

## 249. Über die Autoxydation des Strophanthidins (1. Teil)

49. Mitteilung über Herzglykoside<sup>1)</sup>

von J. Binkert, E. Angliker und A. von Wartburg

(25. VIII. 62)

Seit längerer Zeit ist bekannt, dass 19-Oxo-cardenolide und 19-Oxo-bufadienolide (z. B. Corotoxigenin<sup>2)</sup>, Bovogenin A<sup>3)</sup>, Calotropagenin<sup>4)</sup>, Cannogenin<sup>5)</sup> usw.) in Lösung bei Luftzutritt grosse Neigung zur Autoxydation der 19-Aldehydgruppe aufweisen. Dabei entstehen die entsprechenden 19-Carbonsäuren.

Demgegenüber galten die 5- $\beta$ -Hydroxy-19-oxo-cardenolide (z. B. Strophanthidin) als relativ autoxydationsbeständig. Der 5-OH-Gruppe wurde eine stabilisierende Wirkung zugeschrieben<sup>5)</sup>.

REICHSTEIN und Mitarb.<sup>6)</sup> wiesen allerdings darauf hin, dass beim Stehenlassen von Strophanthidin oder dessen Glykosiden in Lösung im Papierchromatogramm eine Verbindung mit geringerem Rf-Wert als dem der Ausgangssubstanz auftritt. Diese Autoren vermuteten eine langsam verlaufende Oxydation der 19-Aldehydgruppe.

Kürzlich haben russische Autoren<sup>7)</sup> beschrieben, dass Strophanthidin in methanolischer Lösung beim Durchleiten von Sauerstoff rasch oxydiert wird, wobei Strophanthidin-19-carbonsäure entsteht.

Im Zusammenhang mit Haltbarkeitsprüfungen von Lösungen von Strophanthidin und seinen Glykosiden haben wir die oxydativen Veränderungen dieser Stoffe untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass die Konzentration der Lösungen einen Einfluss auf die Art der Oxydationsprodukte hat und dass die Geschwindigkeit der oxydativen Umwandlungen vom Lösungsmittel abhängig ist.

I. *Die Autoxydation von Strophanthidin und Cymar in verdünnten Lösungen.* Beim Stehenlassen einer 1-proz. Lösung von Strophanthidin in Aceton unter den im experimentellen Teil beschriebenen Bedingungen nahm der Gehalt an Strophanthidin rasch ab. Gleichzeitig entstand zur Hauptsache die bekannte Strophanthidin-19-carbonsäure<sup>8)</sup>. Der Reaktionsverlauf, der sich papierchromatographisch gut verfolgen lässt, ist in Fig. 1 graphisch dargestellt.

<sup>1)</sup> 48. Mitteilung: M. KUHN, H. LICHTI & A. VON WARTBURG, *Helv.* 45, 881 (1962).

<sup>2)</sup> A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 1073 (1952); O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 36, 370 (1953).

<sup>3)</sup> A. KATZ, *Pharmac. Acta Helv.* 29, 77 (1954).

<sup>4)</sup> W. GEIGER, G. HESSE, G. LETTENBAUER & H. SCHILDKNECHT, *Naturwiss.* 44, 328 (1957); *Liebigs Ann. Chem.* 625, 167 (1959).

<sup>5)</sup> T. GOLAB, C. H. TRABERT, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 2418 (1959).

<sup>6)</sup> R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 284 (1957); W. KREIS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 593 (1957).

<sup>7)</sup> M. B. GOROVICH, F. S. KHRISTULAS & N. K. ABUBAKIROV, *Ž. obšč. Chim.* 31, 1381 (1961), *Engl. Transl. J. general Chemistry USSR* 31, 1279 (1961).

<sup>8)</sup> W. A. JACOBS, *J. biol. Chemistry* 57, 553 (1923).

Nach 10 Stunden war nur noch die Hälfte des eingesetzten Strophanthidins nachweisbar, nach 48 Stunden weniger als 10%. Es konnten 40, bzw. 80% Strophanthidin-19-carbonsäure neben rund 10% Nebenprodukten nachgewiesen werden.

Entsprechend wurde auch 3-O-Acetyl-strophanthidin in 1-proz. acetonischer Lösung zu 3-O-Acetyl-strophanthidin-19-carbonsäure<sup>9)</sup> oxydiert.

Cymar in wurde in Aceton-Lösung gleich wie Strophanthidin autoxydiert, wobei zur Hauptsache Cymarylensäure<sup>10)</sup> entstand, die isoliert und als Methylester<sup>10)</sup> charakterisiert wurde. Auch hier traten Nebenprodukte nur in untergeordneter Menge auf. In der Tabelle 1 sind die Resultate der Autoxydation von Cymar in verschiedenen Lösungsmitteln zusammengestellt. Es geht daraus hervor, dass die Reaktionsgeschwindigkeit stark vom Lösungsmittel abhängig ist. Besonders rasch verläuft die Autoxydation in Aceton, sehr langsam dagegen in Methanol.

