

174. Die Konstitution des Scillirosidins

42. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

von A. von Wartburg und J. Renz

(13. VI. 59)

1. Einleitung

Aus der roten Varietät der Meerzwiebel (*Scilla* (= *Urginea*) *maritima* (BAKER) L., Fam. *Liliaceae*) isolierten wir schon vor längerer Zeit die drei herzaktiven Glykoside Scillirosid, Scillaren A und Scilliglaucosid (= Scillaren F)²⁾. Das Hauptglykosid, das Scillirosid, ist eines der stärksten Herzgifte und zugleich Träger der spezifisch toxischen Wirkung der Droge gegen Nagetiere³⁾. Der chemische Bau des Scillaren A (II) und des Scilliglaucosids (III) wurden inzwischen abgeklärt⁴⁾⁵⁾, die Konstitution des Scillirosids war hingegen noch nicht gesichert. Nach eingehenden chemischen Untersuchungen schlugen STOLL, RENZ & HELFENSTEIN für Scillirosid die Formel I vor⁷⁾⁸⁾. Nach dieser Formulierung, welche den Ergebnissen von Abbaueversuchen mit dem Glycosid am besten zu entsprechen schien, wurden dem Aglycon des Scillirosids eine Doppelbindung zwischen C-8 und C-9, eine Hydroxylgruppe an C-12 und eine Acetoxygruppe im Lactonring zugeschrieben. Eine andere Interpretation der vorliegenden experimentellen Befunde – insbesondere der ungewöhnlichen Oxydation, die Scillirosid durch Bleitetraacetat erleidet⁹⁾ – veranlassten FIESER & FIESER, die OH-Gruppe von C-12 (I) nach C-16 (II) zu verlegen⁹⁾. Dehydratisierungsreaktionen, die später von TSCHESCHE & PETERSEN durchgeführt wurden¹⁰⁾, sowie die Interpretation des IR.-Spektrums von Scillirosid¹⁶⁾ schienen jedoch eher für die Formulierung I zu sprechen.

Die früher ausgeführten Versuche zur Ermittlung der Konstitution wurden durch den Umstand erschwert, dass alle Abbaureaktionen mit dem Glykosid durchgeführt werden mussten, da das Aglycon unter den zur Spaltung des Scillirosids erforderlichen sauren Hydrolysenbedingungen zu amorphen Zersetzungsprodukten verharzte. Zahlreiche Versuche, Scillirosid fermentativ zu hydrolysieren, verliefen erfolglos, bis es erstmals gelang, in den Samen von *Coronilla glauca* L. und *Medicago sativa* L. (Luzerne) spezifische Enzymsysteme nachzuweisen, die eine glykosidische Bindung zwischen Aglycon und Glucose zu lösen vermögen¹¹⁾. Die Einwirkung dieser Coronilla-

¹⁾ 41. Mitt.: *Experientia* **14**, 439 (1958).

²⁾ A. STOLL & J. RENZ, *Helv.* **25**, 43 (1942).

³⁾ E. ROTHLIN & W. SCHALCH, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **10**, 427 (1952).

⁴⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, *Helv.* **35**, 1934 (1952).

⁵⁾ A. STOLL, A. VON WARTBURG & J. RENZ, *Helv.* **36**, 1531 (1953).

⁶⁾ A. KATZ, *Helv.* **40**, 831 (1957).

⁷⁾ A. STOLL & J. RENZ, *Helv.* **25**, 377 (1942).

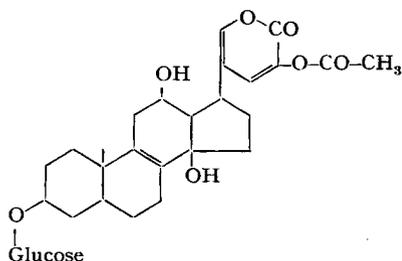
⁸⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. HELFENSTEIN, *Helv.* **26**, 648 (1943).

⁹⁾ L. F. FIESER & M. FIESER, *Natural Products Related to Phenanthrene*, 3rd ed. 1949, p. 558.

¹⁰⁾ R. TSCHESCHE & R. PETERSEN, *Chem. Ber.* **86**, 574 (1953).

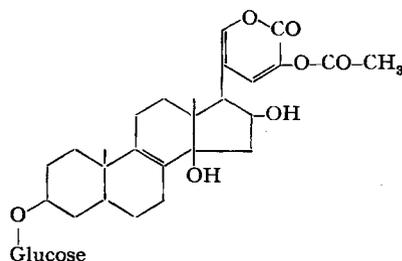
¹¹⁾ A. STOLL, A. PEREIRA & J. RENZ, *Helv.* **32**, 293 (1949).

oder Luzerne-Enzyme auf Scillirosid führte in guter Ausbeute zur Abspaltung der D-Glucose und zum intakten Genin, dem Scillirosidin¹²⁾. In der Folge erwiesen sich auch Enzympräparate aus niederen Pilzen¹³⁾ und tierischen Organen¹⁴⁾ zur Hydrolyse des Scillirosids befähigt.



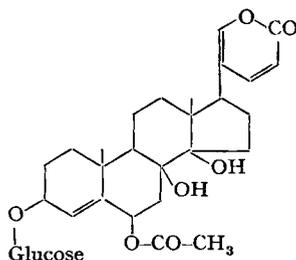
I

Scillirosid nach
STOLL, RENZ & HELFENSTEIN, 1943



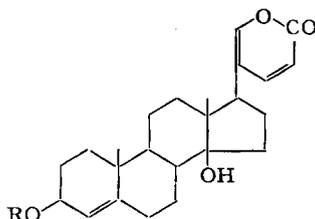
II

Scillirosid nach
FIESER & FIESER, 1949



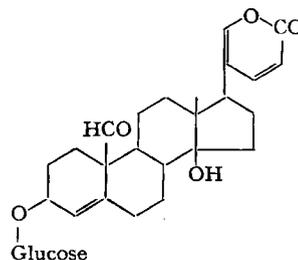
III

Scillirosid diese Arbeit



IV

a) (R = H): Scillarenin A
b) (R = Rhamnose-Glucose):
Scillaren A



V

Scilliglaucosid (= Scillaren F)

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über weitere Versuche zur Konstitutionsermittlung des Scillirosids, die mit dem nunmehr leicht zugänglichen Aglykon Scillirosidin unternommen wurden. Unsere neuen Befunde waren mit den früher vorgeschlagenen Formulierungen I bzw. II nicht vereinbar und führten uns zu einer neuartigen Auffassung über den chemischen Bau des Scillirosids (III) und seines Genins VI. Scillirosidin leitet sich vom Scillarenin A⁴⁾, dem einfachsten Vertreter der *Scilla*-Aglykone, ab und weist zusätzlich eine tertiäre OH-Gruppe an C-8 und eine Acetoxygruppe an C-6 auf. Scillirosidin ist u. W. das erste natürliche Steroid mit einer Hydroxylgruppe an C-8. Wir werden im Verlaufe der nun folgenden Besprechung von Abbauprüfungen mit dem Aglykon Scillirosidin noch im einzelnen zu der Interpretation von früheren Versuchsergebnissen, die mit dem Glycosid erhalten wurden, Stellung nehmen.

¹²⁾ A. STOLL & J. RENZ, Helv. **33**, 286 (1950).

¹³⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. **34**, 397 (1951).

¹⁴⁾ A. STOLL & J. RENZ, Helv. **34**, 782 (1951).

2. Eigenschaften und allgemeine Reaktionen des Scillirosidins

Scillirosidin, das cardiotonisch aktivste der bekannten Herz- und Krötengifte³⁾, kristallisiert aus Aceton-Äther oder Methanol-Wasser in Prismen (Fig. 1), die einen Doppel-Smp. bei 177–178°/200–205° aufweisen; $[\alpha]_D = -23^\circ$ in Methanol. Die Bruttoformel wurde zu $C_{26}H_{34}O_7$ ermittelt¹²⁾. Aus dem UV.-Spektrum (Fig. 3), der IR.-Absorption (Fig. 5, 6, 7) und aus der alkalischen Titration ging das Vorliegen eines doppelt ungesättigten Lacton-Sechsrings sowie einer Acetylgruppe hervor. Die früher vorgeschlagene Lage der Acetoxygruppe am Lactonring (Formel I, II) war auf Grund

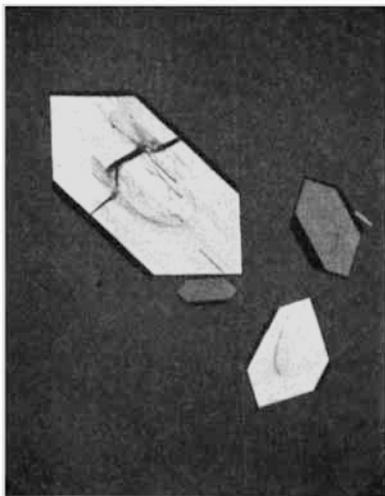


Fig. 1. *Scillirosidin* (VI) aus Methanol-Wasser

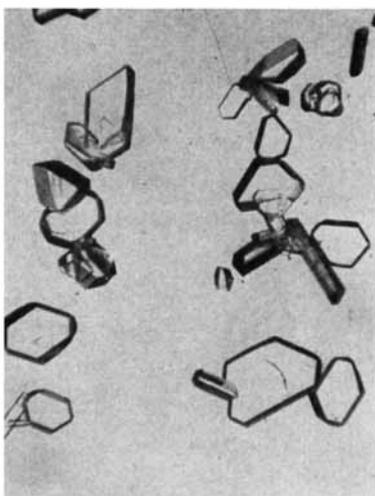


Fig. 2. *Desacetylscillirosidin* (VIII) aus Äthanol

der eingehenden Prüfung der IR.-Spektren (Fig. 5, 6, 7) wenig wahrscheinlich. Diese weisen auf eine gesättigte Acetatgruppe und nicht auf ein Enolacetat hin¹⁵⁾¹⁶⁾. Neben den Banden der OH- und Acetyl-Gruppen sowie des α -Pyronrings war in Nujol noch eine weitere Bande bei 1680 cm^{-1} (Fig. 5) zu beobachten, die in KBr wesentlich schwächer erschien (Fig. 6) und in Chloroform- oder Äthylenchlorid-Lösung (Fig. 7) völlig verschwand¹⁷⁾. Scillirosidin zeigt bei der ZEREWITINOFF-Bestimmung 3 aktive H-Atome. Von den 7 Sauerstoff-Atomen liegen demnach je 2 in Esterbindungen und die restlichen 3 als Hydroxylgruppen vor. Aus Analogie zu den bekannten Herzgiften konnten je ein Hydroxyl an C-3 und an C-14 angenommen werden. Die Lage und Natur der dritten OH-Gruppe war noch unsicher. Die früher vorgeschlagenen Posi-

¹⁵⁾ Auf diesen Sachverhalt wurden wir inzwischen auch von den Herren Drs. H. M. E. CARDWELL und F. B. STRAUSS (Oxford) brieflich aufmerksam gemacht.

¹⁶⁾ Das IR.-Spektrum des Scillirosids wurde auch von TSCHESCHE & GRIMMER [Chem. Ber. 87, 418 (1954)] mit einer von uns gelieferten Substanzprobe aufgenommen. Nach diesen Autoren soll das Fehlen einer $>C=CH$ -stretching-Frequenz (bei $3,33\ \mu$), die bei $\Delta^{7:8}$ -Steroiden (II) auftritt, zugunsten der in I angenommenen Lage der Doppelbindung ($\Delta^{8:9}$) sprechen. Die für gesättigte Sterinacetate typische O-Acetatbande wurde nicht kommentiert.

¹⁷⁾ Für diese Bande, die nur im Nujolspektrum des Scillirosidins, nicht aber in den Spektren der 3-O-Acetyl- bzw. der 6-Desacetyl-Derivate auftrat, könnten evtl. intermolekulare Wechselwirkungen im kristallisierten Zustand verantwortlich gemacht werden.

tionen an C-12 (I)⁸) oder C-16 (II)⁹) erschienen jetzt zweifelhaft, da Scillirosidin (VI) bei der Acetylierung auch unter verschärften Bedingungen lediglich ein Mono-acetat, das 3-O-Acetyl-scillirosidin (VII), lieferte¹²).

Mit KHCO_3 in wässrig-methanolischer Lösung liess sich Scillirosidin (VI) zu einer neutralen Desacetyl-Verbindung $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_6$ verseifen, die später als 6-Desacetyl-scillirosidin (VIII) erkannt wurde. Der Nachweis der Essigsäure⁸) konnte durch Überführung des abgespaltenen Säurerestes in p-Phenylphenacyl-acetat bestätigt werden. Desacetylscillirosidin (VIII) kristallisierte aus Aceton-Äther oder aus Äthanol in schönen Prismen (Fig. 2) und erwies sich als stark herzwirksam¹⁸). Durch ZEREWITINOFF-Bestimmung wurden 4 aktive H-Atome nachgewiesen, entsprechend 4 freien OH-Gruppen. In den UV.- und IR.-Spektren war der intakte α -Pyrone ring festzustellen. Desacetylscillirosidin (VIII) verhielt sich jedoch nicht als freies Enol, wie nach den Formeln I oder II zu erwarten wäre, da es weder mit Diazomethan reagierte, noch die für 3-Hydroxy- α -pyrone charakteristische Farbreaktion mit FeCl_3 ¹⁹) zeigte. Durch übliche Acetylierung wurde aus Desacetylscillirosidin (VIII) eine Diacetyl-Verbindung erhalten, die mit 3-O-Acetylscillirosidin (VII) identisch war.

