

219. Zur Struktur der Scilliglaucosids

56. Mitt. über Herzglykoside [1]

von **Heinz Lichti, Peter Niklaus und Albert von Wartburg**

SANDOZ AG, Pharma Departement, Chemische Forschung, Basel, Schweiz

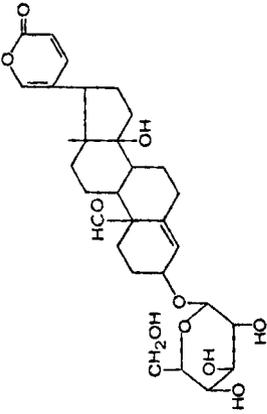
(5. VII. 73)

Summary. The structure of scilliglaucoside, a cardiac active squill glycoside, is revised. The assignment of the new structural formula **1** is made on the basis of NMR. spectral data.

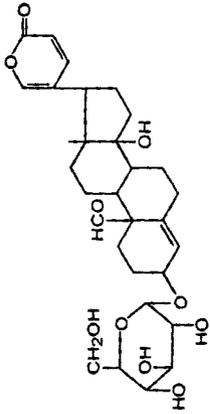
Scilliglaucosid, ein hochwirksames Herzglykosid aus der roten und weissen Varietät der Meerzwiebel, *Scilla (Urginea) maritima Baker L.* [2], soll nach unseren früheren Untersuchungen eine α -glykosidisch verknüpfte D-Glucopyranose-Einheit, entspr. Formel **2**, aufweisen [3] [4] [5]. Die ungewöhnliche, der *Klyne*'schen Regel [6] widersprechende α -Konfiguration der Zuckerbindung wurde in erster Linie aus dem stark positiven Molekularen Drehungsbeitrag des D-Glucosid-Rests abgeleitet ($[\Delta[M]_D = +401^\circ$). Weitere Hinweise lieferte das Verhalten des Glucosids bei der Hydrolyse: Scilliglaucosid wird durch verschiedene β -Glucosidasen, z.B. durch die Enzyme aus *Coronilla*-Samen [7] und aus gewissen Pilzen [8], nicht angegriffen. Mit 1-2proz. wässriger Schwefelsäure erfolgt die Spaltung schon bei 0°. Neben D-Glucose entsteht ein Gemisch von Aglykonen (**4**, **7**, **8**), aus dem sich kristallisiertes Scilliglaucosidin (**4**) in Ausbeuten bis zu 50% gewinnen lässt. Die Struktur der isolierten Aglykone konnte aufgeklärt werden: Scilliglaucosidin wurde als 19-Oxoscillarenin (**4**) (= 3 β ,14-Dihydroxy-19-oxo-14 β -bufa-4,20,22-trienolid) charakterisiert, beim Spaltprodukt **8** handelt es sich um das entsprechende 3 α -Isomere (s. unten), und **7** erwies sich als 3-Monoanhydroscilliglaucosidin [4] [9].

Eine scheinbare Bestätigung der für Scilliglaucosid vorgeschlagenen Konstitution **2** bildete das später isolierte Altosid (**3**), das Hauptglykosid der südafrikanischen *Urginea altissima Baker* [5]. Altosid liefert ebenfalls Scilliglaucosidin (**4**) und D-Glucose als Hydrolyseprodukte. Methylierungsreaktionen zeigten, dass der D-Glucosid-Rest in **3** wie beim Scilliglaucosid in der Pyranosidform vorliegt. Da β -Glucosidasen eine Spaltung des Altosids bewirkten, und da der Drehungsbeitrag des D-Glucopyranosid-Rests einen negativen Wert ergab ($[\Delta[M]_D = -44^\circ$), formulierten wir Altosid (**3**) als β -D-Glucopyranosid des Scilliglaucosidins. Mit Scilliglaucosid und Altosid glaubten wir, erstmals ein natürlich vorkommendes Anomerenpaar herzaktiver Glykoside gefunden zu haben. Zwar wurden auch andere Strukturunterschiede zwischen den beiden isomeren Glykosiden erwogen, z.B. eine verschiedenartige Lage der Doppelbindung im Steroidgerüst. Da wir aber damals über keine entsprechenden Indizien verfügten, hielten wir die Anomerie der beiden Glykoside für wahrscheinlicher [5].

