

65. Rudolf Tschesche und Gernot Grimmer: Über pflanzliche Herzgifte, XXV. Mitteil.*): Zur Konstitution des Adynerins und ein Beitrag zur Stellung der Doppelbindung im Scillirosid

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

(Eingegangen am 21. Januar 1954)

Adynerin ist ein *d*-Diginose-Glykosid. Als Ursache der kardiotonischen Unwirksamkeit wird eine 3-(α)-Stellung der Oxygruppe im Adynerigenin angenommen. Während im Aglykon des Adynerins und des Isoadynerins die Doppelbindung $\Delta^{8:9}$ -Stellung hat, wird sie bei der Säurehydrolyse zur Abspaltung des Zuckers nach $\Delta^{7:8}$ verschoben. Die Ultrarotspektren sind mit dieser Auffassung in Einklang. Danach muß auch Scillirosid die Doppelbindung in $\Delta^{8:9}$ aufweisen.

Für Adynerin, ein Nebenglykosid aus *Nerium oleander* wurde von R. Tschesche und K. Bohle¹⁾ die Konstitutionsformel I aufgestellt, in der die Natur des Zuckers ungeklärt blieb. Es war nur bekannt, daß es sich bei ihm um den Methyläther einer 2-Desoxy-hexamethylose handeln muß.

Wir haben nunmehr in einem Mikrospaltverfahren mit Säure den Zucker aus dem Glykosid abgespalten und kristallisiert erhalten können. Es handelt sich nach Schmelzpunkt (88–91°), Drehung $[\alpha]_D^{20}$: $+52 \pm 3^\circ$ (Wasser) und Verhalten im Papierchromatogramm um *d*-Diginose. Auch der Misch-Schmelzpunkt mit einem authentischen Präparat²⁾ zeigt keine Erniedrigung³⁾.

Nachfolgend geben wir die R_F -Werte der 4 bekannten stereoisomeren 2-Desoxy-hexamethylosen und ihrer 3-Methyläther wieder. Als Lösungsmittelgemisch für die Papierchromatographie wird *n*-Butanol: Pyridin: Wasser, 3:1:3, und das Papier Schleicher & Schüll 2043a verwendet: Digitoxose 0.60, Fucodeose 0.51, 2-Desoxy-rhamnose 0.58 und Boivinose 0.61. Cymarose ergab 0.76, Oleandrose 0.76, Sarmantose 0.75 und Diginose 0.69.

Bei 20° in gleicher Weise chromatographierte Glucose ergab den Wert 0.19 und Fucose 0.27.

Es zeigt sich also, daß unter diesen Bedingungen von den vier 3-Methyläthern der 2-Desoxy-hexamethylosen allein die Diginose im R_F -Wert sich wesentlich von den 3 anderen unterscheidet.

Eine bessere Trennung der 2-Desoxy-hexamethylosen und ihrer 3-Methyläther ließ sich auf dem Papier jedoch in dem Gemisch Essigester: Pyridin: Wasser 2:1:2⁴⁾ erreichen. Es ergaben sich die Werte 0.625 für Boivinose, 0.665 für Digitoxose, 0.65 für Desoxy-rhamnose und 0.58 für Fucodeose. Sarmantose lieferte den Wert 0.74, Cymarose 0.755, Oleandrose 0.78 und Diginose 0.685. Glucose und Fucose zeigten unter den gleichen Bedingungen bei 21° die R_F -Werte 0.27 und 0.38.

*) XXIV. Mitteil.: R. Tschesche, G. Grimmer u. F. Seehofer, Chem. Ber. **86**, 1235 [1953].

¹⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **71**, 654 [1938].

