

# 18. Tanghinigenin und 3-Epitanghinigenin<sup>1)</sup>.

Glykoside und Aglykone, 142. Mitteilung<sup>2)</sup>3)

von H. P. Sigg, Ch. Tamm und T. Reichstein.

(11. XII. 54.)

Aus den Samen von *Tanghinia venenifera* Poir. (= *Tanghinia madagascariensis* Pet. = *Cerbera tanghinia* Hook.) isolierte zuerst Arnaud<sup>a)</sup> ein Kristallinat, das er Tanghinin nannte, das nach Frèrejacque & Hasenfratz<sup>c)</sup> aber wahrscheinlich ein Gemisch von Tanghinin und Desacetyl-tanghinin (Nomenklatur nach Frèrejacque & Hasenfratz<sup>c)</sup>) darstellte. Nach Fermentierung des entfetteten Samenpulvers isolierten Frèrejacque & Hasenfratz<sup>b)</sup>c)<sup>d)</sup>4) die vier einheitlichen krist. Glykoside Tanghinin, Desacetyl-tanghinin, Monoacetyl-neriifolin und Tanghiferin. Dieselben vier Glykoside wurden in gleicher Weise auch von Helfenberger & Reichstein<sup>e)</sup> erhalten. Daneben isolierten sie zwei Kristallisate von unsicherer Reinheit, die als Substanz 5 und Substanz 6 bezeichnet wurden. Wie unten gezeigt wird, hat es sich bei Substanz 6 um die hochschmelzende Form von Desacetyl-tanghinin gehandelt.

Alle vier Glykoside enthalten dieselbe Zuckerkomponente (L-Thevetose<sup>d)</sup>5)<sup>6)</sup>7)), teilweise in partiell acetylierter Form. Die Konstitution von Monoacetyl-neriifolin ist bis auf die Stellung der Acetylgruppe bekannt<sup>8)</sup>, diejenige der andern drei Glykoside ist noch nicht abgeklärt. Tanghinin und Desacetyl-tanghinin sind die Hauptglykoside der Samen (nach Fermentierung). Sie enthalten dasselbe, bisher noch unbekannte Aglykon (Tanghinigenin) und unterscheiden sich voneinander lediglich durch eine Acetylgruppe im Zuckeranteil, denn bei der Acetylierung liefern beide dasselbe Diacetat (Acetyl-tanghinin)<sup>b)</sup>c). Aus den Analysenwerten der Glykoside und des Zuckeranteils liess sich für Tanghinigenin die Bruttoformel  $C_{23}H_{32-34}O_5$  ableiten. Hier wird die Verarbeitung einer neuen Charge frischer Samen und die Isolierung grösserer Mengen der zwei Hauptglykoside beschrieben, welche die Bereitung von Tanghinigenin und 3-Epitanghinigenin erlaubte.

<sup>1)</sup> Auszug aus der Diss. H. P. Sigg, Basel, die demnächst erscheint.

<sup>2)</sup> 141. Mitteilung: Ch. Tamm, Helv. **38**, 147 (1955).

<sup>3)</sup> Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe bei den Formeln.

<sup>4)</sup> Vgl. weiter: M. Frèrejacque & V. Hasenfratz, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **222**, 815 (1946); **226**, 268 (1948); M. Frèrejacque, ibid. **226**, 835 (1948); M. Frèrejacque & M. Durgeat, ibid. **228**, 1310 (1949).

<sup>5)</sup> M. Frèrejacque, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **221**, 645 (1945).

<sup>6)</sup> M. Frèrejacque & V. Hasenfratz, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **222**, 815 (1946).

<sup>7)</sup> F. Blindenbacher & T. Reichstein, Helv. **31**, 1669 (1948).

<sup>8)</sup> H. Helfenberger & T. Reichstein, Helv. **31**, 2097 (1948).

## Beschaffung des Pflanzenmaterials und Extraktion der Glykoside.

Durch die liebenswürdige Vermittlung der *N. V. Organon*, Oss (Holland), und von Herrn *G. de Lavarde*, Directeur du *Laboratoire de l'Endopancrine*, Paris, erhielten wir vom *Chef du Service Provincial d'Agriculture de Tamatave* (Madagaskar) im Juni 1951 45 kg relativ frische Früchte von *Tanghinia venenifera Poir.*, welche uns die Ausführung dieser Arbeit ermöglichten<sup>1)2)</sup>.

Das Material gab 5,9 kg „weisse“<sup>3)</sup> und 2,3 kg „schwarze“<sup>3)</sup> Samen, die wie früher beschrieben verarbeitet wurden. Die 5,9 kg „weisse“ Samen gaben 3,6 kg (61%) Petrolätherextrakt (Fett, verworfen) und 2,3 kg (39%) entfettetes Samenpulver. Nach Fermentierung gab letzteres

200	g	(3,4 %)	rohen Ätherextrakt,
239	g	(4,05%)	Chloroformextrakt,
2,4	g	(0,04%)	Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Letzterer wurde nicht untersucht. Die verbliebene wässrige Phase war nicht mehr bitter und wurde verworfen. Der rohe Ätherextrakt gab nach Verteilung zwischen Petroläther und 75-proz. Methanol noch 153 g (2,57%) Petrolätherextrakt (verworfen). — Die 47 g (0,8%) gereinigter Ätherextrakt und der Chloroformextrakt gaben zusammen teilweise durch direkte Kristallisation, teilweise nach Chromatographie an  $Al_2O_3$  insgesamt

91,5	g	(1,55 %)	Desacetyl-tanghinin,
80,3	g	(1,36 %)	Tanghinin,
1,23	g	(0,021%)	Monoacetyl-neriifolin,
35,2	g	(0,60 %)	Kristallgemisch.

Letzteres bestand nach Papierchromatographie (Nr. 5 in Fig. 1) vorwiegend aus Monoacetyl-neriifolin und enthielt daneben Tanghinin und Tanghiferin. Es wurde noch nicht weiter getrennt. Die „schwarzen“ Samen gaben dieselben Stoffe in etwas geringerer Ausbeute.

Das hier isolierte Desacetyl-tanghinin (I) schmolz trocken bei 238–241°, also ähnlich wie das Pseudotanghinin (Smp. 248–250°) von *Hasenfratz*<sup>b)</sup>, während *Helfenberger & Reichstein*<sup>e)</sup> den Smp. 217° fanden. Wie schon damals vermutet, handelt es sich um Kristallisomerie, da das alte Präparat vom Smp. 217° jetzt durch Impfen in die höher schmelzende Form umgelagert werden konnte. Der früher isolierte und als Substanz 6 bezeichnete Stoff<sup>e)</sup> vom Smp. 239–245° erwies sich nach Mischprobe mit der hochschmelzenden Form von I als identisch, was durch Papierchromatographie (Fig. 2) bestätigt wurde. Beim Liegen an der Luft veränderten sich beide Formen und zeigten nach einiger Zeit den Smp. 215–236°.

<sup>1)</sup> Die Früchte wurden nach Bericht von Herrn *P. Jouvé*, Ingénieur d'agriculture, teilweise im April 1951 im Canton d'Ampasina, Distr. Fénéry, beim Tampolo-See, und im Mai 1951 im Canton de Scamierana-Ivongo gesammelt, als sie nicht ganz vollständig, aber nahezu reif waren.