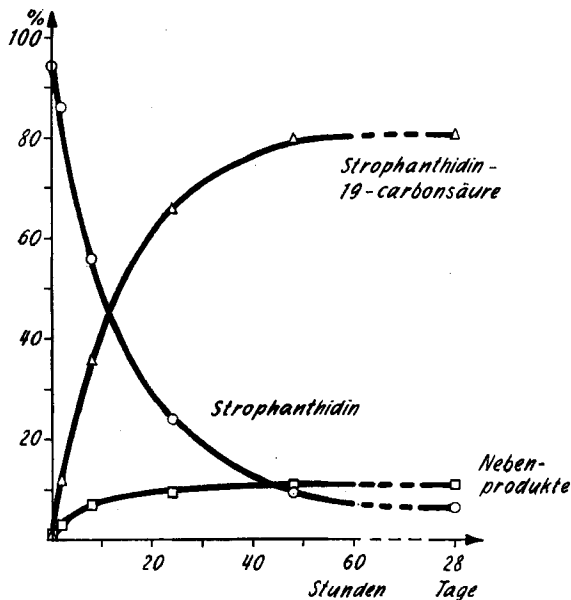


Fig. 1. Autoxydation einer 1-proz. Strophanthidin-Lösung in Aceton

Die angegebenen Werte wurden quantitativ papierchromatographisch bestimmt mit Hilfe der BALJET-Reaktion nach BELL & KRANTZ<sup>11)</sup>

II. Die Autoxydation von Strophanthidin in konzentrierten Lösungen. Überraschenderweise wurde gefunden, dass die Autoxydation in konzentrierter Lösung wesentlich anders verläuft.

Prüfte man eine gesättigte Strophanthidinlösung in Aceton (ca. 8-prozentig) in regelmäßigen zeitlichen Abständen im Papierchromatogramm, so stellte man folgendes fest:

<sup>9)</sup> H. KOEHLIN & T. REICHSTEIN, *Helv.* 30, 1673 (1947).

<sup>10)</sup> W. BLOME & T. REICHSTEIN, *Pharmac. Acta Helv.* 22, 235 (1947); L. KELLER & CH. TAMM, *Helv.* 42, 2467 (1959).

<sup>11)</sup> F. K. BELL & J. C. KRANTZ, *J. Amer. pharmac. Assoc. Sci. Edit.* 37, 297 (1948); 38, 107 (1949); E. E. KENNEDY, *ibid.* 39, 25 (1950).

Tabelle 1. *Autoxydation einer 1-proz. Cymarinlösung in verschiedenen Lösungsmitteln*  
 Die angegebenen Werte wurden quantitativ papierchromatographisch bestimmt mit Hilfe der Xanthhydrolreaktion von PESEZ<sup>12)</sup>

Lösungsmittel	Reaktionsdauer bei Zimmer- temperatur	Gefundene Reaktionsprodukte in % der Einwaage		
		Cymarin	Cymaryl- säure	Neben- produkte
Aceton	3 Std.	77	21	2
	24 Std.	12	78	10
	48 Std.	8	82	10
Chloroform	24 Std.	75	23	2
	40 Std.	42	45	13
	64 Std.	25	60	15
Methanol	40 Std.	95	2	3
	130 Std.	93	4	3
	215 Std.	90	6	4
Chloroform- Methanol (9:1)	18 Std.	90	8	2
	64 Std.	76	18	6
	135 Std.	49	41	10
	21 Tage	31	61	8
Chloroform- Methanol (1:1)	22 Std.	86	8	6
	44 Std.	84	11	5
	118 Std.	70	23	7
	20 Tage	52	42	6

Der Strophanthidin-19-carbonsäure-Fleck bildete sich langsamer als bei einer 1-proz. Strophanthidinlösung. Es trat ein neuer mit KEDDE-Reagens<sup>13)</sup> anfärbbarer Stoff auf mit einer Laufstrecke zwischen Strophanthidin und Strophanthidin-19-carbonsäure. Diese neue Verbindung bezeichneten wir als Aglykon A. Nach längerem Stehenlassen konnten noch zwei weitere, nur schwach sichtbare Substanzen (Aglykone B und C) nachgewiesen werden (vgl. Fig. 4), die nicht weiter untersucht wurden.

In Fig. 2 ist der Reaktionsverlauf einer 8-proz. Strophanthidinlösung in Aceton bei Luftzutritt papier- und Dünnschicht-chromatographisch festgehalten. Die Resultate der entsprechenden quantitativen Auswertungen sind in Fig. 3 graphisch dargestellt.

Die Reaktionsprodukte der Autoxydation liessen sich in eine saure und eine neutrale Fraktion aufteilen.

Die saure Fraktion wurde durch Methylieren mit Diazomethan in einen kristallisierten Methylester übergeführt, der sich nach Misch-Smp., Papierchromatogramm, optischer Drehung und Farbreaktion mit 84-proz. Schwefelsäure als identisch mit Strophanthidin-19-carbonsäure-methylester<sup>8)</sup> erwies.

<sup>12)</sup> A. PETIT, M. PESEZ, P. BELLET & G. AMIARD, Bull. Soc. chim. France [5] 17, 288 (1950); R. DEQUEKER & M. LOOBUYK, J. Pharmacy Pharmacol. 7, 522 (1955).

<sup>13)</sup> D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946, Pharmac. Weekblad 82, 741 (1947); Reaktion ausgeführt nach I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. 52, 643 (1952).