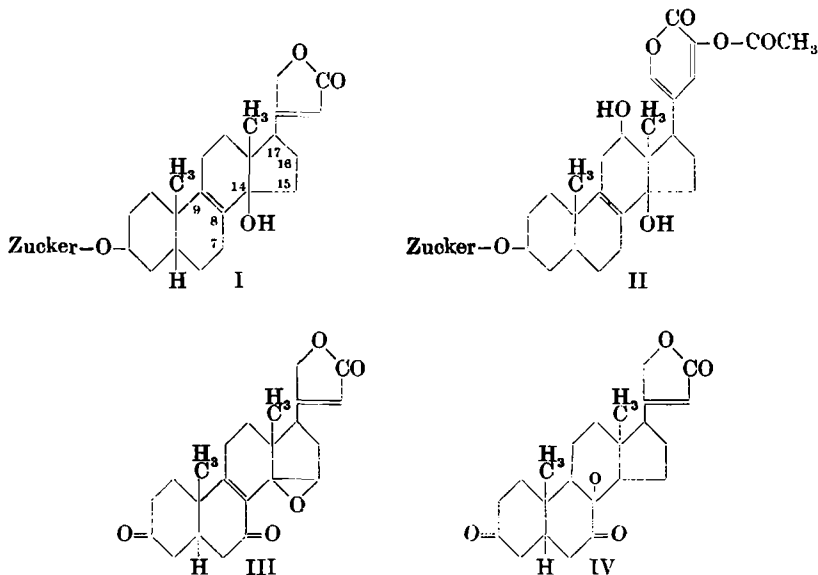
²⁾ Wir möchten auch an dieser Stelle Hrn. Prof. T. Reichstein vielmals für die Überlassung verschiedener 2-Desoxy-hexamethylosen und ihrer 3-Methyläther danken.

³⁾ C. W. Shoppee u. T. Reichstein, Helv. chim. Acta **23**, 975, 990 [1940]; **25**, 1611 [1942]; S. Rangaswami u. T. Reichstein, ebenda **32**, 939 [1949].

⁴⁾ F. A. Isherwood u. M. A. Jermyn, Biochem. J. **48**, 515 [1951].

Im Adynerigenin, dem Aglykon des Adynerins, haben R. Tschesche und K. Bohle¹⁾ früher die Extradoppelbindung gegenüber den anderen bekannten Cardenoliden in die $\Delta^{8:9}$ -Stellung verlegt. Sie wurde als Ursache der Unwirksamkeit im Tierversuch angesehen. Mit dieser Lage stimmt die Beobachtung von U. Westphal⁵⁾ überein, daß Adynerin und Isoadynerin eine positive Tortelli-Jaffé-Reaktion geben, wie sie von einer ditertiären Doppelbindung zu erwarten ist. Merkwürdigerweise fällt die Reaktion jedoch, wie wir bei einer Wiederholung der Versuche feststellten, beim Adynerigenin gegenüber dem Glykosid sehr schwach aus. Während Adynerin und Isoadynerin schnell eine grünbraune Färbung liefern, tritt sie beim Adynerigenin nur geringfügig und in Gestalt eines sich sehr langsam entwickelnden braunen Ringes auf. Eine Grünfärbung ist kaum zu beobachten. Es ist daher daran zu denken, daß bei der Säurespaltung des Adynerins bereits eine weitgehende Verschiebung der Doppelbindung aus der Stellung $\Delta^{8:9}$ wahrscheinlich nach $\Delta^{7:8}$ erfolgt ist. In dieser Position wäre sie auch nicht hydrierbar, die Absättigung ist nur unter isomerisierenden Bedingungen möglich. Eine Verlagerung nach $\Delta^{9:11}$ scheidet deswegen aus, da eine solche Doppelbindung in Eisessig katalytisch mit Wasserstoff abgesättigt werden kann. Das wahre Aglykon des Adynerins wäre demnach noch nicht bekannt und das isolierte Genin als $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin zu bezeichnen.

Wir haben auch Anhydro-adynerigenin, Tetrahydro-anhydro-adynerigenin und das umgelagerte Anhydro-adynerigenin mit der Tortelli-Jaffé-Reaktion geprüft. Keine dieser Verbindungen zeigt ein positives Ergebnis, so daß zu vermuten ist, daß sie alle keine ditertiäre Doppelbindung in $\Delta^{8:9}$ oder $\Delta^{9:14}$ -Stellung enthalten. Vermutlich ist die nicht hydrierbare Doppelbindung



⁵⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. 72, 1243 [1939].

in ihnen (soweit vorhanden) ebenfalls in $\Delta^{7:8}$ zu suchen. Es sei in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen, daß wie früher gezeigt wurde⁶⁾, $\Delta^{14:15}$ -Anhydro-cardenolide erwartungsgemäß keine Färbung nach Tortelli-Jaffé geben, wohl aber die $\Delta^{8:14}$ -Anhydroderivate. Durch diese Feststellungen mag die von R. B. Turner⁷⁾ gegebene Formulierung der Oxydationsprodukte mit Chromsäure (III u. IV) aus $\Delta^{7:8, 14:15}$ -Anhydro-adynerigenin und Tetrahydro-adynerigenin nicht berührt werden. Vielleicht ist aber auch der Oxydring in der Diketooxido-Verbindung (IV) aus Tetrahydro-anhydro-adynerigenin in die 8:14-Stellung zu verlegen. Das mit Säure umgelagerte Anhydro-adynerigenin könnte die $\Delta^{7:8, 16:17}$ -Konstitution haben.