<sup>2)</sup> Wir möchten auch hier den genannten Stellen für dieses wertvolle und recht schwer beschaffbare Material unseren besten Dank aussprechen.

<sup>3)</sup> Als „weisse“ Samen wurden die intakten Kerne mit heller Farbe bezeichnet, als „schwarze“ diejenigen, die durch Schimmelfall sich sehr dunkel, teilweise völlig schwarz gefärbt hatten.

Beispiele für die Kontrolle durch Papierchromatographie<sup>1)</sup>.

Fig. 1—3 stationäre Phase gereinigtes Formamid; bewegliche Phase und Versuchsdauer unter jeder Figur angegeben<sup>2)</sup>.

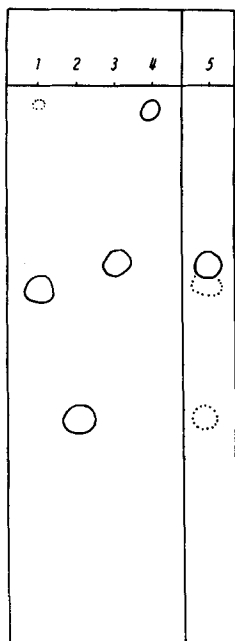


Fig. 1.  
Bz-Chf (9:1)  
13 Std.

- 1 = 0,1 mg Tanghinin (II)  
2 = 0,1 mg Tanghiferin  
3 = 0,1 mg Monoacetyl-neriifolin  
4 = 0,1 mg Desacetyl-tanghinin (I) vom  
Smp. 238—241°  
5 = 0,2 mg „Kristallgemisch“  
6 = 0,1 mg „Substanz 6“<sup>e)</sup>

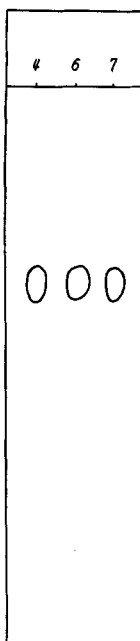


Fig. 2.  
Bz-Chf (7:5)  
15 Std.

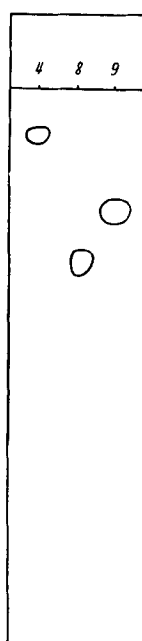


Fig. 3.  
Bz-Chf (9:1)  
24 Std.

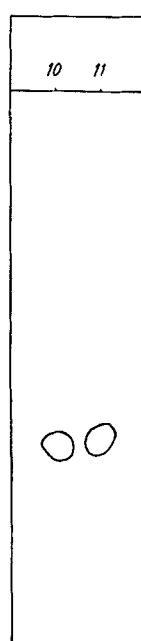


Fig. 4.  
Bu-Py-Wa (6:4:3)<sup>3)</sup>  
18 Std.

- 7 = 0,1 mg Desacetyl-tanghinin (I) vom  
Smp. 217°  
8 = 0,1 mg Tanghinigenin (X)  
9 = 0,1 mg 3-Epitanghinigenin (IV)  
10 = 0,05 mg L-Thevetose, authentisch  
11 = 0,05 mg L-Thevetose aus  $\beta$ -Äthyl-L-  
thevetosid (XII)

Isomerisierung und hydrolytische Spaltung. Tanghinin (II) und Desacetyl-tanghinin (I) lassen sich mit Säure nur schwer spalten<sup>e)</sup>. Energische Hydrolyse lieferte zwar die Zuckerkomponente

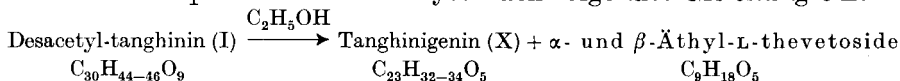
<sup>1)</sup> Hier bedeuten: Bz = Benzol, Bu = n.-Butanol, Chf = Chloroform, Py = Pyridin und W = Wasser. Die Verhältniszahlen bedeuten Volumverhältnisse. Als Papier wurde überall Whatman Nr. 1 verwendet.

<sup>2)</sup> Ausführung nach O. Schindler & T. Reichstein, *Helv.* **34**, 108 (1951), aber Tränken des Papiers mit 20-proz. Formamid in Aceton nach H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein, *Helv.* **36**, 357 (1953). Entwicklung mit Kedde-Reagens nach I. E. Bush & D. A. H. Taylor, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).

<sup>3)</sup> Ausführung nach A. Jeanes, C. S. Wise & R. J. Dimler, *Analyt. Chemistry* **23**, 415 (1951). Entwicklung mit AgNO<sub>3</sub> und NaOH sowie Fixierung mit NH<sub>3</sub> nach W. E. Trevelyan, D. P. Procter & J. S. Harrison, *Nature* **166**, 444 (1950).

(L-Thevetose)<sup>1)</sup>, doch wurde das Aglykon dabei zerstört. Mit HCl in Aceton nach der Methode von *Mannich & Siewert*<sup>2)</sup> liess sich keine Spaltung erzielen<sup>3)</sup>, hingegen konnte durch oxydativen Abbau nach der Methode von *Steinegger & Katz*<sup>3)</sup> in schlechter Ausbeute das krist. Tanghinigenon (VI) erhalten werden<sup>4)</sup>. Tanghinin und Desacetyl-tanghinin verhalten sich nach *Frèrejacque & Hasenfratz*<sup>5)</sup> auch gegenüber alkoholischer KOH abnormal, indem keine Isoverbindung erhalten werden konnte. Da die genannten Forscher bei dieser Umsetzung keine Kristalle erhielten, haben wir den Versuch wiederholt und können die Schlussfolgerung bestätigen. Wir erhielten kein Neutralprodukt, wohl aber in fast quantitativer Ausbeute eine krist. Säure, die wir Isodesacetyl-tanghininsäure (VII) nennen. Ihre Analysen passten auf die Formel  $C_{30}H_{46-48}O_{10}$ . Sie gab auch nach längerem Kochen ihrer Chloroformlösung kein Lacton und zeigte im UV. keine selektive Absorption (Kurve VII in Fig. 6). Sie liess sich durch ein krist. Na-Salz und einen gut krist. Methylester charakterisieren. Der Methylester lieferte ein Acetat sowie ein Semicarbazon, die aber bisher nicht kristallisierten. Falls die früher<sup>5)</sup> vorgeschlagene hypothetische Teilformel I für Desacetyl-tanghinin richtig ist, sollte der Säure die Formel VII zukommen. Die Tatsache, dass sie kein Lacton liefert, wäre ein Hinweis dafür, dass die tertiäre HO-Gruppe an C-14, falls vorhanden, stark gehindert ist. Diese Hinderung könnte durch das fünfte O-Atom bedingt sein, dessen Lage und Funktion in den Formeln I–XI offengelassen wurde. Es sollte sich dann in der Nähe von C-14, z. B. als Oxydring, befinden.

