7^0$ (Chl.) ^{9) 10)}
Allo-periplogenin	220—246 ^{0 9)}	$[\alpha]_D^{16} = +40,6^0$ (Meth.) ⁹⁾	194—197 ^{0 9) 10)} 212—226 ^{0 9)}	$[\alpha]_D^{11} = +52,5^0$ (Chl.) ^{9) 10)}

pioides (L.) Koch; sowohl diese wie die Arten der Sektion *Euoronilla* enthalten nach unseren Befunden Herzglykoside; es sind dies:

<i>C. cappadocica</i> Willd.,	<i>C. orientalis</i> Mill.,
<i>C. coronata</i> L.,	<i>C. parviflora</i> Willd.,
<i>C. cretica</i> L.,	<i>C. repanda</i> (Poir.) Boiss.,
<i>C. glauca</i> L.,	<i>C. vaginalis</i> Lam.,
<i>C. juncea</i> L.,	<i>C. valentina</i> L.,
<i>C. minima</i> L.,	<i>C. varia</i> L.,
<i>C. montana</i> Scop.,	<i>C. viminalis</i> Salisb.

Da in dieser Aufzählung fast alle bekannten Arten der *Euoronilla*-Gruppe enthalten sind, so scheint hier das Vorkommen von Herzglykosiden mit der botanischen Umgrenzung der Sektionen zusammenzufallen.

1) *A. Katz*, *Helv.* **31**, 999 (1948).

2) *S. Smith*, *Soc.* **1930**, 508.

3) *S. Smith*, *Soc.* **1931**, 23.

4) *M. Cloetta*, *Arch. Exp. Path. Pharmacol.* **112**, 260 (1926).

5) *K. Westphal*, *Diss.* Göttingen 1928.

6) *K. Meyer*, *Helv.* **29**, 722 (1946).

7) *W. A. Jacobs* und *A. Hoffmann*, *J. Biol. Chem.* **79**, 519 (1928).

8) *A. Stoll* und *J. Renz*, *Helv.* **22**, 1193 (1939).

9) *A. Katz* und *T. Reichstein*, *Pharm. acta Helv.* **19**, 231 (1944); *Helv.* **28**, 476 (1945).

10) *P. Speiser* und *T. Reichstein*, *Helv.* **30**, 2143 (1947).

Experimenteller Teil.

1. Darstellung eines Präparates von genuinen Glykosiden.

Die Samen der *Coronilla glauca*, die aus der Umgebung von Lissabon stammten, wurden mitsamt der Fruchtschale (Perikarp) in einer Walzenmühle fein vermahlen und dann in einem Perkolator mit Petroläther entfettet. Durch erschöpfende Extraktion konnten durchschnittlich 15% Öle und Fettstoffe abgetrennt werden.

1 kg der entfetteten Samen wurden nun mit Methanol bei Zimmertemperatur extrahiert. Es wurde dafür wasserfreier Methylalkohol verwendet, da, wie Vorversuche zeigten, dieses Lösungsmittel am wenigsten Ballaststoffe mitnimmt und dennoch die Herzglykoside rasch herauslöst. Es kann aber auch wässriger Methylalkohol für die Extraktion verwendet werden, während absoluter Alkohol die Herzglykoside etwas langsamer extrahiert. Nach 5-maliger Extraktion unter Umrühren während je 1 Stunde mit je 5 Liter Methanol waren die Herzglykoside in Lösung gegangen. Der gelblichgrüne Extrakt wurde im Vakuum auf ca. 2 Liter konzentriert. Dabei scheidet sich eine in Methanol schwerlösliche Substanz ab, die aber keine *Legal*-Reaktion gibt. Eine zur Trockne eingedampfte Probe ergab, dass etwa 10—12% des Trockengewichts der Samen extrahiert worden waren. Von dem in Methanol und Wasser leicht löslichen Rückstand betrug die letale Dosis bei der Katze nach *Hatcher* 4,86 mg/kg.

Der auf 2 Liter konzentrierte methylalkoholische Rohextrakt wurde mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt, wobei sich etwas grüne, harzige Substanzen abschieden. Das mit Hilfe einer Glasfilternutsche abgetrennte Harz enthielt keine Herzglykoside. Das klare Filtrat wurde mit Bleiacetat behandelt, der dicke Bleiniederschlag abzentrifugiert und mit 50-proz. Methanol gründlich ausgewaschen. Nun engte man das Filtrat im Vakuum auf ca. 1 Liter ein. Von aus der konzentrierten Lösung ausgeschiedenen Krystallen, die keine *Liebermann*'sche Farbreaktion gaben, wurde abfiltriert und die wässrige Lösung mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform nimmt neben fettigen Substanzen in der Hauptsache die Substanz auf, von der sich schon aus der wässrigen Lösung Krystalle ausgeschieden hatten. Sie lässt sich aus Alkohol leicht umkrystallisieren, schmilzt dann bei 163° und wird in einer Ausbeute von ca. 1,2 g erhalten. Es handelt sich um das Furocumarin, das in einer nächsten Arbeit ausführlich besprochen wird.

Aus der wässrigen, mit Chloroform behandelten Lösung wurden die Herzglykoside an Kohle adsorbiert. Nach mehrstündigem Schütteln mit 100 g Kohle war die Lösung nicht mehr bitter und enthielt keine Herzglykoside mehr. Die mit Wasser ausgewaschene Kohle wurde dann mehrmals mit heissem Methanol ausgezogen. Der Eindampfrückstand dieses Extraktes stellte ein hellgelbes, hygroskopisches Pulver (15—18 g) dar, das sehr bitter schmeckt und eine grüne *Liebermann*'sche Farbreaktion gibt. Alle Versuche, aus dieser Fraktion ein Herzglykosid zur Krystallisation zu bringen, misslangen. Auch nach der Acetylierung und Chromatographie des Gemisches der Acetate wurden nur amorphe Fraktionen erhalten. Es gelingt durch Chromatographie des Präparates, das aus der Kohle herausgelöst wird, die Glykoside noch anzureichern. Beim Passieren einer methanolischen Lösung durch eine Säule aus Aluminiumoxyd gehen die Herzglykoside zur Hauptsache mit dem Lösungsmittel. Ein weiterer Anteil kann aus der Säule mit 50-proz. Methylalkohol eluiert werden, während Begleitsubstanzen, die keine Herzglykoside sind, der Säule erst mit verdünnter Essigsäure entzogen werden können. Die Untersuchung dieser sauer reagierenden Substanz ergab, dass in ihr ein Glykosid einer Furocumarinsäure vorliegt; es ist die genuine Muttersubstanz des oben erwähnten bei 163° schmelzenden Furocumarins. Auch dieses Glykosid wird in der folgenden Arbeit beschrieben werden.

