

# CHEMISCHE BERICHTE

Fortsetzung der  
BERICHTE DER DEUTSCHEN CHEMISCHEN  
GESELLSCHAFT

94. Jahrg. Nr. 7

S. 1699—1930

RUDOLF TSCHESCHE, HELMUT SCHWARZ und GÜNTHER SNATZKE

Über Saponine der Spirostanolreihe, VI<sup>1)</sup>

## Die Konstitution des Convallamarogenins

Aus der Biochemischen Abteilung des Organisch-Chemischen Instituts  
der Universität Hamburg \*)

(Eingegangen am 28. November 1960)

Aus dem Saponingemisch der Wurzel von *Convallaria majalis* L. konnte nach Hydrolyse und Chromatographie ein neues Steroidsapogenin Convallamarogenin der Zusammensetzung  $C_{27}H_{42}O_4$  gewonnen werden, für das die Formel eines  $\Delta^{25-5\beta}.20\beta.22\alpha$ -Spirostendiols-( $1\beta.3\beta$ ) bewiesen werden konnte.

Während die cardiotonisch wirksamen Glykoside aus dem Maiglöckchen, *Convallaria majalis* L., Gegenstand vieler Untersuchungen gewesen sind<sup>2)</sup>, ist über die Saponine der Wurzel dieser Pflanze nur sehr wenig bekannt. Im Merck-Index von 1927<sup>3)</sup> werden zwei Glykoside aufgeführt, das *Convallamarin* und das *Convallarin*. Ersteres soll sich durch kardialstimulierende Wirkung auszeichnen, die aber nur von sehr geringen Anteilen von Cardenolidglykosiden herrührt; es wird auch heute noch von einigen Arzneimittel-Herstellern gebraucht.

W. Voss und G. Vogt<sup>4)</sup> haben dieses Produkt näher untersucht und gewannen daraus ein nichtkristallisierendes Glykosid, für das sie den Namen Convallamarin beibehielten und das bei der Spaltung mit methanolischer Salzsäure neben 1 Mol. Glucose und 2 Moll. Rhamnose ein Genin, *Convallamaretin*, ergab. Dieses soll nach den Analysen die Formel  $C_{26}H_{40}O_5$  haben und den Steroidsapogeninen sehr nahe stehen.

Da wir bei der papierchromatographischen Untersuchung von *Convallamarin*-Merck mehrere Glykoside feststellen konnten, deren Trennung und Kristallisation

\*) Neue Anschrift: Chemisches Institut der Universität Bonn.

<sup>1)</sup> V. Mitteil.: R. TSCHESCHE, Ber. dtsh. chem. Ges. 69, 1665 [1936]; der frühere Titel dieser Reihe „Über Saponine der Cyclopentanohydrophenanthren-Gruppe“ wurde nach der nun gültigen Nomenklatur umgewandelt in „Über Saponine der Spirostanolreihe“.

<sup>2)</sup> Vgl. z. B. die Übersicht von CH. TAMM, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] 13, 137 [1956]; 14, 71 [1957].

<sup>3)</sup> Merck's Index, 5. Aufl., 113, Darmstadt 1927.

<sup>4)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. 69, 2333 [1936].

jedoch Schwierigkeiten bereitete, untersuchten wir zunächst die Aglykone. Wie Voss und VOGT<sup>4)</sup> konnten auch wir feststellen, daß die Alkoholyse etwas besser zur Gewinnung der Genine geeignet ist als die Hydrolyse. Nach Chromatographie des Rohhydrolysats an Aluminiumoxyd erhielten wir das Hauptgenin (etwa 5% des Convallamarin-Merck) in farblosen Kristallen, deren Analyse recht gut auf die Formel  $C_{27}H_{42}O_4$  paßt. Wir möchten dieses Genin *Convallamrogenin* nennen. Papier- und dünn-schichtchromatographisch lassen sich im Rohhydrolysat daneben noch sechs weitere Genine nachweisen, die nach dem positiven Ausfall der Farbreaktionen von MCALEER<sup>5)</sup> und OKANISHI und Mitarbb.<sup>6)</sup> ebenfalls Steroidsapogenine sein dürften (siehe Versuchsteil).