Die relativ grosse Beständigkeit der tertiären HO-Gruppe in Derivaten des Tanghinins gegen Säure<sup>6)</sup><sup>4)</sup> ermunterte uns, die Hydrolyse des Desacetyl-tanghinins mit etwas energischeren Mitteln zu versuchen. Gute Resultate ergab ca. eintägiges Stehen in Chloroform, das ca. 1% trockenes HCl-Gas enthielt. Sowohl alkoholfreies Chloroform wie solches, das 1–3% Äthanol enthielt, erwies sich als brauchbar; in jedem Fall konnte nach Chromatographie krist. Tanghinigenin (X) isoliert werden. Bei nicht zu langer Einwirkung war auch immer noch etwas Ausgangsmaterial (I) fassbar. In welcher Form der Zucker im äthanolfreien Gemisch abgespalten wird (Versuche Nr. 2 und 5 in Tab. 1), wurde nicht untersucht<sup>5)</sup>. In den äthanolhaltigen Gemischen trat wahrscheinlich hauptsächlich Äthanololyse nach folgender Gleichung ein:



<sup>1)</sup> *M. Frèrejacque & V. Hasenfratz*, C. r. hebdomadaire Séances Acad. Sci. **222**, 815 (1946).

<sup>2)</sup> *C. Mannich & G. Siewert*, Ber. deutsch. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

<sup>3)</sup> *E. Steinegger & A. Katz*, Pharmac. Acta Helv. **22**, 1 (1947).

<sup>4)</sup> Die tertiäre HO-Gruppe liess sich mit  $POCl_3$  in Pyridin erst nach längerem Erhitzen auf 128° abspalten<sup>6)</sup>.

<sup>5)</sup> Die dabei erhaltenen wasserlöslichen Anteile reduzierten *Fehling'sche* Lösung beim Erhitzen stark.

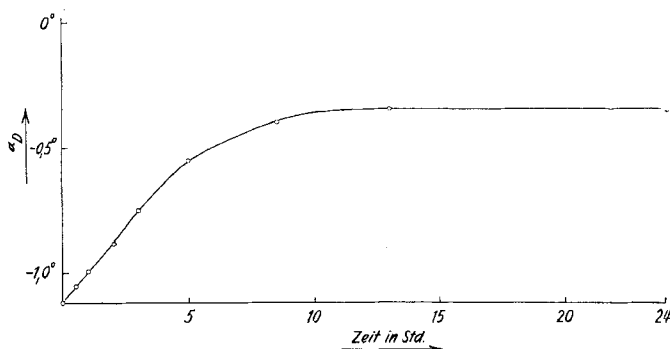
Nach präparativer Aufarbeitung liess sich ein krist., nicht reduzierender Stoff, Smp.  $108^{\circ}$ ,  $[\alpha]_D^{20} = +46,1^{\circ} \pm 2^{\circ}$  (in Wasser) erhalten, dessen Analysen auf  $C_9H_{18}O_5$  passten und der nach saurer Hydrolyse die bekannte krist. L-Thevetose lieferte. Nach der Drehung dürfte  $\beta$ -Äthyl-L-thevetosid- $\langle 1,5 \rangle$  (XII) vorgelegen haben. In Tab. 1 sind die Ausbeuten für 6 verschiedene Versuche angegeben.

**Tabelle 1.**

Spaltung von je 1 g<sup>1)</sup> Desacetyl-tanghinin (I) bei  $25^{\circ}$ .

Ver- such Nr.	Lösungsmittel Chloroform			Dauer in Std.	Ausbeuten	
	Volu- men in cm <sup>3</sup>	HCl in % <sup>2)</sup>	Äthanol in %		Ausgangs- material (I)	Tanghini- genin (X) <sup>3)</sup>
1	48	1,1	1	48	—	286 mg (40,5%)
2	50	0,7	0	24	30 mg (3%)	344 mg (50,0%)
3	50	1,1	1	24	70 mg (7%)	180 mg (27,5%)
4	50	1,1	3	24	237 mg (24%)	305 mg (56,5%)
5	50	0,7	0	17	130 mg (13%)	260 mg (42,0%)
6	50	1,1	3	17	438 mg (44%)	196 mg (49,5%)

In Versuch Nr. 3 wurde die spez. Drehung ungefähr verfolgt (Fig. 5).

**Fig. 5.**

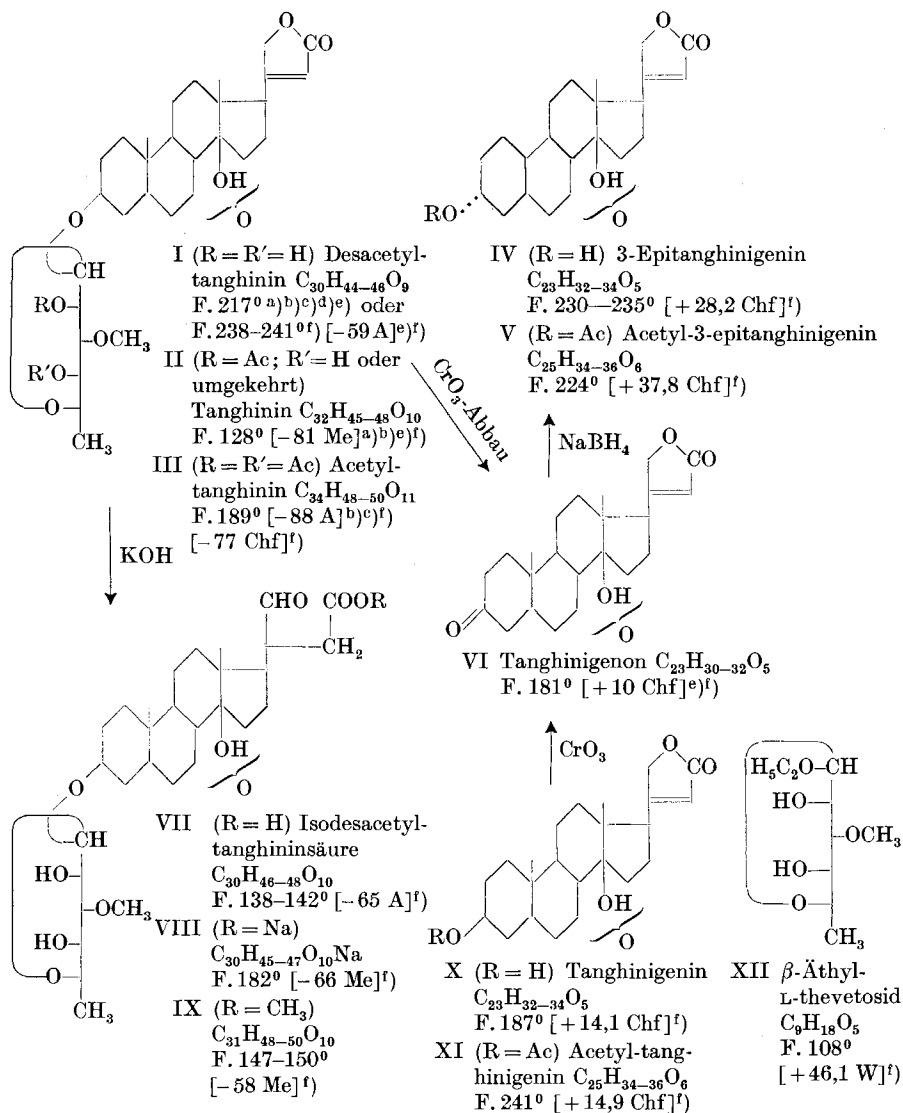
Veränderung der Drehung im Laufe von 24 Std. bei Versuch 3 (Tab. 1) ( $c = \text{ca. } 2$ ).