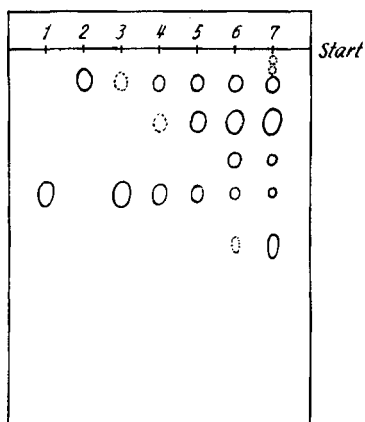


Fig. 2a. Papierchromatogramm

*Chromatogramme der Autoxydationsprodukte einer 8-proz. Strophanthidin-Lösung in Aceton*

System: Methyläthylketon-Xylol (1:1)  
mit Formamid gesättigt<sup>14a)</sup>  
pro Punkt 100  $\gamma$  Substanz aufgetragen;  
5 Std. durchlaufend;  
sichtbar gemacht mit KEDDE-Reagens<sup>13)</sup>

1 = Strophanthidin

2 = Strophanthidin-19-carbonsäure  
Reaktionsprodukte einer 8-proz. Strophanthidin-Lösung in Aceton unter Luftzutritt nach:

3: 5 Std.

4: 24 Std.

5: 48 Std.

6: 5 Tagen

7: 8 Tagen

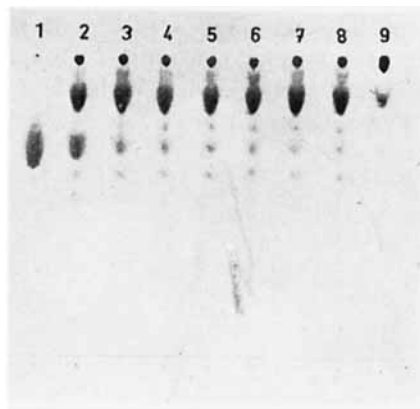


Fig. 2b. Dünnschichtchromatogramm

System: Chloroform-Alkohol (95:5); sichtbar gemacht mit 2,4,2',4'-Tetra-nitrodiphenyl-KOH<sup>14)</sup>;

Strophanthidin-Lösung in Aceton

1 = frisch hergestellt

2 = nach 24 Std.

3 = nach 48 Std.

4 = nach 3 Tagen

5 = nach 4 Tagen

6 = nach 7 Tagen

7 = nach 8 Tagen

8 = nach 10 Tagen

9 = Strophanthidin-19-carbonsäure (nicht völlig einheitlich)

Aus den neutralen Anteilen konnte durch Kristallisation aus Methanol-Äther eine papierchromatographisch einheitliche Substanz vom Doppel-Smp. 123–125°/212–213°,  $[\alpha]_D^{20} = +36^\circ$  in Methanol, isoliert werden. Dieses neutrale Hauptprodukt (Aglykon A) wies im UV. bei  $\lambda = 290\text{--}310\text{ m}\mu$  keine Carbonylabsorption auf. Im IR. fehlten die Aldehydbanden bei 2740 und 1720  $\text{cm}^{-1}$ <sup>15)</sup>. Aglykon A bildete kein Oxim und wurde durch Natriumborhydrid nicht reduziert. Der Neutralstoff wurde auch durch 15 Minuten Erwärmen auf 90° in 1-proz. Salzsäure in Alkohol-Wasser (1:1) nicht verändert. Dieser Befund schliesst die Struktur eines Cyclohalbacetales mit grosser Wahrscheinlichkeit aus. Die Analyse lieferte Werte, die der Formel  $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_8$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  entsprachen. Aglykon A enthält somit 1 C-Atom weniger als Strophanthidin. Bei der Bildung von Aglykon A konnte  $\text{CO}_2$  nachgewiesen werden<sup>15)</sup>.

<sup>14)</sup> Nach H. LICHTI, vgl. R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 284 (1957).

<sup>14a)</sup> F. KAISER, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).

<sup>15)</sup> Siehe folgende 50. Mitteilung, *Helv.* 45, 2139 (1962).

Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin ergab ein kristallisiertes Acetat, Smp. 238–243°,  $[\alpha]_D^{20} = +26^\circ$  in Methanol. Die Analysenwerte passten auf  $C_{24}H_{34}O_7$ , also ebenfalls auf eine um 1 C-Atom ärmere Formel als die des 3-O-Acetyl-strophanthidins ( $C_{25}H_{34}O_7$ ). Diese Verbindung konnte auch durch Autoxydation einer konzentrierten Lösung von 3-O-Acetyl-strophanthidin in Aceton gewonnen werden (vgl. Figur 4).

