

### 430. R. Tschesche: Über pflanzliche Herzgifte, XI. Mittel.: Die Konstitution des Thevetins.

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

(Eingegangen am 18. September 1936.)

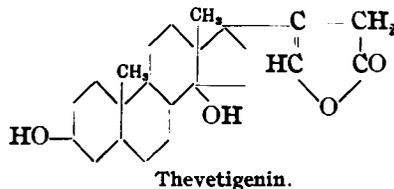
Vor zwei Jahren berichteten K. K. Chen und A. Ling Chen<sup>1)</sup> über die Gewinnung eines krystallisierten Herzgiftes Thevetin aus dem gelben Oleander, *Thevetia neriifolia*, einer Apocynacee, die in Südamerika, Indien und den Hawai-Inseln anzutreffen ist. Das Thevetin sollte die Zusammensetzung  $C_{29}H_{46}O_{13}$  haben und ein Glykosid sein; das Aglykon und der Zucker wurden nicht krystallisiert erhalten. Die Formel von Chen erregte meine Bedenken, denn nach ihr sollte das Thevetin, wenn das Genin wie in den anderen Herzgiften 23 C-Atome enthielt, nur ein Molekül Zucker enthalten. Chen gibt aber an, daß Thevetin nicht in Chloroform löslich sei, während darin die bisher bekannten Herzgifte mit nur einem Zucker-Rest mehr oder weniger löslich sind. Auch die relativ geringe Giftigkeit des Thevetins für Katzen war auffällig, denn nach den bisherigen Erfahrungen sind diejenigen Herzgifte, deren Aglykone am stärksten mit Sauerstoff beladen sind, auch die wirksamsten. Das Genin Thevetigenin sollte aber, vorausgesetzt, daß die Formel von Chen richtig wäre, mindestens acht O-Atome haben. Eine eingehendere Untersuchung des Thevetins schien daher für die Frage der Beziehungen zwischen Konstitution und Wirksamkeit der herzwirksamen Glykoside bedeutungsvoll. Als ich vor einigen Monaten in den Besitz einiger kg *Thevetia*-Nüsse von den Hawai-Inseln kam, habe ich daher die Bearbeitung des Thevetins aufgenommen.

Nach der Vorschrift von Chen gelang es ohne Schwierigkeiten das Thevetin zu gewinnen; es erwies sich mit einer Probe des Materials, das Chen erhalten hat, vollkommen identisch<sup>2)</sup>. Die Lacton-Titration zeigte sofort, daß die Formel des Thevetins wahrscheinlich in  $C_{42}H_{66}O_{18}$  abgeändert werden muß; es müssen drei Zuckermoleküle an das Genin gebunden sein. Die Untersuchung der durch Säurehydrolyse bereiteten Zucker ergab, daß es sich um zwei Moleküle Glucose und einen Methyläther-Zucker, vielleicht Digitalose handelt. Die beiden Glucosemoleküle sind in Form der Gentiobiose verknüpft, denn bei der Acetylierung mit Essigsäure-anhydrid und Zinkchlorid tritt unter teilweiser Spaltung des Glykosids Oktacetyl-gentiobiose auf. Auch bei vorsichtigerer Hydrolyse des Thevetins mit Säuren werden die beiden Glucose-Reste leicht entfernt. Der dritte Zucker kann erst unter so energischen Bedingungen von dem Aglykon gelöst werden, daß letzteres unter Wasser-Abspaltung verändert wird. Es gelang auch nicht, den letzten Zucker zu erfassen, da die notwendige energische Einwirkung von Säuren schon zu einer teilweisen Zerstörung des Zuckers geführt haben dürfte. Die Methoxylbestimmung des Thevetins zeigt aber an, daß es sich um einen Methyläther-Zucker handeln muß. Das Thevetin liefert auch eine Iso-Verbindung wie die anderen Herzgifte, es ist also im Aglykon eine Hydroxylgruppe an  $C_{14}$  enthalten, die bei der Säure-Einwirkung als Wasser herausgenommen wird.

<sup>1)</sup> Journ. Biol. Chem. 105, 231 [1934].

<sup>2)</sup> Ich möchte Hrn. Dr. K. K. Chen auch an dieser Stelle für das übersandte Thevetin bestens danken.