Es zeigt sich, dass die Drehung sich nach 15 Std. kaum mehr ändert, die Reaktion also offenbar zur Hauptsache beendet war.

<sup>1)</sup> Bei den Versuchen 5 und 6 wurden je 10 g Desacetyl-tanghinin (I) in 10facher Menge Lösungsmittel verwendet. Die Ausbeuten sind pro 1 g berechnet.

<sup>2)</sup> Gewichts-%.

<sup>3)</sup> Beim Tanghinigenin (X) sind die gewichtsmässigen Ausbeuten die wirklich erhaltenen Mengen, die prozentualen sind errechnet unter Berücksichtigung des regenerierten Ausgangsmaterials (I).



Die Formeln I–XII sind nicht bewiesen und besitzen nur hypothetischen Charakter. Ac = CH<sub>3</sub>CO–. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die (teilweise auf ganze Grade auf- oder abgerundete) spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: A = Äthanol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, W = Wasser.

a) A. Arnaud, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. **108**, 1255 (1889); **109**, 701 (1889).

b) V. Hasenfratz, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. **213**, 404 (1941).

c) M. Frèrejacque & V. Hasenfratz, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. **222**, 149 (1946).

d) M. Frèrejacque & V. Hasenfratz, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. **223**, 642 (1946).

e) H. Helfenberger & T. Reichstein, Helv. **35**, 1503 (1952).

f) Exp. Teil dieser Arbeit.

Aus Tab. 1 folgt, dass die beste absolute Ausbeute bei Anwendung von alkoholfreiem Chloroform erreicht wird. Bei Anwendung von 1–3% Alkohol wird mehr Ausgangsmaterial regeneriert, und berücksichtigt man dieses, so ergibt sich die beste Ausbeute (56,5%) an Genin mit dem äthanolhaltigen Gemisch. Bei der Behandlung von Acetyl-tanghinin (III) mit HCl in Chloroform konnte bisher kein Tanghinigenin (X), sondern nur amorphes Material erhalten werden.

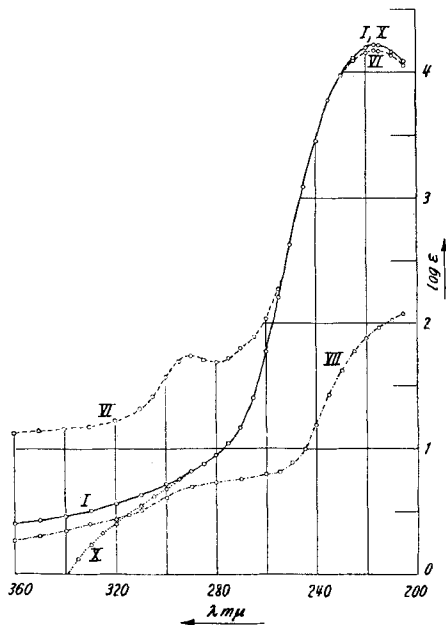


Fig. 6.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol<sup>1)</sup>.

- Kurve I = Desacetyl-tanghinin (I), Maximum bei 217 mμ, log ε = 4,21, ber. auf C<sub>30</sub>H<sub>44</sub>O<sub>9</sub> (548,65).  
 Kurve VI = Tanghinigenon (VI), Maxima bei 217 mμ, log ε = 4,17, und bei 290 mμ, log ε = 1,72, ber. auf C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (386,48).  
 Kurve VII = Iso-desacetyl-tanghininsäure (VII). Keine selektive Absorption. Ber. auf C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>10</sub> (566,67).  
 Kurve X = Tanghinigenin (X), Maximum bei 217 mμ, log ε = 4,22, ber. auf C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> (388,49).

Das so erhaltene Tanghinigenin (X) zeigte Smp. 187–188°,  $[\alpha]_D^{25} = +14,1^\circ \pm 2^\circ$  (in Chf). Die Zuckerprobe war negativ. Es war frei von Methoxyl und Halogen; die Analysen passten auf die erwartete Formel C<sub>23</sub>H<sub>32–34</sub>O<sub>5</sub>. Das UV.-Absorptionsspektrum (Kurve X in Fig. 6) zeigte wie erwartet nur ein Maximum bei 217 mμ, log ε =

<sup>1)</sup> Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem „Beckman-Quartz-Spectrophotometer, Modell DU“ (Kurven I u. VI<sup>e</sup>) sowie einem „Unicam SP 500“ (Kurven VII u. X).

4,22. Acetylierung lieferte krist. Acetyl-tanghinigenin (XI), das mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung gab und von  $\text{CrO}_3$  in Eisessig bei  $20^\circ$  nach 2 Std. nicht verändert wurde. Dehydrierung von X mit  $\text{CrO}_3$  in Eisessig gab Tanghinigenon (VI), das sich nach Smp., Drehung und Mischprobe mit dem früher beschriebenen Präparat<sup>e</sup>) als identisch erwies. Auf Grund dieser Befunde ist kaum ein Zweifel möglich, dass das hier beschriebene und als Tanghinigenin bezeichnete Präparat tatsächlich das Genin des Tanghinins (II) und Des-acetyl-tanghinins (I) darstellt.

3-Epitanghinigenin (IV). Zur Bereitung von 3-Epitanghinigenin (IV) haben wir Tanghinigenon (VI) mit  $\text{NaBH}_4$ <sup>1)</sup> reduziert. Die Reaktion verlief glatt und analog wie die kürzlich beschriebene Reduktion von Digitoxigenon zu 3-Epidigitoxigenin<sup>2)</sup>.

Der gesuchte Stoff (IV) wurde in Kristallen erhalten und als krist. Acetat (V) charakterisiert. Aus den Mutterlaugen von IV liess sich nach Acetylierung und wiederholter Chromatographie nur noch etwas V, aber kein Acetyl-Tanghinigenin (XI) erhalten.

In Tab. 2 sind die molekularen Drehungen von Tanghinigenin (X), 3-Epitanghinigenin (IV), Digitoxigenin und 3-Epidigitoxigenin sowie der 4 zugehörigen Acetylderivate zusammengestellt.

