

Äthylester der Säure  $C_{27}H_{42}O_5$ : 500 mg der Säure  $C_{27}H_{42}O_5$  wurden in 25 ccm absol. Äthanol gelöst und mit 6 Tropfen konz. Schwefelsäure 5 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser versetzt und die Lösung ausgeäthert. Der Ester wurde aus Äthanol umkrystallisiert und schmolz bei  $134^{\circ}$ . Ausbeute 450 mg.

5.443 mg Subst.: 14.670 mg  $CO_2$ , 4.740 mg  $H_2O$ .

$C_{29}H_{46}O_5$ . Ber. C 73.36, H 9.77.

Gef. „ 73.51, „ 9.72.

Zerewitinoff-Bestimmung: 15.625, 11.900 mg Subst.: 0.74, 0.66 ccm  $CH_4$  ( $23^{\circ}$ , Pyridin).

Gef. 97.3% und 92.6% d. Th. für 1 Mol. Methan.

#### 442. R. Tschesche und K. Bohle: Über pflanzliche Herzgifte, VII. Mittel.: Die Konstitution des Uzarigenins.

[Aus d. Allgem. Chem. Universitäts-Laborat. in Göttingen.]

(Eingegangen am 31. Oktober 1935.)

Nach dem es dem einen von uns gelungen war, das Uzarigenin zu Ätio-allocholsäure und Ätio-allobiliansäure<sup>1)</sup> abzubauen, war damit für das Uzarigenin, wie für die anderen, mit ihm genetisch verknüpften Aglucone der pflanzlichen Herzgifte, das Kohlenstoffgerüst des Cyclopentano-hydrophenanthrens festgelegt. Während für die Aglucone Digitoxigenin, Gitoxigenin, Periplogenin und Strophanthidin die Zahl und die Stellung der Hydroxylgruppen gesichert erscheint<sup>1) 2)</sup>, war das bisher für das Uzarigenin nicht der Fall; wir haben uns deshalb bemüht, diese Lücke auszufüllen.

Windaus und Haack<sup>3)</sup> haben für das aus den Gomphocarpus-Wurzeln gewonnene Uzarin die Formel  $C_{35}H_{54}O_{15} + 1 H_2O$  aufgestellt. Bei der Hydrolyse zerfällt es in 2 Mol. Glucose und ein Aglucon, das Uzarigenin, das allerdings nicht als solches isoliert werden konnte, sondern bei den zur Spaltung notwendigen Bedingungen Wasser abspaltete und ein Anhydro-uzarigenin lieferte. Windaus und Haack haben folgende Spaltungs-Gleichung aufgestellt:  $C_{35}H_{54}O_{15} + 2 H_2O = C_{25}H_{34}O_5 + 2 C_6H_{12}O_6$ ,  $C_{25}H_{34}O_5 = C_{23}H_{30}O_3 + 2 H_2O$ . Danach müßte das Uzarigenin ein Isomeres des Gitoxigenins sein, jedoch kamen wir mit einer solchen Formulierung bald in Schwierigkeiten.

Das Anhydro-uzarigenin müßte dann eine Di-anhydro-Verbindung sein, also mit der ursprünglich vorhandenen Doppelbindung zusammen drei ungesättigte Bindungen enthalten. Es war nicht unwahrscheinlich, daß davon zwei in Konjugation stehen sollten, aber weder das  $\alpha$ - noch das  $\beta$ -Anhydro-uzarigenin zeigte im Ultraviolett eine Absorption. Wir stellten darauf aus  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin das Keton dar, in der Hoffnung, jetzt die Ausbildung eines konjugierten Systems von Doppelbindungen zu erreichen, jedoch ohne Erfolg. Damit war die in der 3. Arbeit über Herzgifte<sup>1)</sup> zur Diskussion gestellte Formel des Uzarigenins unwahrscheinlich geworden. Es zeigte sich nun, daß sorgfältige Analysen der Anhydro-uzarigenine und einer großen

<sup>1)</sup> R. Tschesche, *Ztschr. physiol. Chem.* **229**, 219 [1934]; *B.* **68**, 7 [1935].