UV.-Absorptionsspektren in Methanol

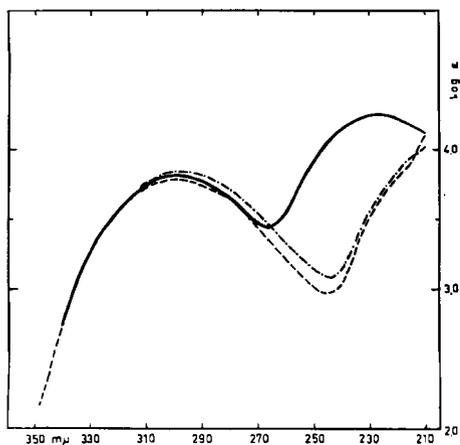


Fig. 3

- Scillirosidin (VI)
- 3-Dehydro-scillirosidin (IX)
- 8,14-Seco-8,14-diketo-scillirosidin (XIII)

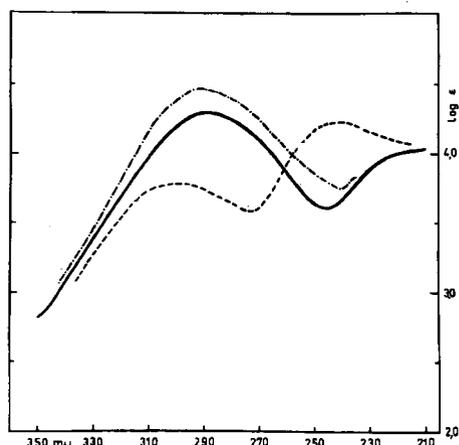


Fig. 4

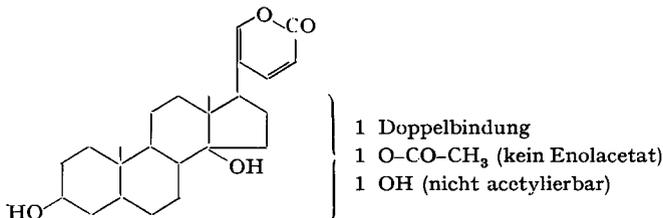
- XII
- XVII
- XX (in Methanol-Chloroform)

Nach Hydrierungsversuchen, auf die unten ausführlich eingegangen wird, enthält Scillirosidin neben den beiden Doppelbindungen des Lactonrings noch eine weitere C=C-Bindung. Bei der katalytischen Hydrierung wurde gleichzeitig die Acetoxygruppe hydrogenolytisch eliminiert. Die reduktive Abspaltung von Essigsäure und das Vorliegen einer dritten Doppelbindung wurden bereits von STOLL & RENZ am Scillirosid nachgewiesen⁸).

¹⁸) Toxizität nach HATCHER: 0,124 mg/kg (Katze). Dieser Wert wurde von Dr. W. SCHALCH in unserem pharmakologischen Labor (Dr. A. CERLETTI) bestimmt.

¹⁹) G. CHAVANNE, Ann. Chim. Phys. [8], 3, 507 (1904).

Bei Annahme eines Steroidgerüsts konnte für die weitere Aufklärung des Scillirosidins von der folgenden wahrscheinlichen Teilformel ausgegangen werden.



3. Verhalten des Scillirosidins gegen Oxydationsmittel

Da Scillirosidin auf Grund des IR.-Spektrums (Fig. 5, 6 und 7) und nach den Reaktionen seines Desacetyl-Derivates keine Enolacetat-Gruppierung enthalten konnte, war für die leicht verlaufende Abspaltung von Essigsäure bei der katalytischen Hydrierung das Vorliegen eines Allylacetates in Betracht zu ziehen. Im Desacetylscillirosidin wäre die vermutete Allylalkohol-Gruppe frei gelegt und der für Allylalkohole charakteristischen Oxydation mit MnO_2 ²⁰⁾²¹⁾²²⁾ zugänglich. In der Tat konnte Desacetylscillirosidin (VIII) mit Mangandioxyd in Chloroform zu einem Dehydroderivat $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (X) oxydiert werden, dessen UV.-Spektrum ($\lambda_{\text{max}} = 227$ und $300 \text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,21$ und $3,77$) und IR.-Absorption (Bande bei 1669 cm^{-1}) für ein α,β -ungesättigtes Sechsringketon sprachen. Durch übliche Acetylierung wurde das Dehydroprodukt X in ein Mono-O-acetylderivat IX übergeführt, das die in Fig. 3 und 8 angegebenen UV.- und IR.-Spektren besass. Überraschenderweise konnte diese Acetylverbindung IX auch direkt aus Scillirosidin (VI) durch Dehydrierung mit MnO_2 erhalten werden. 3-O-Acetylscillirosidin (VII) erwies sich hingegen bei Oxydationsversuchen mit Braunstein als inert und wurde intakt zurückgewonnen. Aus diesen Befunden musste geschlossen werden, dass die Oxydation des Desacetylscillirosidins (VIII) und des Scillirosidins (VI) durch MnO_2 an der OH-Gruppe an C-3 erfolgte. Aus der Bildung der α,β -ungesättigten Ketone IX bzw. X ging ferner das Vorliegen einer Doppelbindung zwischen C-4 und C-5 hervor. Als wahrscheinlichste Allyl-Stellung für die im Scillirosidin nachgewiesene Acetoxygruppe war dann die Position an C-6 naheliegend.

Die Oxydation von Scillirosidin (VI) und Desacetylscillirosidin (VIII) zu den entsprechenden ungesättigten Ketonen IX und X konnte auch mit Platin und Sauerstoff erreicht werden. Diese Reaktion bildete ein weiteres Indiz für die Annahme einer Dehydrierung an C-3, da Polyhydroxy-Steroide durch Pt-O_2 vorzugsweise am 3-Hydroxyl oxydiert werden²³⁾.

Bei der Formulierung des Scillirosidins als En-1,4-diol-Derivat VI wurde die β -Stellung der 3-OH-Gruppe nicht streng bewiesen; sie ist aus Analogie zu sämtlichen bekannten, hochwirksamen Herzgiftglykonen jedoch sehr wahrscheinlich. Die postulierte (axiale) β -Stellung der Acetoxygruppe an C-6 ergab sich aus der leicht

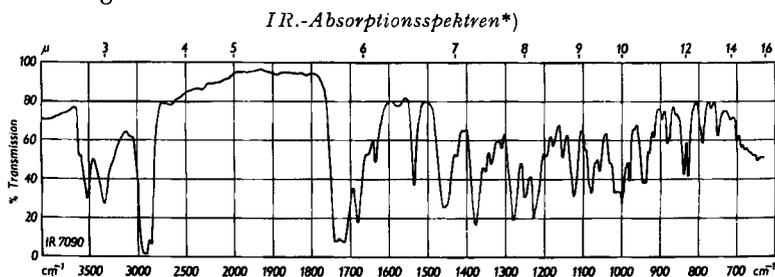
²⁰⁾ F. SONDHEIMER & G. ROSENKRANZ, *Experientia* **9**, 62 (1953); F. SONDHEIMER, C. AMENDOLLA & G. ROSENKRANZ, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 5930 (1953).

²¹⁾ O. MANCERA, G. ROSENKRANZ & F. SONDHEIMER, *J. chem. Soc.* **1953**, 2189.

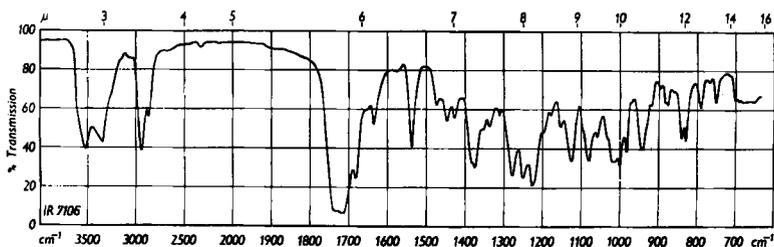
²²⁾ C. AMENDOLLA, G. ROSENKRANZ & F. SONDHEIMER, *ibid.* **1954**, 1226.

²³⁾ R. P. A. SNEEDEN & R. P. TURNER, *J. Amer. chem. Soc.* **77**, 130, 190 (1950).

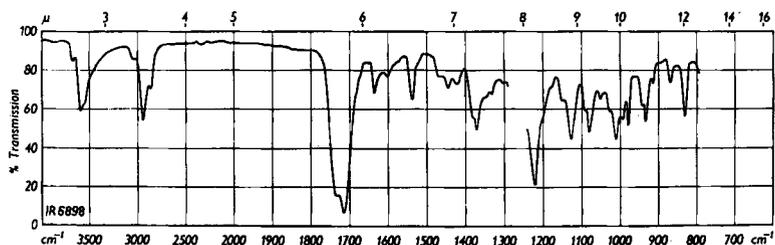
verlaufenden Umlagerung des 3-Dehydro-scillirosidins (IX) mit HCl in alkoholhaltigem Chloroform zu einem stärker rechtsdrehenden Isomeren, dem wir die Struktur des entsprechenden (äquatorialen) 6α -Epimeren (XI) zuschreiben. Diese für 3-Keto- Δ^4 - 6β -acetoxy-steroiden (A) charakteristische Epimerisierung zu den stabileren 6α -Derivaten (B) wurde erstmals von HERZIG & EHRENSTEIN²⁴⁾ ²⁵⁾ in der Allopregnan-Reihe und später von FIESER²⁶⁾ bei Cholesterin-Abkömmlingen beobachtet. Die molekulare Drehungsdifferenz zwischen 3-Dehydro-scillirosidin (IX) und seinem 6α -Epimeren (XI) steht mit den in Tab. 1 aufgeführten M_D -Inkrementen in guter Übereinstimmung.

Fig. 5. *Scillirosidin (VI) in Nujol*

Banden bei cm^{-1} : 3520, 3350 (OH), 1720, 1638, 1538, 1128, 840, 830 (α -Pyron), 1740, 1230 (Acetat), 1680 (vgl. 17))

Fig. 6. *Scillirosidin (VI) in KBr*

Banden bei 3510, 3340 (OH), 1715, 1635, 1535, 1125, 840, 830 (α -Pyronring), 1740, 1230 (Acetat), 1680 (vgl. 17))

Fig. 7. *Scillirosidin (VI) in CH_2Cl_2*

Banden bei cm^{-1} : 3580 (OH), 1718, 1638, 1540, 1128, 835 (α -Pyronring), 1740, 1220 (Acetat)

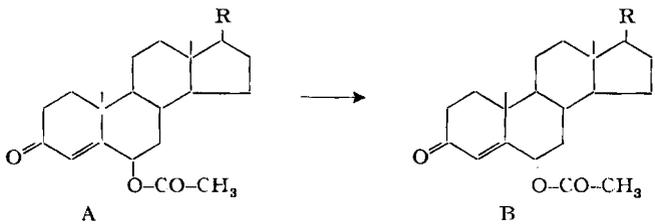
*) Alle IR.-Spektren wurden auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Mod. 21, aufgenommen.

²⁴⁾ P. HERZIG & M. EHRENSTEIN, *J. org. Chemistry* **16**, 1050 (1951).

²⁵⁾ C. P. BALANT & M. EHRENSTEIN, *J. org. Chemistry* **17**, 1587 (1952).

²⁶⁾ L. F. FIESER, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4377 (1953).

Tabelle 1. $[M]_D$ -Inkrementen der C-6-Epimeren

			
R	C-6-Epimere	$[M]_D$	$\Delta[M]_D^A - [M]_D^B$
=O	6 α	+ 566°	- 185° ²⁵⁾
	6 β	+ 381°	
-CO-CH ₃	6 α	+ 517°	- 141° ²⁵⁾
	6 β	+ 376°	
	6 α	+ 241°	- 179° ²⁷⁾
	6 β	+ 62°	
-CO-CH ₂ OAc	6 α	+ 589°	- 116° ²⁷⁾
	6 β	+ 473°	
	6 α	+ 469°	- 191° ²⁷⁾
	6 β	+ 278°	
-C ₈ H ₁₇	6 α	+ 337°	- 178° ²⁶⁾
	6 β	+ 159°	
IX	6 α	+ 175°	- 143°
XI	6 β	+ 32°	

In den UV.-Spektren von 3-Dehydro-scillirosidin (IX) und 3-Dehydro-desacetyl-scillirosidin (X) trat neben dem Absorptionsmaximum des Lactonrings bei 300 $m\mu$ ein zweites, ungewöhnlich kurzwelliges Maximum bei 227 $m\mu$ (Fig. 3) auf. Es ist zwar bekannt, dass 6 β -Acetoxy- und 6 β -Hydroxy-Gruppen in 3-Keto- Δ^4 -steroiden eine hypochrome Verschiebung des üblichen Maximums (von 241 $m\mu$ auf ca. 236 $m\mu$) bewirken^{22) 24) 25) 26)}. Für die abnorm starke hypochrome Verschiebung auf 227 $m\mu$ in den Verbindungen IX und X ist offenbar eine zusätzliche Beeinflussung des Absorptionsmaximums durch die ebenfalls β -ständig angeordnete OH-Gruppe an C-8 verantwortlich. (Der Beweis für das Vorliegen eines C-8 β -Hydroxyls im Scillirosidin wird unten erbracht.) Im 6 α -Epimeren XI des 3-Dehydro-scillirosidins scheint dieser additive hypochrome Effekt aufgehoben, da XI ein normales kurzwelliges Maximum bei 236 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,23$) besitzt. 3-Dehydro-scillirosidin (IX) konnte durch kurze Behandlung mit Zinkstaub in Eisessig^{22) 26)} bei Zimmertemperatur unter hydrogenolytischer Eliminierung der Acetoxygruppe zum 3-Dehydro-6-desacetoxy-scillirosidin (XII) reduziert werden. Bei dieser milden Reduktion wurde der Lacton-

²⁷⁾ Diese Drehwerte wurden den «Tables de Constantes et Données numériques 6. Constantes Sélectionnées, Pouvoir Rotatoire Naturel. I. Stéroïdes» von J. P. MATHIEU & A. PETIT, Paris 1956, entnommen.