**Tabelle 2.**  
Vergleich der molekularen Drehungen.

Substanz	Konfiguration an C-3	$[\alpha]_D$	$[M]_D$	$\Delta (3\alpha - 3\beta)$
3-Epidigitoxigenin . . .	$\alpha$	$+27^\circ \pm 3^\circ (\text{Me})^2)$	$+101^\circ \pm 11^\circ$	$+30^\circ \pm 19^\circ$
Digitoxigenin . . . . .	$\beta$	$+19^\circ \pm 2^\circ (\text{Me})^3)$	$+71^\circ \pm 8^\circ$	
3-Epitanghinigenin (IV) .	$\alpha$	$+28^\circ \pm 4^\circ (\text{Chf})^f)$	$+109^\circ \pm 16^\circ$	$+54^\circ \pm 24^\circ$
Tanghinigenin (XI) . . .	$\beta$	$+14^\circ \pm 2^\circ (\text{Chf})^f)$	$+55^\circ \pm 8^\circ$	
Acetyl-3-epidigitoxigenin	$\alpha$	$+42^\circ \pm 2^\circ (\text{Chf})^2)$	$+175^\circ \pm 8^\circ$	$+96^\circ \pm 16^\circ$
Acetyl-digitoxigenin . . .	$\beta$	$+19^\circ \pm 2^\circ (\text{Chf})^4)$	$+79^\circ \pm 8^\circ$	
Acetyl-3-epitanghinigenin (V). . . . .	$\alpha$	$+38^\circ \pm 2^\circ (\text{Chf})^f)$	$+164^\circ \pm 8^\circ$	$+99^\circ \pm 16^\circ$
Acetyl-tanghinigenin (XII)	$\beta$	$+15^\circ \pm 2^\circ (\text{Chf})^f)$	$+65^\circ \pm 8^\circ$	

Die Umkehrung der Konfiguration an C-3 von  $\beta$  nach  $\alpha$  ist in jedem Fall mit einer Verschiebung der Drehung nach der positiven Seite verbunden. Die numerische Übereinstimmung zwischen den Derivaten des Digitoxigenins und denjenigen des Tanghinigenins ist sehr gut. Dies spricht, wie der Verlauf der  $\text{NaBH}_4$ -Reduktion, stark dafür, dass die vorgeschlagenen Teilformeln X und IV wenigstens in

<sup>1)</sup> S. W. Chaikin & W. G. Brown, J. Amer. chem. Soc. **71**, 122 (1949).

<sup>2)</sup> H. P. Sigg, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 985 (1953).

<sup>3)</sup> A. Windaus & G. Stein, Ber. deutsch. chem. Ges. **61**, 2436 (1928).

<sup>4)</sup> S. Rangaswami & T. Reichstein, Helv. **32**, 939 (1949).



bezug auf Ring A richtig sind, dass Tanghinigenin (X) somit die 3 $\beta$ -Oxy-Konfiguration besitzt.

Herr Dr. Chen<sup>1)</sup> hatte die Freundlichkeit, Tanghinigenin (X) und 3-Epitanghinigenin (IV) biologisch zu prüfen. Die Resultate sind zusammen mit den früher bestimmten Werten für I, II, Digitoxigenin und 3-Epidigitoxigenin in Tab. 3 wiedergegeben.

**Tabelle 3.**  
Vergleich der biologischen Wirksamkeit.

Substanz	Zahl der eingesetzten Tiere	Geometrisches Mittel der letalen Dosis in mg/kg Katze
Desacetyl-tanghinin (I) . .	10	0,2311 $\pm$ 0,0141 <sup>e)</sup>
Tanghinin (II) . . . . .	10	0,3524 $\pm$ 0,0389 <sup>e)</sup>
Tanghinigenin (X) . . . .	10	1,016 $\pm$ 0,0876
Digitoxigenin . . . . .	10	0,459 $\pm$ 0,0363 <sup>2)</sup>
3-Epitanghinigenin (IV) . .	1	unwirksam bis 9,43 <sup>3)</sup>
3-Epidigitoxigenin . . . .	3	unwirksam bis 4,77 <sup>4)</sup> 5)

Tanghinigenin zeigte dabei neben der digitalisartigen Wirkung auch eine stark erregende Wirkung auf das Zentralnervensystem der Katze. Bei rascher Injektion von 0,5 mg/kg wurden heftige clonische Krämpfe und der Tod des Tieres nach 54 Min. verursacht. Mit 0,25 mg/kg traten noch Krämpfe auf, doch überlebte dieses Tier.

3-Epitanghinigenin zeigte wie 3-Epidigitoxigenin keine nachweisbare Toxizität. Für die digitalisartige Wirkung scheint demnach die 3 $\beta$ -Oxy-Konfiguration wichtig zu sein.

Der eine von uns (H. P. S.) dankt der *Camille and Henry Dreyfus Foundation* für ein Stipendium. Ferner standen uns zur Ausführung dieser Arbeit Mittel aus den *Arbeitsbeschäftigungskrediten des Bundes* zur Verfügung, wofür auch hier bestens gedankt sei.

### Experimenteller Teil.

Alle Smp. sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa  $\pm$  2°, darüber etwa  $\pm$  3°. Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 70° und 0,02 Torr getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, mit Einwaage im Schweinchen. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chloroform-Äther (1:3), Waschen mit verd. HCl (bei CrO<sub>3</sub>-Oxydation mit 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), Sodalösung und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen im Vakuum. Alle Chromatographien wurden nach der Durchlaufmethode<sup>6)</sup> an alkalifreiem Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>7)</sup> durchgeführt.

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Dr. K. K. Chen, Indianapolis, auch hier bestens für die Überlassung seiner Resultate.

<sup>2)</sup> K. K. Chen, Ann. Rev. of Physiol. **7**, 677 (1945).

<sup>3)</sup> Am Frosch unwirksam bei 88,85 und 215 mg/kg.

<sup>4)</sup> H. P. Sigg, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **36**, 985 (1953).

<sup>5)</sup> Am Frosch unwirksam bis 36,71 mg/kg.

<sup>6)</sup> T. Reichstein & C. W. Shoppee, Disc. Faraday Soc. Nr. **7** 1949, 305.

<sup>7)</sup> J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **27**, 1292, Fussnote 2 (1944), aber bei 185° reaktiviert.

Ausführung der Tüpfelprobe mit *Raymond*-Reagens<sup>1)</sup> oder *Kedde*-Reagens<sup>2)</sup>, der Zuckerprüfung<sup>3)</sup> sowie der *Keller-Kiliani*-Reaktion<sup>4)</sup> nach früheren Angaben. Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch frisch destilliert.

Vorbereitung und Entfettung der Kerne. 45 kg Nüsse gaben 5,9 kg „weisse“ (nicht infizierte) und 2,3 kg „schwarze“ (von Schimmel befallene) Kerne. Jeder Teil wurde separat gemahlen und durch Perkolation mit Petroläther entfettet. Hier wird nur die Verarbeitung der „weissen“ Samen beschrieben. Die schwarzen gaben ein sehr ähnliches Resultat mit etwas geringerer Ausbeute an Kristallen. Die 5,9 kg „weissen“ Kerne lieferten 3,6 kg Petrolätherextrakt (fast weisses Fett, verworfen) und 2,3 kg entfettetes Samenpulver.

Fermentierung und Extraktion. 1,3 kg entfettetes und von Petroläther völlig befreites Samenpulver wurden mit 5,5 l Leitungswasser übergossen, mit 50 cm<sup>3</sup> Toluol versetzt und vier Tage bei 36° verschlossen unter öfterem Durchschütteln stehengelassen. Der dunkelbraune Brei wurde mit 6 l 95-proz. Alkohol vermisch und durch eine Schicht gewaschenes Kieselgur (Hyflo Super Cel) filtriert. Der grauschwarze Rückstand wurde noch achtmal mit je vier l 70-proz. Alkohol extrahiert. Er schmeckte dann nicht mehr bitter und wurde verworfen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum bei 45° auf 2,5 l eingeeengt, wobei sich Kristalle abschieden. Die Suspension wurde viermal mit je 2,5 l Äther ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 113,5 g rohen Ätherextrakt.