Convallamrogenin enthält nach dem IR-Spektrum keine Carbonylgruppe und gibt bei der Acetylierung ein Diacetat, womit zwei Sauerstoffatome als Hydroxyle ermittelt sind. Diese beiden OH-Gruppen lassen sich auch nach Zerewitinoff nachweisen, die restlichen beiden Sauerstoffe müssen ätherartig gebunden sein, wie das bei einem Spirostanolderivat zu fordern ist. Eine der beiden Hydroxylgruppen ist etwas schwerer acetylierbar; im Papierchromatogramm läßt sich deutlich die vorübergehende Bildung eines Monoacetates nachweisen.

Im Genin findet sich eine Doppelbindung, denn bei der katalytischen Hydrierung in Äthanol bei Raumtemperatur wird innerhalb von 20 Min. 1 Mol.  $H_2$  aufgenommen. Die von R. E. MARKER<sup>7)</sup> bevorzugte Arbeitsweise in Äther mit wenig Eisessig, bei der die Spiroketalseitenkette mit Sicherheit nicht angegriffen wird, kann hier nicht angewendet werden, da die Löslichkeit auch des Acetats in Äther zu gering ist. Die Unversehrtheit der Sauerstoffringe unter den von uns angewandten Bedingungen folgt aber aus dem positiven Ausfall der Reaktion von MCALEER und dem typischen IR-Spektrum des Hydrierungsproduktes. Eine so rasche Wasserstoffaufnahme in neutraler Lösung weist auf eine wenig substituierte Doppelbindung hin. Von den bisher in Sapogeninen bekannten Lagen einer  $C=C$ -Bindung, nämlich  $\Delta^5$ ,  $\Delta^{9:11}$  und  $\Delta^{25:26}$  käme nur die letztere in Frage. Tatsächlich tritt im IR-Spektrum des Convallamrogenins neben einer Bande bei 915/cm noch eine solche bei 878/cm auf, die für eine Methylengruppe charakteristisch ist und an derselben Stelle liegt, wie beim Neoruscogenin, für das eine 25:26-Doppelbindung bewiesen werden konnte<sup>8, 9) \*</sup>. Bei der Hydrierung von Convallamrogenin-diacetat und Neoruscogenin-diacetat unter gleichen Bedingungen treten in beiden Fällen analoge Veränderungen im IR-Spektrum auf. Die Banden bei 878/cm verschwinden, während starke bei 850/cm erscheinen, daneben schwächere bei 863 und 897/cm.

\*) Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Dr. H. LAPIN, Paris, recht herzlich für die Überlassung von Vergleichssubstanzen danken.

<sup>5)</sup> W. J. MCALEER und M. A. KOZLOWSKI, Arch. Biochem. Biophysics **66**, 120 [1957]; C. SANNIÉ und H. LAPIN, Bull. Soc. chim. France **1952**, 1080.

<sup>6)</sup> T. OKANISHI, A. AKAHORI und F. YASUDA, Annu. Rep. Shionogi Res. Lab. [Osaka] **8**, 927 [1958].

<sup>7)</sup> R. E. MARKER, R. B. WAGNER, P. R. ULSHAFFER, E. L. WITTBECKER, D. P. J. GOLD-SMITH und C. H. RUOF, J. Amer. chem. Soc. **65**, 1199 [1943].

<sup>8)</sup> J. ROBERT, R. VAUPRÉ und G. POIGET, C. R. hebdom. Séances Acad. Sci. **250**, 3187 [1960].

<sup>9)</sup> L. MANDELL, A. L. NUSSBAUM und E. P. OLIVETO, Tetrahedron Letters [London] Nr. **19**, 25 [1960].