²⁸⁾ L. DORFMAN, Chemical Reviews 53, 47 (1953).

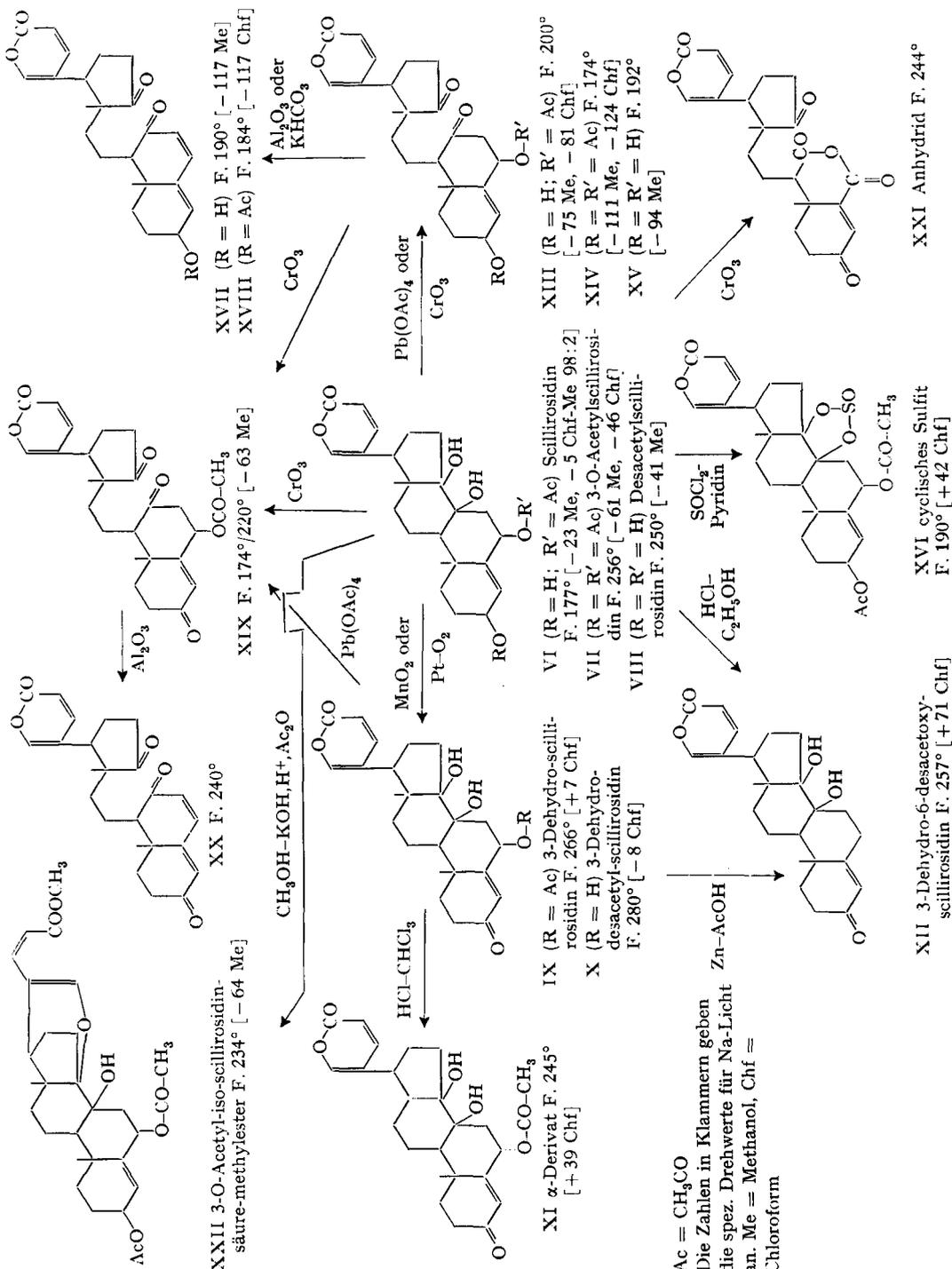
ring nicht angegriffen. XII zeigt im UV. das für 3-Keto- Δ^4 -steroid übliche Maximum bei $242\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,22$) und das Maximum des intakten Lactonrings bei $300\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,78$) (Fig. 4). Die diesen Gruppen entsprechenden Banden treten auch im IR.-Spektrum (Fig. 9) auf.

Nachdem aus dieser Reaktionsreihe für Scillirosidin die Partialstruktur eines 3β -Hydroxy- 6β -acetoxy- Δ^4 -Steroids weitgehend gesichert erschien, war nun noch die Lage der dritten OH-Gruppe zu bestimmen. Dieses nicht acetylierbare Hydroxyl wurde von STOLL, RENZ & HELFENSTEIN⁸⁾ an C-12 (I) plaziert und die von diesen Autoren beschriebene Oxydation des Scillirosids mit Bleitetraacetat als Dehydrierung zum 12-Keton gedeutet. FIESER & FIESER⁹⁾ verlegten die fragliche Hydroxylgruppe nach C-16 (II) und interpretierten die Oxydation durch Bleitetraacetat über eine intermediäre Allylanlagerung einer Acetoxygruppe an C-17, mit anschließender Abspaltung von Essigsäure und Stabilisierung zum 16-Keton. Unsere Versuche zeigten, dass auch Scillirosidin (VI) mit Bleitetraacetat in Eisessig sehr leicht zu einem um 2 Wasserstoff ärmeren Dehydro-derivat $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_7$ (XIII) oxydiert wurde. Die Dehydroverbindung XIII wies im UV. das Maximum des doppelt ungesättigten Sechsring-lactons bei $298\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,83$) auf und besass im kurzwelligen Gebiet keine selektive Absorption (Fig. 3). Die Acetylierung von XIII liefert ein Mono-O-acetyl-Derivat $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_8$ (XIV), das auch direkt aus 3-O-Acetylscillirosidin (VII) durch Oxydation mit Bleitetraacetat zugänglich war. Aufschlussreich war der Befund, dass XIV auch durch Oxydation von 3-O-Acetylscillirosidin mit CrO_3 in Eisessig oder mit Chromtrioxyd-Pyridin-Komplex²⁹⁾ hergestellt werden konnte. Durch Einwirkung von Bleitetraacetat wurde ferner auch Desacetylscillirosidin (VIII) zu $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (XV) dehydriert. Die Oxydationsprodukte XIII und XV gingen bei der Acetylierung in die erwähnte Dehydroverbindung XIV des 3-O-Acetylscillirosidins über.

Die einfachste Erklärung für die leicht verlaufende Dehydrierung des Scillirosidins (VI) und seiner Derivate VII und VIII mit Bleitetraacetat schien uns in der Annahme einer α -Glykolspaltung zu liegen. Da aus 3-O-Acetylscillirosidin (VII) mit Bleitetraacetat oder Chromsäure³⁰⁾ derselbe Neutralstoff XIV erhalten wurde, musste die C-C-Spaltung zwischen zwei tertiären OH-Gruppen erfolgt sein. Da weiter Scillirosidin, wie später bewiesen wird, ein normales Steringerüst besitzt und wie die übrigen herzaktiven Aglykone an C-14 eine tertiäre OH-Gruppe aufweist, konnte für ein zweites tertiäres Hydroxyl nur die C-8 β -Position in Frage kommen. Die Dehydrierungsprodukte (XIV, XV und XIII) sind somit als 8,14-Seco-8,14-*ipketo*-Abkömmlinge zu formulieren. Im IR.-Spektrum der 6-Desacetylverbindung XV (Fig. 10) sind neben der CO-Bande des Lactonrings bei 1720 cm^{-1} eine deutliche Schulter bei 1740 cm^{-1} und eine Bande bei 1700 cm^{-1} zu beobachten, die einem Fünfring- und einem Sechsring-Keton zugeordnet werden können. Diese beiden Maxima werden in XIII und XIV teilweise durch die Absorptionen der Acetylgruppe und des Lactonrings verdeckt; hingegen ist bei den drei Oxydationsprodukten eine neu auftretende Bande bei ca. 1405 cm^{-1} ersichtlich, die für eine der CO-Gruppe

²⁹⁾ G. I. POOS, G. E. ARTH, R. E. BEYLER & L. H. SARETT, J. Amer. chem. Soc. **75**, 422 (1953).

³⁰⁾ Über Glykolspaltungen mit CrO_3 siehe z. B. A. C. CHATTERJI & S. K. MUKHERJEE, Z. physikal. Chem. **208**, 281 (1958).



XXII 3-O-Acetyl-iso-scillirosidin-säure-methylester F. 234° [- 64 Me]

XI α -Derivat F. 245° [+ 39 Chf]

IX (R = Ac) 3-Dehydro-scillirosidin F. 266° [+ 7 Chf]

X (R = H) 3-Dehydro-desacetyl-scillirosidin F. 280° [- 8 Chf]

VI (R = H; R' = Ac) Scillirosidin F. 177° [- 23 Me, - 5 Chf-Me 98:2]

VII (R = R' = Ac) 3-O-Acetylscillirosidin F. 256° [- 61 Me, - 46 Chf]

VIII (R = R' = H) Desacetylscillirosidin F. 250° [- 41 Me]

XII 3-Dehydro-6-desacetoxy-scillirosidin F. 257° [+ 71 Chf]

XVI cyclisches Sulfit F. 190° [+ 42 Chf]

XXI Anhydrid F. 244°

eines Fünfringketons benachbarte CH_2 -Gruppe charakteristisch ist³¹⁾³²⁾. Im Spektrum von XIV ist ferner das Fehlen von OH-Banden bemerkenswert; bei der Dehydrierung sind somit beide nicht acetylierbaren OH-Gruppen an C-8 und C-14 angegriffen worden.

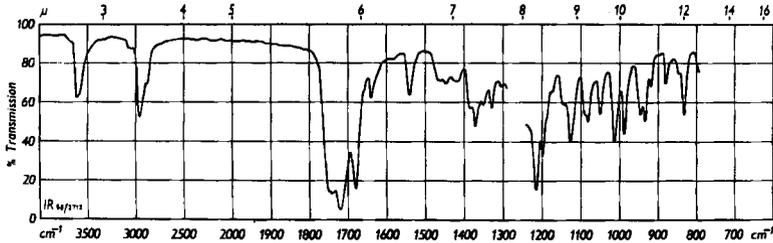


Fig. 8. IR.-Absorptionsspektrum von 3-Dehydro-scillirosidin (IX) in CH_2Cl_2
Banden bei cm^{-1} : 3600 (OH), 1720, 1640, 1540, 1127, 832 (α -Pyronring), 1740, 1215 (Acetat), 1680 (α,β -ungesättigtes Sechsringketon), 1425 (2-Methylen des α,β -ungesättigten Sechsringketons)³³⁾

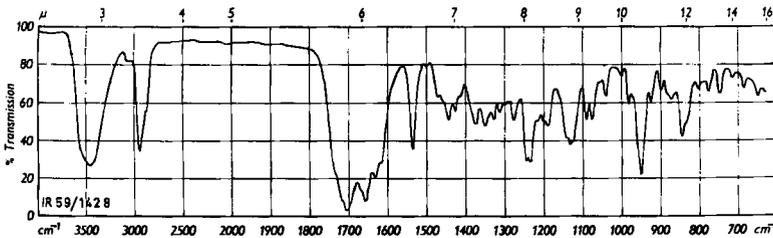


Fig. 9. IR.-Absorptionsspektrum von 3-Dehydro-6-desacetoxy-scillirosidin (XII) in KBr
Banden bei cm^{-1} : 3450 (OH), 1710, 1635, 1540 usw. (α -Pyronring), 1660 (α,β -ungesättigtes 6-Ringketon), 1417 (2-Methylen des α,β -ungesättigten Sechsringketons)³³⁾

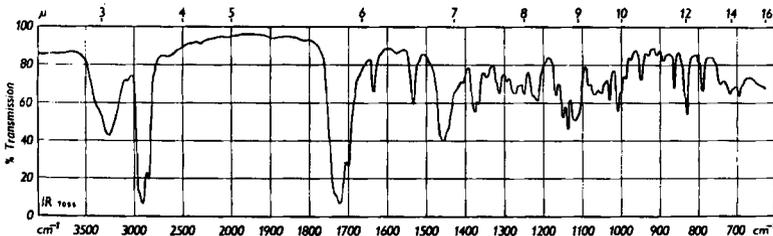


Fig. 10. IR.-Absorptionsspektrum der 6-Desacetyl-8,14-seco-Verbindung XV in Nujol
Banden bei cm^{-1} : 3250 (OH), 1720, 1638, 1538, 1140, 832 (α -Pyron) (Schulter) (5-Ringketon), 1700 (6-Ringketon), 1406 (15-Methylen des 5-Ringketons)

Ein direkter Beweis für das Vorliegen einer α -Glykolgruppierung im Scillirosidin konnte durch die Bildung eines cyclischen Sulfit $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9\text{S}$ (XVI) durch Umsatz

³¹⁾ N. R. JONES & A. C. H. COLE, J. Amer. chem. Soc. **74**, 5648 (1952).