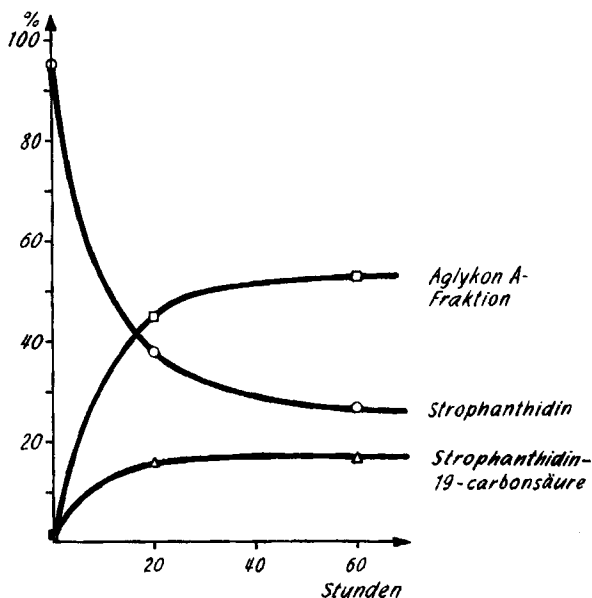


Fig. 3. Verlauf der Autoxydation einer gesättigten Strophanthidin-Lösung in Aceton  
Die angegebenen Werte wurden quantitativ papierchromatographisch bestimmt mit Hilfe der BALJET-Reaktion nach BELL & KRANTZ<sup>11)</sup>

III. Die Autoxydation von Cymar in konzentrierten Lösungen. Beim Cymar verlief die Autoxydation im allgemeinen rascher, mit besseren Ausbeuten und mit weniger Nebenprodukten als beim Strophanthidin. Die Unbeständigkeit einer 1-proz. Cymarlösung wurde in Tabelle 1 wiedergegeben. Im Vergleich dazu bildete eine 20-proz. Cymarlösung in Aceton unter Luftzutritt wesentlich weniger Cymaryl-säure, dafür aber recht viel von einem Neutralstoff D. Nach 5 Tagen konnten quantitativ papierchromatographisch nur 15% Cymaryl-säure, dafür aber 65% Neutralstoff D gefunden werden. Nach längerem Stehen liessen sich weitere Stoffe (E + F) im Papierchromatogramm (sichtbar mit KEDDE-Reagens) nachweisen, die nicht untersucht wurden (Fig. 5). Der Neutralstoff D liess sich durch Chromatographie an Amberlite-Mischharz von den sauren Nebenprodukten abtrennen. Dabei musste auf die Isolierung der Cymaryl-säure verzichtet werden, da diese nicht mehr vom Austauscherharz abgelöst werden konnte. Der Neutralstoff D kristallisierte aus Methanol in Form farbloser feiner Nadeln mit Doppelschmelzpunkt 129–131°/207–210°;  $[\alpha]_D^{20} = +33,7^\circ$  in Methanol. Die Analysenwerte ergaben eine Summenformel von  $C_{29}H_{44}O_9 \cdot H_2O$ , die um 1 C-Atom ärmer ist als diejenige von Cymar.

Der Neutralstoff D liess sich unter milden sauren Bedingungen in einen Aglykon- und einen Zuckerteil spalten. Die Aglykonfraktion gab negative Zuckerprüfung<sup>16)</sup> und kristallisierte aus Methanol-Äther in Form kurzer Prismen, Doppelschmelzpunkt 123–125°/212–213°. Gemäss Misch-Smp., Papierchromatogramm und Schwefelsäurefärbung ist das erhaltene Genin identisch mit Aglykon A. Der Zucker liess sich im Hochvakuum destillieren und zeigte im Papierchromatogramm (System Toluol-Methyläthylketon (1:1), Wasser gesättigt<sup>17)</sup>) mit Anilinphtalat-Reagens<sup>18)</sup> nur einen Fleck mit gleicher Laufstrecke wie Cymarose. Der Sirup gab in Wasser eine

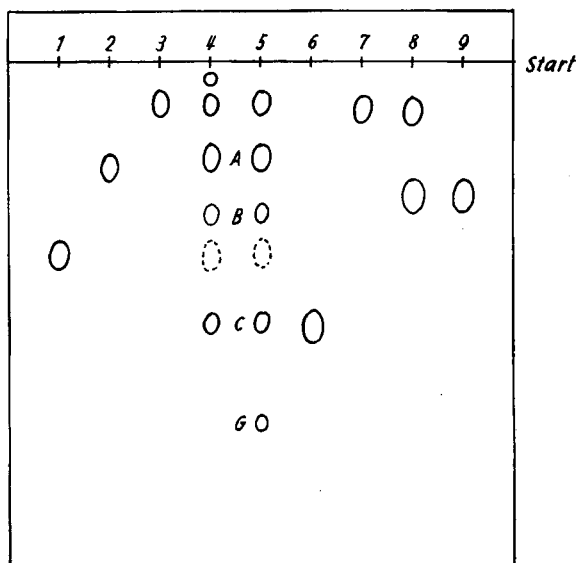


Fig. 4. Papierchromatogramm der Autoxydationsprodukte von Strophanthidin, 3-O-Acetyl-strophanthidin und der Hydrolysenprodukte des Autoxydationsgemisches von *k*-Strophanthosid

System: Methyläthylketon-Xylol (1:1), mit Formamid gesättigt;  
pro Punkt 100  $\gamma$  Substanz aufgetragen;  
5 Std. durchlaufend; sichtbar gemacht mit KEDDE-Reagens<sup>18)</sup>

- 1 = Strophanthidin
- 2 = Strophanthidol
- 3 = Strophanthidin-19-carbonsäure
- 4 = Autoxydationsprodukte einer 8-proz. Strophanthidin-Lösung in Aceton nach 8 Tagen
- 5 = Hydrolysenprodukt des Autoxydationsgemisches einer 15-proz. *k*-Strophanthosid-Lösung in Chloroform-Methanol nach 30 Tagen
- 6 = 3-O-Acetyl-strophanthidin
- 7 = 3-O-Acetyl-strophanthidin-19-carbonsäure
- 8 = Autoxydationsprodukte von 3-O-Acetyl-strophanthidin in Aceton nach 2 Tagen
- 9 = 3-O-Acetyl-aglykon A

<sup>16)</sup> P. R. O. BALLY, K. MOHR & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 1740 (1951).