Als Beispiel für die Chromatographie eines aus der Kohle eluierten Präparates sei der folgende Versuch wiedergegeben. 3,29 g (entsprechend 170 g entfetteter Samen) wurden in 350 cm³ absolutem Methanol gelöst und durch eine Säule aus 100 g Aluminiumoxyd („Ciba“, für chromatographische Zwecke) filtriert. Es werden 12 Fraktionen

von je 350 cm³ absolutem Methanol, dann 4 Fraktionen von 50-proz. Methanol und schliesslich noch 9 Fraktionen mit 0,02-n. Essigsäure aufgefangen und jede Fraktion für sich im Vakuum zur Trockne eingedampft.

Lösungsmittel	No.	mg	
abs. Methanol	1	58,3	<i>Liebermann'sche</i> Reaktion: grün 1,11 g = 0,65% der Samen. Dieses Präparat liefert 44% Aglykon.
	2	588,1	
	3	159,6	
	4	85,4	
	5	65,0	
	6	39,9	
	7	32,5	
	8	22,0	
	9	18,9	
	10	18,8	
	11	13,4	
	12	12,2	
50-proz. Methanol	13	216,5	<i>Liebermann'sche</i> Reaktion: schwach grün. 0,26 g = 0,15% der Samen. Liefert 36% Aglykon.
	14	26,5	
	15	13,3	
	16	8,2	
0,02-n. Essigsäure	17	26,5	Enthält neben anderen Begleit-substanzen das Furocumarinsäureglykosid ¹⁾
	18	144,1	
	19	152,0	
	20	207,8	
	21	309,1	
	22	252,6	
	23	224,5	
	24	216,8	
	25	177,1	

Der chromatographische Versuch zeigt, dass absolutes Methanol den grössten Teil der Herzglykoside aus der Säule eluiert; 50-proz. Methanol löst mehr wasserlösliche Glykoside heraus, während verdünnte Essigsäure u. a. das Glykosid der Furocumarinsäure eluiert.

Alle mit absolutem Methanol erhaltenen Fraktionen geben eine sehr ähnliche *Liebermann'sche* Farbreaktion. Da keine dieser Fraktionen krystallisierte, wurden sie vereinigt. Das Sammelpräparat enthält die Glykoside der 4 im nächsten Abschnitt beschriebenen Aglykone. Die letale Dosis dieses Präparates beträgt bei der Katze nach *Hatcher* 0,695 mg/kg, die durchschnittliche Ausbeute aus 100 g Samen 0,6–0,7 g.

¹⁾ Dieses Präparat wird in Wasser aufgenommen. Die klar filtrierte Lösung wird mit Kohle geschüttelt und diese mit kaltem Methanol ausgezogen. Die methyalkoholische Lösung hinterlässt nach dem Eindampfen einen kaum gefärbten Rückstand, aus dem nach Anreiben mit wenig Wasser 0,28 g des Furocumarinsäureglykosids vom Smp. 125^o krystallisieren.

Bei der sauren Hydrolyse, die wegen der schweren Verseifbarkeit der Glykoside mit 2-n. Schwefelsäure und unter 5-stündigem Erwärmen am Dampfbad ausgeführt wurde, erhielt man 44% chloroformlöslichen Anteil in Form eines dunkelbraunen Harzes, das nach chromatographischer Aufteilung Fraktionen lieferte, von denen nur wenige und zum kleinsten Teil krystallisierten. Nach Abtrennung der Aglykone wurde die saure Zuckerlösung mit Bariumcarbonat neutralisiert, das Filtrat der Bariumsulfatfällung eingedampft, mehrmals mit absolutem Alkohol aufgenommen und wieder eingedampft. Der Eindampfrückstand stellt ein stark hygroskopisches Pulver dar, das keine für Rhamnose oder andere Desoxyzucker charakteristischen Farbreaktionen gibt.

Optische Drehung: 0,3535 g Substanz in 25 cm³ Wasser, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,87^\circ$.
 $[\alpha]_D^{20} = +30,8^\circ$

Beim Erhitzen mit methylalkoholischer Salzsäure kann das charakteristische α -Methyl-D-glucosid erhalten werden. 0,35 g werden mit 5 cm³ einer 1,4-n. methylalkoholischen Salzsäure während 10 Stunden am Rückfluss erhitzt. Die mit Silbercarbonat neutralisierte Lösung wird nach dem Abfiltrieren der Silbersalze eingedampft. Der Rückstand erstarrt nach dem Anreiben mit Methanol und einigen Impfkristallen allmählich zu einem Krystallbrei. Die Krystalle schmelzen bei 161–162°. Der Mischschmelzpunkt mit α -Methylglucosid liegt bei 162–163°.

Aus diesem Befund kann geschlossen werden, dass die Aglykone dieser Herzglykoside mit Glucose verbunden sind. Emulsin oder ein α -Glucosidasepräparat aus Hefe vermochten keine Spaltung des Glykosidpräparates zu chloroformlöslichen Abbauprodukten zu bewirken. Dagegen wird es durch feingemahlene und entfettete Coronillasamen, aus denen die Herzglykoside mit Alkohol vorgängig ausgezogen waren, rasch abgebaut. Die dabei entstehenden chloroformlöslichen Anteile, die gewichtsmässig der entsprechenden Fraktion der sauren Hydrolyse entsprechen, das ist 40–50% des Glykosidgewichts, enthalten die 4 Coronilla-Aglykone, die im nächsten Abschnitt besprochen werden. Sie können aus dem durch enzymatischen Abbau gewonnenen Aglykonpräparat durch Chromatographie getrennt und dann krystallisiert werden.