Nach M. E. WALL<sup>10)</sup> läßt sich aus den der Spirostanolgruppierung zugeordneten Banden die Konfiguration an C-25 ablesen. Bei 25 $\beta$ -Sapogeninen ist die Bande bei 915–920/cm 3 bis 4 mal so stark wie die bei 894–899/cm, daneben findet man noch weitere bei 850–857 und 987/cm. In der 25 $\alpha$ -Reihe ist hingegen die Bande bei 894–900/cm viel stärker als jene bei 915–920/cm, ferner liegen weitere charakteristische Banden bei 866 und 982/cm. Wie die Auswertung unserer Spektren ergibt, muß im Dihydroconvallamarogenin ein Gemisch von etwa 2 Tln. 25 $\beta$ - und 1 Tl. 25 $\alpha$ -Form vorliegen. Es zeigt sich also, daß die Regel vom Überwiegen des „rear attack“<sup>11)</sup> auch hier gültig ist. Auch von J. ROBERT und Mitarbb.<sup>8)</sup> war übrigens bei der Hydrierung des Neurusrogenins das Entstehen der beiden 25-Isomeren beobachtet worden.

Um die Lage der Doppelbindung in Stellung 25:26 zu sichern, wurde oxydativ abgebaut. ROBERT und Mitarbb.<sup>8)</sup> hatten mit Ozon gespalten, dabei aber auch beim Ruscogenin, das keine 25:26-Doppelbindung enthält, 0,4 Mol. Formaldehyd gefunden. Wir führten die Reaktion mit OsO<sub>4</sub>/NaJO<sub>4</sub> nach<sup>12)</sup> durch und bestimmten den entstandenen Formaldehyd nach M. LAMBERT und A. C. NEISH<sup>13)</sup>. Wir erhielten dabei 60–70% der Theorie an Formaldehyd aus der Methylengruppe, während Tigogenin unter denselben Bedingungen keinen Aldehyd bildet. Damit ist die Lage der Doppelbindung bewiesen.

Um einen Aufschluß über die Stellungen der beiden Hydroxyle zu erhalten, wurden verschiedene oxydative Verfahren auf ihre Brauchbarkeit hin untersucht. Die Methode von OPPENAUER mit Aluminiumisopropylat lieferte nur eine Reihe von nichttrennbaren Umwandlungsprodukten neben viel Ausgangsmaterial, während CrO<sub>3</sub> in Eisessig fast ausschließlich saure Bestandteile ergab. In Pyridin mit CrO<sub>3</sub> ließen sich aber nach G. I. POOS und Mitarbb.<sup>14)</sup>, vom Dihydrogenin ausgehend, durch Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> zwei Verbindungen isolieren. Die polarere erwies sich als ein Hydroxyketon C<sub>27</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>, aus dem sich durch Behandlung mit äthanolischer HCl oder Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> der Aktivitätsstufe I Wasser abspalten ließ; dabei entstand das zweite Produkt der Oxydation. Nach dem IR-Spektrum handelt es sich bei diesem um ein  $\alpha$ , $\beta$ -ungesättigtes Keton, so daß die beiden Hydroxyle 1,3- oder (weniger wahrscheinlich) 1,2-Stellung zueinander einnehmen müssen. Das Anhydroketon weist ferner im UV-Bereich ein starkes Maximum bei 225 m $\mu$  auf (log  $\epsilon$  = 3.9); eine so kurzwellige Absorption geben in der Steroidreihe vor allem  $\Delta^2$ -1-Ketosteroide<sup>15)</sup>. Das O<sub>4</sub>-Keton müßte dann ein 2- oder 3-Hydroxy-1-keton sein. Von letzteren ist bekannt, daß sie unter den beschriebenen Bedingungen Wasser abspalten<sup>15)</sup>.

