

Chinolinaldehyd-(4)-2.4-dinitro-phenylhydrazon: Diese Verbindung ist in der Literatur nicht beschrieben. Aus Alkohol orangefrote Kristalle vom Schmp. 256° (Zers.).

$C_{16}H_{11}O_4N_5$ (337.3) Ber. C 56.97 H 3.29 N 20.76 Gef. C 56.74 H 3.58 N 20.05

Chinolinaldehyd-(4)-2.4-dinitro-phenylhydrazon-jodäthylat (IIa): 50 mg Chinolinaldehyd-(4)-2.4-dinitro-phenylhydrazon in 50 ccm Alkohol werden mit 2 ccm Äthyljodid auf dem Wasserbad unter Rückfluß 2 Stdn. gekocht. Man läßt langsam über Nacht abkühlen und erhält rote Kristalle von IIa vom Schmp. 252° (Zers.); Aush. 50 mg.

$C_{18}H_{16}O_4N_5J$ (493.0) Ber. N 14.20 Gef. N 14.23⁷⁾

1-Äthyl-4-[2.4-dinitro-phenylazo-methylen]-dihydrochinolin (IIb): Die Verbindung wurde analog Ib aus Chinolinaldehyd-(4)-2.4-dinitro-phenylhydrazon-jodäthylat dargestellt; dunkelgrüne Kristalle. Der Farbstoff verhält sich gegenüber Wasser und organ. Lösungsmitteln wie Ib. Die Lösungen sind dunkelgelb (Nitrobenzol) bis tief rotviolett (Pyridin). In alkohol. Kalilauge Farbänderung von Rot nach intensiv Rotviolett. Auf Zusatz von konz. Salzsäure zur alkohol. Lösung scheidet sich das Hydrochlorid ab; dunkelgelbe Kristalle vom Schmp. 268–269° (Zers.).

91. Rudolf Tschesche und Rudolf Petersen: Über pflanzliche Herzgifte, XXIII. Mittel.: Die Konstitution des Adonitoxigenins

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg]

(Eingegangen am 6. Januar 1953)

Adonitoxigenin, das Aglykon des Adonitoxins, wurde als 19-Oxogitoxigenin erkannt. Nach Überführung der Aldehydgruppe in das Äthylenmereaptal konnte durch Reduktion mit Raney-Nickel Gitoxigenin erhalten werden. Ferner wurde durch Hydrierung der Doppelbindung im Lactonring und durch Wasserabspaltung aus den beiden Oxygruppen an C¹⁴ und C¹⁶ Dianhydro-dihydro-gitoxigenin gewonnen, das mit einem aus Gitoxigenin hergestellten Vergleichspräparat identisch war.

Kürzlich hat der eine von uns zusammen mit F. Korte¹⁾ Vorstellungen über den biochemischen Syntheseweg der Steroide veröffentlicht. Danach soll ein aus den vier Ringen des Steransystems bestehendes Intermediärprodukt mit einer Carboxygruppe an C¹⁷ auftreten, das Sauerstofffunktionen vor allem an den Kohlenstoffatomen trägt, an denen solche bei den Aglykonen der pflanzlichen Herzgifte beobachtet worden sind. Es war daher besonders erwünscht, die Sauerstoffverteilung in den Aglykonen zu ermitteln, die besonders viele Sauerstoffatome enthalten.

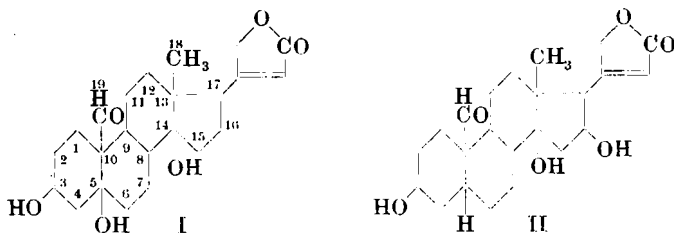
Während heute die Konstitution der Genine mit 4 und 5 Sauerstoffatomen im Molekül in vielen Fällen bekannt ist, steht sie bei denen mit 6 O-Atomen bis auf Strophanthidin und Strophanthidol noch aus. Da die Schwierigkeiten der Konstitutionsermittlung und die Empfindlichkeit der Moleküle mit wach-

⁷⁾ Die Analysen wurden von Frln. Dipl.-Chem. F. Edige, Istanbul, u. Frln. Dr. G. Bussmann, Zürich, ausgeführt.

¹⁾ R. Tschesche u. F. Korte, *Angew. Chem.* **64**, 633 [1952], **65**, 81 [1953].

sendem O-Gehalt zunehmen, schien es aussichtsreicher, zunächst die Ermittlung des Aufbaus weiterer Aglykone mit 6 Sauerstoffatomen in Angriff zu nehmen, bevor die mit 7 oder 8 O-Atomen vorgenommen wurden. Es dürfte sich mit der Vermehrung des Tatsachenmaterials vielleicht dann auch die Aufklärung dieser Aglykone einfacher gestalten.

Aus dem Kraut des Adonisröschens, *Adonis vernalis*, haben A. Katz und T. Reichstein²⁾ neben dem schon von H. Rosenmund und T. Reichstein³⁾ aufgefundenen Cymarin (Strophanthidin-cymarosid) ein weiteres Glykosid erhalten, dem sie den Namen Adonitoxin gaben. Es hat wahrscheinlich die Summenformel $C_{29}H_{42}O_{10}$ und liefert bei der Spaltung mit Aceton + Salzsäure nach C. Mannich und G. Siewert⁴⁾ ein bis dahin unbekanntes Aglykon, Adonitoxigenin $C_{23}H_{32}O_6$ und *l*-Rhamnose. Neben den bekannten Reaktionen der Cardenolide zeigte es solche, die auf eine Aldehydgruppe hinweisen. Weiterhin ließ sich für Adonitoxin eine auffallende Ähnlichkeit mit Convallatoxin aus den Blättern und Samen von *Convallaria majalis* L. feststellen, das ebenfalls ein Rhamnosid, aber des Strophanthidins, darstellt. Die beiden Glykoside geben keine Schmelzpunkts-Erniedrigung²⁾ miteinander, wohl aber die Acetate, auch ist das Drehungsvermögen und die Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure unterschiedlich. Katz und Reichstein²⁾ nehmen an, daß sich im Adonitoxigenin 2 sekundäre OH-Gruppen neben einer tertiären OH-Gruppe finden und daß so eine von den beiden tertiären Oxygruppen des Strophanthidins (I) im Adonitoxigenin durch eine sekundäre ersetzt ist.