2. Abbau der Coronilla-Herzglykoside mit dem spezifischen Enzym der Samen und die Isolierung von 4 krystallisierten Aglykonen.

1 kg mit Petroläther entfettete und feingemahlene Samen werden mit 5 Liter Wasser angerührt und nach Zusatz von etwas Toluol während 48 Stunden bei 37° unter gelegentlichem Umrühren stehen gelassen. Nun wird mit 10 Liter Methylalkohol versetzt, vom wässrigen Methanol abfiltriert und viermal mit je 5 Liter Methanol ausgezogen. Die vereinigten Extrakte werden auf ca. 2,5 Liter konzentriert, mit dem gleichen Volumen Methanol verdünnt, von einer grünlichen, harzigen Abscheidung durch Filtration durch eine Glasfilternutsche abgetrennt und in der üblichen Weise mit Bleiacetat behandelt. Die vom Bleiniederschlag abfiltrierte Lösung wird auf ca. 1 Liter eingedampft und dann erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach dieser Extraktion schmeckt die wässrige Lösung praktisch nicht mehr bitter, und es können durch weitere Ausschüttelungen auch z. B. mit Chloroform-Alkohol-Gemischen keine Herzglykoside mehr daraus isoliert werden.

Die Chloroformlösung hinterlässt nach dem Eindampfen einen dunkelbraunen, z. T. harzigen Rückstand, der nach dem Waschen mit wenig Äther pulverig wird. Das Präparat (ca. 15 g) wird am Dampfbad in der etwa 10-fachen Menge absoluten Alkohols gelöst. Beim Abkühlen scheidet sich aus der dunkelbraunen Lösung eine grosse Menge von Krystallen (7,7 g) ab. Sie sind schwach gelblich gefärbt und geben keine *Liebermann'sche* Farbreaktion; sie schmelzen scharf bei 163° und erweisen sich als identisch mit dem schon mehrfach erwähnten Furocumarin.

Die alkoholische Mutterlauge wird nun zur Trockne eingengt und der im Exsikkator scharf getrocknete Rückstand (6–9 g) in 100–200 cm³ reinem, trockenem Chloroform

Lösungsmittel	No.	mg	
Chloroform	1	583,2 kryst., <i>Liebermann</i> negativ	} Furo-cumarin
	2	616,1 „ „	
	3	65,1 ölig	
	4	140,1 „	
	5	181,2 z. T. kryst.	
Chloroform mit 0,2% Methanol	6	281,7 kryst.	} Corotoxigenin aus Meth. 760 mg Rohkrystallisat
	7	647,7 „	
	8	276,6 „	
	9	199,4 „	
	10	166,0 „	
	11	160,0 „	
	12	135,3 „	
	13	98,5 harzig	
	14	79,7 „	
	15	62,2 „	
Chloroform mit 0,5% Methanol	16	101,9 kryst.	} Allo-glaucotoxigenin aus Meth. 300 mg Rohkrystallisat
	17	122,1 „	
	18	95,3 „	
	19	91,7 „	
	20	93,8 „	
	21	77,7 „	
	22	63,9 „	
	23	51,4 „	
	24	42,2 „	
	25	34,4 „	
Chloroform mit 1% Methanol	26	82,9 kryst.	} Coroglaucigenin aus Meth. 75 mg Rohkrystallisat
	27	75,9 „	
	28	59,6 nur Spuren von Krystallen	
	29	58,8 z. T. kryst.	
	30	50,8 „ „	
	31	39,6 „ „	
	32	30,4 „ „	
	33	26,7 „ „	
	34	21,6 „ „	
	35	15,7 harzig	
Chloroform mit 5% Methanol	36	327,2 harzig	} Glaucorigenin aus Meth. 90 mg Rohkrystallisat
	37	155,6 z. T. kryst.	
	38	69,0 „ „	
	39	42,8 „ „	
	40	25,8 „ „	
	41	20,2 „ „	
	42	11,3 harzig	
Chloroform mit 10% Meth.	43	23,5 harzig	
	44	23,3 „	
	45	14,5 „	
Chloroform mit 20% Meth.	46	47,6 harzig	
	47	24,7 „	
	48	16,0 „	

aufgenommen. Nach mehrstündigem Stehen scheiden sich neben braunen Harzen allmählich Krystalle ab, von denen nach 24 Stunden abfiltriert wird. Diese Fraktion (0,6—1,5 g) zeigt eine positive *Liebermann*-Reaktion und einen positiven *Legal*-Test. Durch Umkrystallisieren aus 80-proz. Methanol erhält man eine bereits ziemlich reine Krystallfraktion (0,7 g), die das Allo-glucotoxigenin darstellt. Ein restlicher Anteil dieses Genins ist noch in der Chloroformlösung enthalten. Diese lässt man nach dem Verdünnen mit Chloroform auf 600 cm³ durch eine Säule aus 180 g Aluminiumoxyd laufen und eluiert hierauf mit den in der nachfolgenden Tabelle angeführten Lösungsmitteln (je 600 cm³). Die einzelnen Fraktionen werden im Vakuum zur Trockne eingedampft und zur Krystallisation gebracht gemäss vorstehender Zusammenstellung.

Wie die tabellarische Zusammenstellung zeigt, wird mit reinem Chloroform aus der Säule zuerst noch Furocumarin herausgelöst. Chloroform, das 0,2% Methanol enthält, eluiert eine grösstenteils in Prismen krystallisierende Verbindung, die Corotoxigenin repräsentiert. Mit Chloroform und 0,5% Methanol tritt ein weiteres Genin aus der Säule aus, das in Nadelbüscheln, an den Glaswänden oftmals in eisblumenartig gruppierten Krystallen erscheint. Dieses Genin ist identisch mit dem in Chloroform schwer löslichen Allo-glucotoxigenin, dessen Hauptmenge schon vor der chromatographischen Trennung der Chloroformlösung krystallisiert ist. Durch einen erhöhten Zusatz (1%) von Methanol zum Chloroform wird in geringer Menge eine in kleinen Nadelbüscheln krystallisierende Substanz herausgelöst, die das Coroglaucigenin darstellt. Schliesslich wird nach einem Zusatz von 5% Methanol zum Chloroform das Glaucorigenin eluiert, das wie das Coroglaucigenin in nur geringer Menge vorhanden ist. Es krystallisiert beim Anreiben der Fraktionen mit Methanol in dicken, kurzen, zu Büscheln gruppierten Prismen.