Unter Berücksichtigung der neuen Formel für Thevetin sollte das Aglykon Thevetigenin die Zusammensetzung  $C_{23}H_{34}O_4$  haben, also mit Digitoxigenin und Uzarigenin isomer sein. Da die völlige Abspaltung des Zuckers sehr schwierig ist, gelang es zuerst nicht das Genin oder ein Derivat davon zu gewinnen. Schließlich führte folgender Weg zum Ziel: Durch 1-stdg. Erhitzen mit verdünnter Salzsäure wurden zuerst die beiden Glucosereste aus dem Glykosid entfernt, gleichzeitig ging dabei auch die OH-Gruppe an  $C_{14}$  aus dem Genin verloren. Das erhaltene nicht krystallisierte Produkt wurde durch Hydrierung in die Tetrahydro-Verbindung übergeführt und diese bei  $100^0$  durch 8-stdg. Erhitzen mit 3.6-proz. Salzsäure von dem letzten Zuckermolekül befreit. Das so gewonnene Tetrahydro-anhydro-thevetigenin wurde vorsichtig mit Chromsäure oxydiert und lieferte ein krystallisiertes Keton, das sich als Tetrahydro-anhydro-digitoxigenon herausstellte. Thevetigenin kann aber nicht mit Digitoxigenin identisch sein, da der Unterschied in der Wirksamkeit zwischen Digitoxin und Thevetin zu groß ist, als daß beide das gleiche Genin enthalten könnten. Eine Isomerie ist aber noch in der Stellung der Hydroxylgruppe an  $C_3$  möglich. Da letztere im Digitoxigenin *trans*-Stellung zur Methylgruppe an  $C_{10}$  hat, könnte sie sich im Thevetigenin in *cis*-Stellung befinden. In diesem Falle müßte Thevetigenin mit dem Saponin Digitonin eine Molekül-Verbindung eingehen, die in der Tat beobachtet werden konnte. Über die Additionsverbindung gelang es dann auch Anhydro-thevetigenin selbst zu isolieren. Bei der Oxydation mit Chromsäure ging es erwartungsgemäß in Anhydro-digitoxigenon (Toxigenon) über, das schon Kiliani<sup>3)</sup> bereitet hat. Thevetigenin hat also nebenstehende Konstitutionsformel.



Bemerkenswert ist der Vergleich der Herzwirksamkeit des Digitoxins, Thevetins und Uzarins, die sich außer im Zuckeranteil nur durch sterische Änderungen im Aglykon unterscheiden. Da die Zucker selbst nicht toxisch sind, muß die Größe der Wirksamkeit ganz auf das Genin zurückgeführt werden<sup>4)</sup>. Allerdings darf vielleicht hierbei die verschiedene Löslichkeit der Glykoside nicht ganz außer Betracht gelassen werden.

Minimale systolische Dosis.

Digitoxin .....	0.33 mg pro kg Katze,	0.0080 mg pro g Frosch,
Thevetin .....	0.92 „ „ „ „	0.0045 „ „ „ „
Uzarin .....	5.08 „ „ „ „	1.5000 „ „ „ „

<sup>3)</sup> B. 53, 247 [1920].

<sup>4)</sup> Die Angaben sind einer Arbeit von K. K. Chen entnommen, die mir liebenswürdiger Weise zur Einsicht überlassen wurde. Ich möchte auch an dieser Stelle Hrn. Dr. K. K. Chen dafür vielmals danken.

Es ergibt sich, daß beim Digitoxigenin bei *trans*-Stellung der OH-Gruppe an C<sub>3</sub> zur Methylgruppe an C<sub>10</sub> und *cis*-Stellung der Ringe A und B die Wirksamkeit am größten ist. Das Umklappen der OH-Gruppe in die *cis*-Stellung im Thevetigenin bewirkt für die Katze ein geringes Absinken der Giftigkeit, während im Uzarigenin die gleichzeitige Verlagerung der Ringe A und B in die *trans*-Lage eine sehr starke Verminderung der Wirksamkeit sowohl für den Frosch wie für die Katze hervorruft.

Von K. K. Chen und A. Ling Chen sind außer dem Thevetin noch zwei weitere krystallisierte Stoffe aus den Thevetia-Nüssen gewonnen worden, Ahouain und Kokilphin, die nicht herzwirksam sind. Ich habe nur das letztere untersucht und mit Saccharose in allen Eigenschaften identisch befunden. Hr. Dr. Chen übersandte mir eine Probe des letzteren, so daß ich die Identität einwandfrei sicherstellen konnte.

Als diese Arbeit druckfertig vorlag, erschien eine Veröffentlichung von R. C. Elderfield<sup>5)</sup> über das Thevetin, in der einige seiner Derivate beschrieben werden. Ihnen wird jedoch noch die alte C<sub>29</sub>-Formel des Thevetins zu Grunde gelegt, die zweifellos unrichtig ist. Die von Elderfield vermeintlich als zuckerfreie Genin-Derivate angesehenen Verbindungen, dürften wahrscheinlich noch den das Methoxyl tragenden Zucker enthalten haben.