Damit stellt sich das Problem so, daß es vor allem darauf ankommt, die Stellung der zweiten sekundären OH-Gruppe zu bestimmen. Die andere sekundäre und die tertiäre OH-Gruppe dürften auch im Adonitoxigenin an C³ und C¹⁴ zu suchen sein. Nun sind von Aglykonen mit 2 sekundären und einer tertiären Oxygruppe 3 bekannt, Sarmetogenin (OH an C³, C¹¹, C¹⁴), Digoxigenin (OH an C³, C¹², C¹⁴) und Gitoxigenin (OH an C³, C¹⁴, C¹⁶). Wenn es gelang, die im Adonitoxigenin befindliche Aldehydgruppe zu CH₃ zu reduzieren, bestand eine Hoffnung, zu einem bekannten Aglykon zu gelangen. Hierfür bot sich vor allem die Methode von R. Mozingo⁵⁾ durch Reduktion der Mercaptale mit Raney-Nickel an. Dieses Verfahren, mit dem Äthylmercaptal nach H. Hauptmann⁶⁾ durchgeführt, hatte schon P. Speiser⁷⁾ die Umwandlung von Strophanthidin in Periplogenin (OH an C³, C⁵, C¹⁴) ermöglicht.

²⁾ *Pharmac. Acta Helvetiae* **22**, 437 [1947].

³⁾ *Pharmac. Acta Helvetiae* **15**, 150 [1940], **17**, 176 [1942].

⁴⁾ *Ber. dtsh. chem. Ges.* **75**, 737 [1942].

⁵⁾ R. Mozingo, D. E. Wolf, S. A. Harris u. K. Folkers, *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 1013 [1943].

⁶⁾ *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 562 [1947].

⁷⁾ *Helv. chim. Acta* **32**, 1368 [1949].

Adonitoxin stellten wir uns aus einem Adonis-Perkolat der Chemiewerk Homburg A.-G. her⁸⁾, das zunächst zwischen Wasser und Chloroform verteilt wurde. Dann wurde der wäßrigen Phase das Adonitoxin durch 5maliges Ausschütteln mit einem Gemisch von Chloroform und Äthanol (2 : 1) entzogen. Nach Entfernung saurer Anteile mit möglichst wenig 2 n Soda-Lösung wurde der Extrakt durch Chromatographie an Aluminiumoxyd Woelm der Aktivitätsstufe II gereinigt. Erst dann gelang es, das Glykosid zu kristallisieren; es zeigte die von Katz und Reichstein²⁾ angegebenen Konstanten und Farbreaktionen. Für die Reinigung erwies sich eine Verfolgung der Konzentrierung mit Hilfe der Intensität der karmoisinroten Färbung als vorteilhaft, die Adonitoxin mit konz. Schwefelsäure nach 5 Min. liefert. Für unreinere Lösungen benutzten wir die Papierchromatographie (s. Tafel 1), mit der gleichzeitig nachgewiesen werden konnte, daß sich

Tafel 1. R_F-Werte in verschiedenen Lösungsmittelgemischen

Verbindung	Glykol + Butanol + Wasser (1 : 2 : 3)		Oxalester + Wasser + Methanol (2 : 2 : 1)		Petroläther + Äthanol + Wasser + Toluol (10 : 3 : 20 : 20)	
	Schwere Phase	Leichte Phase	Schwere Phase	Leichte Phase	Schwere Phase	Leichte Phase
Adonitoxin	0.94	0.76	—	0.88	—	—
Adonitoxinacetat ..	0.93	0.93	0.93	0.83	0.82	0.73
Mercaptal	0.92	0.81	0	0	0.84	
Entschwefeltes						
Mercaptal	0.96	0.92	0	0	0.91	
Gitoxigenin	0.94	0.95	—	—	0.94	

in dem Chloroform-Äthanol-Auszug keine weiteren Herzgifte als Adonitoxin befinden. Es wurden über 50 Lösungsmittelgemische ausprobiert; dabei haben sich die in der Tafel I angegebenen Mischungen als besonders vorteilhaft erwiesen, da die mit ihnen gewonnenen R_F-Werte eine brauchbare Größe hatten. Die Sichtbarmachung auf dem Papier erfolgte mit der Raymond-Reaktion⁹⁾, mit der Cardenolide in alkalischer Lösung bei Gegenwart von *m*-Dinitro-benzol eine Blaufärbung ergeben.

Zunächst wurde das Adonitoxin in Form des Acetates (durch schnelle Chromatographie über Aluminiumoxyd gereinigt) mit Äthandithiol und trockenem Chlorwasserstoff in das Äthylendimercaptal überführt (III).

Dieses Verfahren erwies sich dem der Anwendung von Zinkchlorid und wasserfreiem Natriumsulfat als Kondensationsmittel überlegen. Dabei kommt es sehr auf eine genaue Dosierung des Chlorwasserstoffs an, um eine Abspaltung der empfindlichen Oxygruppen an C¹⁴ und C¹⁶ zu vermeiden. Es wurde daher in Anlehnung an die Befunde von P. Speiser⁷⁾ gearbeitet und nur so viel Chlorwasserstoff verwendet, als zur Bildung des Mercaptals unbedingt erforderlich ist. Nach A. Stoll, H. Pereira und J. Renz¹⁰⁾ soll beim Alloglaucotoxigenin und Corotoxigenin mit 5.8% HCl-haltigem Methanol nach 48 Stdn. bei Zimmertemperatur noch keine wesentliche Wasserabspaltung erfolgen. Der Chlorwasserstoff wurde im Umsetzungsgefäß direkt aus Natriumchlorid und konz. Schwefelsäure erzeugt. Der Grad der Mercaptalisierung konnte papierchromatographisch verfolgt werden, so daß die günstigsten Bedingungen hierfür feststellbar waren.