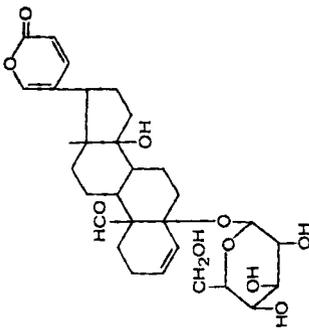
Inzwischen erhielten wir neue Struktur-Informationen aus den NMR.-Spektren der *Scilla*-Glykoside. Die Formulierung **3** des Altosids liess sich dabei bestätigen; hingegen zeigte es sich, dass die für Scilliglaucosid postulierte Struktur **2** nicht zu-



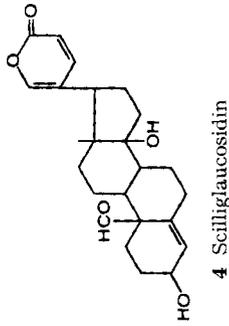
3 Altosid



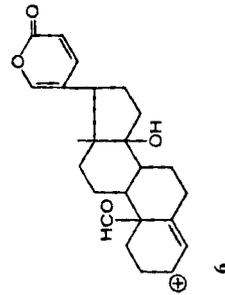
2 Scilliglaucosid (alte Formel)



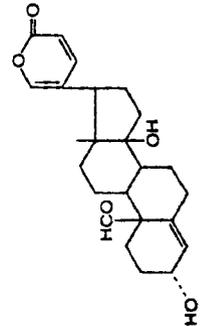
1 Scilliglaucosid (neue Formel)



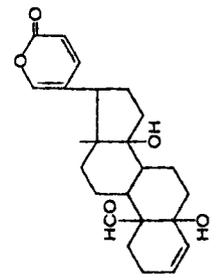
4 Scilliglaucosidin



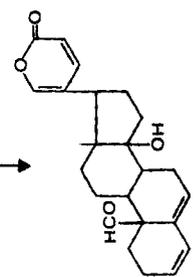
6



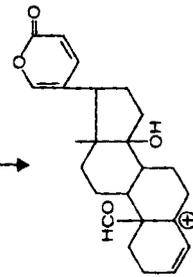
8 3-epi-Scilliglaucosidin
(= Pseudoscilliglaucosidin)



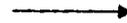
9 Scilliglaucogenin (nicht isoliert)