Die verbliebene Suspension wurde achtmal mit je 2 l Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 135 g Chloroformextrakt, der sich nicht vollständig vom Lösungsmittel befreien liess.

Die wässrige Phase (inkl. erstes Waschwasser) wurde noch sechsmal mit je 1,5 l Chloroform-Alkohol-(2:1)-Gemisch ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 1,35 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt.

Die verbliebene wässrige Phase war nicht mehr bitter und wurde verworfen.

Trennung des Ätherextrakts. Der flüssige Ätherextrakt schied nach kurzem Stehen Kristalle ab. Es wurde mit Äther verdünnt und nach weiterem Stehen filtriert (12,6 g Kristallgemisch). Die Mutterlauge wurde eingedampft und der Rückstand (100,5 g) zwischen 75-proz. Methanol und Petroläther verteilt<sup>1)</sup>. Die Petrolätherauszüge lieferten noch ca. 85 g Rückstand (Fett, verworfen). Die wässrig-methanolischen Phasen wurden im Vakuum von Methanol befreit und anschliessend mit Chloroform ausgeschüttelt. Diese Auszüge lieferten noch 14,2 g gereinigten Ätherextrakt. Die obigen 12,6 g Kristallgemisch gaben durch fraktionierte Kristallisation aus Chloroform: 5,6 g rohes Desacetyl-tanghinin (I), 4,5 g rohes Tanghinin (II) und 1,8 g Kristallgemisch sowie 0,7 g amorphe Mutterlauge.

Trennung des Chloroformextrakts. Fraktionierte Kristallisation dieses Extrakts (der noch ca. 23 g Chloroform enthalten hatte) lieferte 36,2 g Desacetyl-tanghinin (I), 40,7 g Tanghinin (II), 7,3 g Kristallgemische und 27,5 g amorphe Mutterlauge.

Trennung der amorphen Mutterlaugen. Die 14,2 g gereinigter Ätherextrakt, 0,7 g amorphe Mutterlaugen aus Ätherextrakt sowie 27,5 g amorphe Mutterlaugen aus Chloroformextrakt wurden vereinigt und das Ganze (42,4 g) an 1,2 kg Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Erhalten wurden noch 9,94 g Desacetyl-tanghinin, 0,70 g Monoacetyl-neriifolin und 10,82 g Kristallgemische sowie 8,8 g amorphe Eluate und Mutterlaugen. 12 g liessen sich nicht mehr von der Säule eluieren.

Die Totalausbeute aus 1,3 kg entfettetem Samenpulver betrug somit 51,7 g Desacetyl-tanghinin, 45,2 g Tanghinin, 0,7 g Monoacetyl-neriifolin und 19,9 g Kristallgemische. Letztere bestanden nach Papierchromatographie (Nr. 5 in Fig. 1) vorwiegend aus Monoacetyl-neriifolin, enthielten daneben aber Tanghinin und Tanghiferin. Sie wurden vorläufig noch nicht weiter getrennt.

<sup>1)</sup> O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **34**, 108 (1951).

<sup>2)</sup> Ausgeführt nach I. E. Bush & D. A. H. Taylor, Biochem. J. **52**, 643 (1952).

<sup>3)</sup> P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **34**, 1740 (1951).

<sup>4)</sup> J. v. Euw & T. Reichstein, Helv. **31**, 883 (1948).

Die isolierten Glykoside. Die rohen Kristalle wurden durch mehrfaches Umkristallisieren weiter gereinigt.

Desacetyl-tanghinin (I). Aus Methanol-Äther farblose Prismen, Smp. 238 bis 241°,  $[\alpha]_D^{20} = -58,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,5164$  in Methanol),  $[\alpha]_D^{20} = -58,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,5003$  in Äthanol).

25,70 mg Subst. zu 4,977 cm<sup>3</sup>;  $l = 2$  dm;  $\alpha_D^{20} = -0,60^\circ \pm 0,02^\circ$

24,90 mg Subst. zu 4,977 cm<sup>3</sup>;  $l = 2$  dm;  $\alpha_D^{20} = -0,59^\circ \pm 0,02^\circ$

Frühere Autoren<sup>c) d) e)</sup> fanden meist Smp. 217<sup>02)</sup>. Impfen einer Probe vom Smp. 217° mit der hochschmelzenden Form lieferte die letztere. Die Mischproben schmolzen gleich. Beide Modifikationen zeigten gegenüber konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sowie im Papierchromatogramm (Fig. 2) gleiches Verhalten.

Tanghinin (II). Aus Methanol-Äther farblose Blättchen, Smp. 128–131°,  $[\alpha]_D^{21} = -81,5^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,092$  in Methanol).

Monoacetyl-neriifolin. Aus Methanol-Äther farblose Prismen, Smp. 209–214°. Mischprobe mit authentischem Material ebenso.

Acetyl-tanghinin (III). a) Aus Desacetyl-tanghinin (I). Aus Äther-Petroläther farblose Blättchen, Smp. 189–191°,  $[\alpha]_D^{21} = -76,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,303$  in Chloroform),  $[\alpha]_D^{20} = -88,4^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,8706$  in Alkohol).

b) Aus Tanghinin (II). Aus Äther-Petroläther farblose Blättchen, Smp. 189–191°,  $[\alpha]_D^{20} = -76,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,196$  in Chloroform). Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Präparat schmolz gleich.

Isodesacetyl-tanghininsäure (VII). 250 mg Desacetyl-tanghinin (I) in 25 cm<sup>3</sup> Methanol wurden mit 250 mg KOH in 10 cm<sup>3</sup> Wasser 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Methanol im Vakuum abdestilliert, die wässrige Lösung bei 0° mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt und fünfmal mit je 20 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt. Die viermal mit 2-n. Sodalösung, zweimal mit Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen keinen Rückstand. Die vereinigten Sodalösungen und Waschwässer wurden bei 0° mit HCl kongosauer gemacht und viermal mit je 20 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 241 mg rohe Säure. Aus Methanol-Äther 166 mg farblose Prismen, Smp. 138–142°,  $[\alpha]_D^{18} = -64,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,8816$  in Äthanol).

8,87 mg Subst. zu 1,00615 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = -0,57^\circ \pm 0,02^\circ$

4,310 mg Subst. gaben 0,390 mg Gewichtsverlust

C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>10</sub> + 3 H<sub>2</sub>O (620,73) Ber. H<sub>2</sub>O 8,71% Gef. H<sub>2</sub>O 9,05%

3,920 mg Subst. gaben 9,167 mg CO<sub>2</sub> und 2,880 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>10</sub> (566,67) Ber. C 63,58 H 8,18% Gef. C 63,82 H 8,22%

Reduktionsprobe nach Tollens: positiv. Legal-Test und Raymond-Reaktion: negativ. Tetranitromethan-Reaktion: negativ. Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: gelb (0'), rotbraun mit violetter Rand (5'), dunkelweinrot (30'), violett (2 Std.).

Na-Salz VIII. Aus Methanol-Äther farblose Prismen, Smp. 182–184°,  $[\alpha]_D^{25} = -66,3^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9043$  in Methanol).

9,10 mg Subst. zu 1,00615 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{25} = -0,60^\circ \pm 0,02^\circ$

4,200 mg Subst. gaben 0,501 mg Gewichtsverlust.