Alle Bemühungen, das Mercaptal zu kristallisieren, waren auch nach Chromatographieren an Aluminiumoxyd ohne Erfolg, entsprechend ähnlichen Ver-

⁸⁾ Wir danken auch an dieser Stelle dem Chemiewerk Homburg A.G., insbesondere Hrn. Dr. E. Kohlstaedt, vielmals für die Überlassung dieses Materials.

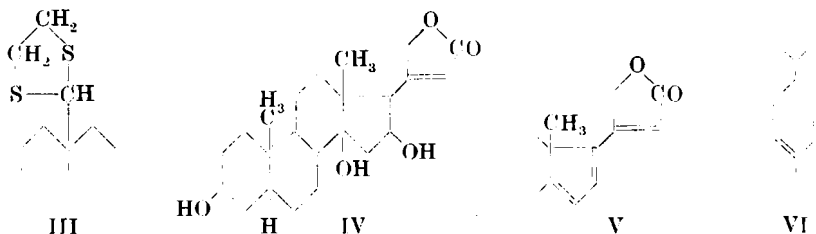
⁹⁾ W. D. Raymond, *Analyst* **63**, 478 [1938], **64**, 113 [1939].

¹⁰⁾ *Helv. chim. Acta* **32**, 293 [1949].

suchen von Speiser⁷⁾ am Strophanthidin-äthylmercaptal. Das Adonitoxinacetat-äthylmercaptal erwies sich papierchromatographisch als einheitlich. Die Umwandlung der Mercaptalgruppe in eine Methylgruppe wurde in der erwähnten Weise mit Raney-Nickel vorgenommen.

Für die Umsetzung des Mercaptals mit Raney-Nickel zeigte sich ein Katalysator als vorteilhaft, der durch Zersetzen einer etwa 50-proz. Nickel-Legierung mit Natronlauge bei 100° erhalten worden war. Er wurde noch durch langes und wiederholtes Behandeln mit Natronlauge so weitgehend wie möglich von Aluminium befreit. Dadurch wurde erreicht, daß der Katalysator so weit inaktiviert war, daß er zwar noch die Entschwefelung durchführen konnte, nicht mehr aber die Hydrierung der Doppelbindung im ungesättigten Lactonring zu aktivieren vermochte. Für die völlige Entfernung des Schwefels erwies sich ein Verhältnis 1 : 40 von Substanz zu Katalysator als ausreichend. Es müssen aber noch andere unbekannte Faktoren die Aktivität des Raney-Nickels beeinflussen, da eine neue Legierung unter gleichen Bedingungen zersetzt, schon eine teilweise Hydrierung der Doppelbindung bewirkte. Es ist daher notwendig, jedes Raney-Nickel in Vorversuchen auf seine Eignung zu prüfen.

Das von seiner Aldehydgruppe befreite Adonitoxinacetat wurde durch Stehenlassen mit Kaliumhydrogencarbonat in wäßrigem Methanol (8 Tage) entacetyliert, soweit dies nicht schon durch das dem Raney-Katalysator anhaftende Alkali erfolgt war. Das gewonnene Rohmaterial wurde ohne den Versuch, es zu kristallisieren, direkt der Mannich-Spaltung unterworfen. Der amorphe Aglykonanteil wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert. Nachdem mit Benzol + Petroläther eine gelb gefärbte Verunreinigung und mit Benzol + Äther und Benzol + Chloroform ein Gemisch von Anhydro-Verbindungen des zu erwartenden Aglykons aus der Säule entfernt worden waren, konnte mit Chloroform und mit Chloroform + Methanol (100:1) eine Fraktion erhalten werden, die aus Methanol kristallisierte und den Schmp. 218–222° zeigte. Der Misch-Schmelzpunkt mit Gitoxigenin (IV) vom Schmp. 219 bis 223° ergab keine Schmp.-Erniedrigung. Beide Präparate kristallisierten aus Methanol in den gleichen schönen Nadeln und wiesen mit konz. Schwefelsäure dieselbe Farbreaktion (gelb-orange-karmoisinrot) auf.



Da die Menge der erhaltenen Kristalle (etwa 3 mg aus 560 mg Adonitoxin) für eine C,H-Analyse nicht ausreichte, wurde eine weitere Identifizierung mit Gitoxigenin papierchromatographisch versucht. In 3 Lösungsmittelgemischen, Glykol-*n*-Butanol-Wasser (1:2:3), in Chloroform-Wasser-Methanol (10:2:5) und auf mit 40-proz. Formalin getränktem Papier mit Benzol + Chloroform (2:1) als Lösungsmittel wurden die R_F -Werte 0.95, 0.75 und 0.2 mit Gitoxigenin und dem reduzierten Aglykon aus Adonitoxin erhalten. Da Gitoxigenin mit

HCl unter zweimaliger Wasserabspaltung in Dianhydro-gitoxigenin (V) übergeht, und sich dabei ein charakteristisches Maximum der UV-Absorption bei 338 $m\mu$ ausbildet, wurde auch diese Reaktion durchgeführt. Hierbei entstand das erwartete Maximum an der gleichen Stelle (s. Abbild. 1).