<sup>17)</sup> O. RENKONEN & O. SCHINDLER, *Helv.* 39, 1490 (1956).

<sup>18)</sup> S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 443 (1949).

optische Drehung von  $[\alpha]_D^{20} = +55^{\circ 19}$ ). Nach diesen Befunden handelt es sich beim Neutralstoff D um Aglykon-A-cymarosid.

In Pyridin mit Essigsäureanhydrid bildete diese Verbindung ein kristallisiertes Acetat; Smp. 215–220°;  $[\alpha]_D^{20} = +43^{\circ}$  in Methanol. Die quantitative Acetylgruppen-Bestimmung als Hydroxylamin-Fe<sup>III</sup>-Komplex<sup>20</sup>) lieferte den Wert für eine Acetylgruppe (berechnet auf ein Molekulargewicht von 580). Die Analysenwerte passten auf die Formel C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>10</sub>.

Dasselbe Acetat konnte auch durch Stehenlassen einer 10-proz. Lösung von O-Acetyl-cymarin in Aceton unter Luftzutritt erhalten werden. Nach 48 Stunden Stehen isolierte man 70% O-Acetyl-cymarylsäure<sup>10</sup>) und 30% Neutralstoffe. Die O-Acetyl-cymarylsäure wurde als Cymarylsäure-methylester<sup>10</sup>) charakterisiert. Der

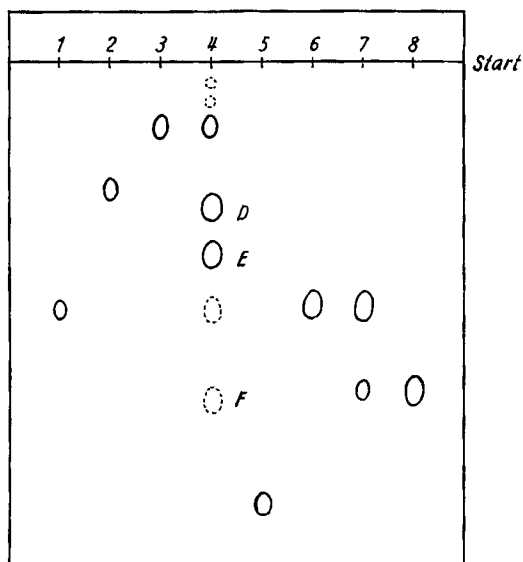


Fig. 5. Papierchromatogramm der Autoxydationsprodukte von Cymarin und O-Acetyl-cymarin in Aceton

System: Methyläthylketon-Xylol (1:1), mit Formamid gesättigt;  
pro Punkt 100  $\gamma$  Substanz aufgetragen;  
3 Std. durchlaufend; sichtbar gemacht mit KEDDE-Reagens<sup>13</sup>)

- 1 = Cymarin
- 2 = Cymarol
- 3 = Cymarylsäure
- 4 = Autoxydationsprodukte einer 20-proz. Cymarin-Lösung in Aceton nach 5 Tagen
- 5 = O-Acetyl-cymarin
- 6 = O-Acetyl-cymarylsäure
- 7 = Autoxydationsprodukte einer 10-proz. O-Acetyl-cymarin-Lösung in Aceton nach 2 Tagen
- 8 = Aglykon-A-O-acetyl-cymarosid

<sup>19</sup>) Nach D. A. PRINS, *Helv.* 29, 378 (1946), beträgt für Cymarose  $[\alpha]_D^{20} = +54,9^{\circ}$  ( $c = 0,583$  in Wasser).

<sup>20</sup>) Eine diesbezügliche Veröffentlichung ist in Vorbereitung; vgl. auch D. VINCENT & H. SCHWAL, *Ann. pharmac. franç.* 79, 673 (1961); G. BAUMGARTEN & L. NOVER, *Arch. Pharmaz.* 295, 311 (1962).

Neutralstoff kristallisierte aus Methanol-Äther und erwies sich nach Papierchromatogramm, Misch-Smp. und IR.-Spektren als identisch mit Aglykon-A-O-acetylcymarosid. Dieses Acetat liess sich mit  $\text{KHCO}_3$  zum Aglykon-A-cymarosid desacetylieren.

IV. *Die Autoxydation von k-Strophanthosid.* Auf Grund der günstigen Löslichkeits- und Kristallisations-Eigenschaften der Reaktionsprodukte wurde die Autoxydation zuerst an der Heptacetylverbindung studiert.