³²⁾ G. ROBERTS, B. S. GALLAGHER & R. N. JONES, Infrared Absorption Spectra of Steroids, Vol. II, New York 1958.

³³⁾ D. BEN-ISHAY, J. org. Chemistry **23**, 2013 (1958); P. B. D. DE LA MARE, W. KLYNE, D. J. MILLEN, J. G. PRITCHARD & D. WATSON, J. chem. Soc. **1956**, 1813.

von 3-O-Acetylscillirosidin mit SOCl_2 in Pyridin erbracht werden. Das Sulfid XVI besitzt im IR. (Fig. 11) eine neu auftretende Bande bei 1222 cm^{-1} , die für die S-O-Streckschwingung eines fünfgliedrigen, cyclischen Sulfids charakteristisch ist³³).

Die als 8,14-Seco-Verbindungen formulierten Oxydationsprodukte XIII, XIV und XV erwiesen sich in Übereinstimmung mit ihrer Struktur als β -Acetoxycetone gegenüber Alkalien als labil. Schon durch Einwirkung von KHCO_3 in wässrig-methanolischer Lösung oder bei der Chromatographie an Aluminiumoxyd spaltete z. B. das Oxydationsprodukt aus Scillirosidin, XIII, leicht Essigsäure ab und ging in das Dienon XVII über. Das UV.-Spektrum von XVII (Fig. 4) zeigte bei $289\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,29$) ein Maximum, das durch Überlagerung der Maxima des Lactonrings ($300\text{ m}\mu$) und der $\Delta^{4,6-8}$ -Ketogruppierung zustande kommt. Im IR.-Spektrum (Fig. 12) sind die Banden bei cm^{-1} 3350 (OH), 1740 (Fünfringketon), 1718 (Lactonring), 1675 (α,β -ungesättigtes Sechsringketon), 1425 (Schulter des 2-Methylens) und 1410 (15-CH_2) mit der angenommenen Formel XVII verträglich. Die freie OH-Gruppe an C-3 des Dienons XVII konnte durch Essigsäureanhydrid in Pyridin zur 3-O-Acetylverbindung $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (XVIII) verestert werden.

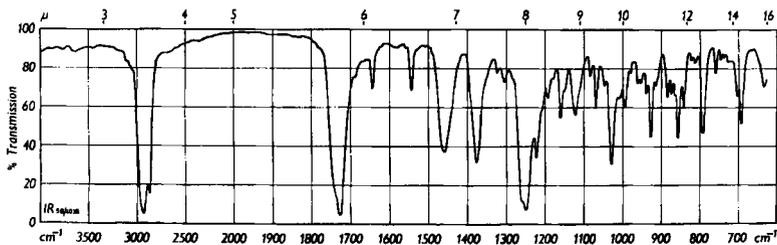


Fig. 11. IR.-Absorptionsspektrum des cyclischen Sulfids (XVI) in Nujol

Banden bei cm^{-1} : (OH keine), 1730, 1645, 1545 (α -Pyron), 1745 (Schulter), 1250 (Acetat), 1222 (S-O im fünfgliedrigen Ring)

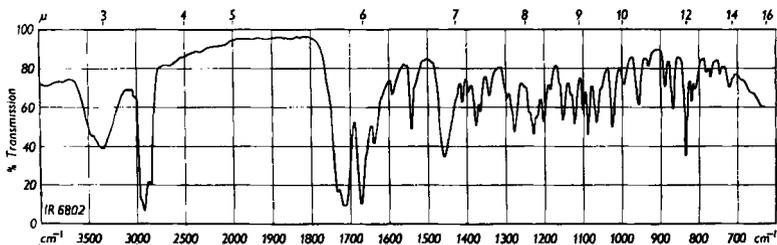


Fig. 12. IR.-Absorptionsspektrum des Dienons XVII in Nujol

Banden bei cm^{-1} : 3350 (OH), 1718, 1638, 1540, 835 (α -Pyronring), 1740 (Fünfringketon), 1675 (α,β -ungesättigtes Sechsringketon), 1410 (15-Methylen des Fünfringketons)

Die aus Scillirosidin durch Oxydation mit MnO_2 und Bleitetraacetat erhaltenen Dehydrierungsprodukte konnten ferner durch die folgenden Reaktionen miteinander verknüpft werden. Scillirosidin (VI) wurde durch Chromtrioxyd in Eisessig unter Verlust von 4 H-Atomen in ein Bis-dehydro-Derivat übergeführt. Dieser Verbindung $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_7$ kam nach dem UV.-Spektrum ($\lambda_{\text{max}} 229/298\text{ m}\mu$, $\log \epsilon = 4,26$ bzw. 3,80) und den charakteristischen Banden im IR. (Fig. 13) die Konstitution eines ungesättigten Triketons XIX zu. Das Triketon XIX liess sich auch aus der 8,14-

Seco-Verbindung XIII durch schonende Nachoxydation mit $\text{CrO}_3\text{-AcOH}$ oder aus 3-Dehydro-scillirosidin (IX) durch Glykolspaltung mit Bleitetraacetat gewinnen. Bei der Chromatographie an Aluminiumoxyd spaltete das Triketon XIX 1 Mol. Essigsäure ab und ging in das $\Delta^{4,6-3,8,14}$ -Triketo-Derivat XX über. Diese stark ungesättigte Verbindung besass im UV. (Fig. 4) ein Maximum bei $290\text{ m}\mu$ mit der hohen Extinktion $\log \epsilon = 4,42$. Im IR. (Fig. 14) sind u. a. bei 1680 und 1660 cm^{-1} zwei Banden für die α,β -ungesättigten Sechsringketongruppierungen festzustellen.

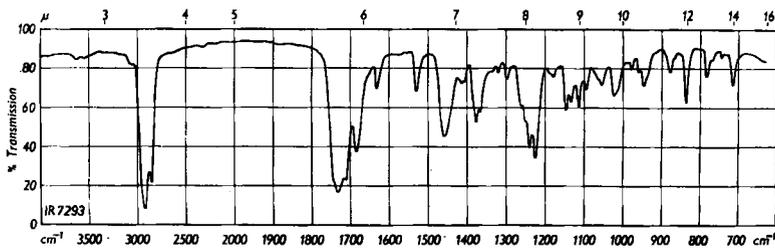


Fig. 13. IR-Absorptionsspektrum der Triketoverbindung XIX in Nujol

Banden bei cm^{-1} : (OH keine), 1730, 1635, 1530, 838 (α -Pyroneing), 1730, 1240, 1225 (Acetat), 1740 (Schulter) (Fünfringketon), 1710 (Sechsringketon), 1685 (α,β -ungesättigtes Sechsringketon), 1415 (2-Methylen des α,β -ungesättigten Sechsringketons), 1405 (15-Methylen des Fünfringketons)

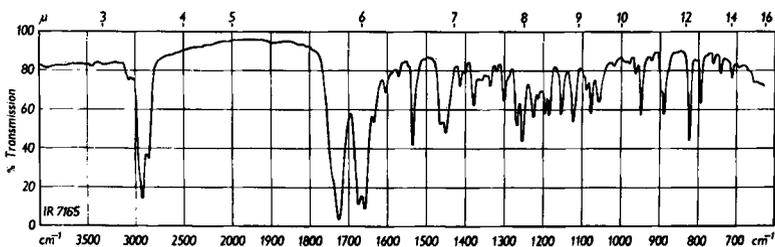


Fig. 14. IR-Absorptionsspektrum des ungesättigten Triketons XX in Nujol

Banden bei cm^{-1} : (OH keine), 1728, 1638, 1538, 825 (α -Pyroneing), 1745 (Schulter, Fünfringketon), 1680, 1660 (α,β -ungesättigtes Sechsringketon), 1415 (2-Methylen des α,β -ungesättigten Sechsringketons), 1404 (15-Methylen des Fünfringketons)

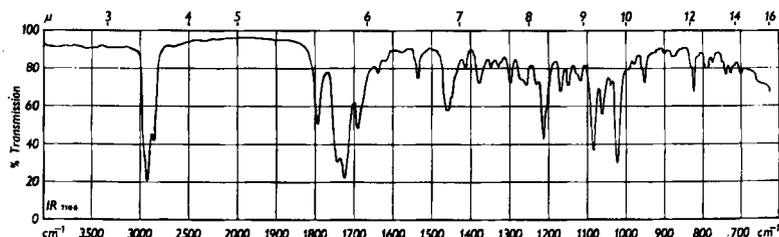


Fig. 15. IR-Absorptionsspektrum des Anhydrids (?) XXI

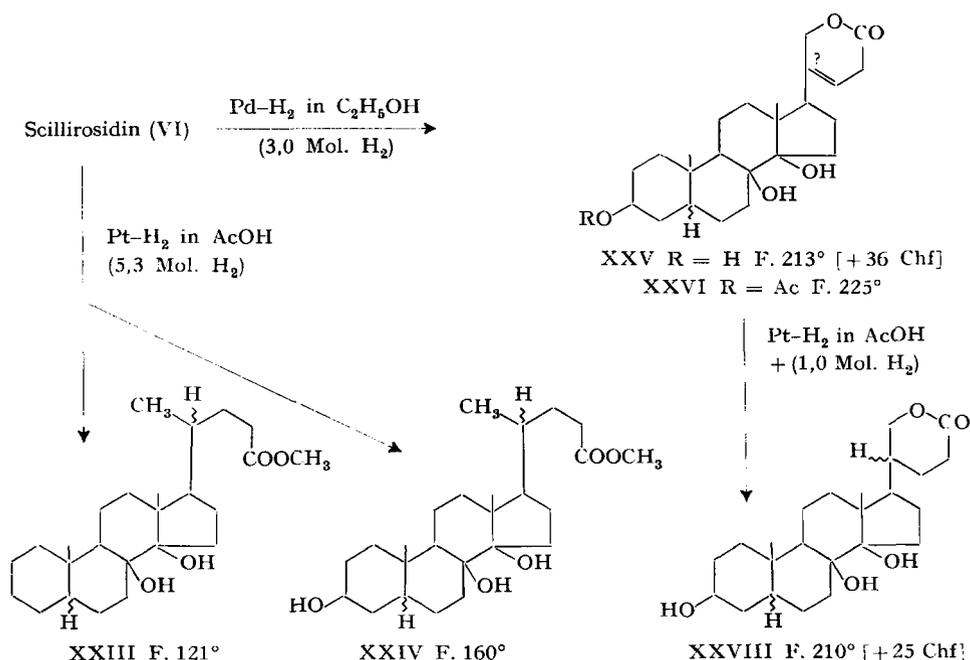
Banden bei cm^{-1} : (OH keine), 1795 (Anhydrid), 1745 (Fünfringketon), 1725, 1640, 1540, 830 (α -Pyroneing), 1690 (α,β -ungesättigtes Sechsringketon), 1412 (2-Methylen des α,β -ungesättigten Sechsringketons), 1405 (Schulter, 15-Methylen des Fünfringketons)

Die Oxydation von Desacetyl-scillirosidin (VIII) mit überschüssiger CrO_3 in Eisessig führte unter Verlust von 1 C-Atom zu einer kristallisierten Verbindung $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{O}_7$. Die vorgeschlagene Konstitution XXI stützte sich hauptsächlich auf das

IR.-Spektrum (Fig. 15), in dem eine neu auftretende Bande bei 1795 der Anhydrid-Gruppierung zugeordnet werden kann³⁴). Die Verbindung XXI wurde jedoch nicht weiter untersucht.

4. Die Hydrierung des Scillirosidins

Scillirosidin (VI) verbrauchte bei der katalytischen Hydrierung mit Platin in Eisessig durchschnittlich 5,3 Mol. Wasserstoff. Bei der Hydrierung wurde die Acetoxygruppe hydrogenolytisch abgespalten. Das rohe Hydrierungsprodukt bestand zu ca. $\frac{2}{3}$ aus sauren Anteilen. Nach Methylierung liessen sich zwei kristallisierte Ester isolieren, die sich voneinander im Sauerstoffgehalt unterschieden. Entsprechend der En-1,4-diol-Struktur des Scillirosidins handelte es sich um die beiden Cholan säurederivate XXIII und XXIV. Vom aufgenommenen Wasserstoff wurden somit 2,7 Mol. zur Absättigung und zur teilweisen reduktiven Öffnung des Lactonrings, 1 Mol. zur Eliminierung der Acetoxygruppe, 1 Mol. zur Hydrierung der C-4-Doppelbindung und rund 0,5 Mol. zur Hydrogenolyse der β -OH-Gruppe benötigt.