Für Scillirosid (II) haben A. Stoll und Mitarbb.⁸⁾ eine Konstitution angenommen, nach der das Aglykon Scillirosidin ebenfalls eine Doppelbindung $\Delta^{8:9}$ haben soll. Nun ist aber dieses Glykosid stark herzwirksam (intravenös 0,120 mg/kg Katze/mittlere letale Dosis), und dieser Befund ist mit der Inaktivität des Adynerins im Tierversuch nicht zu vereinbaren, wenn sie allein auf die Extradoppelbindung zurückgehen soll. Ferner zeigt das $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin bis 15 mg/kg Katze keine Herzwirksamkeit, so daß die Ursache der Inaktivität nicht eine Doppelbindung $\Delta^{8:9}$ in der Molekel sein kann⁹⁾. Es bleibt aber noch die Möglichkeit, daß im Adynerigenin eine 3(α)-Verbindung vorliegt, nachdem T. Reichstein und Mitarbb.¹⁰⁾ gezeigt haben, daß 3-Epidigitoxigenin unwirksam ist. Natürlich vorkommende 3(α)-Oxyaglykone der Cardenolide sind mit Ausnahme des Urezigenins und vermutlich des Xysmalogenins nicht bekannt.

Um diese Überlegungen zu prüfen, haben wir die Ultrarot-Spektren von Isoadynerin, $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin, $\Delta^{7:8, 14:15}$ -Anhydro-adynerigenin-acetat und Scillirosid¹¹⁾ aufnehmen lassen¹²⁾. Dabei zeigt sich, daß die Acetoxybande bei 8,03 μ im Anhydro-adynerigenin-acetat keine Aufspaltung erfährt. Ein solcher Befund soll für *trans*-Stellung der Acetoxygruppe zum H-Atom an C⁵ charakteristisch sein¹³⁾. Da $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin in Tetrahydro-anhydrodigitoxi-

⁶⁾ R. Tschesche u. K. H. Brathge, Chem. Ber. 85, 1042 [1952].

⁷⁾ Chem. Rev. 43, 1 [1948].

⁸⁾ A. Stoll, J. Renz u. A. Helfenstein, Helv. chim. Acta 26, 648 [1943]; A. Stoll u. J. Renz, ebenda 25, 43, 377 [1942].