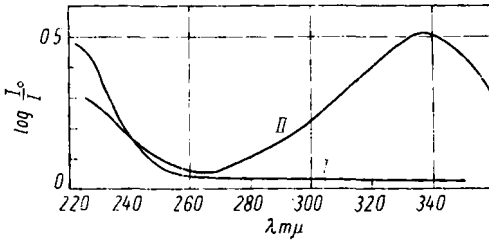


Abbildung 1. UV-Spektren des gewonnenen Gitoxigenins (I) und dasselbe nach Abspaltung von 2 H_2O an C^{14} und C^{16} mit Hilfe von Salzsäure (II)

Daß die geringe Ausbeute an Gitoxigenin aus Adonitoxin z.Tl. durch eine Wasserabspaltung einer oder beider OH-Gruppen an C^{14} und C^{16} bei der Hydrolyse nach Mannich bewirkt wird, ließ sich durch eine Aufnahme des UV-Spektrums zeigen. Mit der Benzol-Äther- und mit der Benzol-Chloroform-Fraktion aus der Chromatographie des reduzierten Aglykons wurden Maxima bei 273 $m\mu$ (Monoanhydro-Verbindung, — Wasserabspaltung an C^{16}) und 340 $m\mu$ (Dianhydro-Verbindung, — Wasserabspaltung an C^{14} und C^{16}) erhalten (s. Abbild. 2).

serabspaltung an C^{16}) und 340 $m\mu$ (Dianhydro-Verbindung, — Wasserabspaltung an C^{14} und C^{16}) erhalten (s. Abbild. 2).

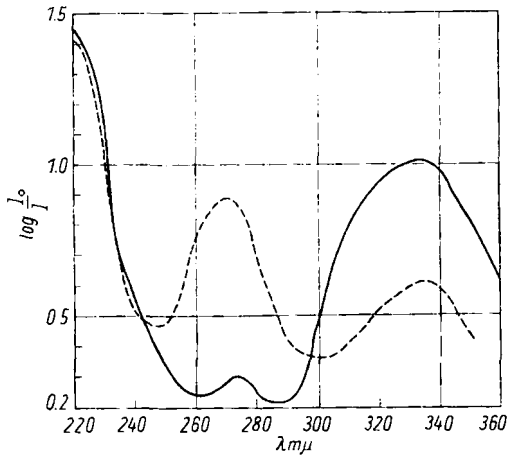
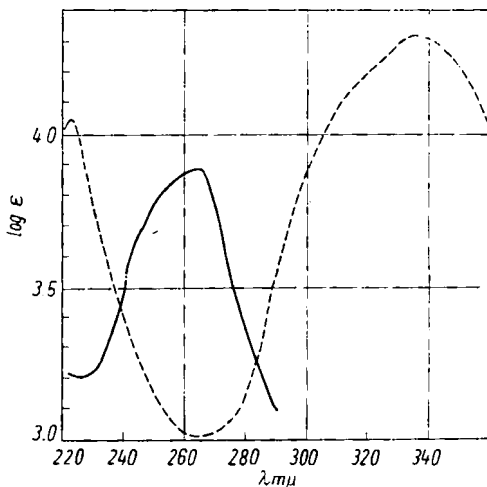


Abbildung 2. UV-Spektren der Benzol/Äther-(Monoanhydro-gitoxigenin) ---- und der Benzol/Chloroform-Fraktion (Dianhydro-gitoxigenin) —

Dieses Ergebnis ließ es wünschenswert erscheinen, den Weg vom Adonitoxin zu Derivaten des Gitoxigenins etwas zu ändern, um die Ausbeute an definierten Verbindungen zu erhöhen. Nach A. Windaus, K. Westphal und G. Stein¹¹⁾ kann man durch Wasserabspaltung aus dem Gemisch der beiden durch Hydrierung der Doppelbindung entstehenden Dihydro-gitoxigenine zu einem einheitlichen Dianhydro-dihydro-gitoxigenin gelangen. Dabei bildet sich am Ort der Isomerie an C^{20} vermutlich die stabile Form aus. Es wurde daher das Mercaptal des Adonitoxins mit einem aktiveren Raney-

¹¹⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 61, 1850 [1928].

Katalysator zugleich entschwefelt und an der Doppelbindung im Lactonring hydriert. Bei einer entsprechenden Aufarbeitung wie vorher wurden aus 200 mg Adonitoxin etwa 8 mg eines in Tafeln kristallisierenden Stoffes erhalten, der bei 120–140° schmolz. Die Aufnahme des UV-Spektrums zeigte, daß in ihm schon zu einem erheblichen Anteil die Dianhydro-Verbindung vorliegen mußte. Sie zeigte ein Maximum bei 262 m μ (s. Abbild. 3). α -Phellandren (VI) mit 2 cyclischen Doppelbindungen zeigt ein Maximum bei 265 m μ . Um ein einheitliches Material zu gewinnen, wurde es durch Erhitzen mit alkoholischer Salzsäure vollkommen anhydriert. Das so gewonnene Dianhydro-dihydro-gitoxigenin schmolz bei 153–156° (λ_{\max} bei 262 m μ ; log ϵ = etwa 3.86). Ein aus reinem Gitoxigenin hergestelltes Vergleichspräparat ergab die gleichen Eigenschaften und denselben Schmelzpunkt (Windaus und Mitarb.¹¹ geben für Dianhydro-dihydro-gitoxigenin den Schmp. 166° an; dieser Wert konnte von uns nicht erreicht werden). Auch die Farbreaktionen mit konz. Schwefelsäure waren bei beiden Proben identisch (s. Tafel 2).



Abbild. 3. UV-Spektrum des Dianhydro-dihydro-gitoxigenins — und des Dianhydro-adonitoxigenins - - -

Tafel 2. Farbreaktion mit konz. Schwefelsäure

Verbindung	Zeit des Auftretens der Reaktion und Färbung			
	sofort	1 Min.	5 Min.	10 Stdn.
Adonitoxin	gelborange	zinnober	karminrot	lila
Adonitoxinacetat	gelb	braun	purpurrot	violett
Äthylenmercaptopal des Adonitoxinacetats	goldgelb	orange	ziegelrot	lila
Entschwefeltes Mercaptal ..	goldgelb	orange	ziegelrot	lila
Gitoxigenin	goldgelb	goldgelb	goldgelb	lila
Dianhydro-gitoxigenin ...	goldgelb	goldgelb	goldgelb	lila
Dianhydro-adonitoxigenin	ziegelrot	intensiv karminrot	purpurrot	lila
Oxim d. Dianhydro-adonitoxigenins	gelbbraun	braungelb	braungelb	braungelb
Dianhydro-dihydro-gitoxigenin	gelbbraun	braungelb	braungelb	braungelb

(im UV gelbgrün fluoresc.)