Die für Scillirosidin vorgeschlagene Konstitution VI steht mit dem Verlauf der Hydrierung in völliger Übereinstimmung. Es war deshalb überraschend, dass weitere Versuche, bei denen anstelle von Platin Palladiumkatalysatoren eingesetzt wurden, zu abweichenden Resultaten führten. STOLL & RENZ hatten bereits bei der Hydrierung von Scillirosid mit Palladium in Methanol einen Verbrauch von lediglich 3 Mol. H₂ festgestellt^{2) 8)}. Da sich aus dem Acetat des neutralen Hydrie-

³⁴) L. J. BELLAMY, Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution, Darmstadt (1955). deutsche Übersetzung von W. BRUEGEL.

rungsproduktes mit Benzopersäure ein kristallisiertes Oxyd gewinnen liess, schlossen die Autoren auf das Vorliegen einer nicht hydrierbaren Doppelbindung an C-8 des Scillirosids (Formel I)⁸⁾. Es zeigte sich nun, dass auch Scillirosidin in Gegenwart von Palladium in Feinsprit nur 3 Mol. H₂ aufnahm. Aus dem Gemisch der vorwiegend neutralen Hydrierungsprodukte konnten wir eine kristallisierte Verbindung C₂₄H₃₆O₅ (XXV) sowie ihr Acetylderivat XXVI isolieren. Die Acetoxygruppe des Scillirosidins war bei der Hydrierung mit Palladium ebenfalls reduktiv entfernt, der Lactonring hingegen nur zu einem geringen Teil geöffnet worden. Gegenüber den Befunden mit Platinkatalysator verblieb demnach ein Manko in der Wasserstoffaufnahme von 1 Mol. H₂: die Verbindung XXV war noch nicht völlig abgesättigt. Der Nachweis einer Doppelbindung in XXV gelang durch Nachhydrieren mit Platin in Eisessig, wobei das noch fehlende Mol. H₂ aufgenommen wurde. Aus Oxydationsversuchen mit MnO₂, Pt-O₂ oder CrO₃ ging hervor, dass es sich bei der Pt-O₂ gegenüber Palladium katalysatoren resistenten Doppelbindung von XXV nicht um die erwartungsgemäss leicht reduzierbare C=C-Bindung an C-4 handeln konnte, da sich XXV mit keinem dieser Oxydationsmittel in ein α,β -ungesättigtes Keton überführen liess. Bei der Hydrierung mit Palladium wird offenbar der Lactonring des Scillirosidins nur partiell abgesättigt (1,4-Addition?). Für die von STOLL & RENZ beschriebene Bildung eines Oxyds aus dem Hydrierungsprodukt des Scillirosids⁸⁾ dürfte deshalb die im Lactonring verbleibende Doppelbindung verantwortlich sein.

5. Reaktionen des Scillirosidins mit Säuren

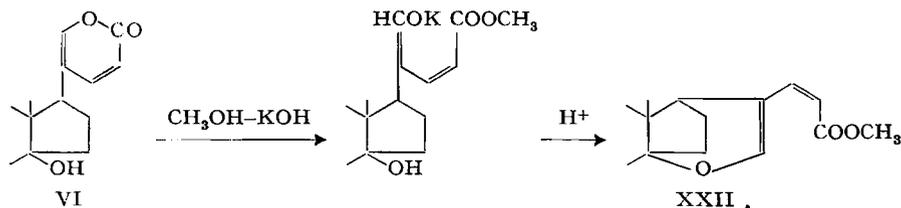
Eine Reihe von Versuchen, Scillirosidin mit verdünnter wässriger Mineralsäure zu dehydratisieren, ergab lediglich verharzte Produkte, aus denen sich nur mühsam und in sehr schlechten Ausbeuten kristallisierte Anteile abtrennen liessen. Durch Erhitzen von Scillirosidin mit absolut alkoholischer Salzsäure konnte hingegen eine Abspaltung der Acetoxygruppe erreicht werden. Nach Chromatographie der Rohprodukte isolierten wir eine kristallisierte Verbindung C₂₄H₃₀O₅. Das Präparat liess sich unter üblichen Bedingungen nicht acetylieren. Aus dem UV.-Spektrum (Fig. 4) ging das Vorliegen eines α,β -ungesättigten Ketons hervor, und ein Vergleich der physikalischen Daten, insbesondere der IR.-Spektren (Fig. 9), zeigte, dass die Verbindung mit 3-Dehydro-6-desacetoxy-scillirosidin (XII) identisch war. Scillirosidin (VI) erleidet durch alkoholische Salzsäure unter Abspaltung von Essigsäure eine Umlagerung, die ein wichtiges Indiz für die Richtigkeit der Formulierung VI darstellt. Derartige Umlagerungen von En-1,4-diolen zu α,β -ungesättigten Ketonen wurden bei Steroiden schon mehrfach beobachtet³⁵⁾.

6. Reaktionen des Scillirosidins mit Basen

Scillirosidin liess sich, wie bereits erwähnt, mit KHCO₃ zu einem stark herzwirksamen Neutralstoff, dem Desacetylscillirosidin (VIII) verseifen. Mit stärkeren Basen, z. B. mit methanolischem KOH reagierte Scillirosidin (VI) in der für Bufa-

³⁵⁾ H. HEUSSER, K. EICHENBERGER, P. KURATH, H. R. DAELLENBACH & O. JEGER, *Helv.* **34**, 2106 (1951); E. SCHOENEWALDT, L. TURNBULL, E. M. CHAMPERLIN, D. REINHOLD, A. E. ERICKSON, V. W. RUYLE, J. M. CHERMERA & M. TISHLER, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 2696 (1952); J. ELKS, R. M. EVANS, J. F. OUGHTON & G. H. THOMAS, *J. chem. Soc.* **1954**, 463; R. B. WOODWARD, A. A. PATCHETT, D. H. R. BARTON, D. A. J. IVES & R. B. KELLY, *ibid.* **1957**, 1131.

dienolide charakteristischen Reaktionsfolge³⁶⁾37) unter Öffnung des Lactonrings und gleichzeitiger Veresterung der freigelegten Carboxylgruppe. Nach Ansäuern und Acetylieren des Rohproduktes wurde der kristallisierte 3-O-Acetyl-iso-scillirosidin-säure-methylester $C_{28}H_{38}O_8$ (XXII) erhalten. Das UV.-Spektrum von XXII zeigte das für derartige Iso-Verbindungen typische Maximum bei 302 $m\mu$ mit der üblichen hohen Extinktion ($\log \epsilon = 4,44$)³⁸⁾.



Durch die Ausbildung eines Oxydrings nach C-14 wurde die oben postulierte β -ständige 14-OH-Gruppe bewiesen. Die Iso-Verbindung XXII liess sich mit Bleitetraacetat erwartungsgemäss nicht oxydieren, da die Glykolgruppierung nicht mehr in freier Form vorliegt.

Die Umsetzung von Scillirosid mit methanolischem KOH wurde bereits eingehend von STOLL & RENZ⁷⁾ untersucht und zur Beweisführung für den Bau des Lactonrings, insbesondere für die Platzierung der Acetoxygruppe an C-23 herangezogen. Durch Einwirkung von methanolischer KOH auf Scillirosid und anschliessender Neutralisation wurde dabei Desacetylscillirosidsäure-methylester erhalten⁷⁾. Dieser Verbindung wurde die Struktur eines α -Ketosäure-esters erteilt. Desacetylscillirosidsäure-methylester liess sich nämlich mit *o*-Phenylendiamin zu einem amorphen Produkt kondensieren, dessen Analysendaten für eine Chinoxalinverbindung sprachen. Ferner reagierte die entsprechende freie Säure (Desacetylscillirosidsäure) mit H_2O_2 unter Abspaltung von 1 Mol. CO_2 . Beide Befunde konnten für das Vorliegen eines Brenztraubensäure-Derivates gedeutet werden. Wir haben nun diese Reaktionen erneut studiert, wobei wir jedoch von den entsprechenden Derivaten des Aglykons ausgingen. Desacetyl-scillirosidsäure-methylester lieferte mit *o*-Phenylendiamin ebenfalls ein amorphes Kondensationsprodukt, aus dessen Analysen und UV.-Spektren³⁹⁾ jedoch eindeutig hervorging, dass kein Chinoxalinderivat vorliegen konnte. Bei der Oxydation der Desacetylscillirosidsäure mit H_2O_2 konnten wir die Entwicklung von CO_2 (ca. 0,7 Mol.) bestätigen. Wir machten jedoch die Feststellung, dass auch Modellverbindungen, die bestimmt keine α -Ketosäure-Derivate darstellen, z. B. der aus Scillaridin A durch Umsatz mit methanolischem KOH und anschliessender Neutralisation hergestellte Scillaridinsäure-methylester³⁶⁾, mit H_2O_2 unter gleichen Bedingungen CO_2 (0,5–0,6 Mol.) entwickelten. Der Verlauf der H_2O_2 -Oxydation derartiger ungesättigter Säuren bildete in diesem Fall somit keinen

³⁶⁾ A. STOLL, A. HOFMANN & A. HELFENSTEIN, *Helv.* **17**, 641 (1934).

³⁷⁾ A. STOLL, A. HOFMANN & A. HELFENSTEIN, *Helv.* **18**, 644 (1935).

³⁸⁾ H. WIELAND, G. HESSE & R. HUETTEL, *Liebigs Ann. Chem.* **524**, 203 (1936).

³⁹⁾ Über UV.-Spektren von Chinoxalinderivaten: F. BOHLMANN, *Chem. Ber.* **84**, 860 (1951); vgl. auch W. J. LEANZA, J. P. CONBERE, E. F. ROGERS & K. PFISTER, 3rd, *J. Amer. chem. Soc.* **76**, 1691 (1954).

spezifischen Nachweis für das Vorliegen eines Brenztraubensäure-Derivates. Nach diesen Resultaten liess sich die Annahme einer α -Ketosaure-Struktur für den Desacetyl-scillirosidinsäure-methylester und damit auch die Fixierung der Acetoxygruppe im Lactonring nicht mehr aufrecht erhalten. Scillirosid (III) und Scillirosidin (VI) besitzen vielmehr einen unsubstituierten α -Pyrnonring, wie die übrigen *Scilla*-Glykoside und Krötengifte.

Die in der vorliegenden Arbeit für Scillirosidin und Scillirosid vorgeschlagenen Konstitutionsformeln VI bzw. III sind durch die neuen experimentellen Befunde, insbesondere durch die Oxydations- und Hydrierungs-Reaktionen sowie durch die am Scillirosidin beobachteten Umlagerungen weitgehend begründet. Da wir in unseren Ableitungen das Vorliegen eines Steroidgerüsts im Scillirosidin voraussetzten, versuchten wir, diesen wesentlichen Punkt noch abzuklären. Dies gelang uns, wie in der folgenden Mitteilung gezeigt wird, durch Überführung von 3-O-Acetylscillirosidin in den bekannten 5 α -Ätiansäure-methylester.

Noch nicht eindeutig gesichert ist die sterische Verknüpfung der D-Glucose im Scillirosid (III). Nach der KLYNE'schen Regel, wonach natürliche Herzglykoside, deren Zuckerkomponente der D-Reihe angehört, eine β -glykosidische Verknüpfung aufweisen⁴⁰⁾, wäre Scillirosid als β -D-Glucosid zu formulieren. Dafür würde auch der molekulare Drehungsanteil der D-Glucose im Scillirosid sprechen, obwohl der beobachtete Wert von -261° ($= [M]_D$ Scillirosid $- [M]_D$ Scillirosidin) weit über die normale Fehlergrenze hinausgeht^{41) 42)}. Ein anderer Hinweis für eine β -glykosidische Bindung ist die enzymatische Spaltung des Scillirosids. Die zur Hydrolyse befähigten Enzympräparate zeigten bei einer Reihe von Herzgiften, deren D-Glucose mit Sicherheit β -glykosidisch gebunden ist, ebenfalls eine hohe Aktivität^{12) 13) 14)}, während z. B. das Scilliglaucosid^{2) 43)}, bei dem auf Grund der molekularen Rotationsdifferenzen eine «abnormale» α -glykosidische Bindung der D-Glucose vorliegen dürfte^{41) 44)}, mit *Coronilla*- oder Pilz-Enzymen nicht abgebaut wurde.

Experimenteller Teil⁴⁵⁾

Scillirosidin (VI). – Ein chromatographisch gereinigtes Scillirosidin-Präparat¹²⁾ wurde aus Methanol und dann zweimal aus Aceton-Äther umkristallisiert. Scillirosidin kristallisierte aus Methanol-Wasser in kurzen, dicken Prismen (Fig. 1), die einen Doppel-Smp. bei 177–178°/200–205° aufweisen; $[\alpha]_D^{20} = -23,0^\circ$ ($c = 0,841$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -4,6^\circ$ ($c = 0,546$ in Chloroform + 2% Methanol). UV.- und IR.-Absorptionsspektren siehe Fig. 3, 5, 6 und 7.

$C_{26}H_{34}O_7$	Ber. C 68,1	H 7,5	O 24,4	(2) CH_3CO 9,4	(3) H-aktiv 0,66%
(458,53)	Gef. „ 68,3	„ 7,7	„ 24,3	„ 8,9	„ 0,64%

⁴⁰⁾ W. KLYNE, *Biochem. J.* **47**, XLI (1950).

⁴¹⁾ A. STOLL, W. KREIS & A. VON WARTBURG, *Helv.* **35**, 2499, 2502 (1952).

⁴²⁾ Beim Proscillaridin A, in dem die L-Rhamnose wahrscheinlich α -glykosidisch verknüpft ist, weicht der Drehungsbeitrag der Zuckerkomponente ebenfalls stark vom $[M]_D$ -Wert des α -Methyl-L-rhamnosids ab⁴¹⁾.

⁴³⁾ A. STOLL & W. KREIS, *Helv.* **34**, 1431 (1951).

⁴⁴⁾ Für Scilliglaucosid ist auch eine Formulierung als D-Glucufuranosid in Betracht zu ziehen⁵⁾.