Ich danke der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Roche-Fond) für die Unterstützung dieser Arbeit, ebenso Hrn. Dr. K. K. Chen für die liebenswürdige Überlassung von Vergleichspräparaten.

### Beschreibung der Versuche.

#### Thevetin.

Das nach der Vorschrift von K. K. Chen und A. Ling Chen<sup>1)</sup> gewonnene Thevetin begann sich bei etwa 195° allmählich zu zersetzen. Es zeigte die von Chen angegebenen Eigenschaften, der Legal-Test fiel positiv aus, während die Keller-Kilianische Reaktion nicht gegeben wurde.

Zur Analyse wurde es bei 100° und 10 mm getrocknet.

2.845 mg Sbst.: 6.07 mg CO<sub>2</sub>, 1.97 mg H<sub>2</sub>O. — 3.725 mg Sbst.: 1.120 mg AgJ.

C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>O<sub>18</sub> + 1/2 H<sub>2</sub>O. Ber. C 58.10, H 7.78, OCH<sub>3</sub> 3.57.

Gef. „ 58.19, „ 7.74, „ 3.97.

Das bei 100° getrocknete Präparat zog an der Luft innerhalb weniger Tage so viel Wasser an, daß folgende Analysenwerte erhalten wurden:

2.870 mg Sbst.: 5.81 mg CO<sub>2</sub>, 2.02 mg H<sub>2</sub>O. — 0.4726, 0.4870 g Sbst. verbraucht. 5.2 bzw. 5.5 ccm n/10-NaOH.

C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>O<sub>18</sub> + 3 H<sub>2</sub>O. Ber. C 55.25, H 7.95, Mol.-Gew. 912.

Gef. „ 55.21, „ 7.87, „ 909, 885.

Bei der katalytischen Hydrierung wurden 1.02 Mol. Wasserstoff aufgenommen.

#### Isothevetin.

1 g Thevetin wurde mit 50 ccm n/10-methylalkohol. Kalilauge 45 Min. zum Sieden erhitzt. Danach wurde die Lösung mit verd. Salzsäure gerade kongosauer gemacht und im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft. Nach mehrtägigem Stehenlassen schieden sich kleine, zu Warzen

<sup>5)</sup> Journ. Biol. Chem. 115, 207 [1936].

vereinigte Nadelchen ab, die aus verd. Methanol umgelöst wurden und einen Schmp. von 236—238° zeigten. Die Ausbeute betrug nur wenige Prozent der Theorie.

2.864 mg Sbst.: 5.92 mg CO<sub>2</sub>, 2.07 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>O<sub>18</sub> + 2 H<sub>2</sub>O. Ber. C 56.34, H 7.89. Gef. C 56.37, H 8.08.

#### Phenylglucosazon aus Thevetin.

1 g Thevetin wurde mit 3-proz. Schwefelsäure 1 Stde. auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt und die wäßr. Lösung mit Bariumcarbonat von SO<sub>4</sub>-Ionen befreit. Das Osazon wurde in üblicher Weise hergestellt. Es schmolz nach dem Umlösen aus verd. Äthanol bei 204° und gab, mit dem Phenylsazon der Glucose gemischt, keine Schmelzpunktsdepression.

1.491 mg Sbst.: 0.204 ccm N (25°, 744 mm).

C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub>. Ber. N 15.64. Gef. N 15.72.

#### α-Oktacetyl-gentiobiase.

2.5 g Thevetin wurden mit 35 ccm Essigsäure-anhydrid und 0.5 g Zinkchlorid 2 Stdn. auf 70° erwärmt. Das Reaktionsprodukt wurde zur Zerstörung des überschüss. Anhydrids in Wasser eingetragen und der unlöslich gebliebene Anteil in wenig Methanol gelöst. Beim Stehenlassen schieden sich lange Nadeln aus, die aus Äthanol umgelöst wurden. Sie schmolzen bei 188—189°, der gleiche Schmelzp. wird für α-Oktacetyl-gentiobiase in der Literatur angegeben<sup>6)</sup>. Eine Wiederholung der Acetylierung mit dem nicht krystallisierten Anteil lieferte eine weitere Menge Oktacetyl-gentiobiase.

0.0256 g Sbst. in 2 ccm Chloroform,  $l = 1$  dm,  $\alpha$ : + 0.67°,  $[\alpha]_D^{25}$ : + 52.3° (Literatur:  $[\alpha]_D^{30}$ : + 52.4°).

