

il est possible de l'éviter en déterminant la part qui revient au fer dans la hauteur des pics confondus (1,33–1,29 MeV par ex.). On peut le faire de deux façons, dont l'une consiste à calculer l'activité du fer, en partant de sa concentration, du flux de neutrons, de t et de t' , ainsi que du rendement du compteur pour l'énergie considérée. L'autre façon, préférable semble-t-il, consiste à irradier, avec l'échantillon à doser, une quantité de fer, égale si possible à celle renfermée par ce dernier. La différence des deux spectres qui en résulte correspond au spectre du cobalt seul. On voit que dans ce cas on n'a besoin de connaître ni le flux, ni t , ni t' , ni le rendement du compteur. L'analyse peut se faire très rapidement, sur l'échantillon solide; on réduit donc les opérations au strict minimum.

Nous remercions le FONDS NATIONAL SUISSE, COMMISSION POUR LA SCIENCE ATOMIQUE, grâce auquel nous avons pu entreprendre ce travail.

SUMMARY

The assay of cobalt in 18/8 steel by activation may be effected on a 1 mg. sample if one has available a flow of 10^{13} neutrons/s/cm² for a period of 15 hrs. Iron interferes, as it gives rise to γ rays which superpose on those of ⁶⁰Co; it is separated by ion exchange on resin. The formation of radiocobalt 58 from nickel prevents the assay of cobalt in steel by determination of the total activity. The final determination is therefore carried out on the γ spectrum. Three methods are proposed: the first is based on the determination of cobalt by application of the activation formula, the second uses an external standard and the third uses ⁵⁸Co as internal standard. The sensitivity, precision, advantages and disadvantages of each technique are discussed. This method of assay is very rapid if one disregards the time of activation and that of the 'cooling' necessary for elimination of short period isotopes.

Laboratoire de Chimie Minérale, de Chimie Analytique
et de Microchimie de l'Université de Genève

92. Der KMnO₄-Abbau von Scillaren A

44. Mitteilung über Herzglykoside¹⁾

von A. von Wartburg

(27. II. 60)

Bei der Strukturaufklärung zahlreicher herzwirksamer Naturstoffe vom Bufotyp erwies sich die Oxydation der O-Acetyl-genine mit KMnO₄ nach STEIGER & REICHSTEIN²⁾ als erfolgreiche Abbaumethode. Die dabei gebildeten Ätiansäure-derivate lieferten sichere Aufschlüsse über den Bau des Kohlenstoffgerüsts und erlaubten in besonders günstigen Fällen, speziell in der Reihe der Krötengifte, eine direkte Verknüpfung von Bufadienoliden mit den entsprechenden, bis auf den Lacton-

¹⁾ 42. und 43. Mitt.: A. v. WARTBURG & J. RENZ, Helv. 42, 1620, 1643 (1959).

²⁾ M. STEIGER & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 828 (1938), und spätere Arbeiten.

ring gleich gebauten Cardenoliden³⁾. Die herzaktiven Glykoside aus der Meerzwiebel⁴⁾, die mit den Krötentoxinen nahe verwandt sind, enthalten neben dem ungesättigten Lacton-sechsring eine zusätzliche Doppelbindung an C-4 des Steroidgerüsts. Dadurch nehmen sie in chemischer Hinsicht eine gewisse Sonderstellung ein.

Da uns das Verhalten von *Scilla*-Glykosiden gegenüber neutralem KMnO_4 im Zusammenhang mit der Konstitutionsermittlung des Scillirosidins¹⁾ interessierte, unternahmen wir die folgenden Modellversuche mit dem einfacher gebauten Scillaren A (I), dem Hauptglykosid der weissen Meerzwiebel (*Scilla* (= *Urginea*) *maritima*)⁴⁾. Der chemische Bau des Scillaren A war durch eingehende Untersuchungen von STOLL und Mitarb.⁵⁾ abgeklärt worden. Der Beweis für das Vorliegen einer Steroidverbindung wurde damals durch Perhydrierung von Anhydroscillaridin A zur Allocholansäure (= α -Scillansäure) erbracht⁶⁾. Später konnte dann durch die Identifizierung von Scillarenon⁷⁾ mit Anhydrotelocinobufagon⁸⁾ gezeigt werden, dass *Scilla*-Glykoside und Krötengifte den gleichen, doppelt ungesättigten Lactonsechsring enthalten⁷⁾.