⁴⁵⁾ Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Zur Bestimmung der optischen Drehwerte wurden die Präparate 1 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die Analysen wurden in unserem Mikroanalytischen Laboratorium (Dr. W. SCHOENIGER) ausgeführt. Die Spektren wurden in unserer Spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. LEEMANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen. Herrn R. KUNGLER danken wir für geschickte experimentelle Mitarbeit.

Nachweis der Acetylgruppe im Scillirosidin: 500 mg Scillirosidin, in 30 ml Methanol gelöst, wurden mit 30 ml 2-n. Natronlauge 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde der Methylalkohol durch Einengen verjagt, die Lösung mit H_3PO_4 bis zur kongosäuren Reaktion versetzt und die Essigsäure im Vakuum bei 80 Torr abdestilliert. Den Rückstand versetzte man mit Wasser und dampfte erneut bis fast zur Trockne ein. Die gesammelten Destillate wurden erneut destilliert, um Reste von Phosphorsäure zu entfernen. Das Destillat verbrauchte bei der Titration 11,0 ml 0,1-n. NaOH (ber. 10,9 ml). Die neutralisierte wässrige Lösung wurde zur Trockne gebracht und der Rückstand mit 300 mg p-Phenylphenacylbromid in 25 ml abs. Alkohol 1 Std. unter Rückfluss erwärmt. Der Alkohol wurde anschliessend im Vakuum verjagt, der Rückstand mit 5 ml Wasser versetzt und mit Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzolextrakte kristallisierten beim Einengen. Zur weiteren Reinigung wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Petroläther (1:1) und reinem Benzol eluierten Fraktionen wurden vereinigt und aus Äther-Petroläther umkristallisiert, wobei farblose Kristalle vom Smp. 107–110° erhalten wurden. Misch-Smp. mit authentischem p-Phenylphenacylacetat vom Smp. 108–110°⁴⁶⁾ ohne Depression.

3-O-Acetylscillirosidin (VII). – 500 mg Scillirosidin (VI) wurden in 5 ml abs. Pyridin und 5 ml Essigsäureanhydrid 15 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösungsmittel wurden im Vakuum entfernt und der Rückstand wie üblich aufgearbeitet. 3-O-Acetylscillirosidin (VII)¹²⁾ kristallisierte aus Methanol in farblosen Blättchen vom Smp. 259–261°; $[\alpha]_D^{20} = -61,0^\circ$ (c = 0,502 in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -46,1^\circ$ (c = 0,684 in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{max} = 300 \mu\mu$, $\log \epsilon = 3,8$. IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei 3575 (OH), 1710, 1630, 1535, 1130, 832 (α -Pyroneering), 1730, 1245 cm^{-1} (Acetyl).

$C_{28}H_{36}O_8$	Ber. C 67,2	H 7,3	O 25,6	(2) CH_3CO 17,2%
(500,568)	Gef. „ 67,1	„ 7,4	„ 25,7	„ 17,5%

Desacetylscillirosidin (VIII). – 5 g Scillirosidin (VI), in 1 l Methanol gelöst, wurden mit einer Lösung von 5 g $KHCO_3$ in 200 ml Wasser versetzt und 10 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach Konzentration der farblosen Lösung auf ca. 200 ml wurden die ausgefallenen Kristalle abfiltriert und neutral gewaschen. Aus dem wässrigen Filtrat konnte durch Extraktion mit Chloroform-Alkohol(9:1) eine zweite Kristallfraktion gewonnen werden. Desacetylscillirosidin (VIII) kristallisierte aus Alkohol in massiven Prismen (Fig. 2). Das Präparat sinterte bei ca. 225° und schmolz bei 250–265° (letzte Reste bis 275°). Eine Probe von VIII wurde an einer Säule aus trockenem Silicagel mit Essigester+2% Methanol chromatographiert. Auch die Spitzenpräparate zeigten den gleichen unscharfen Smp. $[\alpha]_D^{20} = -41,3^\circ$ (c = 0,594 in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -10,0^\circ$ (c = 0,502 in Chloroform, das 2% Methanol enthält). Das Präparat ist acetyl- und methoxyl-frei.

$C_{24}H_{32}O_6$	Ber. C 69,2	H 7,7	O 23,1	(4) H-aktiv 0,97%
(416,50)	Gef. „ 69,3	„ 7,9	„ 23,0	„ 0,99%

LIEBERMANN-Reaktion: rosa-violett-blaugrün (genau gleich wie bei Scillirosidin).

UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{max} = 300 \mu\mu$, $\log \epsilon = 3,8$. IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} : 3330 (OH), 1700, 1630, 1535, 1135, 842 (α -Pyroneering).

Acetylierung von VIII zu 3-O-Acetylscillirosidin (VII): 150 mg Desacetylscillirosidin (VIII) wurden in 2 ml abs. Pyridin gelöst, mit 2 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 24 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss stehengelassen. Nach dem Abdampfen der Lösungsmittel und üblicher Aufarbeitung wurde das Rohprodukt aus Methanol umkristallisiert. Das Acetat schied sich in flachen Plättchen vom Smp. 259–261° ab und erwies sich mit 3-O-Acetylscillirosidin (VII) in allen Eigenschaften als identisch. $[\alpha]_D^{20} = -45,6^\circ$ (c = 0,714 in Chloroform).

3-Dehydro-scillirosidin (IX). – a) *Oxydation von Scillirosidin (VI) mit MnO_2* : 500 mg Scillirosidin in 50 ml $CHCl_3$ wurden mit 5 g MnO_2 (hergestellt nach O. MANCERA *et al.*²¹⁾) 3 Std. geschüttelt. Dann wurde vom Braunstein abfiltriert und mit 200 ml heissem Chloroform nachgewaschen. Aus den vereinigten Filtraten wurden 490 mg farbloser Schaum erhalten, der aus Methanol zu schlancken Prismen vom Smp. 266–273° kristallisierte; $[\alpha]_D^{20} = +7,1^\circ$ (c = 0,563 in Chloroform). UV.-Spektrum (Fig. 3) und IR.-Spektrum (Fig. 8).

$C_{26}H_{32}O_7$ (456,52)	Ber. C 68,4	H 7,1	O 24,5%	Gef. C 68,6	H 7,2	O 24,6%
----------------------------	-------------	-------	---------	-------------	-------	---------

⁴⁶⁾ N. L. DRAKE & J. BRONITSKY, J. Amer. chem. Soc. 52, 3715 (1930).

b) *Oxydation von Scillirosidin (VI) mit Platin und Sauerstoff*: 280 mg $\text{PtO}_2, \text{H}_2\text{O}$, in 45 ml Wasser suspendiert, wurden mit H_2 reduziert. Nach dem Verdrängen des Wasserstoffs durch Stickstoff wurde eine Lösung von 500 mg Scillirosidin (VI) in 100 ml Aceton zugegeben und anschliessend 20 Std. über reinem Sauerstoff geschüttelt. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde eingedampft und der Rückstand aus Methanol kristallisiert. Die farblosen Prismen schmolzen bei 266–268°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +6,1^\circ$ ($c = 0,492$ in Chloroform).

$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_7$ (456,52) Ber. C 68,4 H 7,1 O 24,5% Gef. C 68,4 H 7,0 O 24,3%

Das Dehydrierungsprodukt erwies sich in den physikalischen Daten, insbesondere im Vergleich der IR.-Spektren, mit 3-Dehydro-scillirosidin (IX) identisch.

3-Dehydro-6-desacetyl-scillirosidin (X). – a) *Oxydation von 6-Desacetylscillirosidin (VIII) mit MnO_2* : 500 mg Desacetylscillirosidin (VIII) in 150 ml Chloroform wurden mit 5 g Mangandioxyd²¹) 3 Std. bei Zimmertemperatur geschüttelt. Anschliessend wurde filtriert und der Braunstein mit insgesamt 400 ml heissem Chloroform extrahiert. Aus den vereinigten Chloroformfiltraten wurden 300 mg gelblich gefärbtes Oxydationsprodukt erhalten. Die Kristallisation aus Methanol und Aceton-Äther lieferte rhombische Prismen vom Smp. 280–286°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7,5^\circ$ ($c = 0,199$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 227 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,2$) und $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,8$). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3510, 3400 (OH), 1720, 1642, 1540, 1120, 842 (α -Pyronring), 1669 (α, β -ungesättigtes Sechsringketon), 1420 (2-Methylen des α, β -ungesättigten Sechsringketons).

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (414,48) Ber. C 69,5 H 7,3 O 23,2% Gef. C 69,4 H 7,3 O 23,0%

b) *Oxydation von Desacetylscillirosidin (VIII) mit Platin und Sauerstoff*: Eine Suspension von 500 mg $\text{PtO}_2, \text{H}_2\text{O}$ in 90 ml Wasser wurde mit H_2 reduziert. Nach dem Verdrängen des Wasserstoffs durch Stickstoff wurde eine Lösung von 1 g Desacetyl-scillirosidin (VIII) in 200 ml Aceton zugegeben und 24 Std. über reinem Sauerstoff geschüttelt. Die vom Katalysator klar filtrierte Lösung wurde eingedampft und das Dehydrierungsprodukt aus Methanol umkristallisiert. Die rhombischen Prismen schmolzen bei 270–275°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7,6^\circ$ ($c = 0,197$ in Chloroform).

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (414,48) Ber. C 69,5 H 7,3 O 23,2% Gef. C 69,2 H 7,0 O 23,2%

Aus dem Vergleich der physikalischen Daten und der UV.- und IR.-Spektren ergab sich die Identität des Präparates mit 3-Dehydro-6-desacetyl-scillirosidin (X).

c) *Acetylierung von X zum 3-Dehydro-scillirosidin (IX)*: 190 mg 3-Dehydro-6-desacetyl-scillirosidin (X) in 1,9 ml abs. Pyridin wurden mit 1,9 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 20 Std. dampfte man die Reaktionslösung ein und arbeitete wie üblich auf. Das rohe Acetat kristallisierte aus Methanol zu schlanken Prismen vom Smp. 262–268°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +7,0^\circ$ ($c = 0,536$ in Chloroform).

$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_7$ (456,52) Ber. C 68,4 H 7,1 O 24,5% Gef. C 68,4 H 7,3 O 24,5%

Oxydationsversuch von 3-O-Acetylscillirosidin (VII) mit MnO_2 . – 500 mg 3-O-Acetylscillirosidin wurden wie oben beschrieben in 50 ml Chloroform mit 5 g MnO_2 oxydiert. Es resultierten 494 mg Rohprodukt, das aus Methanol 409 mg kristallisiertes Ausgangsmaterial vom Smp. 255–265° lieferte; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44,1^\circ$ ($c = 0,622$ in Chloroform).

$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_8$ (500,568) Ber. C 67,2 H 7,3 O 25,6% Gef. C 67,1 H 7,4 O 25,7%

Das Vorliegen von intaktem 3-O-Acetylscillirosidin (VII) wurde auch durch den Vergleich der UV.- und IR.-Spektren bestätigt.

Umlagerung von 3-Dehydro-scillirosidin (IX) in das 6 α -Epimere (XI). – Durch eine auf +3° bis +5° abgekühlte Lösung von 250 mg 3-Dehydro-scillirosidin (IX) in 100 ml abs. Chloroform mit einem Alkoholgehalt von 0,8% wurde während 60 Min. in langsamer Blasenfolge trockenes HCl-Gas geleitet. Die Chloroformlösung wurde dann mit kalter KHCO_3 -Lösung und Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand, der aus einem Gemisch der beiden Epimere bestand, wurde an neutralem Aluminiumoxyd chromatographiert. Mit Chloroform-Benzol-Gemischen wurde zuerst etwas unverändertes Ausgangsmaterial IX eluiert. Aus den späteren Fraktionen kristallisierte das 6 α -Epimere XI in einer Ausbeute von ca. 150 mg. Nach Umkristallisation aus Aceton-Äther und aus reinem Aceton wurden kurze, farblose Prismen vom Smp. 245–251° (Sintern ab 240°) erhalten: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +38,5^\circ$ ($c = 0,569$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 236 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,2$) und $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,8$). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} : 3510, 3430 (OH), 1722, 1645,

1548 (α -Pyronring), 1745, 1250 (Acetat), 1663 (α, β -ungesättigtes Sechsringketon), 1420 (α -Methylen des α, β -ungesättigten Sechsringketons).

$C_{26}H_{32}O_7$ (456,52) Ber. C 68,4 H 7,1 O 24,5% Gef. C 68,3 H 6,8 O 24,5%

Reduktion von IX zu 3-Dehydro-6-desacetoxy-scillirosidin (XII). – Eine Lösung von 500 mg 3-Dhydro-scillirosidin (IX) in 20 ml Eisessig und 6 ml Wasser wurde portionenweise unter intensivem Rühren mit 1 g Zinkstaub versetzt. Nach zweistündigem Rühren bei Zimmertemperatur wurde filtriert und der Zinkrückstand mit einer Mischung von 5 ml Eisessig und 1,5 ml Wasser ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum auf ca. 6 ml konzentriert, mit wenig Wasser verdünnt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Aus den vereinigten, neutral gewaschenen Chloroformextrakten wurden 470 mg Rohprodukt erhalten, das an Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Die mit Chloroform-Benzol (1:1) eluierten Fraktionen kristallisierten aus Aceton zu rautenförmigen Polyedern vom Smp. 254–261°; $[\alpha]_D^{20} = +71,7^\circ$ ($c = 0,516$ in Chloroform). UV.- und IR.-Spektrien siehe Fig. 4 und 9.