7 Anhydroscilliglaucosidin



5



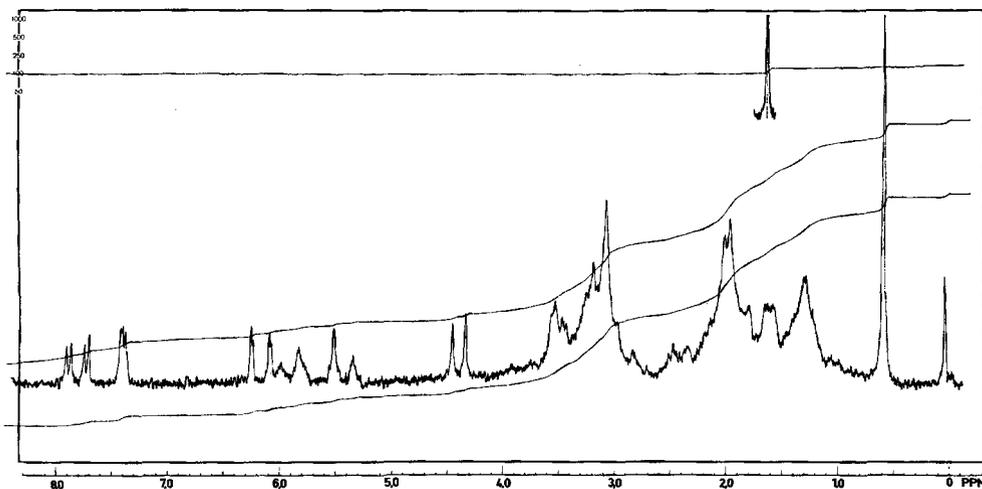


Fig. 1. 60 MHz-NMR.-Spektrum von Scilliglaucosid in $(\text{CD}_3)_2\text{SO} + \text{D}_2\text{O}$, 100° (offset 500 cps am oberen Bildrand)

treffen kann. Einen ersten Einwand bildet das bei 4,35 ppm auftretende Dublett mit der Kopplungskonstanten von 7 Hz (Fig. 1). Nach Resonanzlage und Spinkopplung muss dieses Signal dem C(1)-Proton eines β -Glucopyranosids zugeordnet werden. Die Kopplungskonstante von 7 Hz beweist die bisaxiale Anordnung der Wasserstoff-

Tabelle 1. Resonanzlage der Olefin-Protonen im Steroidteil von Scilla-Glykosiden^{a)}

Scilla-Glykosid, bzw. Aglykon		Resonanzlage in ppm
Scillarenin [10]	(H an C(4))	5,22
Proscillaridin [10]	(H an C(4))	5,25
Scillarenin- β -D-glucosid [11]	(H an C(4))	5,40
Scillaren A [10]	(H an C(4))	5,28
Scilliphäosidin [12]	(H an C(4))	5,30
Scilliphäosid [12]	(H an C(4))	5,33
Scillirubrosidin [13]	(H an C(4))	5,22
Scillirobrosid [13]	(H an C(4))	5,36
Scillirosidin [14]	(H an C(4))	5,57 ^{b)}
Scillirosid [14]	(H an C(4))	5,82 ^{b)}
Altosid [5]	(H an C(4))	5,70 ^{c)}
Scilliglaucosidin [3] [4]	(H an C(4))	5,58 ^{c, d)}
Scilliglaucosid [2] [4]	(H an C(3) und C(4))	5,95 + 5,50
Scillicyanosid [2] [3]	(H an C(3) und C(4))	5,95 + 5,48 ^{e)}

a) In $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ bei 25° , δ -Werte auf ca. $\pm 0,03$ ppm genau.

b) Durch den Entschirmungs-Effekt der 6β -Acetoxygruppe nach tiefern Feldern verschoben.

c) Der Entschirmungs-Effekt der Aldehydgruppe an C(10) bewirkt eine Verschiebung des Singulets nach tieferen Feldern.

d) In $(\text{CD}_3)_2\text{SO}/\text{CDCl}_3$ 5:1.

e) Siehe folgende Mitteilung.

atome an C(1') und C(2') und damit die β -glykosidische Verknüpfung des Glucose-Restes. Scilliglaucosid ist demnach kein α -D-Glucopyranosid; der Unterschied zum Altosid (3) ist in einem andern Strukturelement zu suchen.