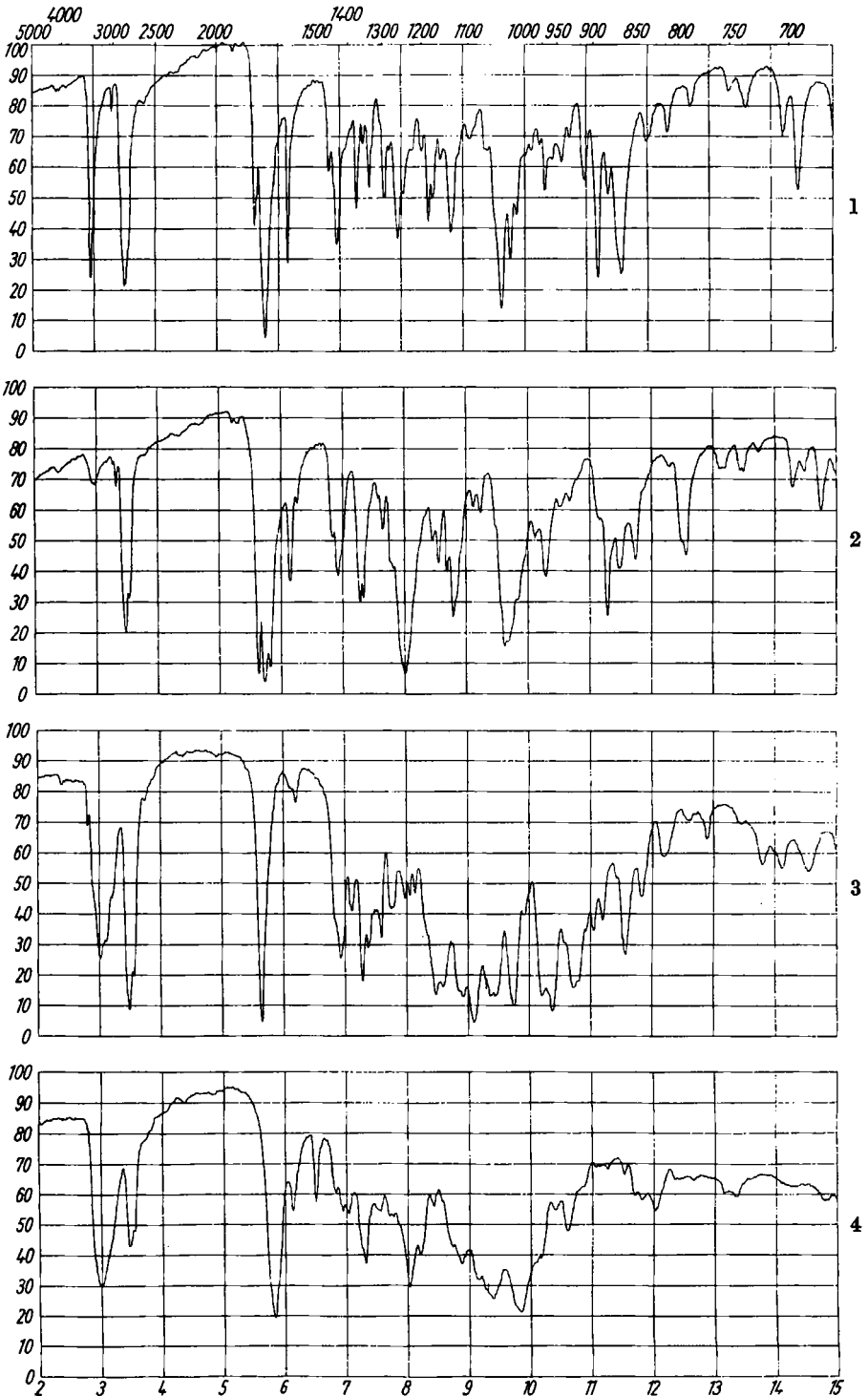
⁹⁾ Hrn. Dr. K. K. Chen, Indianapolis, sei auch hier sehr für diese Untersuchung gedankt.

¹⁰⁾ H. P. Sigg, Ch. Tamm u. T. Reichstein, Helv. chim. Acta 36, 985 [1953].

¹¹⁾ Hrn. Prof. Dr. A. Stoll, Basel, danken wir sehr für die Überlassung einer Probe Scillirosid und Scillirosidin.

¹²⁾ Die Ultrarot-Aufnahmen wurden im Pharmazeutisch-wissenschaftlichen Laboratorium der Farbwerke Hoechst gemacht, wofür wir Hrn. Prof. Dr. G. Ehrhart vielmals danken. Herr Prof. Dr. Schmidt-Thomé gebührt unser besonderer Dank für die Beurteilung der Spektren.

¹³⁾ R. N. Jones, P. Humphries, F. Herling u. K. Dobriner, J. Amer. chem. Soc. 73, 3215 [1951]; W. G. Dauben, E. Hoerger u. N. K. Freeman, ebenda 74, 5206 [1952]; H. Rosenkranz u. L. Zablow, ebenda 75, 903 [1953]; H. Rosenkranz, A. T. Milhorst u. M. Farber, J. biol. Chemistry 195, 509 [1952]; H. Hirschmann, J. Amer. chem. Soc. 74, 5357 [1952].