Die vier Genine unterscheiden sich, wie weiter oben gezeigt wurde, sehr deutlich in der Farbenfolge bei der *Liebermann*'schen Reaktion. Die Reindarstellung der einheitlichen, krystallisierten Aglykone gelingt durch mehrfaches fraktioniertes Umkrystallisieren, wie bei der Besprechung der einzelnen Genine im folgenden gezeigt wird.

3. Allo-glucotoxigenin.

Dieses Genin krystallisiert, wie oben erwähnt, vermischt mit braunen Harzen, zum grössten Teil schon vor der chromatographischen Trennung aus der Chloroformlösung aus. Es wird in möglichst wenig siedendem 80-proz. Methanol aufgenommen. Während das Genin sich beim Abkühlen der Lösung als krystallines Pulver oder in Form von groben Prismen ausscheidet, bleiben harzige Verunreinigungen in Lösung. Das Krystallisat wird mit der entsprechenden Fraktion aus der Säule (Nr. 16—27) vereinigt und aus ca. der 30-fachen Menge siedendem 70-proz. Alkohol unter Zusatz von etwas Kohle umkrystallisiert. Die Verbindung erscheint nun in derben Spiessen und länglichen, schräg abgeschrittenen, z. T. gekreuzten Prismen. Zur Analyse wird nochmals aus 70-proz. Alkohol umkrystallisiert. Das Allo-glucotoxigenin schmilzt unter Zersetzung bei 235°. 3,799; 4,019 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 9,51; 10,04 mg CO₂ und 2,74; 2,84 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₂ O ₆ (404,2)	Ber. C 68,30	H 7,97%
	Gef. „ 68,31; 68,17	„ 8,07; 7,91%

Optische Drehung: 0,1019 g im Hochvakuum getrocknete Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,22^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +26,9^\circ$$

Liebermann'sche Farbreaktion. 5 mg Substanz in 5 cm³ Essigsäureanhydrid, das 2% konz. Schwefelsäure enthält: schwach rosa – graurosa – gelblichgrün – hellgelb. Bei der *Legal*-Probe entsteht eine Rotfärbung, mit Trichloressigsäure nach *Rosenheim* entsteht keine Färbung. Das Allo-glucotoxigenin gibt mit Digitonin keine Fällung.

Lactontitration: 0,1270; 0,1210 hochvakuumtrockene Substanz werden in 10 cm³ Methanol und 10,00 cm³ 0,1-n. Natronlauge gelöst. Nach 48-stündigem Aufbewahren bei 20° wird die Lösung gegen Phenolphthalein titriert. Es werden 3,17; 3,15 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure verbraucht.

C₂₃H₃₂O₆ Äquivalentgewicht Ber. 404,2 Gef. 400,6; 384,2

Die Acetylverbindung: 1 g des reinen Allo-glaucotoxigenins wird in Pyridin mit Essigsäureanhydrid bei 20° acetyliert. Nach 60 Stunden giesst man die Lösung in Eiswasser und filtriert von der entstandenen flockigen Fällung (1,2 g) ab. Beim Umkrystallisieren aus 20 cm³ heissem Methanol und 10 cm³ Wasser werden lange Nadeln erhalten. Die Substanz wird nochmals in wenig heissem Methanol unter Zugabe von 20% Wasser aufgenommen und die Lösung von einer geringen Trübung durch etwas Talk rasch filtriert. Im Filtrat scheiden sich sogleich Nadeln ab, die zur Analyse aus 90% Methanol nochmals umkrystallisiert werden. Die Acetylverbindung schmilzt bei 192—193°; sie hält $\frac{1}{2}$ Mol Krystallwasser hartnäckig gebunden.

4,375; 4,202 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 10,487; 10,061 mg CO₂ und 3,023; 2,893 mg H₂O

5,652; 5,161 mg Subst. verbrauchten 2,262; 2,122 cm³ 0,01-n. NaOH

C ₂₇ H ₃₆ O ₈ , $\frac{1}{2}$ H ₂ O	Ber. C 65,13	H 7,50	COCH ₃ (2) 17,29%
(497,3)	Gef. „ 65,37	„ 7,73	„ 17,22%
	65,30	7,70	17,69%

Aus der zehnfachen Menge Methanol krystallisierte Probe nach dem Trocknen bei höherer Temperatur:

3,771 mg im Hochvakuum bei 140° getrocknete Substanz gaben 9,164 mg CO₂ und 2,583 mg H₂O

C₂₇H₃₆O₈ (488,3) Ber. C 66,35 H 7,43% Gef. C 66,28 H 7,66%

Optische Drehung: 0,2118; 0,2049 g Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = -0,15^\circ$; $-0,15^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -8,8^\circ; -9,5^\circ$$

Liebermann'sche Farbreaktion: rosa – violett – hellviolettbraun – bräunlichgrün – gelb – orange.

Das Oxim der Diacetylverbindung des Allo-glaucotoxigenins. 500 mg der Acetylverbindung und 250 mg salzsaures Hydroxylamin werden in 10 cm³ Alkohol gelöst. Nach Zugabe einer Lösung von 500 mg kryst. Natriumacetat in 5 cm³ Wasser wird das Gemisch während 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Dann wird die Reaktionslösung mit Wasser verdünnt und mit Chloroform ausgezogen. Der Verdampfungsrückstand der mit Wasser gewaschenen und getrockneten Chloroformlösung wiegt 0,59 g. Das Rohprodukt wird nun in 0,2 cm³ Methanol gelöst und mit 2 cm³ heissem Wasser versetzt, worauf das Oxim sofort auskrystallisiert. Beim Umkrystallisieren aus Aceton und schliesslich aus der 6—8fachen Menge heissem Methanol werden flache Prismen erhalten, die bei 265° schmelzen.