$C_{24}H_{30}O_5$ (398,48) Ber. C 72,3 H 7,6 O 20,1% Gef. C 72,0 H 7,6 O 20,2%

Oxydation von Scillirosidin (VI) mit Bleitetraacetat zur 8,14-Seco-Verbindung XIII. – 1 g Scillirosidin (VI) in 20 ml reinem Eisessig wurde mit einer frisch bereiteten, klar filtrierten Lösung von 1,5 g Bleitetraacetat in 40 ml Eisessig versetzt. Anschließend wurde das Lösungsmittel im Vakuum bei 25–30° verdampft. Den verbleibenden Kristallbrei nahm man in 100 ml Chloroform auf und schüttelte dreimal mit je 25 ml Wasser aus. Von den dabei ausfallenden braunen Bleioxyden wurde jedesmal durch Filtrieren befreit. Die mit Na_2SO_4 getrocknete Chloroformlösung hinterliess nach dem Eindampfen eine schaumige Substanz, die, mit 1 ml Methanol und 5 ml Äther versetzt, 950 mg weisse Nadeln lieferte. Durch Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurden zu Büscheln angeordnete, weisse Prismen vom Smp. 200–203° gewonnen; $[\alpha]_D^{20} = -75,1^\circ$ ($c = 0,560$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -81,2^\circ$ ($c = 0,634$ in Chloroform). UV.-Spektrum siehe Fig. 3 im theoret. Teil. IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3500 (OH), 1740 (breit), 1230 (Fünfringketon + Acetyl), 1710 (breit), 1635, 1538, 1140, 836 (α -Pyron + Sechsringketon), 1402 (α -Methylen des Fünfringketons).

$C_{26}H_{32}O_7$ Ber. C 68,4 H 7,1 O 24,5 CH_3CO 9,4%
(456,52) Gef. „ 68,6 „ 7,1 „ 24,6 „ 9,5%

Acetylierung von XIII zu XIV: 100 mg Oxydationsprodukt XIII wurden in 3 ml Pyridin-Eisessigsäureanhydrid (1:1) acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung kristallisierte das Acetat aus Aceton-Äther zu feinen Nadelchen vom Smp. 175–177°; $[\alpha]_D^{20} = -111,3^\circ$ ($c = 0,629$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -123,7^\circ$ ($c = 0,635$ in Chloroform). Das Präparat ist mit der unten beschriebenen Acetylverbindung XIV identisch.

Oxydation von 3-O-Acetyl-scillirosidin (VII) zu XIV. – a) *Mit Bleitetraacetat:* 1 g 3-O-Acetylscillirosidin (VII) wurde in 20 ml reinem Eisessig gelöst, mit 1,4 g Bleitetraacetat in 30 ml Eisessig versetzt und die farblose Lösung sofort im Vakuum bei 30° eingedampft. Den Rückstand löste man in 100 ml Chloroform und schüttelte mit 25 ml Wasser aus. Die ausfallenden braunen Bleisalze wurden durch Filtrieren entfernt; dann wurde die klare Lösung im Scheidetrichter getrennt. Die Chloroformphase wurde auf die gleiche Weise noch dreimal mit Wasser gewaschen, dann über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Aceton-Äther zu feinen Nadelchen vom Smp. 174–176°; $[\alpha]_D^{20} = -112,4^\circ$ ($c = 0,596$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -121,8^\circ$ ($c = 0,591$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{max} = 300 m\mu$ ($\log \epsilon = 3,8$). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} (OH keine), 1708, 1638 (α -Pyron + Sechsringketon), 1730, 1240 (Acetyl), 1740 (Schulter) (Fünfringketon), 1405 (α -Methylen des Fünfringketons).

$C_{28}H_{34}O_8$ Ber. C 67,5 H 6,9 O 25,7 (2) CH_3CO 17,3 H-aktiv 0%
(498,55) Gef. „ 67,2 „ 7,1 „ 25,7 „ 17,7 „ 0%

b) *Mit CrO_3 in Eisessig:* 300 mg 3-O-Acetylscillirosidin (VII) in 10 ml Eisessig wurden mit 2 ml 2-proz. CrO_3 -Eisessiglösung versetzt. Nach ca. 2 Std. war das Chromtrioxyd verbraucht. Man fügte noch 2 ml CrO_3 -Lösung zu und dampfte nach 2 Std. im Vakuum zur Trockne. Der Rückstand wurde in 50 ml Chloroform gelöst mit 2-n. H_2SO_4 , dann mit gesättigter $KHCO_3$ -Lösung und zuletzt mit Wasser gewaschen. Die getrocknete Chloroformlösung wurde eingedampft. Das Oxydationsprodukt XIV kristallisierte in weissen, verfilzten Nadeln vom Smp. 174–175°; $[\alpha]_D^{20} = -123,5^\circ$ ($c = 0,550$ in Chloroform) und $[\alpha]_D^{20} = -110,7^\circ$ ($c = 0,546$ in Methanol).

c) *Mit Chromtrioxyd-Pyridin-Komplex*: 500 mg 3-O-Acetylscillirosidin (VII) wurden in 10 ml abs. Pyridin gelöst und mit einer Suspension von 500 mg CrO_3 in 10 ml abs. Pyridin²⁹) versetzt. Nach 15stündigem Stehen wurde auf 200 ml Wasser gegossen und mit Chloroform erschöpfend extrahiert. Die vereinigten Chloroform-Auszüge wurden mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der dunkel gefärbte Rückstand wurde zur Reinigung an trockenem Silicagel chromatographiert. Man gewann 460 mg kristallisierte Acetylverbindung XIV, die nach dem Umkristallisieren aus Aceton-Äther einen Smp. von 175–176° aufwies; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -121,8^\circ$ ($c = 0,508$ in Chloroform).

$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_8$	Ber. C 67,5	H 6,9	O 25,7	2 CH_3CO 17,3%
(498,55)	Gef. „ 67,6	„ 6,8	„ 25,5	„ 16,9%

Die Identität der aus 3-O-Acetylscillirosidin (VII) durch Oxydation mit Bleitetraacetat, Chromsäure in Eisessig oder Chromtrioxyd-Pyridin-Komplex hergestellten Präparate (XIV) ergab sich aus dem Vergleich der physikalischen Daten und dem Misch-Smp. und insbesondere aus der Übereinstimmung der UV.- und IR.-Spektren.

Oxydation von Desacetyl-scillirosidin (VIII) zur 8,14-Seco-Verbindung XV. – 500 mg Desacetyl-scillirosidin (VIII) in 10 ml Eisessig versetzte man mit 15 ml Eisessig, der 750 mg Bleitetraacetat gelöst enthielt. Die klare farblose Reaktionslösung wurde sofort im Vakuum bei 25–30° eingedampft. Den Rückstand nahm man in 50 ml Chloroform auf und schüttelte mit 12 ml Wasser kräftig durch. Von den ausfallenden braunen Bleioxyden wurde abfiltriert und die Chloroformphase noch dreimal mit je 12 ml Wasser auf die gleiche Weise behandelt. Die über Na_2SO_4 getrocknete Chloroformschicht ergab nach dem Eindampfen 500 mg weissen Schaum, der aus Aceton-Äther in Nadelchen kristallisierte. Smp. 192–194°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -94,3^\circ$ ($c = 0,530$ in Methanol). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,7$); IR.-Spektrum siehe Fig. 10.

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_6$ (414,48)	Ber. C 69,5	H 7,3	O 23,2%	Gef. C 69,3	H 7,5	O 23,1%
---	-------------	-------	---------	-------------	-------	---------

Acetylierung von XV zu XIV: Durch übliche Acetylierung wurde aus dem Dehydroprodukt XV ein kristallisiertes Acetat vom Smp. 174–176° und $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -121,0^\circ$ ($c = 0,504$ in Chloroform) gewonnen, das mit der oben erwähnten Acetylverbindung XIV identisch war.

Cyclisches Sulfit XVI aus 3-O-Acetylscillirosidin (VII). – 1 g 3-O-Acetylscillirosidin (VII) in 10 ml abs. Pyridin wurde bei –15° mit 2 ml frisch dest. Thionylchlorid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss über Nacht bei 0° stehengelassen. Dann wurde die braun gefärbte, klare Lösung auf zerstoßenes Eis gegossen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser neutral gewaschenen Chloroformauszüge lieferten nach dem Eindampfen 1,21 g Rohprodukt, das aus Aceton-Äther in Rauten kristallisierte. Smp. 190–198° (unter Gasentwicklung); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +42,2^\circ$ ($c = 0,511$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 3,8$); IR.-Spektrum siehe Fig. 11.

$\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_9\text{S}$	Ber. C 61,5	H 6,3	O 26,3	S 5,9%
(546,61)	Gef. „ 61,5	„ 6,2	„ 26,2	„ 5,9%

Dienon XVII aus der 8,14-Seco-Verbindung XIII. – a) *Abspaltung von Essigsäure aus XIII durch Aluminiumoxyd*: 1 g XIII wurden in 50 ml Chloroform gelöst, mit 50 ml Benzol versetzt und die Lösung an einer Säule aus 30 g Aluminiumoxyd aufgezogen. Nach 24 Std. wurde mit Chloroform-Benzol-Gemischen eluiert. Die Hauptfraktionen ergaben nach dem Umkristallisieren aus Methanol flache sechseckige Prismen vom Smp. 190–194°; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -117^\circ$ ($c = 0,530$ in Methanol). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 290 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,3$); siehe Fig. 4. IR.-Spektrum siehe Fig. 12.

$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_5$ (396,46)	Ber. C 72,7	H 7,1	O 20,2%	Gef. C 72,6	H 7,0	O 20,4%
---	-------------	-------	---------	-------------	-------	---------

b) *Abspaltung von Essigsäure aus XIII mit KHCO_3* : 1 g Dehydroprodukt XIII in 200 ml Methanol versetzte man mit einer Lösung von 1 g KHCO_3 in 40 ml Wasser und liess 10 Tage bei Zimmertemperatur stehen. Die jetzt schwach gelbliche Lösung wurde im Vakuum bei 40° auf ca. 40 ml konzentriert, wobei sich farblose Kristalle abschieden, von denen abfiltriert wurde. Das Filtrat schüttelte man mit Chloroform-Alkohol (9:1) aus. Die Kristalle und der Chloroform-Alkoholauszug wurden aus Aceton-Äther umkristallisiert. Es wurden sechseckige Platten vom Smp. 192–194° erhalten; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -117,6^\circ$ ($c = 0,727$ in Methanol).

$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_5$ (396,46)	Ber. C 72,7	H 7,1	O 20,2%	Gef. C 72,5	H 7,1	O 20,4%
---	-------------	-------	---------	-------------	-------	---------

Das Präparat stimmt in allen Eigenschaften mit dem durch Chromatographie an Aluminiumoxyd erhaltenen Dienon XVII überein.

c) *Acetylderivat XVIII*: 250 mg XVII wurden wie üblich in abs. Pyridin mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Das Acetat kristallisierte aus Aceton-Äther in massiven Prismen vom Smp. 184–186°; $[\alpha]_D^{20} = -116,7^\circ$ ($c = 0,420$ in Chloroform).

$C_{26}H_{30}O_6$	Ber. C 71,2	H 6,9	O 21,9	(1) CH_3CO	9,8%
(438,50)	Gef. „ 71,2	„ 7,1	„ 22,0	„	11,0%

Herstellung des Triketons XIX. – a) *Oxydation von Scillirosidin (VI) mit CrO_3* : 500 mg Scillirosidin (VI) wurden in 20 ml Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur mit 8 ml 2-proz. Lösung von CrO_3 in Eisessig versetzt. Im Verlauf von 6 Std. wurden in Portionen insgesamt noch weitere 5 ml CrO_3 -Lösung zugegeben. Anschliessend verdünnte man mit 1 ml Methanol und liess die Reaktionslösung über Nacht stehen. Nach Eindampfen der dunkelgrünen Lösung im Vakuum bei 30° nahm man den Rückstand in Chloroform auf und schüttelte mit 2-n. H_2SO_4 und Wasser aus. Die neutral reagierende Chloroformphase wurde getrocknet und eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Aceton-Äther in Rauten vom Smp. 174–179°/220–228°; $[\alpha]_D^{20} = -62,4^\circ$ ($c = 0,529$ in Methanol). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{max} = 229$ und 298 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,26$ und 3,80). Das IR.-Spektrum siehe Fig. 13.

$C_{26}H_{30}O_7$	Ber. C 68,7	H 6,7	O 24,6	CH_3CO	9,5%
(454,50)	Gef. „ 68,8	„ 6,6	„ 24,6	„	18,8%

b) *Oxydation der 8,14-Seco-Verbindung XIII mit CrO_3* : 500 mg Dehydroverbindung XIII in 20 ml Eisessig wurden mit 5 ml 2-proz. CrO_3 -Eisessiglösung bei Zimmertemperatur versetzt. Nach 5 Std. verdünnte man mit 1 ml Methanol und liess über Nacht stehen. Die dunkelgrüne Reaktionslösung wurde im Vakuum bei 30° eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform gelöst und mit 2-n. H_2SO_4 und anschliessend mit Wasser gewaschen. Die über Na_2SO_4 getrocknete Chloroformschicht lieferte nach dem Eindampfen 490 mg amorphes Oxydationsprodukt. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther wurden rautenförmige Kristalle vom Smp. 175–180°/220–230° erhalten; $[\alpha]_D^{20} = -66,7^\circ$ ($c = 0,527$ in Methanol).