2.840 mg Sbst.: 5.09 mg CO<sub>2</sub>, 1.48 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>28</sub>H<sub>38</sub>O<sub>19</sub>. Ber. C 49.54, H 5.65. Gef. C 49.84, H 5.83.

#### Tetrahydro-anhydro-digitoxigenon.

3 g Thevetin wurden 1 Stde. mit 100 ccm 2-n. Salzsäure und 100 ccm Äthanol auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit 200 ccm Wasser versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden eingedampft, der Rückstand in Eisessig gelöst und mit einem Platinoxid-Katalysator hydriert. Es wurden 2 Mol. Wasserstoff aufgenommen. Nach Beendigung der Hydrierung wurde wieder eingedampft und der ölige Rückstand in 40 ccm Äthanol und 40 ccm 2-n. Salzsäure gelöst. Die trübe Lösung wurde 8 Stdn. im Bombenrohr auf 100° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde sie mit Wasser verdünnt und das hydrierte Anhydro-genin mit Chloroform ausgezogen. Der Rückstand des Chloroform-Extraktes wurde bei 250° und 0.1 mm destilliert. Das ölige Destillat wurde in Eisessig gelöst und bei Zimmertemperatur mit der gleichen Menge Chromsäure-anhydrid behandelt. Nach 15 Min. wurde die Lösung mit Wasser verdünnt und das gebildete Keton mit Äther ausgeschüttelt. Beim Eindampfen des Ätherauszuges hinterblieb ein Öl, das beim Anreiben

<sup>6)</sup> C. S. Hudson u. J. M. Johnson, Journ. Amer. chem. Soc. **39**, 1272 [1916].

sofort krystallisierte. Die Krystalle wurden aus Äthanol und dann aus Essigester umgelöst und so als glänzende Blättchen vom Schmp. 245—248° erhalten. Mit einer Probe Tetrahydro-anhydro-digitoxigenon<sup>7)</sup> gemischt, zeigten sie keine Schmelzpunktsdepression.

0.019 g Sbst. in 2 ccm Chloroform,  $l = 1$  dm,  $\alpha: +0.34^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{20}: +35.8^\circ$  (Windaus und Stein<sup>9)</sup>:  $[\alpha]_D^{18}: +37.3^\circ$ ).

2.781 mg Sbst.: 7.82 mg CO<sub>2</sub>, 2.42 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>. Ber. C 77.04, H 9.56. Gef. C 76.69, H 9.74.

Es wurde versucht, von dem Zucker, der erst beim Erhitzen im Bombenrohr abgespalten worden war, ein Osazon zu gewinnen, aber ohne Erfolg, obwohl die Lösung starke Reduktionswirkungen zeigte; lag Digitalose vor, so sollte ein Osazon auch nicht zu erhalten sein.

#### Anhydro-thevetigenin.

5 g Thevetin wurden mit 250 ccm Äthanol und 250 ccm 2-n. Salzsäure 4 Stdn. auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt. Dann wurde die Lösung mit Wasser verdünnt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Chloroform-Auszug wurde abgedampft und mit Äthanol aufgenommen. Zu dieser Lösung wurde die notwendige Menge einer 1-proz. Digitonin-Lösung hinzugefügt. Nach etwa 1 Stde. war die Additionsverbindung ausgefallen. Sie wurde abgesaugt und in wenig Pyridin gelöst. Das Digitonin wurde mit Äther ausgefällt und das Filtrat davon zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde mit wenig Methanol verrieben und ergab nach kurzem Stehenlassen Krystalle, die aus Methanol umgelöst wurden. Es bildeten sich so derbe Polyeder, die nach vorherigem Trübbewerden bei 218—220° schmolzen.

0.016 g Sbst. in 2 ccm Chloroform,  $l = 1$  dm,  $\alpha: +0.32^\circ$ ,  $[\alpha]_D^{18}: +40.0^\circ$ .

2.898 mg Sbst.: 8.18 mg CO<sub>2</sub>, 2.30 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. Gef. C 76.98, H 8.88.

Bei der vorsichtigen Oxydation des Anhydro-thevetigenins mit Chromsäure-anhydrid wurde ein Keton erhalten, das bei 265—270° schmolz. Es zeigte mit einer Probe Anhydro-digitoxigenon<sup>2)</sup> gemischt keine Schmelzpunktsdepression. Die Spaltung des Thevetins war unter den obigen Bedingungen erst zum kleinen Teil erreicht worden. Durch eine erneute Hydrolyse des nicht mit Digitonin fällbaren Anteils konnte noch eine weitere Menge Anhydro-thevetigenin gewonnen werden.

<sup>7)</sup> B. 61, 2436 [1928].