5,499; 4,849 mg im Hochvakuum bei 120° getrocknete Substanz gaben 12,961; 11,416 mg CO₂ und 3,675; 3,211 mg H₂O

4,792; 6,143 mg Substanz gaben bei 20° und 747; 745 mm 0,121; 0,159 cm³ N₂

C ₂₇ H ₃₇ O ₈ N	Ber. C 64,37	H 7,41	N 2,78%
(503,3)	Gef. „ 64,28; 64,21	„ 7,48; 7,41	„ 2,89; 2,95%

Optische Drehung: 0,1900 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = -0,09^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -5,9^\circ (\pm 1^\circ)$$

Oxydation der Diacetylverbindung mit Chromsäure. 200 mg der Diacetylverbindung werden in 20 cm³ reinem Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 60 mg

Chromsäure in einem Tropfen Wasser versetzt. Nach 20-stündigem Aufbewahren bei Zimmertemperatur wird die Lösung im Vakuum eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Beim Waschen der Chloroformlösung mit eiskalter 2-proz. Hydrogencarbonatlösung zur Aufnahme der gebildeten Carbonsäure entsteht eine Emulsion, die durch Zentrifugieren entmischt wird. Die mit Chloroform gewaschene Hydrogencarbonatlösung wird mit Salzsäure angesäuert und die in Freiheit gesetzte Carbonsäure wieder mit Chloroform aufgenommen. Der Eindampfrückstand der mit Wasser gewaschenen und getrockneten Chloroformlösung, der 80 mg wiegt, kristallisiert beim Anreiben mit Methanol in groben Prismen (60 mg), die zunächst aus der 100-fachen Menge siedendem Methanol, für die Analyse nochmals aus 50-proz. Methanol umkristallisiert werden. Die Substanz erscheint aus diesem Lösungsmittel in Prismen, die bei 181° schmelzen.

3,203; 3,101 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 7,508; 7,289 mg CO₂ und 2,158; 2,146 mg H₂O

C ₂₇ H ₃₆ O ₉ (504,3)	Ber. C 64,24	H 7,20%
	Gef. „ 63,93; 64,11	„ 7,54; 7,54%

Optische Drehung: 41,9 mg Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,01^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +3,0^\circ (\pm 2^\circ)$$

Die Isoverbindung des Allo-glaucotoxigenins. Zu einer Lösung von 500 mg des Genins in 60 cm³ Methanol werden 30 cm³ 0,1-n. Natronlauge hinzugefügt. Nach zweitägigem Stehen bei 20° wird die Lösung angesäuert, worauf sich allmählich Nadeln (0,47 g) abscheiden. Nach dem Auflösen derselben in 30 cm³ 60-proz. Dioxan und Verdünnen mit 45 cm³ Wasser scheiden sich rasch Nadeln (0,41 g) ab, die bei 253—254° schmelzen. Zur Analyse wird die Substanz nochmals aus 50-proz. Methanol umkristallisiert, wodurch der Smp. auf 257° ansteigt. Die *Legal*-Reaktion, die den ungesättigten Lactonfüßring anzeigt, ist nun negativ.

4,505; 4,111 mg im Hochvakuum bei 120° getrocknete Substanz gaben 11,288; 10,354 mg CO₂ und 3,397; 2,895 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₂ O ₆ (404,2)	Ber. C 68,30	H 7,97%
	Gef. „ 68,35; 68,69	„ 8,44; 7,88%

Optische Drehung: 0,1979 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ 75-proz. Dioxan, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,02^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +1,2^\circ (\pm 1^\circ)$$

Das Acetylderivat der Isoverbindung. 0,19 g der Isoverbindung werden in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Nach dem Eingiessen der Reaktionslösung in Wasser wird die vorerst harzige Fällung bald fest. Das Präparat kann aus konz. methanolischer Lösung durch Zugabe von einigen Tropfen Wasser kristallisiert werden. Eine zuerst auftretende ölige Abscheidung kristallisiert beim Kratzen mit dem Glasstab in kleinen Nadeln rasch durch. Nach nochmaligem Umkristallisieren schmelzen die Nadeln bei 141—142°.

3,289; 4,020 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Substanz gaben 8,136; 9,832 mg CO₂ und 2,470; 2,802 mg H₂O

6,005; 5,722 mg Substanz verbrauchten 1,399; 1,28 cm³ 0,01-n. NaOH

C ₂₅ H ₃₄ O ₇ (446,3)	Ber. C 67,21	H 7,68	COCH ₃ (1) 9,64%
	Gef. „ 67,47; 66,70	„ 8,40; 7,80	„ 10,02; 9,62%

Die Isoverbindung kann nur eine Acetylgruppe binden im Gegensatz zum Allo-glaucotoxigenin, das ein Diacetylderivat liefert.

Das Cyclohalbacetal aus dem Allo-glaucotoxigenin. Eine klare Lösung von 200 mg fein pulverisiertem Genin in 15 cm³ siedendem Methanol wird rasch abgekühlt

und sofort mit 25 cm³ einer methylalkoholischen Salzsäure (äquivalent 20 cm³ 2-n. Natronlauge) versetzt. Die Lösung wird während 3 Tagen bei 30° gehalten, hierauf mit Silbercarbonat neutralisiert, filtriert und zur Trockne eingedampft. Nun wird der Rückstand mit Methanol angerieben, wobei er rasch durchkrystallisiert (110 mg). Man nimmt ihn in 22 cm³ siedendem Aceton auf und konzentriert vorsichtig auf dem Dampfbad, wobei sich bald kleine Prismen abscheiden. Nach mehrmaligem Aufnehmen in Aceton und Konzentrieren der Lösung bis zur beginnenden Krystallisation und nach Umkrystallisieren aus Aceton-Hexan wird ein Präparat erhalten, das bei 210° schmilzt.

3,177 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 8,055 mg CO₂ und 2,340 mg H₂O

4,905 mg Substanz gaben 3,047 mg AgJ

C ₂₄ H ₃₄ O ₆	Ber. C 68,86	H 8,18	OCH ₃ 7,42%
(418,2)	Gef. „ 69,15	„ 8,24	„ 8,21%

Unter den vorsichtigen Reaktionsbedingungen ist die Bildung des Halbacetals erfolgt, ohne dass die tertiäre Hydroxylgruppe an C₁₄ abgespalten worden ist.