In der Literatur ist nun von K. MORITA<sup>16)</sup> das  $\Delta^2$ -25 $\alpha$ ,5 $\beta$ -Spirostenon-(1) beschrieben worden, welches er aus Tokorogenin erhalten hatte. Wir konnten unser Dehydratisierungsprodukt nach Trennung der beiden 25-Isomeren mit dem authenti-

<sup>10)</sup> M. E. WALL, C. R. EDDY, M. L. MCCLENNAN und M. E. KLUMPP, *Analytic. Chem.* **24**, 1337 [1952].

<sup>11)</sup> L. F. FIESER und M. FIESER, *Steroids*, S. 271, Reinhold Publ. Corp., New York 1959.

<sup>12)</sup> M. J. THOMPSON, I. SCHEER und E. MOSETTIG, *J. Amer. chem. Soc.* **81**, 5225 [1959].

<sup>13)</sup> *Canad. J. Res., Sect. B* **28**, 83 [1950].

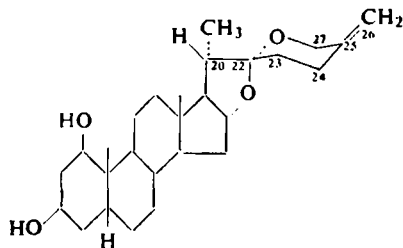
<sup>14)</sup> G. I. POOS, G. E. ARTH, R. E. BEYLER und L. H. SARETT, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 422 [1953].

<sup>15)</sup> P. STRIEBEL und CH. TAMM, *Helv. chim. Acta* **37**, 1094 [1954]; W. SCHLEGEL und CH. TAMM, *ebenda* **40**, 160 [1957].

<sup>16)</sup> *Bull. chem. Soc. Japan* **32**, 791, 796 [1959].

schen Material von MORITA vergleichen \*) und fanden völlige Identität der beiden 25 $\alpha$ -Produkte. Damit ist die eine OH-Gruppe in Stellung 1 festgelegt, die zweite in 3 (oder 2) wahrscheinlich gemacht.

Eine endgültige Entscheidung zwischen den noch verbleibenden Möglichkeiten und gleichzeitig eine Verknüpfung mit bekannten Spirostanolen wurde darauf durch Vergleich mit dem ebenfalls von MORITA<sup>16)</sup> dargestellten Isorhodeasapogenin \*\*) versucht, das als 25 $\alpha$ .5 $\beta$ -Spirostandiol-(1 $\beta$ .3 $\beta$ ) erkannt worden ist. Dazu wurde Dihydroconvallamarogenin durch längeres Behandeln mit heißer äthanolischer Salzsäure in 25-Stellung praktisch völlig in die „Iso“-Form (= 25 $\alpha$ ) umgelagert; das erhaltene Kristallisat erwies sich in allen Eigenschaften als mit Isorhodeasapogenin identisch.



Demnach muß Convallamarogenin ein  $\Delta^{25}$ -5 $\beta$ .20 $\beta$ .22 $\alpha$ -Spirostendiol-(1 $\beta$ .3 $\beta$ ) \*\*\*) sein.

Diese Formel erklärt auch das Verhalten des Convallamarogenins bei der Dünnschichtchromatographie. Sein  $R_f$ -Wert und der seines Dihydroderivates liegen nämlich im Bereich der Monohydroxy-spirosterane (vgl. die Tabelle). In einem 1 $\beta$ .3 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -steroid sind nun beide OH-Gruppen axial angeordnet und zwischen ihnen können sich leicht intramolekulare Wasserstoffbrücken bilden. Eine ähnliche starke Polaritätserniedrigung findet man z. B. auch bei 3 $\beta$ .5 $\beta$ -Dihydroxy-steroiden<sup>17)</sup>.