Die Reaktionen wurden so ausgeführt, daß die Substanzproben in einem kleinen Röhren mit konz. Schwefelsäure übergossen und umgeschüttelt wurden. Nimmt man

die Reaktion unter Zutritt von Feuchtigkeit, z. B. auf dem Objektträger, vor, so ergeben sich z.Tl. andere Farbenscheinungen:

Dianhydro-gitoxigenin ...	goldgelb	orange	kirschrot nach 15 Min.	verblaßt
Dianhydro-dihydro-gitoxigenin	gelbbraun	rotbraun nach 30 Min.	rot nach 90 Min.	violett nach 2 Stdn., nach 3 Stdn. reinblau

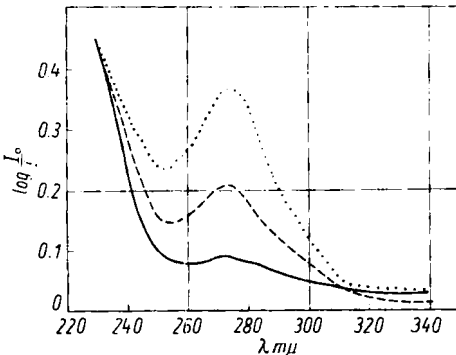
Einige nicht ganz reine Adonitoxin-Fractionen wurden zur Klärung von zwei weiteren Fragen eingesetzt. Durch Erhitzen mit alkoholischer Salzsäure wurde Dianhydro-adonitoxigenin hergestellt, das den Schmp. 212–214° aufwies (s. Abbild. 3, ----). Es zeigte das erwartete Maximum bei 338 m μ (log $\epsilon = 4.06$) und ein weiteres Maximum bei 222 m μ (log $\epsilon = 4.04$). Diese Werte stimmen gut mit denjenigen überein, die O. Schindler und T. Reichstein¹²⁾ an Dianhydro-gitoxigenin gefunden haben (log $\epsilon = 4.06$ bei 222.5 m μ und log $\epsilon = 4.31$ bei 337.5 m μ). Bemerkenswert ist auch der Vergleich der optischen Drehung in der Gitoxigenin-¹³⁾ und Adonitoxigenin-Reihe:

Verbindung	$[\alpha]_D$	Differenz
Gitoxigeninacetat	-8°	
Dianhydro-gitoxigenin	+573°	581°
Adonitoxigeninacetat	-26°	
Dianhydro-adonitoxigenin	+541°	567°

Es ist ersichtlich, daß sich die Drehung in beiden Fällen um den gleichen Betrag ändert, woraus geschlossen werden kann, daß analoge Veränderungen in beiden Reihen ablaufen. Zur Sicherung der Frage, ob im Dianhydro-adonitoxigenin die Aldehydgruppe noch intakt ist, wurde das Oxim vom Schmp. 248–251° hergestellt.

Kuno Meyer¹³⁾ stellte aus Gitoxigeninacetat durch Chromatographie an Aluminiumoxyd eine 16-Monoanhydro-Verbindung her, die bei 273 m μ (log $\epsilon = 4.4$) ein Maximum der Absorption aufwies. Wir haben diese

Reaktion auch auf Adonitoxinacetat übertragen und erhielten mit einem besonders aktiven Aluminiumoxyd (s. Tafel 3) die in der Abbild. 4 wiedergegebenen Kurven der UV-Absorption. Es bildete sich also beim Adonitoxin dasselbe Maximum wie beim Gitoxigeninacetat unter den gleichen Bedingungen aus, so daß auf die Entstehung einer 16-Anhydro-Verbindung geschlossen werden kann. Die Tafel 3 bringt eine Zusammenstellung der Anhydroisierungseffekte an C¹⁶, die



Abbild. 4. — UV-Spektrum des Adonitoxinacetats, ---- des Adonitoxinacetats (ein Tag an Aluminiumoxyd Merck), Adonitoxinacetats (8 Tage an Aluminiumoxyd Merck)

mit verschiedenen Präparaten von Aluminiumoxyd mit Gitoxigeninacetat und Adonitoxinacetat erhalten wurden. Danach scheint die Wasserabspaltung bei letzterem etwas schwerer zu verlaufen als bei Gitoxigeninacetat.

¹²⁾ Helv. chim. Acta. 35, 444 [1952].

¹³⁾ Helv. chim. Acta 29, 722 [1946].

Tafel 3. Anhydrierungseffekte durch Chromatographie mit verschiedenen Al_2O_3 -Präparaten an Gitoxigeninacetat und Adonitoxinacetat, gekennzeichnet durch UV-Absorption

Al_2O_3	Absorption	
	Gitoxigeninacetat	Adonitoxinacetat
Woelm, neutral	keine bei 273 $m\mu$	keine
Woelm, neutral m. Wasser u. Methanol ausgekocht	schwache	keine
Merck, standart.	mittelstarke	mittelstarke
Merck, standart. und geglüht	vollständige	starke
Riedel de Häen, neutral	mittelstarke	schwache
Riedel de Häen, neutral u. geglüht	starke	mittelstarke
Woelm, alkalisch	keine	keine

Die Anhydrierungsreaktion wurde weiter herangezogen, um die Frage zu prüfen, ob sich im Ouabain und im Scillirosid an C^{16} eine Oxygruppe befindet. Für Scillirosid¹⁴⁾ hatte Fieser¹⁵⁾ eine solche Möglichkeit diskutiert. Keines der beiden Acetate lieferte bei der Behandlung mit aktivem Aluminiumoxyd ein Präparat, das eine UV-Absorption in der Gegend von 275 $m\mu$ zeigte. Dieser Befund schließt natürlich das Vorliegen einer OH-Gruppe an C^{16} nicht vollkommen aus, da eine solche auch eine der Anordnung im Gitoxigenin sterisch entgegengesetzte Lage einnehmen kann. Eine Anhydrierung erscheint dann unter den gewählten Bedingungen nicht sehr wahrscheinlich. Jedenfalls kann sich in beiden Glykosiden vermutlich an C^{16} keine OH-Gruppe in der Bindungsform wie im Gitoxigenin finden.