4. Corotoxigenin.

Das Corotoxigenin wird mit Chloroform, das 0,2% Methanol enthält, aus der Säule eluiert. Beim Anreiben der zur Trockne eingedampften Fraktionen mit wenig Methanol krystallisiert das Genin aus. Man lässt es zur weiteren Reinigung nochmals durch eine kleine Säule aus Aluminiumoxyd laufen und eluiert es wieder mit methanolhaltigem Chloroform. Dann wird es aus 80-proz. Methanol umkrystallisiert, wobei sich dicke Nadeln und längliche Prismen abscheiden. Aus stärker wässrigen und verdünnteren Lösungen scheidet sich dieses Genin in feinen Nadeln ab. Die beiden Krystallformen zeigen im übrigen identische Eigenschaften. Durch mehrmaliges Umkrystallisieren steigt der Smp. bis auf 221°.

3,228; 3,231 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 8,435; 8,435 mg CO₂ und 2,402; 2,423 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₂ O ₅ (388,26)	Ber. C 71,10	H 8,31%
	Gef. „ 71,27; 71,20	„ 8,33; 8,39%

Optische Drehung: 0,1004; 0,1005 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: α = +0,35°; +0,34°.

$$[\alpha]_D^{20} = +43,6; +42,3^{\circ}$$

Die *Legal*-Reaktion ist positiv. Bei der *Liebermann*'schen Reaktion findet ein Farbübergang von rosa – grau violett – bräunlichviolett – grünlichbraun – braun – gelb – orange statt. Besonders der braune Farbton ist charakteristisch für dieses Aglykon. Es gibt in 95-proz. Alkohol mit Digitonin keine Fällung.

Lactontitration: 0,1530; 0,1474 g hochvakuumtrockene Substanz werden in 10 cm³ Methanol und 5 cm³ Wasser in der Wärme gelöst und dann mit 10,0 cm³ 0,1-n. Natronlauge versetzt. Nach 48 Stunden wird mit Phenolphthalein als Indikator titriert; es werden 3,82; 3,68 cm³ 0,1-n. Schwefelsäure verbraucht.

C₂₃H₃₂O₅ Äquivalentgewicht Ber. 388,26 Gef. 400,5; 400,6

Die Acetylverbindung des Corotoxigenins. 1 g des Genins wird in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Nach 48 Stunden wird die Reaktionslösung in Wasser gegossen, wobei 1,08 g rohe Acetylverbindung ausfallen. Sie wird in siedendem 90-proz. Methanol gelöst und scheidet sich nach Zugabe des gleichen Volumens heissen Wassers in Prismen ab, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 256° schmelzen.

3,129; 3,998; 3,700 mg im Hochvakuum bei 110° getrocknete Substanz gaben 8,018; 10,24; 9,46 mg CO₂ und 2,244; 2,80; 2,58 mg H₂O

7,736; 6,130 mg Substanz verbrauchten 1,728; 1,428 cm³ 0,01-n. KOH

C ₂₅ H ₃₄ O ₆	Ber. C 69,71	H 7,97	COCH ₃ (1) 9,99%
(430,3)	Gef. ,, 69,89; 69,90; 69,77	„ 8,03; 7,84; 7,80	„ 9,62%; 10,03%

Optische Drehung: 0,120 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ 90-proz. Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,26^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +31,8^\circ$$

Das Oxim aus dem Acetat des Corotoxigenins, 50 mg reine Acetylverbindung werden in 2,5 cm³ 90-proz. Alkohol, der die Substanz nicht völlig zu lösen vermag, aufgenommen und mit 25 mg salzsaurem Hydroxylamin und 50 mg kryst. Natriumacetat versetzt. Nach kurzem Kochen auf dem Dampfbad entsteht eine klare Lösung, die wie beim Oxim des Allo-glucotoxigenins aufgearbeitet wird. Die Chloroformlösung hinterlässt nach dem Abdampfen 60 mg Substanz, die sich beim Anreiben mit Methanol in Krystalldrusen (35 mg) verwandelt. Beim Umkrystallisieren aus 3 cm³ Methanol erscheint das Oxim in kleinen Prismen, die bei 252—255° unter Zersetzung schmelzen.

3,799 mg im Hochvakuum bei 90° getrocknete Substanz gaben 9,39 mg CO₂ und 2,56 mg H₂O

5,726 mg Substanz gaben 0,138 cm³ N₂ (20°/731 mm)

C ₂₅ H ₃₅ O ₆ N	Ber. C 67,45	H 7,54	N 2,70%
(445,56)	Gef. ,, 67,37	„ 7,91	„ 3,14%

Oxydation der Acetylverbindung mit Chromsäure. 200 mg der Acetylverbindung des Corotoxigenins werden, wie beim Allo-glucotoxigenin beschrieben wurde, oxydiert. Die beim Verdampfen der Chloroformlösung hinterbleibende rohe Säure (150 mg) erscheint nach Anreiben mit Methanol in Form von kleinen Polyedern (100 mg). Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus wenig Methanol unter Zugabe von bis zu 30% Wasser wird die Carbonsäure rein erhalten und schmilzt dann bei 218—220° unter Zersetzung.