*Ann. b. d. Korr.:* Vor kurzem erschien eine Veröffentlichung von T. OKANISHI, A. AKAHORI und F. YASUDA<sup>17a)</sup>, in der über die Isolierung von Rhodeasapogenin und Isorhodeasapogenin aus *Convallaria Keiskei* MIQ., dem japanischen Maiglöckchen, berichtet wurde. Beide Verbindungen entstehen aus Convallamarogenin durch Hydrierung der Doppelbindung und unterscheiden sich nur durch die Stereochemie an C-25.

Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danken wir sehr für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit, ferner sind wir der Firma E. MERCK AG für die Überlassung von Convallamarin zu Dank verpflichtet.

## BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte wurden nach KOFLER in der Anordnung nach WEYGAND bestimmt, die UV-Spektren in Methanol mit einem Beckman-DU und die IR-Spektren in Chloroform oder KBr mit einem Apparat Typ Perkin-Elmer 21 gemessen. Die Analysen wurden von Herrn Dr.-Ing. A. SCHOELLER, Kronach, ausgeführt. Das Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Woelm, neutral) wurde durch Sieben auf einheitliche Korngröße (0.075 und 0.090 mm) gebracht. Für die Papierchromatographie wurden Papiere Schleicher & Schüll 2043 b verwendet, es wurde nach der absteigenden Methode gearbeitet; als Systeme waren die Gemische Äthylenglykol-monomethyläther/Pyridin/Wasser/n-Heptan (3:6:1:10) und Äthylenglykol-monomethyläther/Pyridin/Wasser/Cyclohexan (3:6:1:10) brauchbar, wobei mit der schweren Phase imprägniert wurde, als

\*) Herrn Dr. K. MORITA, Osaka, möchten wir auch hier sehr für die Übersendung von Substanzproben danken.

\*\*) Herrn Dr. W. KÜSSNER, Darmstadt, verdanken wir den Hinweis, daß *Rhodea japonica*, die Stammpflanze des Isorhodeasapogenins, auch zum Tribus *Convallariae* gehört.

\*\*\*) Nomenklatur nach FIESER, vgl. I. c.<sup>11)</sup> S. 337, 819.

17) B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **43**, 1570 [1960].

17a) *Annu. Rep. Shionogi Res. Lab. [Osaka]* **10**, 1407 [1960].

mobile diene die leichte. Die angegebenen  $R_F$ -Werte beziehen sich auf das zweite Gemisch. Die Dünnschichtchromatographie wurde ausgeführt, wie früher beschrieben<sup>18)</sup>.

$R_F$ -Werte (Mittel aus mehreren Chromatogrammen) bei der Dünnschichtchromatographie von Spirosterderivaten auf Kieselgel G, entwickelt mit Chloroform/Aceton (5:1)

Subst.	$R_F$
Convallamarogenin	0.50
Dihydro-convallamarogenin	0.50
5 $\beta$ -Spirostanol-(3 $\beta$ )-on-(1)	0.48
$\Delta^2$ -5 $\beta$ -Spirostenon-(1)	0.95
Neoruscogenin	0.30
Tetrahydro-neoruscogenin	0.30
5 $\alpha$ -Spirostanol-(3 $\beta$ )-on-(1)	0.51
$\Delta^2$ -5 $\alpha$ -Spirostenon-(1)	0.95
Tigogenin	0.55
Hecogenin	0.47
Yuccagenin	0.30
Gitogenin	0.30

Anfärbung der Papierchromatogramme nach MCALEER<sup>5)</sup>: Besprühung mit einer 5-proz. Lösung von Vanillin in einer Mischung von Äthanol und konz. Phosphorsäure 1:1 und anschließendes Erhitzen auf 100° für 2 Min. gibt bei Spirosterderivaten gelbe Flecken, die nach 10 Min. Erhitzungsdauer andere Färbungen annehmen können.

Anfärbung nach OKANISHI und Mitarbb.<sup>6)</sup>: Man sprüht zunächst ein mit einer 1-proz. Lösung von Zimtaldehyd in Äthanol, trocknet 3 Min. bei 70°, sprüht darüber mit einer Lösung von 25 g SbCl<sub>3</sub> in 5 ccm Nitrobenzol und erhitzt erneut 3 Min. auf 70°. Die Saponine geben dabei eine orangegelbe Färbung, 2–3  $\mu$ g werden so noch erfaßt.