Eine weitere Unstimmigkeit zeigte sich bei den Signalen der Olefin-Protonen. Die bis jetzt strukturell aufgeklärten *Scilla*-Glykoside besitzen ausser dem Diensystem des α -Pyronrings eine Doppelbindung zwischen C(4) und C(5) im Steroidgerüst. In ihren NMR.-Spektren tritt im Gebiet zwischen 5 und 6 ppm ein stumpfes Singulett auf, das vom Olefinproton an C(4) stammt (Tab. 1). Scilliglaucosid zeigt überraschenderweise an Stelle des erwarteten Singuletts zwei Dublette, die von zwei miteinander gekoppelten Olefin-Protonen herrühren¹⁾ (*AB*-System: $\delta A = 5,50$, $\delta B = 5,95$, $J_{AB} = 10$ Hz). Die Linien dieser Dublette sind breit, besonders die des *B*-Protons. Bei erhöhter Temperatur werden Triplett-Feinaufspaltungen mit Kopplungen von *ca.* 3 Hz beim *B*-Proton und *ca.* 1,5 Hz beim *A*-Proton erkennbar. Derartige Kopplungen sind typisch für die Gruppierung $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{C} \leq$ in konformativ beweglichen Cyclohexen-Ringen. Die Triplett-Feinstruktur bei höheren Temperaturen weist darauf hin, dass der Cyclohexen-Ring (Ring A) zwischen der Pseudosessel- und der Pseudoboot-Form hin und her schwingen kann; der Übergang von der einen in die andere Form erfolgt erst bei erhöhter Temperatur so rasch, dass die CH_2 -Protonen im Zeitmittel für NMR.-Messungen äquivalent werden. Aus den diskutierten Signalen bei 5,50 und 5,95 ppm geht hervor, dass Scilliglaucosid eine α, β -*cis*-disubstituierte Doppelbindung in einem Sechsring enthält, wobei es sich beim einen Substituenten um eine CH_2 -Gruppe, beim andern um ein quaternäres C-Atom handelt. Aufgrund der gesicherten Strukturen der Hydrolyseprodukte 4 und 7 muss diese Doppelbindung im Ring A des Scilliglaucosids liegen. Von den drei möglichen Lagen scheidet Δ^1 wegen der Bildung des $\Delta^{3,5}$ -Diens 7 (= Anhydroscilliglaucosidin) aus; Δ^2 kommt nicht in Frage, weil hier die beiden Olefin-Protonen fast identische Chemische Verschiebungen und Spinaufspaltungen zeigen sollten [15]. Als plausible Struktur für Scilliglaucosid bleibt einzig ein Δ^3 -Steroid, das an C(5) den Glucopyranosid-Rest trägt [Formel 1].

Aus dieser Formulierung folgt, dass Scilliglaucosidin (4) nicht das genuine Aglykon des Scilliglaucosids sondern ein Sekundärprodukt darstellt, das im Verlauf der Hydrolyse entsteht. Die neue Struktur 1 steht zur Bildung der Aglykone 4, 7 und 8 nicht im Widerspruch, da während der sauren Hydrolyse eine Allylumlagerung des Primärproduktes über die Ionen 5 und 6 erfolgen kann. Das genuine Aglykon 9, für das wir die Bezeichnung Scilliglaucogenin vorschlagen, konnte allerdings aus dem Gemisch der Aglykone bisher nicht isoliert werden²⁾.

Ein wichtiger Hinweis auf Umlagerungsreaktionen, die bei der sauren Hydrolyse auftreten, ergibt sich aus der Konstitution von 8. Dieses in kristallisierter Form ge-

1) Eine Verwechslung mit den Signalen des α -Pyronrings ist ausgeschlossen. Die Olefin-Protonen des Lacton-Sechsrings erscheinen an den üblichen Stellen: H an C(21) bei *ca.* 7,37 ppm, H an C(22) bei *ca.* 7,77 ppm und H an C(23) bei *ca.* 6,13 ppm in $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ (100°).

2) Eine Verbindung der angegebenen Struktur ist ohne näheren Konstitutionsbeweis in der Patentliteratur beschrieben [16]: Durch saure Hydrolyse des aus einer südindischen *Scilla maritima* isolierten Scilliglaucosidin- α -L-rhamnosids wurden Scilliglaucosidin (4), 3-epi-Scilliglaucosidin (8) und ein als 5 β ,14-Dihydroxy-19-oxo-14 β -bufa-3,20,22-trienolid (9) formuliertes Produkt erhalten.