Zum oxydativen Abbau des Scillaren A wurde die Hexaacetylverbindung II⁹⁾ mit KMnO_4 in Aceton bei 0° bis $+5^\circ$ umgesetzt. Nach üblicher Aufarbeitung²⁾ konnten ca. 60% saure und 40% neutrale Produkte gewonnen werden.

Die *Säurefraktion* wurde mit Diazomethan methyliert. Nach Chromatographie des rohen Estergemisches an neutralem Aluminiumoxyd liess sich ein kristallisiertes Ätiansäurederivat $\text{C}_{45}\text{H}_{64}\text{O}_{19}$ (V) fassen, das im UV.-Spektrum keine selektive Absorption aufwies. Im IR.-Spektrum (Fig. 1) waren die Banden der OH- und CH_3CO -Gruppen festzustellen und bei 1705 cm^{-1} eine Carbomethoxy-Gruppe, deren Bande unter dem Einfluss des 14-Hydroxyls nach dem langwelligeren Gebiet verschoben wurde¹⁰⁾. Die milde, selektive Verseifung von V mit KHCO_3 in wässrig-methanolischer Lösung ergab den Ester $\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_{13}$ (IV), bei dem der Zuckerrest (= Scillabiose⁴⁾) nicht mehr acetyliert ist.

Aus dem beim KMnO_4 -Abbau erhaltenen *Neutralteil* konnte bei der Chromatographie an trockenem Silicagel eine zweite kristallisierte Verbindung, $\text{C}_{45}\text{H}_{60}\text{O}_{19}$, isoliert werden, die das Ketolacton III darstellte. Das im UV.-Spektrum von III beobachtete Maximum bei $354\text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 1,6$) und das Auftreten einer Bande bei 1750 cm^{-1} im IR.-Spektrum (Fig. 2) sind für derartige (21 \rightarrow 14)-Ketolactone charakteristisch¹¹⁾. Die molare Rotationsdifferenz zwischen dem Ketolacton III und

³⁾ K. MEYER, Helv. 32, 1238, 1593, 1599, 1993 (1949); J. P. RUCKSTUHL & K. MEYER, Helv. 41, 2121 (1958).

⁴⁾ A. STOLL, E. SUTER, W. KREIS, B. B. BUSSEMAKER & A. HOFMANN, Helv. 16, 703 (1933); siehe auch: A. STOLL & J. RENZ, Helv. 25, 43 (1942); A. STOLL & W. KREIS, Helv. 34, 1431 (1951).

⁵⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. 35, 1934 (1952), und frühere Arbeiten.

⁶⁾ A. STOLL, A. HOFMANN & A. HELFENSTEIN, Helv. 78, 644 (1935).

⁷⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. 34, 2301 (1951).

⁸⁾ K. MEYER, Helv. 32, 1593 (1949).

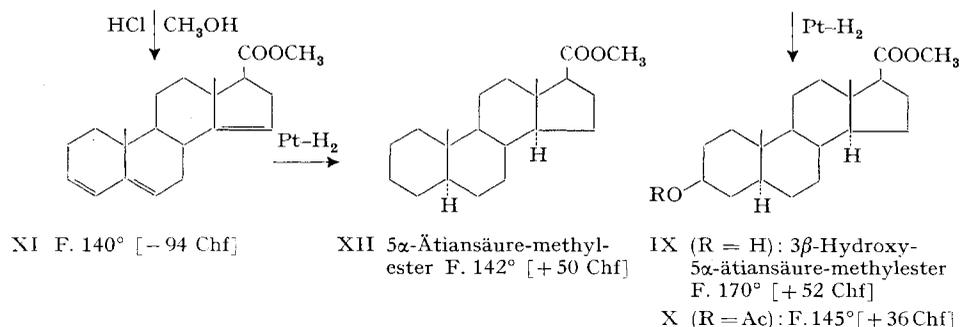
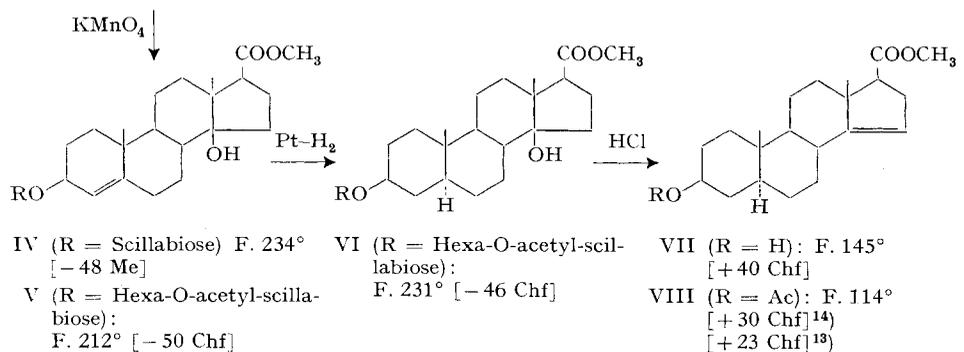
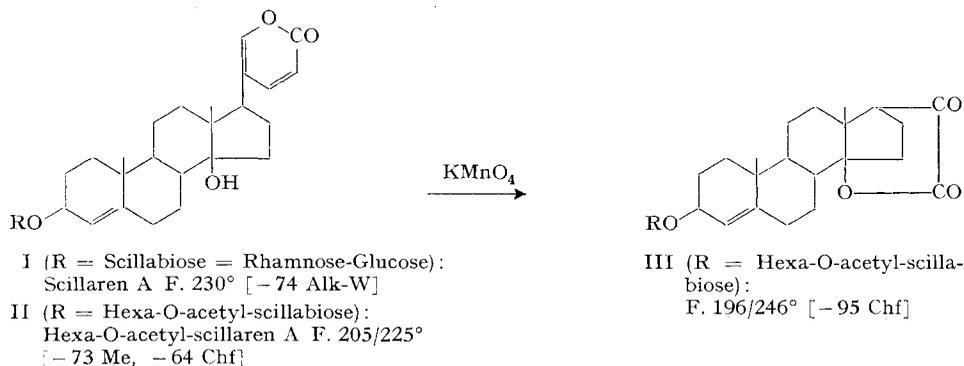
⁹⁾ A. STOLL & A. HOFMANN, Helv. 78, 401 (1935).