*Gewinnung von Convallamarogenin*: 30 g Convallamarin wurden in 425 ccm Methanol gelöst, mit 25 ccm konz. Salzsäure versetzt und 8 Tage auf 37° gehalten. Zur Aufarbeitung wurde mit 1 l Wasser versetzt und der anfallende Niederschlag abfiltriert. Er wurde gut mit Wasser gewaschen, getrocknet und in Chloroform aufgenommen, wobei ein Teil als schwarze Schmiere ungelöst blieb. Durch mehrmaliges Durchrühren mit weiterem Chloroform ließ sich davon noch etwas in Lösung bringen. Die vereinigten Chloroformlösungen wurden gut mit Wasser gewaschen, mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und i. Vak. zu einem Schaum eingedampft. Die erhaltenen 7.8 g Rohhydrolysat wurden hierauf an 180 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Während Benzol und Chloroform nur ölige Anteile eluierten, ergaben die mit Chloroform + 10% Aceton abgelösten Fraktionen 1.6 g eines schwachgefärbten Materials, das nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol 1.14 g farblose Kristalle lieferte ( $R_F$  0.58). Schmp. 258–263°,  $[\alpha]_D^{25}$ : –78° ( $c = 0.92$ , in Chloroform).

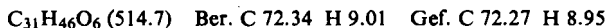
$C_{27}H_{42}O_4$  (430.6) Ber. C 75.31 H 9.83 akt. H 0.468 Gef. C 74.94 H 10.11 akt. H 0.465

Hydrolyse mit wäßriger Salzsäure führte zum selben Material, der Anteil an Verharzungsprodukten lag aber höher.

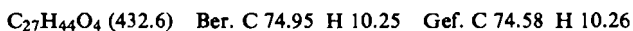
*Convallamarogenin-diacetat*: 220 mg Convallamarogenin wurden in 10 ccm Pyridin und 1.5 ccm Acetanhydrid gelöst und bei Raumtemperatur stengelassen. Nach 2 Tagen war neben einem Produkt mit dem  $R_F$ -Wert 0.70 (Monoacetat) immer noch Ausgangsmaterial zugegen. Wurde die Temperatur auf 60° erhöht, so ging das gesamte Material innerhalb von 6 Stdn. in eine Substanz vom  $R_F$ -Wert 0.86 über. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 230 mg

<sup>18)</sup> R. TSCHESCHE, W. FREYTAG und G. SNATZKE, Chem. Ber. 92, 3053 [1959].

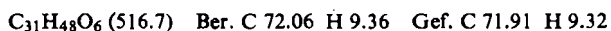
krist. Rohacetat erhalten, die, aus Chloroform/Methanol umkristallisiert, bei 190—194° schmolzen.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-81.6^\circ$  ( $c = 0.87$ , in Chloroform).



*Katalyt. Hydrierung des Convallamarogenins und seines Acetats*: 780 mg Convallamarogenin wurden in 500 ccm Äthanol mit 120 mg durch Reduzieren von  $\text{PtO}_2$  gebildetem Katalysator in Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur geschüttelt, wobei innerhalb von 20 Min. 40 ccm  $\text{H}_2$  verbraucht wurden. Zugabe von 10 ccm Eisessig bewirkte keine Mehraufnahme. Die Lösung wurde hierauf vom Katalysator abfiltriert, i. Vak. auf 100 ccm eingengt und mit Wasser versetzt. Das ausgeschiedene Hydrierungsprodukt ließ sich durch Lösen in Chloroform, Versetzen mit Methanol und anschließendem Einengen i. Vak. bis zur beginnenden Trübung kristallin gewinnen. Nach erneuter Kristallisation aus Chloroform/Methanol erhielt man 400 mg farblose Nadeln vom Schmp. 276—279°.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-30^\circ$  ( $c = 0.98$ , in Pyridin) ( $R_F$  0.63). IR-Spektrum siehe theoret. Teil. Aus den Mutterlauge n ließ sich noch weiteres Material gewinnen.