Ultrarot-Spektren von Δ^7 -⁸-Adynerigenin (Abbild. 1), Δ^7 :^{8,14}:¹⁵-Anhydroadynerigenin-acetat (Abbild. 2), Isoadynerin (Abbild. 3) und Scillirosid (Abbild. 4)

genon überföhrbar ist¹⁴⁾ und dabei eine Umlagerung an C⁵ wenig wahrscheinlich ist, muß das H-Atom an C⁵ die β -Stellung einnehmen. DemgemäÙ kann die OH-Gruppe an C³ nur in α -Position stehen. Die Bande bei 9.6 μ im $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin stützt die Auffassung, daÙ die beiden Substituenten in *trans*-Stellung stehen, daher in befriedigender Weise¹³⁾.

Aus den Ultrarotspektren geht ferner hervor, daÙ im Adynerin und Isoadynerin mit der Doppelbindung $\Delta^{8:9}$, wie erwartet werden muß, bei 3.33 μ keine $\text{C}=\text{CH}$ -stretching-Frequenz auftritt, wohl aber im $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin und im $\Delta^{7:8, 14:15}$ -Anhydro-adynerigenin-acetat. Digitoxigenin-acetat zeigt in diesem Bereich keine Absorption. Dieser Befund ist in Einklang mit den aus der Tortelli-Jaffé-Reaktion gezogenen Schlüssen auf die Lage der Doppelbindung in diesen Verbindungen. Bemerkenswert ist aber, daÙ im Scillirosid, obwohl die genannte Farbenreaktion negativ ausfällt, sich keine Frequenz bei 3.33 μ findet. Wir sind der Ansicht, daÙ diese Beobachtung für die $\Delta^{8:9}$ -Stellung der Doppelbindung spricht, wie sie von A. Stoll und Mitarbb. angenommen worden ist. Vermutlich übt die zusätzliche Hydroxylgruppe an C¹² einen störenden Einfluß auf die Farbenreaktion aus, jedenfalls läÙt sich eine andere Ursache hierfür nicht finden.

Wir haben noch versucht, die 3(α)-Stellung der OH-Gruppe im Adynerigenin mit Hilfe der Methode der molekularen Drehungsdifferenzen nach D. H. R. Barton¹⁵⁾ zu stützen. Vergleicht man den Unterschied $[\text{M}]_D$ zwischen Digitoxigenin-acetat und Digitoxigenin, Epidigitoxigenin-acetat und Epidigitoxigenin sowie $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin-acetat und $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin, so zeigen die erhaltenen Werte allein einigermaÙen Übereinstimmung, wenn Adynerigenin eine 3(α)-Verbindung ist.

Digitoxigenin 3 (β)	+19.1 ⁰ (Me.),	$[\text{M}]_D + 71^0$	}	$\Delta^{Ac} + 8^0$
Digitoxigenin-acetat	+21.4 ⁰ (Me.),	$[\text{M}]_D + 79^0$		
Epidigitoxigenin 3 (α)	+27 ⁰ (Me.),	$[\text{M}]_D + 101^0$	}	$\Delta^{Ac} + 74^0$
Epidigitoxigenin-acetat	+42 ⁰ (Me.),	$[\text{M}]_D + 175^0$		
Adynerigenin $\Delta^{7:8}$ 3 (α)	+29 ⁰ (Me.),	$[\text{M}]_D + 108^0$	}	$\Delta^{Ac} + 67^0$
Adynerigenin-acetat	+42.4 ⁰ (Me.),	$[\text{M}]_D + 175^0$		

Diese Feststellung ist aber nur unter der Voraussetzung gültig, daÙ die Doppelbindung $\Delta^{7:8}$ keinen erheblichen zusätzlichen Effekt auf die Δ^{Ac} -Werte hervorbringt. Bei $\Delta^{7:8}$ -Stenolen und ihren Acetaten gegenüber Stanolen und ihren Acetaten ist dies nicht der Fall (-15 ± 15 gegenüber -34 ± 11).

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit und der eine von uns, G. Grimmer, für ein gewährtes Stipendium.

Beschreibung der Versuche

23.5 mg Isoadynerin vom Schmp. 150⁰ wurden in 1 ccm Methanol gelöst und mit 1 ccm 0.1 *n* HCl in einem Reagensglas mit seitlichem Ansatz 25 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Das Gefäß war dabei mit einem „Kühlfinger“ als Rückflußkühler versehen. Anschließend wurde das Methanol bei Zimmertemperatur nach Zusatz

¹⁴⁾ R. Tschesche, K. Bohle u. W. Neumann, Ber. dtsch. chem. Ges. **71**, 1927 [1938].