<sup>2)</sup> W. A. Jacobs u. R. C. Elderfield, *Journ. biol. Chem.* **108**, 497 [1935].

<sup>3)</sup> A. Windaus u. E. Haack, *B.* **63**, 1377 [1930].

Zahl von Derivaten stets zu hohe Wasserstoff-Werte und zu niedrige Kohlenstoff-Werte lieferten. Die erhaltenen Werte sind jedoch sehr gut mit einer um zwei Wasserstoffatome reicheren Formel vereinbar. Danach müßte Anhydro-uzarigenin eine Mono-anhydro-Verbindung sein und ihm die Formel  $C_{23}H_{32}O_3$  zukommen. Uzarigenin hätte dann die Zusammensetzung  $C_{23}H_{34}O_4$  und wäre also ein Isomeres des Digitoxigenins und nicht des Gitoxigenins.

Wir haben darauf die alten Hydrierungs-Versuche am Anhydro-uzarigenin wieder aufgenommen und konnten nur eine Wasserstoff-Aufnahme von 2 Mol. feststellen, im Gegensatz zu Windaus und Haack<sup>3)</sup>, die von einer Wasserstoff-Aufnahme von 3 Mol. berichten. Uzarin nimmt erwartungsgemäß ein Mol. Wasserstoff in der ungesättigten Seitenkette auf. Die Formel des Uzarins ist dann  $C_{35}H_{54}O_{14} + 2 H_2O$ , und die hydrolytische Spaltung wäre wie folgt zu formulieren:  $C_{35}H_{54}O_{14}, 2 H_2O \rightarrow C_{23}H_{32}O_3 + 2 C_6H_{12}O_6 + 1 H_2O$ . Die früher von dem einen von uns beschriebenen Hexahydro-Derivate sind also in Wirklichkeit als Tetrahydro-Derivate zu bezeichnen.

Die Haftstellen der beiden Hydroxylgruppen im Uzarigenin haben wir auf folgendem Wege wahrscheinlich machen können: Der sekundären OH-Gruppe, die aus schon früher erörterten Gründen im Ring A des Sterin-Gerüsts stehen muß, war aus Analogie-Gründen der Platz am Kohlenstoffatom 3 zugeteilt worden. Wir fanden nun, daß Anhydro-uzarigenin von dem Saponin Digitonin gefällt wird, wie es von Sterin-Derivaten bekannt ist, die eine freie Hydroxylgruppe am C-Atom 3 in bestimmter sterischer Anordnung tragen. Das stützt unsere Anschauung, daß die Hydroxylgruppe des Uzarigenins an C<sup>3</sup> steht, wie in den anderen bekannten Geninen der pflanzlichen Herzgifte. Daß sie an C<sup>4</sup> steht, ist ausgeschlossen, da Sterin-Derivate mit einer OH-Gruppe an dieser Stelle nicht von Digitonin gefällt werden (vergl. die voranstehende Arbeit über Digitalis-Saponine).

Es ist nun interessant, daß die sterische Lage der Hydroxylgruppe an C-Atom 3 im Uzarigenin offenbar eine andere ist als bei den anderen pflanzlichen Herzgiften, da weder Digitoxigenin, noch Gitoxigenin, Digoxigenin, Strophanthidin, Anhydro-sarmentogenin und Anhydro-hispidogenin A gefällt werden. Die sterische Lage der OH-Gruppe im Uzarigenin ist wahrscheinlich die gleiche wie im Cholesterin, während die OH-Gruppe am C<sup>3</sup> in den oben erwähnten Aglykonen der Herzgifte sich so wie die Hydroxylgruppe am C<sup>3</sup> der Gallensäuren verhält.