Aus einer 4-proz. Lösung von Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid in Aceton konnte nach 4tägigem Stehen an der Luft nur noch ein Stoff (Substanz P) mit einem geringeren Rf-Wert als dem der Ausgangssubstanz nachgewiesen werden (vgl. Fig. 6), der aus Methanol kristallisierte; Smp. 188–190°;  $[\alpha]_D^{20} = -3^\circ$  in Chloroform. Die Analyse ergab  $\text{C}_{66}\text{H}_{78}\text{O}_{27}$ . Es handelt sich um die bisher nicht beschriebene Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure, die wir auch durch Oxydation von Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid mit Chromtrioxid herstellen konnten. Die entsprechenden

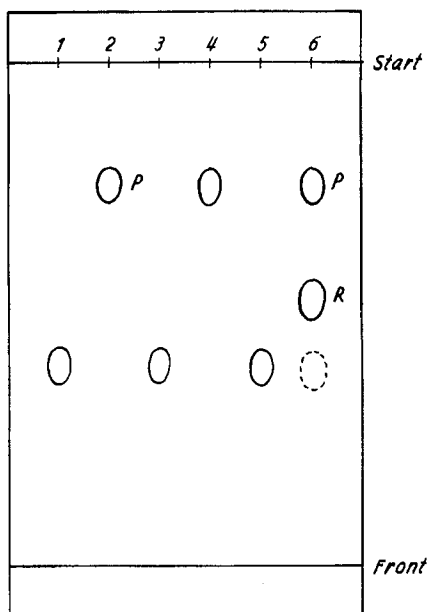


Fig. 6. *Papierchromatogramm der Autoxydationsprodukte von Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid*  
System: Methyläthylketon-Xylol (1:1), gesättigt mit Formamid;  
pro Punkt 100  $\gamma$  Substanz aufgetragen;  
sichtbar gemacht mit KEDDE-Reagens<sup>13)</sup>

- 1 = Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid
- 2 = Autoxydationsprodukt einer 4-proz. Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-Lösung in Aceton nach 4 Tagen (Substanz P)
- 3 = Methylester von Substanz P
- 4 = Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure
- 5 = Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure-methylester
- 6 = Autoxydationsprodukte einer 20-proz. Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-Lösung in Aceton nach 65 Stunden (Substanzen P und R; R = Aglykon-A-hepta-O-acetyl-k-strophanthosid)



Methylester waren ebenfalls identisch. Die Hydrolyse der freien Säure mit wässrig-methanolischer Salzsäure<sup>21)</sup> lieferte Strophanthidin-19-carbonsäure. Durch Desacetylierung mit Bariummethylat<sup>21)</sup> erhielt man eine bis jetzt nicht kristallisierende Substanz, bei der es sich um *k*-Strophanthosid-19-carbonsäure handeln dürfte (vgl. Substanz S in Fig. 7).

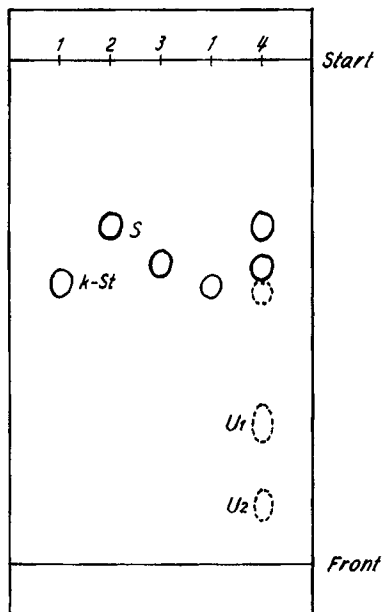


Fig. 7. Papierchromatogramm der Autoxydationsprodukte von *k*-Strophanthosid

System: *n*-Butanol-Alkohol-Phosphatpuffer,  $\frac{1}{15}$  M, pH 6,8 (50:35:15);  
pro Punkt 100  $\gamma$  Substanz aufgetragen;  
sichtbar gemacht mit KEDDE-Reagens<sup>18)</sup>

1 = *k*-Strophanthosid (*k*-St)

2 = Substanz S (*k*-Strophanthosid-19-carbonsäure), hergestellt aus Substanz P

3 = Aglykon-A-strophanthotriosid, hergestellt aus Substanz R

4 = Autoxydationsprodukte einer 15-proz. *k*-Strophanthosid-Lösung in Chloroform-Methanol (1:1) nach 30 Tagen

Die Autoxydation einer 20-proz. Lösung von Hepta-O-acetyl-*k*-strophanthosid in Aceton verlief, wie erwartet, weniger einheitlich als in der verdünnten Lösung. Nach 65 Std. wurden papierchromatographisch Spuren Ausgangsmaterial, 62% Hepta-O-acetyl-*k*-strophanthosid-19-carbonsäure und 31% eines Sekundärproduktes R (vgl. Fig. 6) gefunden. Durch Chromatographie an Aluminiumoxid erhielt man Substanz R, die aus Methanol in feinen Nadeln kristallisierte, Smp. 155–157°;  $[\alpha]_D^{20} = +5,2^\circ$  in Chloroform. Die Analyse passte auf  $C_{55}H_{78}O_{26}$ . In Analogie zu den oben beschriebenen neutralen Autoxydationsprodukten dürfte diese Verbindung Aglykon-A-hepta-O-acetyl-strophanthotriosid darstellen. Durch die nachfolgenden Abbaureaktionen wurde dies bestätigt. Die Desacetylierung mit Bariummethylat