3,126; 3,014 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 7,716; 7,403 mg CO₂ und 2,233; 2,108 mg H₂O

C ₂₅ H ₃₄ O ₇	Ber. C 67,22	H 7,69%
(446,3)	Gef. ,, 67,32; 66,99	„ 7,99; 7,83%

Die Isoverbindung aus Corotoxigenin. Eine Lösung von 0,50 g des Aglykons in 60 cm³ Methanol wird mit 30 cm³ 0,1-n. Natronlauge vermengt. Nach 2-tägigem Stehen bei Zimmertemperatur hat sich die Lösung orange-gelb verfärbt; sie wird angesäuert und etwas konzentriert, wobei sich neben einer öligen Abscheidung auch Krystalle bilden. Die abfiltrierte Substanz wird aus wenig siedendem Methanol umkrystallisiert und erscheint dabei in dünnen Blättchen. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Methanol ist das Präparat analysenrein und schmilzt bei 234—235°. Die Legal-Reaktion ist negativ. 4,880 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 12,783 mg CO₂ und 3,696 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₂ O ₅	(388,26)	Ber. C 71,10	H 8,31%	Gef. C 71,44	H 8,47%
--	----------	--------------	---------	--------------	---------

Optische Drehung: 0,1879 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,63^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = +42,0^\circ$$

Das Cyclohalbacetal aus dem Corotoxigenin. 250 mg fein gepulvertes Genin werden in 10 cm³ methylalkoholischer Salzsäure (äquivalent ca. 8 cm³ 2-n. NaOH), worin sich die Substanz rasch vollständig löst, aufgenommen. Nach zweitägigem Stehen bei 20° wird die schwach gelblich gefärbte Lösung mit Silbercarbonat neutralisiert. Der Eindampfrückstand des Filtrates scheidet beim Anreiben mit Methanol 105 mg Krystalle ab, die aus Aceton-Äther unter Zugabe von Hexan mehrmals umkrystallisiert werden.

Die Substanz krystallisiert in schräg abgeschnittenen Blättchen, die bei 187° unter Zersetzung schmelzen und ihr Krystallwasser erst beim Erwärmen auf 120° im Hochvakuum ganz verlieren.

3,072; 3,123 mg im Hochvakuum bei 80° getrocknete Substanz gaben 7,883; 8,014 mg CO₂ und 2,312; 2,303 mg H₂O

4,241 mg Substanz gaben 2,785 mg AgJ

C ₂₂ H ₃₄ O ₅ , $\frac{1}{2}$ H ₂ O	Ber. C 70,03	H 8,58	OCH ₃ 7,54%
(411,3)	Gef. ,, 69,98; 69,98	„ 8,42; 8,25	„ 8,68%

4,087 mg im Hochvakuum bei 120° getrocknete Substanz gaben 10,702 mg CO₂ und 3,111 mg H₂O

5,013 mg Substanz gaben 3,031 mg AgJ

C ₂₄ H ₃₄ O ₅	Ber. C 71,60	H 8,53	OCH ₃ 7,10%
(402,3)	Gef. ,, 71,41	„ 8,52	„ 7,99%

Unter den angegebenen Reaktionsbedingungen ist die tertiäre Hydroxylgruppe an C₁₄ in der Verbindung vom Smp. 187° trotz der Einwirkung methylalkoholischer Salzsäure erhalten geblieben.

5. Coroglaucigenin.

Dieses Aglykon scheidet sich in geringer Menge gleichzeitig mit ziemlich viel Begleitstoffen aus den Säulenfraktionen, die mit Chloroform und 1% Methanol eluiert wurden, ab (vgl. die Tabelle S. 307). Das Rohprodukt (125 mg) wird in möglichst wenig (ca. 5 cm³) siedendem 70-proz. Methanol aufgenommen. Beim Abkühlen scheidet sich zuerst eine voluminöse, in sehr feinen Nadeln krystallisierende, gelblich gefärbte Substanz ab. Davon wird abfiltriert, sobald sich kompaktere Plättchen abzuscheiden beginnen. Die gelbliche Substanz schmilzt bei 240° und gibt keine *Liebermann'sche* Farbreaktion. Nach dem Verdünnen des Filtrates mit etwas Wasser scheiden sich noch weitere Plättchen ab. Diese Krystallfraktion (60 mg) wird mehrmals aus 70-proz. Alkohol umkrystallisiert; anfangs muss gegebenenfalls noch von feinen Nadeln abfiltriert werden. Schliesslich erhält man einheitliche, rechteckige, oft einseitig schief abgeschnittene Plättchen, die bei 249–250° unter Zersetzung schmelzen. Die *Liebermann'sche* Farbreaktion dieser Substanz ist sehr charakteristisch und zeigt einen Übergang von einem ziemlich beständigen intensiven Grasgrün über Grüngelb zu einem sehr beständigen Rot.

4,307; 3,858 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 11,135; 10,040 mg CO₂ und 3,442; 3,164 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₄ O ₅ (390,3)	Ber. C 70,71	H 8,79%
	Gef. ,, 70,51; 70,97	„ 8,94; 9,18%

Optische Drehung: 0,0599 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = +0,11^{\circ}$.

$$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +23,0^{\circ}$$

Das Coroglaucigenin gibt eine positive *Legal*-Probe. Bei der *Keller-Kiliani'schen* Farbreaktion (Lösen der Substanz in eisenchloridhaltigem Eisessig und Unterschichten mit konz. Schwefelsäure) entsteht ein wenig charakteristischer, gelbbrauner Ring. Das Genin gibt in 95-proz. Alkohol mit Digitonin keine Fällung.

Acetylverbindung des Coroglaucigenins. 34 mg des Genins werden in Pyridin mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Nach 15 Stunden wird das Gemisch in Eiswasser eingegossen; eine zuerst entstehende Trübung geht allmählich in eine krystalline Fällung (34 mg) über. Diese wird aus 50-proz. Methanol umkrystallisiert und erscheint dabei in Blättchen, die bei 222–223° schmelzen.

4,064; 3,846 mg im Hochvakuum bei 120° getrocknete Substanz gaben 10,188; 9,647 mg CO₂ und 3,032; 2,866 mg H₂O

5,737; 5,820 mg Substanz verbrauchten 2,362; 2,422 cm³ 0,01-n. NaOH

C ₂₇ H ₃₈ O ₇	Ber. C 68,30	H 8,07	COCH ₃ (2) 18,13%
(474,3)	Gef. ,, 68,37; 68,41	„ 8,35; 8,34	„ 17,71; 17,90%

6. Glaucorigenin.

Dieses Genin wird erst mit Chloroform, das 5% Methanol enthält, aus der Säule eluiert. Es ist als letztes Genin, das die Säule verlässt, am leichtesten zu reinigen. Beim Anreiben der Fraktionen mit Methanol scheiden sich schöne Krystalldrusen ab, die noch mehrmals aus möglichst wenig heissem Methanol (ca. 20-fache Menge) umkrystallisiert werden. Das reine Genin krystallisiert in Nadelbüscheln, die bei 228° schmelzen.