Durch die mitgeteilten Feststellungen scheint uns die Formel II des Adonitoxigenins als eines 19-Oxo-gitoxigenins weitgehend gesichert.

Wir danken der Joachim-Jungius-Gesellschaft der Wissenschaften in Hamburg vielmals für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Isolierung des Adonitoxins: 10 l wäbr. Adonis-Konzentrat mit etwa 9 Millionen Frosch-Einheiten wurden bei 35–40°/30 Torr auf 1 l eingengt. Es wurde zunächst 3mal mit 2000 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformextrakte wurden vereinigt und 3mal mit 500 ccm Wasser ausgezogen. Die vereinigten wäbr. Phasen wurden wieder auf 500 ccm konzentriert und 4mal mit einem Gemisch von 2 Tln. Chloroform und 1 Tl. Äthanol kräftig durchgeschüttelt. Papierchromatographisch war danach Adonitoxin in der wäbr. Phase nur noch spurenweise nachweisbar.

Die dunkelbraunen Chloroform + Äthanol-Auszüge wurden 2mal mit 15 ccm 2 n Na_2CO_3 durchgeschüttelt. Hierbei ging schon ein Teil des Adonitoxins in die wäbr. Phase und konnte ihr durch erneutes Ausziehen mit Chloroform + Äthanol wieder entzogen werden. Nach Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat wurde die Chloroform + Äthanol-Lösung des Adonitoxins i. Vak. zur Trockne eingedampft. Die erhaltenen 38 g Rückstand kristallisierten nicht und wurden daher an der 35fachen Menge Aluminiumoxyd (neutral) der Firma Woelm, Eschwege, (Aktivitätsstufe II) der Chromatographie nach dem Durchlaufverfahren unterworfen. Das Aluminiumoxyd wurde zunächst 3mal mit dest. Wasser ausgekocht, dann mit Methanol übergossen und schließlich bei 180° 3 Stdn. getrocknet.

¹⁴⁾ Wir möchten auch an dieser Stelle Hrn. Prof. Dr. A. Stoll sehr für die Überlassung einer Probe Scillirosid zu diesem Versuch danken.

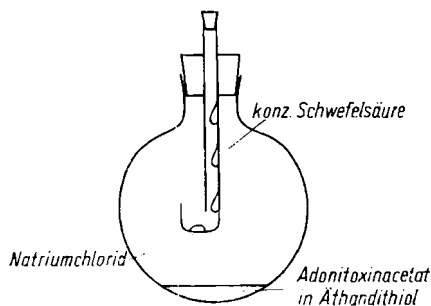
¹⁵⁾ L. F. Fieser u. M. Fieser, *Natural Products related to Phenanthrene*, Reinh. Publishing Corp. New York 1949, S. 558.

Es wurde mit Chloroform in eine Glasröhre eingeschlämmt und die Substanz in möglichst wenig Chloroform + Methanol (1 : 1) oben auf die Säule gebracht. Beim Waschen mit Chloroform erschien zunächst eine gelbgrüne Verunreinigung; erst mit Chloroform + Methanol (10 : 1 und 10 : 2) konnte die Hauptmenge des Adonitoxins aus der Säule entfernt werden.

Der Abdampfrückstand dieser beiden Eluate kristallisierte; es war aber auch dann noch schwer und nur unter Verlusten möglich, durch Kristallisation aus Methanol + Wasser Präparate zu gewinnen, die die Konstanten des Adonitoxins von Katz und Reichstein²⁾ aufwiesen. Es wurden gewonnen 0.55 g reines Adonitoxin und 1.7 g eines Materials, das sich auf Grund der Intensität der Färbung mit konz. Schwefelsäure als 70–90-proz. erwies.

Adonitoxinacetat: 550 g Adonitoxin wurden mit 5.5 ccm über Bariumoxyd dest. Pyridin und 5.5 ccm frisch dest. Essigsäureanhydrid übergossen und 48 Stdn. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Danach wurde die Lösung i.Vak. bei 50° eingedampft und der Rückstand in 150 ccm Chloroform gelöst. Nach Auswaschen mit einigen ccm verd. Salzsäure, 2*n* Na₂CO₃ und mit Wasser, wurde die Lösung mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. 710 mg des erhaltenen Rohacetates wurden an der 30fachen Menge Aluminiumoxyd der Aktivitätsstufe II nach dem Durchlaufverfahren chromatographiert. Hier und auch beim Reinigen des weiter unten beschriebenen Mercaptals bewährte sich das Anrühren des Aluminiumoxyds mit Benzol + Petroläther (1 : 1). Nachdem mit Benzol + Äther zuerst geringe Mengen einer Verunreinigung erschienen, wurde aus den weiteren Fraktionen und mit Benzol + Chloroform das Acetat mit dem Doppelschmelzpunkt 142–150°/227–234° gewonnen. Häufig wurde auch nur der hohe Schmelzpunkt festgestellt; Ausb. 505 mg.