<sup>21)</sup> A. STOLL, J. RENZ & W. KREIS, *Helv.* 20, 1484 (1937).

lieferte das freie Glykosid (Aglykon-A-strophanthotriosid, vgl. Fig. 7), das bisher nicht kristallisiert werden konnte. Durch saure Hydrolyse wurde daraus Aglykon A erhalten.

k-Strophanthosid wurde aus Löslichkeitsgründen in Chloroform-Methanol (1:1) der Autoxydation ausgesetzt. Die Reaktionsgeschwindigkeit war dementsprechend langsamer. Nach 30 Tagen zeigte eine 15-proz. k-Strophanthosid-Lösung in Chloroform-Methanol (1:1) die in Fig. 7 wiedergegebenen Sekundärprodukte. Neben der oben beschriebenen k-Strophanthosid-19-carbonsäure (Substanz S) und wenig Ausgangsmaterial konnten ein Stoff mit gleichem Rf-Wert wie Aglykon-A-strophanthotriosid und zwei nicht weiter untersuchte Nebenprodukte (U1 und U2) nachgewiesen werden. Die quantitative Zusammensetzung dieses Reaktionsgemisches ist aus Tab. 2, oberer Teil, ersichtlich. Es lieferte durch milde saure Hydrolyse eine Aglykonfraktion, in der papierchromatographisch neben Strophanthidin-19-carbonsäure und wenig Strophanthidin, Aglykon A und 3 weitere unbekannte Substanzen mit Laufstrecken wie die oben erwähnten Aglykone B, C und G nachgewiesen werden konnten (vgl. Tab. 2, unterer Teil, und Fig. 4).

V. *Allgemeine Bemerkungen.* Die vorliegenden Befunde bestätigen, dass Strophanthidin, dessen Glykoside und die entsprechenden Acetate der Autoxydation unterliegen. Auch die aus konzentrierten Lösungen isolierten Neutralstoffe stellen Autoxydationsprodukte dar, da ihre Bildung nur bei Anwesenheit von Sauerstoff erfolgt. In einem geschlossenen Gefäß stand die Reaktion still, sobald der vorhandene Sauerstoff verbraucht war. Unter Stickstoff aufbewahrte Strophanthidin-Lösungen in Aceton zeigten nach 2 Monaten keine Veränderungen. Die Autoxydation konnte ebenfalls durch einen Zusatz von Hydrochinon oder *p*-Aminophenol (0,2 bis 1 Gew.% zum Lösungsmittel) verhindert werden.

Tabelle 2. *Zusammensetzung der Autoxydationsprodukte einer 15-proz. k-Strophanthosid-Lösung in Chloroform-Methanol (1:1) nach 30 Tagen, und ihrer Hydrolysenprodukte*

Art der Umwandlung	Substanz	gefundener prozentualer Gehalt *)
Autoxydation vgl. Fig. 7 Startpunkt 4	Substanz S (k-Strophanthosid-19-carbonsäure)	38
	Aglykon-A-strophanthotriosid	20,5
	k-Strophanthosid	9
	Substanz U1	7,5
	Substanz U2	6
	Verlust	19
Hydrolyse der Autoxydationsprodukte vgl. Fig. 4 Startpunkt 5	Strophanthidin-19-carbonsäure	33
	Aglykon A	15
	Aglykon B	4,5
	Strophanthidin	8
	Aglykon C	5,5
	Aglykon G	4
	Verlust	30

\*) Quantitativ papierchromatographisch mit Hilfe der nach BELL & KRANTZ<sup>11)</sup> modifizierten BALJET-Reaktion bestimmt.

Die in der vorliegenden Arbeit isolierten Strophanthinderivate sind in Tabelle 3 zusammengestellt und mit bekannten Verbindungen verknüpft. In der folgenden Mitteilung berichten wir über die Konstitutionsermittlung von Aglykon A, dem neutralen Autoxydationsprodukt von Strophanthidin.

Tabelle 3. Übersichtsschema der Autoxydation von Strophanthidin, Cymar in und k-Strophanthosid