fasste Isomere zu **4**, früher als «Pseudoscilliglaucosidin» [4] bezeichnet, erwies sich identisch mit dem inzwischen von *Steidle* [16] beschriebenen 3-epi-Scilliglaucosidin (= 3 α , 14-Dihydroxy-19-oxo-14 β -bufa-4, 20, 22-trienolid). Das C(4)-Proton des «Pseudoscilliglaucosidins» (**8**) erscheint im NMR.-Spektrum – im Gegensatz zu **4** und den anderen Aglykonen mit 3 β -ständiger Hydroxylgruppe – als Dublett mit $J = 5$ Hz bei *ca.* 5,67 ppm (in (CD₃)₂SO/CDCl₂ 5:1), d.h. *ca.* 0,1 ppm tiefer als bei **4**³).

Ergänzend sei erwähnt, dass Allylumlagerungen während der sauren Hydrolyse von Meerzwiebel-Glykosiden inzwischen mehrfach beobachtet wurden. Als Hydrolyseprodukte des Proscillaridins und des Scillarenin- α -L-rhamnosids wurden z.B. neben Scillarenin auch 3-epi-Scillarenin und das entspr. 5 β -Hydroxy- Δ^3 -Isomere isoliert [16].

Durch die NMR.-Daten und die neue Interpretation der chemischen Befunde ist eine Revision der früher postulierten Scilliglaucosid-Formel im Sinne des Strukturvorschlages **1** begründet. Eine Unsicherheit besteht noch hinsichtlich der Konfiguration an C(5). Aufgrund der hohen biologischen Aktivität [2] [4] und der nahen chemischen Verwandtschaft zum Scillicyanosid (siehe folgende Mitteilungen)⁴) vermuten wir die *cis*-Verknüpfung der Ringe A und B, d.h. die 5 β -Konfiguration des Glucosid-Restes.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 55. Mitt.: *Helv.* 51, 1317 (1968).
- [2] *A. Stoll & W. Kreis*, *Helv.* 34, 1431 (1951).
- [3] *A. Stoll, W. Kreis & A. von Wartburg*, *Helv.* 35, 2495 (1952).
- [4] *A. Stoll, A. von Wartburg & J. Renz*, *Helv.* 36, 1531 (1953).
- [5] *H. Lichti & A. von Wartburg*, *Helv.* 43, 1666 (1960).
- [6] *W. Klyne*, *Biochem. J.* 47, XLI (1950).
- [7] *A. Stoll & J. Renz*, *Helv.* 33, 286 (1950).
- [8] *A. Stoll, J. Renz & A. Brack*, *Helv.* 34, 397 (1951).
- [9] *A. Katz*, *Experientia* 12, 285 (1956); *Helv.* 40, 831 (1957).
- [10] *A. Stoll, J. Renz & A. Brack*, *Helv.* 35, 1934 (1952).
- [11] *A. von Wartburg*, *Helv.* 47, 1228 (1964).
- [12] *A. von Wartburg, M. Kuhn & K. Huber*, *Helv.* 51, 1317 (1968).
- [13] *A. von Wartburg*, *Helv.* 49, 30 (1966).
- [14] *A. von Wartburg & J. Renz*, *Helv.* 42, 1620 (1959).
- [15] *G. M. L. Cragg et al.*, *J. chem. Soc. (C)* 1966, 1266.
- [16] *W. Steidle*, D.O.S. 1668337.

³) Auch bei anderen 3 α -Hydroxy- Δ^4 -Aglykonen aus der *Scilla*-Reihe erfährt das Signal des C(4)-Protons eine Aufspaltung ($J = 5$ Hz) und erscheint bei etwas tieferen Feldstärken als bei den entsprechenden Epimeren. – Private Mitteilung der Herren Dr. *W. Steidle* und Dr. *F. Dürr* (*Knoll AG*, Ludwigshafen), denen wir auch an dieser Stelle für ihre Informationen bestens danken.

⁴) 57. Mitt.: s. S. 2088; 58. Mitt.: s. *Helv.*, nächstes Heft.