¹⁰⁾ H. KÜNDIG-HEGEDÜS & O. SCHINDLER, Helv. 39, 904 (1956); W. SCHLEGEL & CH. TAMM, Helv. 40, 160 (1957).

¹¹⁾ K. MEYER, Helv. 32, 1238 (1949); W. SCHLEGEL, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 38, 1013 (1955); H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 38, 1721 (1955).

dem Ätiensäureester V betrug $+404^\circ$ und stand in guter Übereinstimmung mit früheren Befunden an entsprechend gebauten Verbindungen⁸⁾¹²⁾.

Der Δ^4 -Ätiensäureester V wurde zur weiteren Charakterisierung mit Platin in Eisessig zum gesättigten Derivat $C_{45}H_{66}O_{19}$ (VI) hydriert. Die hydrolytische Ab-



Ac = CH_3CO

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht an.

Alk = Alkohol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, W = Wasser

¹²⁾ Die Differenz der spezifischen Drehwerte zwischen Ätiensäureestern und ihren entsprechenden Ketolactonen beträgt rund $+90^\circ$ ⁸⁾; die molare Rotationsdifferenz ca. $+400^\circ$ (in Chf).

¹³⁾ Siehe exp. Teil.

¹⁵⁾ PL. A. PLATTNER, L. RUZICKA, H. HEUSSER, J. PATAKI & KD. MEYER, Helv. 29, 942 (1946).

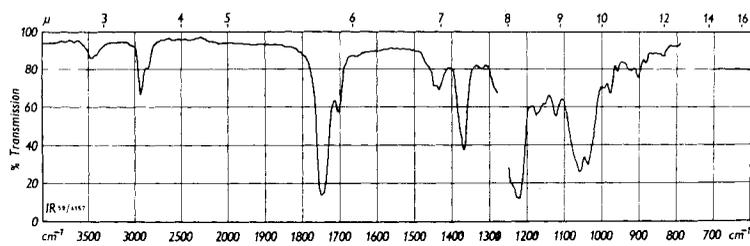
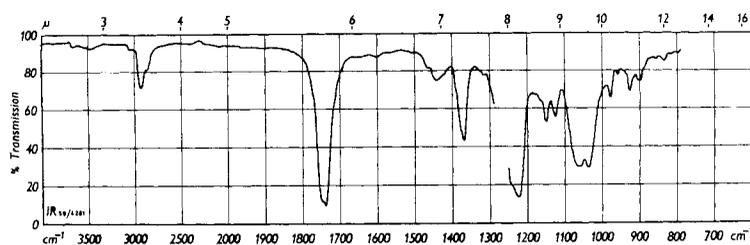
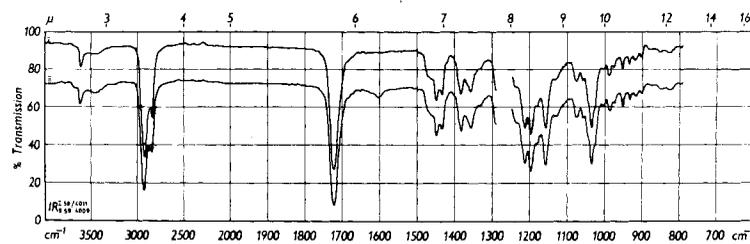
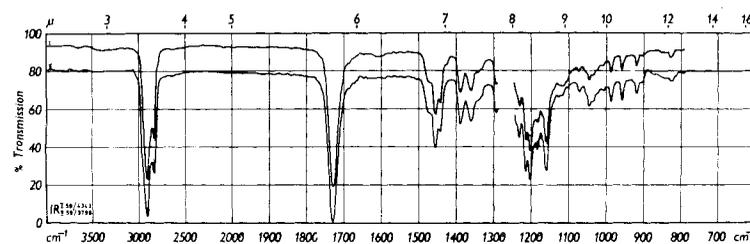
IR.-Absorptionsspektren in CH_2Cl_2 ¹⁵⁾Fig. 1. Δ^4 -Ätiensäure-methylester (V) aus IIBanden bei cm^{-1} : 3470 (OH), 1745, 1225 (Acetat), 1705 (Carbomethoxy)