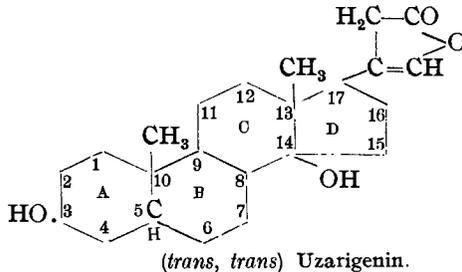
Für die Lage der tertiären OH-Gruppe, die bei der Spaltung des Uzarins verloren geht, hatten wir früher nach Versuchen von Knick<sup>4)</sup> angenommen, daß diese nicht an C<sup>14</sup> stehen könnte, da es Knick nicht gelungen war, eine Isoverbindung zu erhalten. Dieser Befund ist nicht richtig, wir haben jetzt auch aus Uzarin eine Isoverbindung gewonnen, die sich ganz wie die Isoverbindung der anderen Herzgifte verhält. Das macht als Haftstelle der tertiären OH-Gruppe C<sup>14</sup> außerordentlich wahrscheinlich, da die Unterbringung an anderer Stelle kaum möglich erscheint. In Übereinstimmung mit S. Smith<sup>5)</sup>, der aus Digitoxigenin zwei isomere Anhydroverbindungen isolierte, die sich durch die Lage der Doppelbindung unterscheiden, sind ja

4) H. Knick, Dissertat. Göttingen, 1934.

5) S. Smith, Journ. chem. Soc. London 1935, 1050.

auch aus Uzarigenin die beiden Anhydroverbindungen  $\alpha$  und  $\beta$  bekannt, in denen einmal die C:C-Bindung zwischen C<sup>14</sup> und C<sup>15</sup>, das andere Mal zwischen C<sup>8</sup> und C<sup>14</sup> zu liegen kommt.

Es kann jetzt auch die Frage entschieden werden, warum Jacobs<sup>2)</sup> aus Digitoxigenin Ätio-cholansäure und wir aus Uzarigenin Ätio-allocholansäure erhalten haben. Die *trans*-Konfiguration muß im Uzarigenin schon vorgebildet gewesen sein, da eine Umlagerung am C<sup>5</sup> bei einer der Reaktionen, die zu Ätio-allocholansäure führten, nicht möglich erscheint. Uzarigenin hat also nachstehende Formel:



Nach den Untersuchungen von Gessner<sup>6)</sup> ist die Herz-Wirksamkeit des Uzarin gering. Während Ouabain in der Verdünnung 1 : 600000 innerhalb von 2 Stdn. beim Frosch-Herzen systolischen Stillstand hervorruft, beträgt beim Uzarin die Konzentration 1 : 10000. Es ist naheliegend, die geringe Herz-Wirksamkeit wenigstens zum Teil auf die besondere sterische Anordnung der sekundären Hydroxylgruppe an C-Atom 3, auf die *trans*-Stellung der Ringe A und B oder auf beide Ursachen zurückzuführen.

Wir haben uns dann weiter auch mit dem zweiten Glucosid der Gomphocarpus-Wurzeln befaßt, das den Namen Uzaren führt. Es gelang uns nicht, dieses sehr viel leichter wasser-lösliche Glucosid zu krystallisieren; wir konnten aber feststellen, daß es bei der Hydrolyse ebenfalls Anhydro-uzarigenin liefert; vielleicht handelt es sich um ein zucker-reicheres Glucosid.

Wir danken der Deutschen Forschungs-Gemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeit, ferner Hrn. Dr. Braun von der Uzara-Gesellschaft, Melsungen, für das zur Verfügung gestellte Uzaron.

### Beschreibung der Versuche.

(Teilweise mitbearbeitet von Peter T. P. Sah.)

#### $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin.

2.880 mg Sbst.: 8.19 mg CO<sub>2</sub>, 2.27 mg H<sub>2</sub>O.  
 C<sub>29</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.47, H 9.05.  
 C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.92, H 8.54.  
 Gef. „ 77.56, „ 8.81.