$C_{26}H_{30}O_7$	(454,50)	Ber. C 68,7	H 6,7	O 24,6%	Gef. C 68,6	H 6,5	O 24,7%
-------------------	----------	-------------	-------	---------	-------------	-------	---------

Die Verbindung stimmt in allen Eigenschaften mit dem unter a) beschriebenen Triketon XIX überein.

c) *Oxydation von 3-Dehydro-scillirosidin (IX) mit Bleitetraacetat*: 300 mg 3-Dehydro-scillirosidin (IX) wurden in 7 ml Eisessig gelöst und mit einer Lösung von 450 mg Bleitetraacetat in 15 ml Eisessig versetzt. Man dampfte anschliessend im Vakuum bei 30° ein und nahm den Rückstand in Chloroform auf. Nach dem Ausschütteln mit Wasser und Entfernung der ausgefallenen braunen Bleisalze wurde die Chloroformphase getrocknet (Na_2SO_4) und eingedampft. Der Rückstand kristallisierte aus Aceton-Äther in rautenförmigen oder rechteckigen Blättchen vom Smp. 177–180°; $[\alpha]_D^{20} = -68,1^\circ$ ($c = 0,507$ in Methanol).

$C_{26}H_{30}O_7$	Ber. C 68,7	H 6,7	O 24,6	CH_3CO	9,5%
(454,50)	Gef. „ 68,9	„ 6,7	„ 24,4	„	9,5%

Das Präparat ist mit dem oben unter a) und b) beschriebenen Triketon XIX identisch.

Herstellung der $\Delta^{4,6}$ -3,8,14-Triketoverbindung XX durch Abspaltung von Essigsäure aus XIX. – 500 mg Scillirosidin wurden wie oben bei der Herstellung des Triketons XIX unter a) beschrieben mit CrO_3 -Eisessiglösung oxydiert. Das rohe Oxydationsprodukt wurde direkt an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform-Gemischen eluierten Fraktionen wurden aus der 1500–3000fachen Menge Methanol umkristallisiert und lieferten leicht gelblich gefärbte Kristalle vom Smp. 240–242°. IR.- und UV.-Spektren siehe Fig. 14 und Fig. 4.

$C_{24}H_{26}O_5$	(394,45)	Ber. C 73,1	H 6,6	O 20,3%	Gef. C 73,2	H 6,9	O 20,5%
-------------------	----------	-------------	-------	---------	-------------	-------	---------

Oxydation von Desacetylscillirosidin (VIII) zum Anhydrid XXI. – 500 mg Desacetylscillirosidin (VIII) in 25 ml Eisessig wurden bei Zimmertemperatur mit 9 ml 2-proz. CrO_3 -Eisessiglösung versetzt. In ca. stündlichen Intervallen wurden je 3 ml weitere Oxydationslösung zugegeben, die immer innerhalb 45–60 Min. verbraucht waren. Nach Zugabe von insgesamt 35 ml CrO_3 -Lösung wurde 1 ml Methanol zugefügt und die Lösung über Nacht stehengelassen.

Dann wurde im Vakuum eingedampft. Den Rückstand nahm man in Chloroform auf und schüttelte mit 2-n. H_2SO_4 und Wasser durch. Aus der getrockneten Chloroformphase gewann man 340 mg amorphes Oxydationsprodukt, das aus Aceton spontan kristallisierte. Nach mehrfachem Umkristallisieren wurden gelblich gefärbte Blättchen vom Smp. 244–254° erhalten. UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{max} = 230$ und $298 m\mu$ ($\log \epsilon = 4,14$ und $3,81$). IR.-Spektrum siehe Fig. 15.

$C_{23}H_{24}O_7$ (412,42) Ber. C 67,0 H 5,9 O 27,2% Gef. C 66,9 H 6,6 O 27,5%

Hydrierung von Scillirosidin (VI). – a) *Mit Platin in Eisessig:* 100 mg PtO_2, H_2O wurden in 10 ml Eisessig vorhydriert, dann gab man eine Lösung von 500 mg Scillirosidin (VI) in 15 ml Eisessig zu und hydrierte bei Zimmertemperatur. Nach ca. 4–5 Std. war die Wasserstoffaufnahme beendet und 129,4 ml H_2 ($0^\circ/760$ Torr) entsprechend 5,3 Mol. H_2 aufgenommen worden. Man filtrierte vom Katalysator ab und dampfte das Filtrat im Vakuum ein. Das Gemisch der Hydrierungsprodukte wurde in Chloroform-Äther (3:1) gelöst und viermal mit kalter 2-n. Sodalösung ausgezogen. Die mit Wasser neutral gewaschene Chloroform-Äther-Phase lieferte 180 mg Neutralteil. Die Soda-Auszüge wurden mit verd. H_2SO_4 angesäuert und erschöpfend mit Chloroform extrahiert. Aus den Chloroformextrakten wurden 300 mg Säurefraktion erhalten.

Die sauren Anteile aus verschiedenen Hydrierungsansätzen wurden vereinigt (1,1 g), in 40 ml Methanol gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Das Gemisch der Ester chromatographierte man an neutralem Aluminiumoxyd. Aus den mit Benzol-Pentan-Gemischen eluierten Fraktionen wurde aus Aceton-Äther ein kristallisiertes Präparat vom Smp. 121–127° erhalten. Laut Analyse lag das 3-Desoxyderivat XXIII vor. IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3550 (OH) und 1720 (Ester).

$C_{25}H_{42}O_4$ Ber. C 73,9 H 10,4 O 15,7 CH_3O 7,6%
(406,59) Gef. „ 74,0 „ 10,4 „ 15,8 „ 7,8%

Die mit Benzol und Benzol-Chloroform-Gemischen eluierten Fraktionen wurden an Aluminiumoxyd nachchromatographiert und lieferten ein Spitzenpräparat, das aus Äther-Petroläther zu Prismen vom Smp. 160–162° kristallisierte. Es handelt sich um das β -Hydroxy-Derivat XXIV. IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3530 (OH), 1720 (Ester).

$C_{25}H_{42}O_5$ Ber. C 71,1 H 10,0 O 18,9 CH_3O 7,3%
(422,59) Gef. „ 71,3 „ 9,8 „ 18,9 „ 7,8%

b) *Mit Palladium in Feinsprit:* Eine Lösung von 2 g Scillirosidin (VI) in 100 ml Feinsprit wurde mit 2 g vorhydrierter 5-proz. Palladium-Kohle in H_2 -Atmosphäre geschüttelt. Die Hydrierung kam nach Aufnahme von 3,0 Mol. Wasserstoff zum Stillstand. Der Katalysator wurde abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Im Destillat wurde titrimetrisch 1 Mol. Essigsäure bestimmt. Das rohe Hydrierungsprodukt wurde in 200 ml Chloroform aufgenommen und durch Ausschütteln mit kalter 2-n. Sodalösung von sauren Anteilen befreit. Die mit Wasser neutral gewaschenen Chloroformphasen ergaben nach dem Eindampfen 1,52 g amorphen Neutralteil. Aus den vereinigten Sodaauszügen konnten nach Ansäuern und Extraktion mit Chloroform 0,17 g saure Anteile gewonnen werden.

Der Neutralteil (XXV) kristallisierte aus Methanol zu länglichen, rhombenförmigen Nadeln (470 mg) vom Smp. 213–239°; $[\alpha]_D^{20} = +36,4^\circ$ ($c = 0,467$ in Chloroform). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3560, 3400 (OH), 1710 (Ester). Im UV. ist keine selektive Absorption festzustellen.

$C_{24}H_{36}O_5$ (404,53) Ber. C 71,3 H 9,0 O 19,8% Gef. C 71,4 H 9,2 O 20,2%

Acetylderivat XXVI: 1 g amorpher Neutralteil wurde in Pyridin mit Essigsäureanhydrid acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung wurde ein amorphes Acetat gewonnen, das nach Chromatographie an Silicagel in geringer Ausbeute (50 mg) ein Kristallinat XXVI vom Smp. 225–247° lieferte. IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3500 (OH), 1740 (Acetat), 1720 (Lacton).

$C_{26}H_{38}O_6$ (446,56) Ber. C 69,9 H 8,6 O 21,5% Gef. C 70,0 H 9,0 O 21,7%

Nachhydrierung von XXV mit Platin in Eisessig zu XXVII. – 100 mg PtO_2, H_2O wurden in 10 ml Eisessig vorhydriert. Dann fügte man eine Lösung von 500 mg der krist. Verbindung XXV zu und schüttelte 5 Std. unter H_2 -Atmosphäre. Die Wasserstoff-Aufnahme entsprach 1,0 Mol. H_2 . Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung eingedampft. Den Rückstand nahm man in 50 ml Chloroform auf und trennte wie oben durch Ausschütteln mit 2-n. Sodalösung die sauren Anteile (8 mg) ab. Aus der mit Wasser gewaschenen

Chloroformphase wurden nach dem Eindampfen 490 mg Neutralteil erhalten. Aus Methanol kristallisierten 350 mg prismatische Nadeln vom Smp. 210–217°; $[\alpha]_D^{20} = +25,0^\circ$ ($c = 0,521$ in Chloroform). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei cm^{-1} 3550 (OH), 1720 (Lacton).

$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_5$ (406,54) Ber. C 70,9 H 9,4 O 19,7% Gef. C 71,1 H 9,3 O 19,9%

Umlagerung von Scillirosidin zum α,β -ungesättigten Keton XII. – 1 g Scillirosidin (VI) wurde in 30 ml 1-n. abs. alkoholischer Salzsäure 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Die anfänglich hellgelbe Lösung färbte sich dunkelgrün. Nach dem Eindampfen der Lösungsmittel wurde der Rückstand an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform und reinem Chloroform eluierten Fraktionen (ca. 530 mg) kristallisierten spontan aus Aceton. Zur weiteren Reinigung wurden diese Fraktionen nachchromatographiert und ergaben aus Aceton-Äther ca. 360 mg Prismen vom Smp. 257–263°; $[\alpha]_D^{20} = +70,6$ ($c = 0,667$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 242$ und $300 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,22$ und $3,77$) (Fig. 4). IR.-Spektrum siehe Fig. 9.

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_5$ (398,48) Ber. C 72,3 H 7,6 O 20,1% Gef. C 72,3 H 7,7 O 20,2%

Das Präparat enthielt keine Acetyl- und keine Äthoxylgruppe. Das Umlagerungsprodukt ist mit 3-Dehydro-6-desacetoxy-scillirosidin (XII) identisch.

3-O-Acetyl-iso-scillirosidinsäure-methylester (XXII). – 1 g Scillirosidin (VI) wurde in 50 ml 0,1-n. abs. methanolischer Kalilauge gelöst und 24 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Anschliessend säuerte man mit 0,1-n. wässriger Salzsäure an und liess weitere 2 Std. stehen. Nach Zusatz von 100 ml Wasser wurde der Methylalkohol durch Konzentrieren im Vakuum verjagt und die nunmehr wässrige Lösung mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroform-Extrakte wurden neutral gewaschen und eingedampft. Der Rückstand (1,0 g) wurde in 10 ml abs. Pyridin gelöst und mit 10 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Nach 18stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde im Vakuum eingedampft und das rohe Acetat wie üblich aufgearbeitet. Aus Methanol kristallisierte der 3-O-Acetyl-iso-scillirosidinsäure-methylester (XXII) in massiven Prismen vom Smp. 234–237°; $[\alpha]_D^{20} = -63,9^\circ$ ($c = 0,610$ in Methanol). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{\text{max}} = 302 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,44$).

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{O}_8$ Ber. C 67,7 H 7,4 O 24,9 CH_3O 6,0%
(514,59) Gef. „ 67,6 „ 7,3 „ 25,0 „ 6,4%

Oxydationsversuch von XXII mit Bleitetraacetat: 500 mg 3-O-Acetyl-iso-scillirosidinsäure-methylester (XXII) in 10 ml Eisessig wurden mit einer Lösung von 750 mg Bleitetraacetat in 20 ml Eisessig versetzt und die klare, farblose Lösung sofort im Vakuum bei 30° eingedampft. Der Rückstand wurde in Chloroform aufgenommen und durch Ausschütteln mit Wasser von den Bleisalzen befreit. Der aus der Chloroformphase gewonnene Rückstand wurde mehrmals aus Methanol umkristallisiert und lieferte massive Prismen vom Smp. 234–237°; $[\alpha]_D^{20} = -62,3^\circ$ ($c = 0,531$ in Methanol). Das Präparat stimmt in allen Eigenschaften mit dem Ausgangsmaterial (XXII) überein.

Zusammenfassung

Neue experimentelle Untersuchungen über den chemischen Bau des Scillirosids und seines Aglycons Scillirosidin führten zu den Konstitutionsformeln III bzw. VI. Scillirosidin stellt danach ein Δ^4 -Steroid dar, das wie die bekannten cardiotonen Naturstoffe vom *Scilla-Bufo*-Typ einen unsubstituierten, doppelt ungesättigten Lacton-Sechsring aufweist. Als weitere charakteristische Strukturelemente besitzt Scillirosidin eine 3β -Hydroxy- Δ^4 - 6β -acetoxy-Gruppierung (En-1,4-diol-Derivat) und zwei benachbarte tertiäre Hydroxyle an C-8 und C-14 (α -Glykol). Scillirosidin stellt damit unseres Wissens das erste natürliche Steroid dar, das an C-8 hydroxyliert ist.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium SANDOZ, Basel