Fig. 2. Ketolacton III aus II

Banden bei cm^{-1} : (OH keine), 1750 (Ketolacton), 1740, 1225 (Acetat)Fig. 3. 3β -Hydroxy-5 α -ätiensäure-methylester (IX)

Obere Kurve: authent. Vergleichspräparat

Untere Kurve: Präparat, hergestellt durch Hydrierung von VII

Fig. 4. 5 α -Ätiensäure-methylester (XII)

Obere Kurve: authent. Vergleichspräparat

Untere Kurve: Präparat, hergestellt durch Hydrierung von XI

¹⁵⁾ Die IR.-Spektren wurden auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Mod. 21, aufgenommen.

spaltung der acetylierten Scillabiose erfolgte mit 1 N abs. methanolischer Salzsäure und ergab aus VI, unter Eliminierung der tertiären OH-Gruppe an C-14, die Verbindung $C_{21}H_{32}O_3$, der die Konstitution des 3 β -Hydroxy-5 α -ätien-(14)-säure-methylesters (VII) zukommt. Das aus VII bereitete Acetylderivat VIII war bereits von PLATTNER und Mitarb.¹⁴⁾ beschrieben worden. Unser Präparat stimmte im Schmelzpunkt mit der Literaturangabe überein, besass jedoch einen geringeren positiven Drehwert. Hydrierung des Hydroxyesters VII lieferte unter Aufnahme von 1,0 Mol Wasserstoff den bekannten 3 β -Hydroxy-5 α -ätiansäure-methylester (IX)¹⁶⁾ vom Smp. 170–173°. Die Identifizierung unseres Präparates erfolgte durch Misch-Smp. mit einer authentischen Belegprobe¹⁷⁾ und durch den Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 3). Aus IX wurde ferner noch das Acetylderivat bereitet, das in allen Eigenschaften dem 3 β -Acetoxy-5 α -ätiansäure-methylester¹⁶⁾ entsprach.

Der aus Hexa-O-acetyl-scillaren A (II) gewonnene Δ^4 -Ätiansäureester V liess sich noch auf folgendem Weg mit einem bekannten Gallensäurederivat verknüpfen: Hydrolyse von V mit 1 N abs. methanolischer Salzsäure führte unter Abspaltung des Zuckerrestes und Dehydratisierung zum Ätiatrien-(3,5,14)-säure-methylester $C_{21}H_{28}O_2$ (XI). Das UV.-Spektrum von XI weist die für 3,5-Diene typischen Maxima¹⁸⁾ bei 225 und 235 m μ ($\log \epsilon = 4,31$ bzw. 4,34) auf. Die katalytische Hydrierung von XI mit Platin in Eisessig lieferte ein Gemisch der gesättigten Ester. Nach Chromatographie und mehrfacher Umkristallisation liess sich daraus eine einheitliche Verbindung $C_{21}H_{34}O_2$ isolieren, die durch Misch-Smp.¹⁷⁾ und Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 4) als 5 α -Ätiansäure-methylester (XII)¹⁹⁾ identifiziert wurde.