Die Hydrierung des Convallamarogenin-diacetats wurde auf die gleiche Weise in Äthanol + 2% Eisessig vorgenommen. Auch hier wurde genau 1 Mol.  $\text{H}_2$  verbraucht. Nach Kristallisation aus Äthanol schmolz das Acetat bei 183—187°.

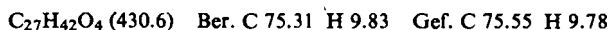


Neuroscogenin und sein Acetat ließen sich analog hydrieren (vgl. l. c. 8<sup>1</sup>).

*Oxydative Abspaltung der Methylengruppe*: 23.3 mg Convallamarogenin wurden in 4 ccm Dioxan gelöst und mit 0.5 ccm Wasser, 2 mg  $\text{OsO}_4$  und 30.2 mg  $\text{NaJO}_4$  versetzt. Der gut verschlossene Kolben wurde hierauf 3 Stdn. geschüttelt, anschließend wurde der gebildete Formaldehyd in einer geeigneten Destillationsapparatur bei 90° im Stickstoffstrom in eine gekühlte Vorlage mit dest. Wasser übergetrieben. Das Destillat wurde in einen Meßkolben übergeführt, aliquote Mengen wurden nach der Vorschrift von LAMBERT und NEISH<sup>13</sup>) mit einer schwefelsauren Chromotropsäurelösung umgesetzt und bei 570  $\mu$  im Spektralphotometer ausgewertet. Die Eichung wurde mit einer wäßrigen Formaldehydlösung ausgeführt. Zwei Bestimmungen ergaben die Werte von 0.58 und 0.70 Mol  $\text{CH}_2\text{O}$  pro Mol Genin. Die Ausbeute von etwa 64% ist durch die Arbeitsweise bedingt: wurde eine Formaldehydlösung genauso abdestilliert und dann im Destillat die Bestimmung mit Chromotropsäure ausgeführt, so konnten auch hier nur 68% des eingesetzten  $\text{CH}_2\text{O}$  wiedergefunden werden.

Tigogenin gab unter gleichen Reaktionsbedingungen keinen Formaldehyd.

*25 $\alpha$ ,5 $\beta$ -Spirostanol-(3 $\beta$ )-on-(1)*: 160 mg Dihydroconvallamarogenin wurden in 2 ccm Pyridin gelöst und mit einer Suspension von 160 mg  $\text{CrO}_3$  in 1.6 ccm Pyridin 24 Stdn. bei Raumtemperatur oxydiert. Anschließend wurde mit 10 ccm Wasser versetzt und mehrmals mit Chloroform ausgezogen. Die organische Phase wurde hierauf mehrmals mit 2*n*  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , verd. Schwefelsäure und Wasser gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und i. Vak. zur Trockne gebracht. Die erhaltenen 130 mg wurden an 5 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert. Äther eluierte 20 mg eines Öls, das nach dem Papier- und Dünnschichtchromatogramm mit dem unten beschriebenen Dehydratisierungsprodukt ( $R_F$  0.95) identisch war. Mit Benzol/Chloroform (5:1) wurden 73 mg bräunliche Schmierer abgelöst, die sich durch Anreiben mit Aceton entfärben ließen. Erneute Chromatographie an 3 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ergab in den Chloroformeluat en 21 mg, die sich aus Aceton/Cyclohexan kristallisieren ließen, Schmp. 240—243°. Das IR-Spektrum weist eine Carbonylbande bei 1700/cm auf.