¹⁵⁾ J. chem. Soc. [London] **1945**, 813; **1946**, 512; vergl. L. F. Fieser u. M. Fieser, Natural Products related to Phenanthrene, Reinh. Publish. Corp. 1949, 206, New York.

eines Tropfens Octanol i. Vak. entfernt und die verbleibende Lösung mit Wasser wiederum auf 2 ccm gebracht. Es wurde 10 Min. nachhydrolysiert und die Lösung anschließend mit Natriumhydrogencarbonat neutralisiert. Durch zweimaliges Ausschütteln mit je 1 ccm Chloroform wurde das abgespaltene Isogenin entfernt. Die wäßr. Lösung wurde nunmehr mit 0.5 ccm *n*-Butanol versetzt und bei einer Wassertemperatur von 25° i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit 1 ccm Äther zweimal ausgekocht und die ätherische Lösung auf 0.2 ccm eingengt. Beim Versetzen dieser Lösung mit Petroläther bis zur Trübung kristallisierte die Diginose alsbald in langen, farblosen Nadeln aus. Nach Umkristallisieren wurden 3.5 mg kristallisierte D-Diginose vom Schmp. 88–91° erhalten, die mit einem Präparat von T. Reichstein keine Depression zeigte. Enddrehung in Wasser $[\alpha]_D^{20} : +52.0 \pm 3.0$.

Der R_F -Wert 0.69 im Papierchromatogramm mit *n*-Butanol : Pyridin : Wasser 3:1:3 bei 20° war bei beiden Proben identisch.

Die Tortelli-Jaffé-Reaktion wurde nach den Angaben von U. Westphal vorgenommen³⁾.

$\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin-acetat: 15 mg $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin wurden mit 0.5 ccm Pyridin und 0.5 ccm Acetanhydrid in der üblichen Weise umgesetzt. Es wurden 17 mg rohes Acetat erhalten, die aus Chloroform/Äther umkristallisiert wurden. Schmp. 163–164°, $[\alpha]_D^{20} : +42.4^0$ (Methanol).

$C_{25}H_{34}O_5$ (414.5) Ber. C 72.73 H 8.27 Gef. C 72.46 H 8.49

66. Wolfgang Fruhstorfer: Zur Kenntnis der Triterpenalkohole Taraxasterol und ψ -Taraxasterol

[Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie, Tübingen]

(Eingegangen am 22. Januar 1954)

Aus dem Unverseifbaren der Artischocke (*Cynara scolymus*) wurden die Triterpenalkohole Taraxasterol und ψ -Taraxasterol isoliert, letzteres jedoch nur im Gemisch mit Taraxasterol im Verhältnis 1:1. Das in der Literatur beschriebene „Isolactuceryl“ wurde als identisch mit dem Gemisch Taraxasterol- ψ -Taraxasterol 1:1 erkannt; der Name „Isolactuceryl“ ist daher entbehrlich. Die Untersuchungen zur Klärung der Lage der Doppelbindung in Taraxasterol und ψ -Taraxasterol führten zu den Formeln I bzw. II für die beiden Triterpenalkohole.

Bei der Aufarbeitung des Harz- und Fettanteils eines alkoholischen Extrakts aus Artischocken¹⁾ (*Cynara scolymus*) wurde die Fraktion des „Unverseifbaren“ näher untersucht. Aus den kristallisierbaren Anteilen konnten nach Chromatographie zwei in der Literatur bereits beschriebene Triterpenalkohole isoliert werden:

1) als Hauptmenge: Kristallinat A = „Isolactuceryl“²⁾,

2) als Nebenprodukt: Kristallinat B = Taraxasterol³⁾.

Die physikalischen Daten beider Substanzen und ihrer Derivate sind in der Tafel zusammengestellt und mit den Literaturwerten verglichen.

¹⁾ Die Untersuchungen gehen auf eine Anregung von Dr. G. Szyszka und Dr. F. Dutra da Silva, Bahia/Brasilien, zurück, die auch freundlicherweise das Ausgangsmaterial zur Verfügung stellten.

²⁾ G. Hesse, H. Eilbracht u. F. Reicheneder, Liebigs Ann. Chem. 546, 233 [1941].

³⁾ J. chem. Soc. [London] 1944, 283; Zusammenfassung älterer Literatur.