C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>O<sub>10</sub>Na + 4 H<sub>2</sub>O (660,74) Ber. H<sub>2</sub>O 10,91% Gef. H<sub>2</sub>O 11,93%

3,699 mg Subst. gaben 0,336 mg Asche (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> = 0,140 mg CO<sub>2</sub> und 0,146 mg Na), 8,118 mg CO<sub>2</sub> (total 8,258 mg) und 2,590 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>30</sub>H<sub>45</sub>O<sub>10</sub>Na (588,66) Ber. C 61,19 H 7,71 Na 3,91%

Gef. „ 60,92 „ 7,84 „ 3,95%

<sup>1)</sup> Wie bei O. Schindler & T. Reichstein, Helv. 35, 680 (1952), beschrieben.

<sup>2)</sup> Hasenfratz<sup>b)</sup> gab einen Smp. von 248–250° an.

Methylester IX. 201 mg Säure VII in 4 cm<sup>3</sup> Methanol bei 0° mit ätherischer Diazomethanolösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und 20 Min. bei 0° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 211 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 134 mg farblose lange Nadeln, Smp. 147–150°,  $[\alpha]_D^{27} = -58,2^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,134$  in Methanol).

11,27 mg Subst. zu 0,9935 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{27} = -0,66^\circ \pm 0,02^\circ$

3,954 mg Subst. gaben 9,301 mg CO<sub>2</sub> und 2,992 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>31</sub>H<sub>48</sub>O<sub>10</sub> (580,69) Ber. C 64,11 H 8,33% Gef. C 64,19 H 8,47%

Acetyl-methylester. 80 mg Methylester IX wurden mit 2 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 85 mg Rohprodukt, das auch nach Chromatographie bisher nicht kristallisierte.

Semicarbazon. 210 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 330 mg Na-Acetat-trihydrat wurden gut verrieben, das halbflüssige Gemisch in 3 cm<sup>3</sup> Methanol aufgenommen und die von NaCl abfiltrierte Lösung mit 50 mg Methylester IX in 0,7 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin versetzt und 20 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde im Vakuum von Methanol befreit und mit Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschene und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknete Lösung hinterliess beim Eindampfen 51 mg Rohprodukt, das bisher nicht kristallisierte.

Lactonisierungsversuch. 20 mg Säure (VII) vom Smp. 138–142° in 5 cm<sup>3</sup> Chloroform wurden 3 Std. am Rückfluss gekocht. Eindampfen und Umkristallisieren aus Methanol-Äther gab 18 mg Kristalle, Smp. 137–140°. Mischprobe mit Ausgangsmaterial ebenso.

Spaltung von Desacetyl-tanghinin (I) mit HCl in Chloroform. Hier wird Versuch 2 (Tab. 1) beschrieben. Die anderen Versuche wurden gleich ausgeführt und gaben die in Tab. 1 angegebenen Ausbeuten.

1 g Desacetyl-tanghinin (I) wurde in 20 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform<sup>1)</sup> gelöst, mit 30 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem Chloroform, das bei 25° mit trockenem HCl-Gas gesättigt worden war (Gehalt 18 mg HCl pro cm<sup>3</sup>) versetzt und 24 Std. bei 25° stehengelassen. Die gelbe Lösung wurde zweimal mit Wasser (Verarbeitung dieser Waschwässer siehe unten), dann mit Sodalösung und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (960 mg) wurde an 30 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Die mit Benzol-Chloroform (1:1) bis (2:3) eluierten Anteile (678 mg) gaben aus Aceton-Petroläther 344 mg rohes Tanghinigenin (XI) vom Smp. 170–188°. Die mit Chloroform eluierten Fraktionen (249 mg) gaben aus Methanol-Äther 30 mg Desacetyl-tanghinin (I). Die amorphen Fraktionen und die Mutterlaugen (580 mg) wurden vereinigt, acetyliert und an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert. Es liessen sich so noch 60 mg krist. Acetyl-tanghinigenin (XI) isolieren.

Die oben genannten zwei ersten Waschwässer (es wurde hiezu das Material aus Versuch 6 mit 10 g Desacetyl-tanghinin verwendet) zeigten stark saure Reaktion. Sie wurden mit Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> neutralisiert und durch ein mit Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> gedichtetes Filter genutscht. Das klare Filtrat wurde bei 0° kurz mit H<sub>2</sub>S behandelt und die schwarze Lösung durch ein mit wenig gewaschener Kohle gedichtetes Filter genutscht. Das farblose Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit wenig abs. Alkohol verflüssigt, mit Aceton versetzt, die Lösung filtriert und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Dergut getrocknete Sirup wurde in reinem Aceton gelöst und die filtrierte klare Lösung im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (708 mg) gab aus Aceton-Äther 211 mg rohes  $\beta$ -Äthyl-L-thevetosid (XII).

Tanghinigenin (X). Wiederholtes Umkristallisieren aus Aceton-Petroläther gab farblose Prismen, Smp. 187–188°,  $[\alpha]_D^{25} = +14,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,138$  in Chloroform).

11,45 mg Subst. zu 1,00615 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{25} = +0,16^\circ \pm 0,02^\circ$

3,991 mg Subst. gaben 10,430 mg CO<sub>2</sub> und 2,995 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> (388,49) Ber. C 71,10 H 8,30% Gef. C 71,32 H 8,40%

Die Kristalle waren methoxyl- und chlorfrei, die Zuckerprobe war negativ; Raymond-Reaktion: positiv, Tetranitromethan gab keine Färbung. Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: rotbraun (0'), hellbraun mit violetter Rand (15'), grau (30'), graugrün (45'), grün (3 Std.).

<sup>1)</sup> Käufliches Chloroform 48 Std. mit wasserfreiem CaCl<sub>2</sub> geschüttelt, filtriert und destilliert.

Acetyl-tanghinigenin (XI). 188 mg Tanghinigenin (X) vom Smp. 187–188° in 3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 2 Tage bei 25° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 200 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Petroläther 189 mg farblose Prismen, Smp. 241–243°,  $[\alpha]_D^{24} = +14,9^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,075$  in Chloroform).

10,68 mg Subst. zu 0,9935 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{24} = +0,16^\circ \pm 0,02^\circ$

4,189 mg Subst. gaben 10,665 mg CO<sub>2</sub> und 3,052 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub> (430,51) Ber. C 69,74 H 7,96% Gef. C 69,48 H 8,14%

Farbreaktion mit 84-proz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: braun (0'), hellbraun (20'), grau (1 Std.), grau-grün (2 Std.), grün (3 Std.).

Dehydrierungsversuch. 30 mg Acetyl-tanghinigenin (XI) vom Smp. 241–243° in 2 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig wurden mit 0,2 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung versetzt und 4 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Dann wurde mit 2 Tropfen Methanol versetzt und noch 3 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 30 mg Neutralprodukt. Aus Aceton-Petroläther 29 mg Prismen, Smp. 239–242°. Die Mischprobe mit XI schmolz ebenso.

Tanghinigenon (VI). a) Aus Desacetyl-tanghinin (I). 12,4 g Desacetyl-tanghinin (I) wurden, wie früher beschrieben<sup>e</sup>) mit CrO<sub>3</sub> abgebaut und lieferten 7,9 g neutrales Rohprodukt. Dieses gab nach Chromatographie aus Aceton-Äther 993 mg rohes Tanghinigenon (VI) vom Smp. 176–182°. Nach Umkristallisieren farblose Prismen, Smp. 181–184°,  $[\alpha]_D^{22} = +10,0^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,7971$  in Chloroform).