3,897; 3,635; 4,205 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 9,736; 9,126; 10,536 mg CO₂ und 2,792; 2,693; 3,016 mg H₂O

C ₂₃ H ₃₂ O ₆ (404,2)	Ber. C 68,30;	H 7,97%
	Gef. „ 68,14; 68,47; 68,33	„ 8,02; 8,29; 8,02%

Optische Drehung: 0,1390 g hochvakuumtrockene Substanz in 25 cm³ Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = -0,96^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -86,3^\circ$$

Die *Legal*-Reaktion ist positiv. Bei der *Liebermann*'schen Farbreaktion findet ein Übergang von rosaviolett – dunkelgrün – gelbbraun statt. Die dunkelgrüne Färbung ist ziemlich beständig. Das Glaucorigenin gibt keine Fällung mit Digonin.

Acetylverbindung des Glaucorigenins. 0,26 g des Genins werden in Pyridinlösung mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Nach 48 Stunden wird das Reaktionsgemisch in Eiswasser eingegossen und die Fällung (0,17 g) abfiltriert. Diese lässt sich aus siedendem 90-proz. Methanol (500–700fache Menge) krystallisieren und wird dann in der etwa 1000-fachen Menge siedendem Aceton gelöst. Bei vorsichtigem Einengen der Acetonlösung am Dampfbad bis zur beginnenden Krystallisation scheiden sich feine Nadeln ab, die bei 295–296° schmelzen.

5,108 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 12,473 mg CO₂ und 3,349 mg H₂O

3,847 mg Substanz verbrauchten 1,858 cm³ 0,01-n. NaOH

C ₂₇ H ₃₆ O ₈	Ber. C 66,35	H 7,43	(OCH ₃) ₂ 17,61%
(488,3)	Gef. „ 66,60	„ 7,34	„ 20,78%

Wiederholte Reinigungsversuche führten stets zu Präparaten, die bei der Acetylbestimmung zu hohe Werte ergaben. Es scheint, dass ein Gemisch von Di- und Triacetylderivaten vorliegt. Ähnliche Verhältnisse bestehen beim Gitoxin, dessen Acetylderivat auch zu hohe Acetylwerte lieferte¹⁾.

Optische Drehung: 0,0440 g hochvakuumtrockene Substanz in 100 cm³ 90-proz. Methanol, 2 dm-Rohr: $\alpha = -0,17^\circ$.

$$[\alpha]_D^{20} = -193^\circ$$

Oxim der Acetylverbindung des Glaucorigenins. 135 mg der Acetylverbindung werden mit 140 mg salzsaurem Hydroxylamin gemischt und nach Zugabe von 3 cm³ Pyridin und 3 cm³ absolutem Alkohol während 4 Stunden am Dampfbad erwärmt. Dann wird die Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Wasser gewaschen und getrocknet (120 mg). Nach dem Aufnehmen in 5 cm³ siedendem Methanol scheiden sich Nadeln ab, die zur Analyse nochmals aus der 10-fachen Menge siedendem Methanol umkrystallisiert werden (60 mg); sie schmelzen bei 251°.

3,785 mg im Hochvakuum bei 100° getrocknete Substanz gaben 9,042 mg CO₂ und 2,547 mg H₂O

4,921 mg Substanz gaben 0,132 cm³ N₂ (22°/745 mm)

C ₂₇ H ₃₇ O ₈ N	Ber. C 64,90	H 7,48	N 3,06%
(503,6)	Gef. „ 65,15	„ 7,53	„ 3,04%

¹⁾ A. Windaus, K. Westphal und G. Stein, B. **61**, 1847 (1928).

Zusammenfassung.

Coronilla glauca enthält ein kompliziertes Gemisch von Herzglykosiden, die sich aus verschiedenen Geninen und Glucose aufbauen. Bei der Einwirkung eines spezifischen Samenenzyms wird die Zucker-Aglykon-Bindung gelöst. Es ist unseres Wissens damit zum ersten Male ein spezifisches herzglykosidspaltendes Enzym, das sein Substrat bis zum Aglykon abbaut, bekannt geworden.

Aus dem Gemisch der Aglykone konnten neben erheblichen Mengen eines Furocumarins vier verschiedene Verbindungen mit dem Kohlenstoffgerüst der Genine von Herzglykosiden in kristallisierter Form isoliert, analysiert und beschrieben werden, nämlich:

Allo-glaucotoxigenin	$C_{23}H_{32}O_6$
Corotoxigenin	$C_{23}H_{32}O_5$
Coroglaucigenin	$C_{23}H_{34}O_5$
Glaucorigenin	$C_{23}H_{32}O_6$

Allo-glaucotoxigenin, Corotoxigenin und Glaucorigenin enthalten an C_{10} des Steroidgerüsts eine Aldehydgruppe; beim Coroglaucigenin steht an dieser Stelle eine Methylgruppe. Das Allo-glaucotoxigenin ist unwirksam; es stellt die Alloform dar, die sehr wahrscheinlich durch die Einwirkung eines in den Samen enthaltenen allomerisierenden Enzyms entstanden ist. Strukturformeln von Alloglaucotoxigenin und Corotoxigenin, vor allem die Lage der Hydroxylgruppen, werden durch eine Reihe von Derivaten (Acetylverbindungen, Oxime) und Umsetzungen, z. B. die Isomerisierung und die Cyclohalbacetalbildung, wahrscheinlich gemacht.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium
„Sandoz“, Basel.

41. Über eine Beziehung zwischen dem Normalpotential eines Reduktionsmittels und der Verwendbarkeit als photographischer Entwickler

von Louis Jenny.

(21. XII. 48.)

Im Zusammenhang mit den früher beschriebenen Messungen der Reduktions-Oxydations-Potentiale photographischer Entwickler¹⁾ wurden zum Vergleich auch Bestimmungen an Resorcinlösungen unternommen.

¹⁾ Bürki und Jenny, Helv. **30**, 1750 (1947).