Die Überführung von Scillaren A (I) in die Ätiansäurederivate X und XII zeigte, dass sich auch Bufadienolide vom Scilla-Typus, die an C-4 eine zusätzliche Doppelbindung aufweisen, mit $KMnO_4$ ohne Komplikationen abbauen lassen. Damit waren die Voraussetzungen gegeben, den kürzlich beschriebenen oxydativen Abbau von 3-O-Acetyl-scillirosidin¹⁾ zu versuchen.

Experimenteller Teil²⁰⁾

Hexa-O-acetyl-scillaren A (II). Die Acetylierung von Scillaren A (I) wurde wie früher⁹⁾ mit Essigsäureanhydrid in Pyridin bei Zimmertemperatur durchgeführt. Nach mehrfachem Umkristallisieren des Rohproduktes aus Alkohol wurden feine Nadelchen vom Doppel-Smp. 205 bis 210/225–234²¹⁾ gewonnen; $[\alpha]_D^{20} = -72,0^\circ$ ($c = 0,507$ in Methanol) und $[\alpha]_D^{20} = -64,4^\circ$ ($c = 0,505$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: $\lambda_{max} = 300$ m μ ($\log \epsilon = 3,76$).

$C_{48}H_{64}O_{19}$ (944,99) Ber. C 61,0 H 6,8 O 32,2% Gef. C 60,8 H 6,9 O 32,1%

¹⁶⁾ M. STEIGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 20, 1040 (1937); L. RUZICKA, E. HARDEGGER & C. KAUTER, *Helv.* 27, 1164 (1944).

¹⁷⁾ Herrn PD. Dr. CH. TAMM danken wir für die freundliche Überlassung von Vergleichsproben.

¹⁸⁾ L. DORFMAN, *Chem. Reviews* 53, 47 (1953).

¹⁹⁾ R. TSCHESCHE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 68, 7 (1935).

²⁰⁾ Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Zur Bestimmung der optischen Drehwerte wurden die Präparate 1 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium (Dr. W. SCHÖNIGER) ausgeführt. Die UV.- und IR.-Spektren wurden in unserer Spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. LEEMANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen. Den Herren R. KUNCKLER und A. NUSSBAUMER danken wir für geschickte, experimentelle Mitarbeit.

²¹⁾ Hexa-O-acetyl-scillaren A existiert in mehreren Kristallmodifikationen. Aus Methanol kristallisiert, schmilzt das Präparat bei 159–162°; vgl. auch P. ZOLLER & CH. TAMM, *Helv.* 36, 1744 (1953).

Abbau von Hexa-O-acetyl-scillaren A (II). 10 g Hexa-O-acetyl-scillaren A⁹⁾ wurden in 500 ml Aceton gelöst und bei 0° bis +5° unter kräftiger Vibration 6 g fein pulverisiertes KMnO₄ zugesetzt. Es trat sofort leichte Erwärmung und Abscheidung von Braunstein auf. Nach 1 Std. wurden 3 g KMnO₄ und nach weiteren 2 Std. noch 2,5 g Permanganat zugegeben. Nach weiteren 2–3 Std. wurde das Aceton im Vakuum abgedampft, der Rückstand mit Wasser und verd. Schwefelsäure verrieben und die wässrige, kongosaure Suspension erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformextrakte wurden mit wenig Wasser nachgewaschen und im Vakuum eingedampft. Das rohe Oxydationsprodukt wurde in 750 ml Chloroform-Äther (2:1) aufgenommen und die sauren Anteile wie üblich durch mehrfaches Ausschütteln mit eiskalter 2N Sodalösung abgetrennt. Aus der neutral gewaschenen Chloroform-Äther-Phase wurden 3,56 g Neutralteil und aus den Sodaextrakten nach dem Ansäuern und Ausziehen mit Chloroform 4,94 g Säurefraktion erhalten.

Die *Säurefraktion* lieferte nach Methylierung mit Diazomethan 5,17 g rohes Estergemisch, das durch Chromatographie an neutralem Aluminiumoxyd weiter aufgetrennt wurde. Die mit Benzol und Benzol-Chloroform-Gemischen eluierten Fraktionen ergaben 2,60 g einheitlichen, kristallisierten Ester V. Das Präparat bildete nach dem Umkristallisieren aus Äther farblose Nadelchen vom Smp. 213–220°; $[\alpha]_D^{20} = -49,5^\circ$ ($c = 0,505$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Methanol: keine selektive Absorption. IR.-Spektrum siehe Fig. 1.