Einstündige Acetylierung von 11 mg Hydroxyketon in 1 ccm Pyridin + 0.3 ccm Acetanhydrid bei 50° ergab nach Kristallisation des Rohprodukts aus Methanol/Wasser 6 mg des Acetats vom Schmp. 179–183°.

$C_{29}H_{44}O_5$  (472.6) Ber. C 73.69 H 9.38 Gef. C 73.93 H 9.51

$\Delta^2$ -25 $\alpha$ \beta-5 $\beta$ -Spirostenon-(1): 220 mg Dihydroconvallamarogenin wurden in 4 ccm Pyridin mit 220 mg  $CrO_3$  in 2.2 ccm Pyridin 24 Stdn. bei Raumtemperatur oxydiert. Nach dem Eindampfen der Reaktionslösung i. Vak. wurde an 6.5 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Petroläther/Benzol (1:1) und Benzol abgelösten Fraktionen enthielten wieder die oben erwähnte Substanz mit  $R_f$  0.95, daneben etwas von dem 3 $\beta$ -Hydroxy-1-keton. Dieses ließ sich durch Einwirkung von 150 ccm 5-proz. äthanol. Salzsäure über Nacht bei Raumtemperatur auch dehydratisieren. Man engte dann i. Vak. auf 30 ccm ein, fällte mit 70 ccm Wasser und löste den Niederschlag in Äther. Diese Lösung wurde über Kieselgel gegeben, wobei sie farblos wurde. Der Eindampfrückstand (30 mg) konnte aus Aceton/Methanol kristallisiert werden. Schmp. 216–219°.

$C_{27}H_{40}O_3$  (412.6) Ber. C 78.59 H 9.77 Gef. C 79.27, 77.95 H 9.66, 9.36

Das UV-Spektrum besitzt bei 225  $m\mu$  ( $\log \epsilon = 3.9$ ) ein Maximum, im IR-Spektrum liegt die Carbonylbande bei 1667/cm.

Die Benzol/Chloroform- und Chloroform-Eluate sowie ein Teil des 3 $\beta$ -Hydroxy-1-ketons (zusammen 140 mg) wurden in 2 ccm Petroläther suspendiert und dann auf 20 g  $Al_2O_3$  der Aktivitätsstufe I gegeben, das trocken in die Säule gefüllt worden war. Nach 1 Stde. wurde eluiert. Die Petroläther/Benzol-Fraktion hinterließ beim Eindampfen 40 mg Kristalle, die aus Aceton 17 mg Plättchen vom Schmp. 226–228° ergaben. Das IR-Spektrum zeigt im Bereich der Sauerstoffringe Banden bei 917 und 852/cm, es handelte sich hiernach also um die 25 $\beta$ -Form.

Aus der Mutterlauge ließen sich anschließend noch 13 mg Nadeln vom Schmp. 222–224° erhalten, die im IR-Spektrum Banden bei 896 und 863/cm zeigten. Diese Nadeln stellen das 25 $\alpha$ -Isomere dar; sie erwiesen sich in allen Eigenschaften als identisch mit authent.  $\Delta^2$ -25 $\alpha$ -5 $\beta$ -Spirostenon-(1) von MORITA<sup>16)</sup>.

*Isorhodeasapogenin aus Dihydroconvallamarogenin*: 300 mg Dihydroconvallamarogenin wurden in 250 ccm Äthanol gelöst, mit 50 ccm konz. Salzsäure versetzt und die Lösung 100 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Man verdünnte hierauf mit 300 ccm Wasser und engte i. Vak. auf 200 ccm ein. Der ausgeschiedene Niederschlag wurde nochmals aus Methanol/Wasser umgefällt und aus verd. Methanol durch sehr langsames Erkaltenlassen kristallisiert. Die erhaltenen Nadeln, Schmp. 240–244°, erwiesen sich als identisch mit authent. Isorhodeasapogenin von MORITA<sup>16)</sup>.  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-74 \pm 2^\circ$  ( $c = 0.96$ , in Chloroform).