8,02 mg Subst. zu 1,00615 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{22} = +0,08^\circ \pm 0,02^\circ$

4,292 mg Subst. gaben 11,160 mg CO<sub>2</sub> und 3,062 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (386,47) Ber. C 71,48 H 7,82% Gef. C 70,96 H 7,98%

Die Mischprobe mit dem Originalpräparat schmolz gleich.

b) Aus Tanghinigenin (X). 100 mg Tanghinigenin (X) vom Smp. 187–188° in 6 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig wurden innerhalb 3 Std. mit insgesamt 1,6 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig-Lösung (32 mg CrO<sub>3</sub>) versetzt und noch 2 Std. stehengelassen, worauf noch etwas CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Dann wurde mit 0,5 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt und noch 6 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 100 mg neutrales Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 88 mg farblose Prismen, Smp. 181–184°,  $[\alpha]_D^{25} = +10,7^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,215$  in Chloroform).

12,07 mg Subst. zu 0,9935 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{25} = +0,13^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Präparat schmolz gleich.

$\beta$ -Äthyl-L-thevetosid-〈1,5〉 (XII). Aus Aceton-Äther farblose Prismen, Smp. 108–109°,  $[\alpha]_D^{20} = +46,1^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,107$  in Wasser).

11,00 mg Subst. zu 0,9935 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{20} = +0,51^\circ \pm 0,02^\circ$

3,889 mg Subst. gaben 7,440 mg CO<sub>2</sub> und 3,112 mg H<sub>2</sub>O

C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> (206,33) Ber. C 52,41 H 8,80% Gef. C 52,21 H 8,95%

Die Substanz war halogenfrei, Reduktionsprobe (Fehling'sche Lösung): negativ, Zuckerprüfung: positiv, Keller-Kiliani-Reaktion: negativ.

L-Thevetose aus XII. 23 mg  $\beta$ -Äthyl-L-thevetosid-〈1,5〉 (XII) vom Smp. 108–109° wurden in 3 cm<sup>3</sup> n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 Std. auf 100° erhitzt. Dann wurde mit reinem BaCO<sub>3</sub> heiss neutralisiert und durch ein mit BaCO<sub>3</sub> gedichtetes Filter filtriert. Das klare Filtrat wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit wenig abs. Alkohol verflüssigt und mit Aceton verdünnt. Dann wurde filtriert und das Filtrat eingedampft. Der gut getrocknete Rückstand (21,5 mg) gab aus Aceton-Äther (Impfen) farblose Kristalle, Smp. 129–130°,  $[\alpha]_D^{23} = -36,4^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,6588$  in Wasser, Endwert nach 5 Std.). Reduktionsprobe (Fehling'sche Lösung): positiv. Die Mischprobe mit authentischer L-Thevetose schmolz gleich, auch die Laufstrecken im Papierchromatogramm (Fig. 4) waren gleich.

3-Epitanghinigenin (IV). 300 mg Tanghinigenon (VI) vom Smp. 170–182° in 15 cm<sup>3</sup> 80-proz. Dioxan wurden innerhalb 1 Std. mit 90 mg NaBH<sub>4</sub> in 10 cm<sup>3</sup> 80-proz.

Dioxan versetzt und anschliessend 6 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde bei 0° mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf pH = 2 gebracht und unter allmählicher Zugabe von 50 cm<sup>3</sup> Wasser das Dioxan weitmöglichst entfernt. Die verbliebene Lösung wurde fünfmal mit je 100 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser, Sodalösung und Wasser gewaschenen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrockneten Auszüge gaben nach Eindampfen 342 mg Rückstand. Dieser wurde in 20 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, mit 20 cm<sup>3</sup> 0,1-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt und 6 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum entfernt und die wässrige Phase fünfmal mit je 50 cm<sup>3</sup> Chloroform ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 322 mg Rückstand. Aus Aceton 117 mg farblose Prismen, Smp. 230–235°;  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +28,2^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,4969$  in Chloroform).

5,00 mg Subst. zu 1,00615 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{26} = +0,14^\circ \pm 0,02^\circ$

4,250 mg Subst. gaben 11,150 mg  $\text{CO}_2$  und 3,240 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$  (388,49) Ber. C 71,10 H 8,30% Gef. C 71,60 H 8,53%

Farbreaktion mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : rotbraun (0'), violett (1'), blass-violett (1 Std.), blass-blau (3 Std.).

Acetyl-3-epitanghinigenin (V). Die 205 mg grösstenteils kristallinen Mutterlaugen des obigen Präparates IV wurden in 3 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin und 2 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 48 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 230 mg neutrales Rohprodukt, das an 7 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die mit Benzol und Benzol-Chloroform (9:1) eluierten Fraktionen (190 mg) gaben aus Chloroform-Petroläther 109 mg farblose Blättchen, Smp. 224–226°,  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +37,8^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,8865$  in Chloroform).

8,92 mg Subst. zu 1,00615 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_{\text{D}}^{22} = +0,335^\circ \pm 0,02^\circ$

4,091 mg Subst. gaben 10,410 mg  $\text{CO}_2$  und 2,840 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_6$  (430,51) Ber. C 69,74 H 7,96% Gef. C 69,44 H 7,77%

Farbreaktion mit 84-proz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ : olivgrün (0'), braun (1'), hellbraun (20'), grau-braun (1 Std.).

Aus den vereinigten Mutterlaugen und amorphen Fraktionen liess sich auch nach nochmaliger Chromatographie kein Acetyl-tanghinigenin (XI) isolieren.

Die Mikroanalysen wurden im Mikrolabor der Organ.-Chem. Anstalt der Universität Basel (Leitung E. Thommen) ausgeführt.

### Zusammenfassung.

Die Isolierung grösserer Mengen Tanghinin (II) und Desacetyl-tanghinin (I) aus den Samen von *Tanghinia venenifera* Poir. wird beschrieben. Letzteres wurde in einer hochschmelzenden Modifikation erhalten, die mit der früher<sup>e</sup>) beschriebenen „Substanz 6“ identisch war. Behandlung von I mit alkoholischer Kalilauge liefert die krist. Isodesacetyl-tanghininsäure (VII), die spontan nicht lactonisiert.

Die Spaltung von Desacetyl-tanghinin gelang mit  $\text{HCl}$ -Gas in Chloroform, wobei in guter Ausbeute (ca. 50 %) das bisher unbekannte Tanghinigenin (X) in Kristallen erhalten wurde. Bei Anwendung von äthanolhaltigem Chloroform wurde daneben krist.  $\beta$ -Äthyl-L-thevetosid (XII) isoliert. Dehydrierung von X mit  $\text{CrO}_3$  lieferte das bekannte Tanghinigenon (VI). Letzteres gab bei der Reduktion mit  $\text{NaBH}_4$  3-Epitanghinigenin (IV). Tanghinigenin (X) zeigte an der Katze digitalisartige Wirkung, während 3-Epitanghinigenin (IV) sich in den geprüften Dosen als unwirksam erwies.

Organisch-Chemische Anstalt der Universität Basel.