Darstellung des Äthylmercaptals: 255 mg Adonitoxinacetat wurden bei 0° in 0.25 ccm Äthandithiol gelöst. Dafür wurde das Acetat in der Form verwendet, wie es sich beim Eindampfen einer Chloroform-Lösung als Schaum an der Kolbenwand ab-



Abbild. 5. Apparatur zur HCl-Entwicklung für die Mercaptal-Darstellung

setzt. Das Äthandithiol wurde nach V. Meyer¹⁶⁾ hergestellt. Die Mercaptalisierung erfolgte in der in der Abbild. 5 wiedergegebenen Apparatur, in der die Chlorwasserstoffsäure aus 26 mg Natriumchlorid und 0.03 ccm konz. Schwefelsäure in dem kleinen Schälchen oberhalb der Dithiol-Lösung des Adonitoxinacetats entwickelt wurde. Die Schwefelsäure wurde unter Schrägstellen des Kolbens langsam zu dem Natriumchlorid gelassen, so daß Zeit genug blieb, den Kolben zu verschließen. Während der Chlorwasserstoff-Entwicklung tauchte das Reaktionsgefäß in Eiswasser und blieb darin stehen, wobei sich die Temperatur mit dem

Schmelzen des Eises langsam auf Zimmertemperatur erhöhte. Dann wurde der Kolbeninhalt in 100 ccm Chloroform aufgenommen, die Lösung mit je 2 ccm verd. Salzsäure, 2*n* Na₂CO₃ und dest. Wasser ausgeschüttelt und schließlich i.Vak. zur Trockne eingedampft. Das Mercaptal wurde durch Chromatographie an der 25fachen Menge Aluminiumoxyd gereinigt; dabei wurde die Säule zunächst mit Benzol + Petroläther ausgewaschen, um überschüss. Äthandithiol zu entfernen; das Mercaptal erschien mit Benzol + Äther.

Hydrierende Entschwefelung: 180 mg Mercaptal wurden mit der 40fachen Menge Raney-Nickel umgesetzt, das in der folgenden Weise bereit worden war: 7.2 g etwa 50-proz. Nickel-Aluminium-Legierung in fein gepulvertem Zustand wurden in 30 ccm 25-proz. Natronlauge in kleinen Anteilen auf dem Wasserbade eingetragen und 45 Min.

¹⁶⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 19, 3263 [1886].

auf 90–95° erwärmt. Dann wurde von dem nickelhaltigen Schlamm dekantiert und mit ihm die gleiche Behandlung mit frischer Natronlauge 30 Min. wiederholt. Das Nickel wurde so lange mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser gegen Phenolphthalein keine alkal. Reaktion mehr zeigte. Der feuchte Katalysator wurde dann 2 mal mit 96-proz. Äthanol übergossen und das Lösungsmittel wieder dekantiert. Schließlich wurde er mit 80-proz. Äthanol behandelt und 20 ccm dieses Alkohols benutzt, um ihn in eine Lösung des Mercaptals in 10 ccm Dioxan zu spülen. Anschließend wurde die Mischung 10 Stdn. geschüttelt, der Katalysator abfiltriert und gut mit Alkohol ausgewaschen; anschließend wurde die Lösung i.Vak. zur Trockne eingedampft.

140 mg des nach der Behandlung mit Raney-Nickel erhaltenen schaumigen Rückstandes wurden in 20 ccm Methanol gelöst und die Lösung nach Zusatz von 140 mg Kaliumhydrogencarbonat in 7 ccm Wasser 6 Tage bei 20° zur Verseifung stehengelassen. Durch Eindampfen bei 30° auf 5 ccm schied sich das farblose Verseifungsprodukt ab, das mit Chloroform + Äthanol (2 : 1) ausgeschüttelt wurde.

Mannich-Spaltung: 90 mg des Verseifungsproduktes wurden in 25 ccm über Kaliumpermanganat destilliertem Aceton gelöst und so viel konz. Salzsäure (10.3*n*) hinzugefügt, daß die Acidität mit einer Aceton-Lösung übereinstimmte, die 1% HCl enthielt. Das Gemisch blieb 14 Tage bei 18° stehen. Nach Zugabe von 25 ccm Wasser wurde die Lösung durch Einengen bei 20° i.Vak. auf 20–22 ccm von Aceton befreit. Das dabei ausgeschiedene Material wurde durch Zugabe von 25 ccm Methanol wieder in Lösung gebracht und diese 25 Min. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Dann wurde das Methanol i.Vak. wieder entfernt und die wäßr. Suspension mit 3 mal 20 ccm Chloroform ausgeschüttelt.

Die Chloroform-Lösung wurde nach dem Trocknen über eine mit der 25fachen Menge Aluminiumoxyd bereiteten Säule chromatographiert. Das Aluminiumoxyd war mit Petroläther eingeschlammmt worden. Mit Benzol + Petroläther wurde zunächst eine gelblich gefärbte Verunreinigung eluiert, dann kamen mit Benzol + Äther und mit Benzol + Chloroform-Mischungen Substanzmengen, die, obwohl von Cardenolidnatur, nicht kristallisierten. Kristalle konnten erst mit Chloroform eluiert werden; sie bildeten aus Methanol Nadeln vom Schmp. 218–221° und gaben mit authentischen Gitoxigenin keine Schmelzpunkts-Erniedrigung; Ausb. 3.8 mg. λ_{\max} bei der UV-Absorption 218 μ . Beim Erhitzen der Kristalle 10 Min. mit Methanol + konz. Salzsäure (5 : 1) unter Rückfluß trat ein Maximum der Absorption bei 338 μ auf. Die Farbreaktionen mit konz. Schwefelsäure und die R_F -Werte (s. allgemeiner Teil) waren bei beiden Proben identisch.