C ₄₅ H ₆₄ O ₁₉ (908,96)	Ber. C 59,5 Gef. „ 59,3	H 7,1 „ 7,1	O 33,5 „ 33,5	CH ₃ O 3,4% „ 3,6%
---	----------------------------	----------------	------------------	----------------------------------

Der *Neutralteil* wurde mit KMnO₄ in Aceton nachoxydiert und wie oben beschrieben aufgearbeitet. Es wurden 0,725 g rohe Säure (die zum Ester V verarbeitet wurde) und 1,64 g Neutralstoffe erhalten, die nicht kristallisierten. Chromatographie des Neutralteils an trockenem Silicagel lieferte 390 mg rohes Ketolacton III, das nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther bei 196–208° schmolz²²⁾; $[\alpha]_D^{20} = -94,4^\circ$ ($c = 0,514$ in Chloroform). UV.-Spektrum: $\lambda_{\max} = 354 \mu$ ($\log \epsilon = 1,61$). IR.-Spektrum siehe Fig. 2.

C ₄₅ H ₆₀ O ₁₉ (904,93)	Ber. C 59,7 Gef. C 59,5	H 6,7 H 7,0	O 33,6% O 33,7%
--	----------------------------	----------------	--------------------

Verseifung des Esters V mit KHCO₃ zu IV. 1 g Methylester V in 250 ml Methanol wurde mit einer Lösung von 1,25 g KHCO₃ in 50 ml Wasser versetzt und das Gemisch bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach 10 Tagen wurde die klare und farblose Lösung bei 30° (Badtemp.) auf 40 ml konzentriert und anschliessend mit Chloroform-Alkohol (3:1) mehrmals ausgeschüttelt. Aus den vereinigten, mit Wasser neutral gewaschenen Chloroform-Alkohol-Extrakten wurde nach dem Eindampfen 0,90 g krist. Ester IV gewonnen. Aus Methanol kristallisierte das Präparat zu büschelförmigen Nadeln vom Smp. 234–238°; $[\alpha]_D^{20} = -47,8^\circ$ ($c = 0,513$ in Methanol). Im IR.-Spektrum waren keine Acetatbanden festzustellen.

C ₃₃ H ₅₂ O ₁₃ (656,75)	Ber. C 60,4 Gef. C 60,5	H 8,0 H 8,0	O 31,7% O 31,4%
--	----------------------------	----------------	--------------------

Hydrierung des Esters V zu VI. 250 mg PtO₂·H₂O in 35 ml reinstem Eisessig wurden vorhydriert. Dazu gab man eine Lösung von 1 g V in 65 ml Eisessig und schüttelte unter Wasserstoff. Nach rund 40 Min. kam die Hydrierung zum Stillstand, nach Aufnahme von 1,2 Mol. H₂. Der Rückstand der filtrierten und eingedampften Lösung wurde an Aluminiumoxyd chromatographiert und lieferte 868 mg kristallisierten Methylester VI. Nach dem Umkristallisieren aus Äther schmolz das Präparat bei 231–236°; $[\alpha]_D^{20} = -45,7^\circ$ ($c = 0,493$ in Chloroform).

C ₄₅ H ₆₆ O ₁₉ (910,98)	Ber. C 59,3 Gef. „ 59,0	H 7,3 „ 7,5	O 33,4 „ 33,1	CH ₃ O 3,4% „ 3,6%
---	----------------------------	----------------	------------------	----------------------------------

Hydrolyse von VI zum 3β-Hydroxy-5α-ätiën-(14)-säure-methylester (VII). 500 mg Ester VI wurden mit 20 ml 1,07N abs. methanolischer HCl 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach dem Eindampfen nahm man den Rückstand, ein farbloses Öl, in Chloroform-Äther (1:1) auf und wusch mit Wasser neutral. Die Chf-Ac-Phase hinterliess nach dem Abdestillieren 188 mg rohen Ester VII, der zur weiteren Reinigung an neutralem Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Aus den mit Benzol-Chloroform-Gemischen eluierten Fraktionen wurden 140 mg kristallisierter

²²⁾ Vom Ketolacton III wurde aus Aceton-Äther auch eine Modifikation mit dem Smp. 246–253° erhalten.

Hydroxyester VII gewonnen. Das Präparat schmolz nach dem Umkristallisieren aus Äther-Petroläther bei 145–146°; $[\alpha]_D^{20} = +40,3^\circ$ ($c = 0,545$ in Chloroform).