#### $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin-Acetat.

2.896 mg Sbst.: 8.01 mg CO<sub>2</sub>, 2.21 mg H<sub>2</sub>O.  
 C<sub>26</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 75.33, H 8.59.  
 C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 75.71, H 8.14.  
 Gef. „ 75.43, „ 8.54.

<sup>6)</sup> O. Gessner, Arch. exp. Path. Pharm. **148**, 351 [1930].

$\beta$ -Anhydro-uzarigenin.

2.819 mg Sbst.: 7.97 mg CO<sub>2</sub>, 2.28 mg H<sub>2</sub>O.  
 C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.47, H 9.05.  
 C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.92, H 8.54.  
 Gef. ,, 77.11, ,, 8.97.

 $\beta$ -Anhydro-uzarigenin-Acetat.

2.868 mg Sbst.: 7.91 mg CO<sub>2</sub>, 2.14 mg H<sub>2</sub>O.  
 C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 75.33, H 8.59.  
 C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 75.71, H 8.14.  
 Gef. ,, 75.22, ,, 8.35.

$\alpha$ -Anhydro-uzarigenin-Benzoesäure wurde aus Anhydro-uzarigenin mit Benzoylchlorid und Pyridin in der üblichen Weise bereitet. Es schmolz nach Umkrystallisieren aus Essigester bei 261—262°.

2.888 mg Sbst.: 8.28 mg CO<sub>2</sub>, 2.00 mg H<sub>2</sub>O.  
 C<sub>30</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 78.21, H 7.88.  
 C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>. Ber. C 78.56, H 7.48.  
 Gef. ,, 78.17, ,, 7.75.

$\alpha$ -Anhydro-uzarigenon: 4 g  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin wurden in 1 l Eisessig bei 50° gelöst; nach dem Abkühlen auf 40° wurde eine Lösung von 4 g Chromsäure in 8 ccm Wasser und 40 ccm Eisessig unter Rühren hinzugegeben und unter Wasser-Kühlung 1 Stde. weiter gerührt. Danach engte man die Lösung im Vakuum auf 200 ccm ein und fügte 400 ccm Wasser hinzu. Das Produkt wurde mit Chloroform extrahiert und in der üblichen Weise in neutrale und saure Anteile getrennt. Die Chloroform-Lösung wurde auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand in wenig Äthanol aufgenommen. Die erhaltenen Krystalle wurden aus Essigester und aus Aceton umgelöst und so in Prismen erhalten, die bei 255° schmolzen.

2.955 mg Sbst.: 8.42 mg CO<sub>2</sub>, 2.26 mg H<sub>2</sub>O.  
 C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.92, H 8.54.  
 C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 78.36, H 8.01.  
 Gef. ,, 77.71, ,, 8.56.

Oxim des  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenons: Wurde in der üblichen Weise aus Hydroxylamin-Hydrochlorid, Natriumacetat und  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenon bereitet. Es wurde aus Essigester umkrystallisiert und schmolz dann unt. Zers. bei 283—285°.

2.991 mg Sbst.: 8.17 mg CO<sub>2</sub>, 2.29 mg H<sub>2</sub>O. — 3.721 mg Sbst.: 0.128 ccm N (18°, 739 mm).

C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub>N. Ber. C 74.75, H 8.46, N 3.79.  
 C<sub>23</sub>H<sub>29</sub>O<sub>3</sub>N. Ber. C 75.16, H 7.96, N 3.82.  
 Gef. ,, 74.50, ,, 8.56, ,, 3.92.

Semicarbazon des  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenons: Aus  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin, Semicarbazid-Hydrochlorid und Natriumacetat in der üblichen Weise hergestellt. Aus Äthanol umkrystallisiert, bildet es kleine Nadeln, die sich bei 266—268° zersetzen.