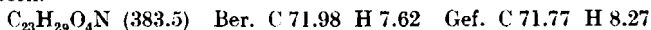
Dianhydro-dihydro-gitoxigenin aus Adonitoxin: 170 mg Mercaptal, hergestellt wie vorstehend beschrieben, wurden mit der 50fachen Menge eines aktiven Raney-Nickel-Katalysators üblicher Herstellung so lange geschüttelt, bis die Raymond- und Legal-Reaktion negativ geworden waren. Nach der Verseifung und Mannich-Spaltung wurde das Material wie oben erwähnt über Aluminiumoxyd chromatographiert. Hierbei wurde der größte Teil der eingesetzten Substanz schon mit Benzol + Äther aus der Säule entfernt. Es kristallisierten 12 mg, die bei 120–140° nach Sintern schmolzen. Sie wurden mit 1.8 ccm wasserfreiem Äthanol und 0.3 ccm konz. Salzsäure 10 Min. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zusatz von 1.8 ccm Wasser wurde der Alkohol i.Vak. entfernt und die körnige Anhydro-Verbindung aus Methanol + Wasser umkristallisiert. Es wurden 4.5 mg schöne Plättchen erhalten, die bei 153–156° schmolzen und bei 262 μ eine UV-Absorption aufwiesen. Ein entsprechend aus Dihydro-gitoxigenin mit alkohol. Salzsäure bereitetes Vergleichspräparat zeigte entsprechende Eigenschaften in Schmp., UV-Absorption und hinsichtlich der Farbreaktionen mit konz. Schwefelsäure.

Dianhydro-adonitoxigenin: 7 g brauner Nachbarfraktionen, die neben denjenigen angefallen waren, die die Hauptmenge Adonitoxin geliefert hatten, wurden in 50 ccm Methanol gelöst, dazu 10 ccm konz. Salzsäure hinzugefügt und die Mischung 10 Min. unter Rückfluß gekocht. Dann wurde mit 2*n* Na₂CO₃ das p_H auf 8 eingestellt, ausgeschiedenes Natriumchlorid abfiltriert und das Methanol nach vorherigem Zusatz von 20 ccm Wasser i.Vak. entfernt. Die trübe Lösung wurde 4 mal mit insgesamt 400 ccm Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde mit Wasser gewaschen und getrocknet. Es wurden 2.55 g hellbrauner Rückstand erhalten, der über die 30fache Menge Aluminiumoxyd der

Aktivitätsstufe I chromatographiert wurde. Mit Benzol + Äther und mit Benzol + Chloroform wurden Verunreinigungen aus der Säule eluiert; das Dianhydro-adonitoxigenin erschien erst mit Chloroform. Es wurde aus Äthanol + Wasser umkristallisiert und schmolz dann bei 212–214°; Ausb. 28 mg. Es zeigte im UV ein Maximum der Absorption bei 222 und 339 m μ ; $[\alpha]_D^{20}$: +541° (c=0.2623, in Methanol).



Oxim des Dianhydro-adonitoxigenins: 15 mg Dianhydro-adonitoxigenin wurden in 0.25 ccm Äthanol mit 7 mg Hydroxylamin-hydrochlorid in üblicher Weise umgesetzt. Es wurden 12 mg unreines Oxim gewonnen, die nach dem Umkristallisieren aus Äthanol + Wasser bei 249–251° schmolzen. Qualitativ wurde in den Kristallen N nachgewiesen.



Monoanhydro-adonitoxinacetat: Jeweils 2 mg Adonitoxinacetat bzw. Gigtogeninacetat wurden in so viel Benzol gelöst, daß die 100fache Menge des angewandten Aluminiumoxyds gerade vollkommen durchfeuchtet war. Das Gefäß blieb 1–8 Tage verschlossen stehen. Zur Aufnahme der UV-Absorption wurden dem Gemisch einige ccm Methanol zugefügt, dann wurde das Aluminiumoxyd abgesaugt und nach Auswaschen die Lösung i. Vak. eingedampft. Der Rückstand kam in Methanol zur Messung im Beckman-Apparat DUV.

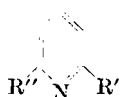
92. Wilhelm Mathes, Walter Sauermilch und Theo Klein: Über einige Derivate des 2.6-Lutidins

[Aus dem Wissenschaftlichen Laboratorium der Dr. F. Raschig G.m.b.H., Ludwigshafen am Rhein]

(Eingegangen am 16. Januar 1953)

Es wird über Reaktionsprodukte der katalytischen Oxydation von 2.6-Lutidin in der Gasphase berichtet, über Versuche zur Darstellung der Pyridin-aldehyd-(2)-carbonsäure-(6) und über die Cannizzaro-Reaktion des Pyridin-dialdehyds-(2.6).

Das von uns früher in seinen Einzelheiten mitgeteilte Verfahren der katalytischen Oxydation von Pyridin homologen in der Gasphase¹⁾ hat bei seiner Anwendung auf 2.6-Lutidin (I) zu einer Reihe neuer Verbindungen geführt.



I: R' = CH ₃	R'' = CH ₃	V: R' = CH ₂ OH	R'' = CO ₂ H
II: „ = CH ₃	„ = CHO	VI: „ = CHO	„ = CHO
III: „ = CH ₃	„ = CO ₂ H	VII: „ = CHO	„ = CO ₂ Me
IV: „ = CH ₂ OH	„ = CH ₂ OH	VIII: „ = CO ₂ H	„ = CO ₂ H

Neben dem früher beschriebenen Aldehyd II konnten wir mit guter Ausbeute auch den Dialdehyd VI fassen. Durch Oxydation desselben zu Pyridindicarbonsäure-(2.6) („Dipicolinsäure“) (VIII) war unschwer der Beweis für die Richtigkeit der Dialdehyd-Formulierung zu erbringen. Der Aldehyd II ließ sich ebenfalls unter den Bedingungen der beschriebenen Gasphasenoxydation mit Erfolg zum Dialdehyd VI weiteroxydieren. Unsere Erwartung, in dem Reaktionsgemisch der katalytischen Oxydation auch die der Verbindung VII entsprechende freie Aldehydsäure anzutreffen, hat sich indessen bisher nicht erfüllt. Wir versuchten aber, die Aldehydsäure auf indirektem Wege zu synthetisieren.

¹⁾ Chem. Ber. 84, 452 [1951]; Dtsch. Bundes-Pat. 837535 v. 29. 10. 50, ausg. 28. 4. 52.