$C_{21}H_{32}O_3$ (332,47) Ber. C 75,9 H 9,7 O 14,4% Gef. C 76,2 H 9,6 O 14,7%

3β-Acetoxy-5α-ätien-(14)-säure-methylester (VIII). 200 mg krist. Δ^{14} -Ester VII wurden wie üblich in abs. Pyridin mit Essigsäureanhydrid acetyliert, das rohe Acetat durch Chromatographie an Aluminiumoxyd gereinigt und die Hauptfraktion mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Der Acetoxyester VIII bildete prismatische Nadeln vom Smp. 113–116°²³); $[\alpha]_D^{20} = +22,6^\circ$ ($c = 0,508$ in Chloroform)²³).

$C_{23}H_{34}O_4$ (374,50) Ber. C 73,8 H 9,2 O 17,1% Gef. C 74,1 H 9,0 O 17,0%

Hydrierung von VII zum 3β-Hydroxy-5α-ätiansäure-methylester (IX). 400 mg Δ^{14} -Verbindung VII wurden in 50 ml Eisessig mit vorhydriertem Katalysator aus 100 mg PtO_2, H_2O unter Wasserstoff geschüttelt. Die Aufnahme von 1,0 Mol H_2 war nach ca. 50 Min. beendet. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde der Eisessig im Vakuum verdampft und der Rückstand an Aluminiumoxyd chromatographiert. Aus den Spitzenfraktionen wurden nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol prismatische Nadeln vom Smp. 170–173° erhalten; $[\alpha]_D^{20} = +52,0^\circ$ ($c = 0,490$ in Chloroform)²⁴). Misch-Smp. mit einem authentischen Vergleichspräparat von IX¹⁷) ohne Depression; der Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 3) bestätigte die Identität des Hydrierungsproduktes mit 3β-Hydroxy-5α-ätiansäure-methylester (IX)¹⁶).

$C_{21}H_{34}O_3$ Ber. C 75,4 H 10,3 O 14,4 CH_3O 9,3%
(334,48) Gef. „ 75,7 „ 10,2 „ 14,4 „ 9,4%

3β-Acetoxy-5α-ätiansäure-methylester (X). 170 mg krist. Mutterlaugen von IX wurden mit 2 ml Essigsäureanhydrid und 2 ml abs. Pyridin versetzt und 18 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte 190 mg rohes Acetat, das zur Reinigung an Aluminiumoxyd chromatographiert wurde. Man erhielt 130 mg einheitliche Acetylverbindung X in Form von feinen Blättchen mit dem Smp. 144–147°; $[\alpha]_D^{20} = +38,4^\circ$ ($c = 0,535$ in Chloroform)²⁵

$C_{23}H_{36}O_4$ (376,52) Ber. C 73,4 H 9,6 O 17,0 Gef. C 73,5 H 9,4 O 17,1%

Hydrolyse des Esters V zum Ätiatrien-(3,5,14)-säure-methylester (XI). 2 g Ester V wurden in 50 ml 1N abs. methanolischer HCl 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Die schwach gelblich gefärbte Lösung wurde anschliessend im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chloroform gelöst und mit Wasser neutral gewaschen. Aus der Chloroformphase erhielt man 660 mg kristallisierten Rückstand. Nach Chromatographie an Aluminiumoxyd und Umkristallisieren der Hauptfraktion aus abs. Alkohol wurde der Triensäureester XI in Form prismatischer Nadeln vom Smp. 140–143° gewonnen; $[\alpha]_D^{20} = -93,6^\circ$ ($c = 0,524$ in Chloroform). UV.-Spektrum: λ_{max} bei 228, 235 und 281,5 m μ ($\log \epsilon = 4,31; 4,34$ und 2,54).

$C_{21}H_{28}O_2$ (312,43) Ber. C 80,7 H 9,0 O 10,2% Gef. C 80,9 H 8,9 O 10,5%

Hydrierung von XI zum 5α-Ätiansäure-methylester (XII). Eine Lösung von 200 mg Trien-carbonsäure-methylester XI in 20 ml Eisessig wurde mit vorhydriertem Platinkatalysator (aus 120 mg PtO_2, H_2O) über Wasserstoff geschüttelt. Nach rund 80 Min. war die Hydrierung beendet und 3,1 Mol. H_2 aufgenommen worden. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Methanol versetzt. Es kristallisierten flache Blättchen vom Smp. 75–130°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol wurden sechseckige Blättchen vom Smp. 142–144° erhalten; $[\alpha]_D^{20} = +50,6^\circ$ ($c = 0,641$ in Chloroform). Misch-Smp. mit einem authentischen Testpräparat von XII¹⁷) ohne Depression; der Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 4) bestätigte das Vorliegen von 5α-Ätiansäure-methylester (XII)¹⁹).