2.945 mg Sbst.: 7.55 mg CO<sub>2</sub>, 2.15 mg H<sub>2</sub>O. — 4.830 mg Sbst.: 0.434 ccm N (21.5°, 736 mm).

C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 70.03, H 8.09, N 10.22.  
 C<sub>24</sub>H<sub>31</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>. Ber. C 70.36, H 7.63, N 10.27.  
 Gef. ,, 69.92, ,, 8.17, ,, 10.09.

Hydrierung von  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin-Acetat: 244 mg Acetat wurden in Eisessig gelöst und nach Adams-Shriner hydriert. Im Verlaufe von 72 Stdn. wurden 29.4 ccm Wasserstoff aufgenommen (ber. auf 0° und 760 mm Hg). Für eine Doppelbindung berechnet sich ein Wasserstoff-Verbrauch von 13.8 ccm. Es sind somit 2.13 Mol. Wasserstoff aufgenommen worden.

Zum Vergleich wurde Uzarin hydriert: 190 mg Uzarin wurden in Eisessig gelöst und mit Platinoxid-Katalysator hydriert. Es wurden in 72 Stdn. 7 ccm Wasserstoff (ber. auf 0°, 760 mm Hg) aufgenommen. Das entspricht einem Verbrauch von 1.2 Mol. Wasserstoff.

Fällung des  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenins mit Digitonin: 30 mg  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin wurden in 4.7 ccm heißem 95-proz. Alkohol gelöst und mit 8 ccm einer heißen 1-proz. Lösung von Digitonin in 90-proz. Alkohol versetzt. Nach einigen Minuten trübte sich die Lösung unter Ausscheidung eines amorphen Niederschlages, der abfiltriert und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet wurde. Gewicht 100 mg. Ebenso wurden Gitoxigenin, Digitoxigenin, Digoxigenin, Strophanthidin, Anhydro-hispidogenin und Anhydro-sarmentogenin auf ihre Fällbarkeit mit Digitonin untersucht. Keines dieser Herzgift-Genine erwies sich als mit Digitonin fällbar.

Die Zerlegung des Anhydro-uzarigenin-Digitonin-Komplexes gelang leicht, wenn man die Substanz mit Xylol aus der Hülse extrahiert. Das in heißem Xylol etwas lösliche  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin wurde dabei extrahiert und schied sich beim Erkalten der Xylol-Lösung in kristalliner Form aus. Es wurde durch seinen Schmelzpunkt und durch den Misch-Schmelzpunkt mit reinem  $\alpha$ -Anhydro-uzarigenin identifiziert.

Darstellung von Iso-uzarin: 0.38 g Uzarin wurden mit 20 ccm einer 0.1-n. methylalkohol. Kalilauge versetzt und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Der Lactonring war dann aufgespalten, was sich an dem negativen Ausfall der Legalschen Probe zu erkennen gab. Nach dem Erkalten säuerte man die Lösung mit Essigsäure schwach an, fügte 50 ccm Wasser hinzu und engte im Vakuum auf 30 ccm ein. Nach mehrstündigem Stehen begann sich ein fein-kristalliner Niederschlag auszuschleiden, der mehrmals aus verd. Methylalkohol umgelöst und so in zu Büscheln vereinigten Nadeln erhalten wurde. Er schmolz unt. Zers. bei 240°; seine Drehung in Methanol betrug  $[\alpha]_D^{21} = -6.7^\circ$ . Bei der Hydrierung nach Adams-Shriner nahm es keinen Wasserstoff auf, sondern man erhielt das Ausgangs-Material zurück. Die Analyse des Iso-uzarins zeigte gegenüber dem Uzarin einen Mehrgehalt von 1 Mol. Wasser an.

2.830 mg Sbst.: 5.79 mg CO<sub>2</sub>, 1.95 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>26</sub>H<sub>54</sub>O<sub>14</sub> + 3H<sub>2</sub>O. Ber. C 55.85, H 7.97.

Gef. „ 55.80, „ 7.71.