$C_{21}H_{34}O_2$ (318,48) Ber. C 79,2 H 10,8 O 10,0% Gef. C 79,3 H 10,4 O 10,3%

²³) PLATTNER *et al.*¹⁴) gaben an: Smp. 114,5–115,5°; $[\alpha]_D^{14} = +29,6; +30,0^\circ$ ($c = 1,028; 1,143$ in Chf).

²⁴) M. STEIGER & T. REICHSTEIN¹⁶) fanden den Smp. 168–171°; A. KATZ (Helv. 47, 1399 (1958)) erhielt kürzlich folgende Werte: Smp. 165–176° und $[\alpha]_D^{20} = +49^\circ$ ($c = 1,02$ in Chloroform).

²⁵) M. STEIGER & T. REICHSTEIN¹⁶) fanden für X den Smp. 142–144°; RUZICKA und Mitarb.¹⁶) gaben einen Smp. von 149–150° und $[\alpha]_D^{20} = +36^\circ$ ($c = 1,60$ in Chloroform) an.

ZUSAMMENFASSUNG

Hexa-O-acetyl-scillaren A (II) wurde mit KMnO_4 in Aceton zu einem ungesättigten Ätiansäurederivat (V) abgebaut, das sich in 3 β -Hydroxy-5 α -ätiansäuremethylester (X) bzw. 5 α -Ätiansäuremethylester (XII) überführen liess. Die für *Scilla*-Glykoside charakteristische C-4-Doppelbindung wurde bei der Oxydation nicht angegriffen.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium SANDOZ, Basel

93. Synthesen auf dem Vitamin-B₁₂-Gebiet

1. Mitteilung

Gewinnung und Reinigung des Faktors V_{1a}

von K. Bernhauer¹⁾²⁾, Hw. Dellweg¹⁾, W. Friedrich¹⁾, G. Gross¹⁾,
F. Wagner²⁾ und P. Zeller³⁾

(3. III. 60)

Unter den Vitamin-B₁₂-Faktoren des Faulschlammes finden sich ausser zahlreichen nucleotidhaltigen Cobalamin-Analoga⁴⁾ auch nucleotidfreie Stoffe, z. B. die Faktoren B, Ib⁵⁾ und die Faktoren V⁶⁾, die auf Grund ihres elektrophoretischen Verhaltens eine bis fünf freie Carboxylgruppen besitzen (Faktoren V₁–V₅). Bei der Amidierung eines Gemisches dieser Stoffe oder der bei pH 6,5 elektrophoretisch getrennten Fraktionen der Mono- bis Tetra-Carbonsäuren erhält man zwei Substanzen, von denen sich eine als Faktor B erweist. Die zweite verhält sich elektrophoretisch wie Faktor B, wandert aber papierchromatographisch langsamer als dieser und ist mikrobiologisch inaktiv⁶⁾. Das Verhalten dieser Substanz wurde so gedeutet, dass den ihr zugrundeliegenden Carbonsäuren die 1-Amino-2-propanol-Gruppe fehlt. In der vorliegenden Arbeit wird die Isolierung und Reinigung einer solchen Säure beschrieben.

B₁₂-Konzentrate aus Faulschlamm, der aus Hefeabwasser stammte, wurden in einer Pilot-Anlage in Holzzellulose-Säulen chromatographisch aufgetrennt. Dabei konnte eine einheitliche Substanz isoliert werden, die sich als nucleotidfreie Monocarbonsäure erwies und die wir – da sie sich von anderen derartigen Monocarbonsäuren chromatographisch unterscheidet⁷⁾ – als Faktor V_{1a} bezeichnen.

¹⁾ Biochemisches Forschungslaboratorium der ASCHAFFENBURGER ZELLSTOFFWERKE AG., Stockstadt a. M.

²⁾ Lehrstuhl für Biochemie an der Technischen Hochschule, Stuttgart.

³⁾ Chemische Forschungsabteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel.

⁴⁾ W. FRIEDRICH & K. BERNHAUER, Biologie und Biochemie der natürlichen Vitamin-B₁₂-Analoga, in K. F. BAUER, Medizinische Grundlagenforschung, Bd. II, S. 661, G.-Thieme-Verlag, Stuttgart 1959.

⁵⁾ Hw. DELLWEG & K. BERNHAUER, Arch. Biochem. Biophysics 69, 74 (1957).

⁶⁾ K. BERNHAUER & W. FRIEDRICH, Angew. Chem. 66, 776 (1954).

⁷⁾ K. BERNHAUER, E. BECHER, G. GROSS & G. WILHARM, in Vorbereitung.