Ausgangsmaterial	Autoxydation	Hauptprodukte der Autoxydation
Strophanthidin $C_{23}H_{32}O_6$ Smp. 136–138°/ 177–178°/220–230° <sup>22)</sup> $[\alpha]_D^{25} = +43^\circ$ (Me) <sup>21)</sup>	→	Aglykon A $C_{22}H_{32}O_6$ Smp. 123–125°/ 212–213° $[\alpha]_D^{20} = +36^\circ$ (Me)
		+ Strophanthidin-19-carbonsäure $C_{23}H_{32}O_7$ Smp. 185° <sup>8)</sup> $[\alpha]_D^{25} = +55^\circ$ (Me) <sup>8)</sup>
3-O-Acetyl-strophanthidin $C_{25}H_{34}O_7$ Smp. 246–248° <sup>23)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +39^\circ$ (Me) = +56° (Chf) <sup>23)</sup>	→	3-O-Acetyl-aglykon A $C_{24}H_{34}O_7$ Smp. 238–243° $[\alpha]_D^{20} = +26^\circ$ (Me)
		+ 3-O-Acetyl-strophanthidin-19-carbonsäure $C_{25}H_{34}O_8$ Smp. 155°/237° <sup>9)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +46^\circ$ (Me) = +62° (Chf/Me)
Cymar in $C_{30}H_{44}O_9$ Smp. 148° <sup>21)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +39,2^\circ$ (Me) <sup>21)</sup>	→	Aglykon-A-cymarosid $C_{29}H_{44}O_9$ Smp. 129–131°/ 207–210° $[\alpha]_D^{20} = +33,7^\circ$ (Me)
		+ Cymarylsäure $C_{30}H_{44}O_{10}$ Smp. 152–155° <sup>10)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +22^\circ$ (Me)
O-Acetyl-cymar in $C_{32}H_{46}O_{10}$ Smp. 164° <sup>21)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +45^\circ$ (Me)	→	Aglykon-A-O-acetyl-cymarosid $C_{31}H_{46}O_{10}$ Smp. 215–220° $[\alpha]_D^{20} = +43^\circ$ (Me)
		+ O-Acetyl-cymarylsäure $C_{32}H_{46}O_{11}$ Smp. ~ 140° <sup>10)</sup>
k-Strophanthosid $C_{42}H_{64}O_{19}$ Smp. 199–200° <sup>21)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +13,8^\circ$ (Me) <sup>21)</sup>	→	Aglykon-A-strophanthotriosid $C_{41}H_{64}O_{19}$
		+ k-Strophanthosid-19-carbonsäure $C_{42}H_{64}O_{20}$
Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid $C_{56}H_{78}O_{26}$ Smp. 229–230° <sup>21)</sup> $[\alpha]_D^{20} = +8,0^\circ$ (Chf)	→	Aglykon-A-hepta-O-acetyl-strophanthotriosid $C_{55}H_{78}O_{26}$ Smp. 155–157° $[\alpha]_D^{20} = +5,2^\circ$ (Chf)
		+ Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure $C_{56}H_{78}O_{27}$ Smp. 188–190° $[\alpha]_D^{20} = -4,2^\circ$ (Chf)

Me = Methanol      Chf = Chloroform

<sup>22)</sup> W. A. JACOBS & M. HEIDELBERGER, J. biol. Chemistry 54, 253 (1922).

<sup>23)</sup> T. REICHSTEIN & H. ROSENMUND, Pharmac. Acta Helv. 15, 150 (1940).

Experimenteller Teil <sup>24)</sup>

**Ausführung der Papierchromatogramme:** Entsprechend früheren Angaben<sup>25)</sup> auf WHATMAN-Nr. 3-Papier, im System Methyläthylketon-Xylol (1:1), gesättigt mit Formamid. Die Aglykon-Chromatogramme wurden im Durchlaufverfahren 5–10 Std. abtropfen gelassen. Die polareren Glykoside trennte man im System *n*-Butanol-Alkohol-Phosphatpuffer,  $\frac{1}{15}$  M, pH = 6,8 (50:35:15), leichte Phase. Das Papier (WHATMAN Nr. 3) wurde mit Phosphatpuffer,  $\frac{1}{15}$  M, pH = 6,8, imprägniert und 15 Min. bei 100° getrocknet. Die Substanzen brachte man auf das trockene Papier und chromatographierte unmittelbar nach Substanzaufgabe. Laufzeit 9 Std. (auf Front) bis 20 Std. (durchlaufend). Zur Anfärbung der Substanzen besprühte man die getrockneten Papiere mit KEDDE-Reagens<sup>13)</sup>. Die Gehaltsbestimmung der quantitativen papierchromatographischen Analysen erfolgte mit Hilfe der modifizierten BALJET-Reaktion nach BELL & KRANTZ<sup>11)</sup> oder der PESEZ-DEQUEKER-Reaktion<sup>12)</sup>.

*Durchführung der Versuche mit quantitativ papierchromatographischer Bestimmung der Reaktionsprodukte.* Die in Fig. 1 und 3 sowie Tabelle 1 beschriebenen Versuche wie auch die Untersuchungen mit Zusätzen zum Lösungsmittel wurden wie folgt durchgeführt:

5 ml der entsprechend konzentrierten Substanzlösung wurden für 1- bis 10-proz. Lösungen in 100-ml-Schliffbirnen, für 15- und 20-proz. Lösungen in 300-ml-Schliffbirnen mit dicht schliessendem Stopfen eingefüllt, verschlossen und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach den angegebenen Zeiten wurden je 0,2 ml Lösung entnommen, verdünnt und quantitativ papierchromatographisch untersucht.

Die Versuche unter Stickstoffatmosphäre wurden in 10-ml-Ampullen durchgeführt, die je 1 ml einer Substanz-Stammlösung enthielten. Nach Verdrängen der Luft durch Stickstoff wurde zugeschmolzen. Für jede Bestimmung wurde eine Ampulle verwendet.

Die Dünnschichtchromatogramme wurden nach STAHL<sup>26)</sup> mit Kieselgel G «MERCK» als Trägersubstanz ausgeführt. Fließmittel: Chloroform mit 5–20% Alkohol. Der Substanznachweis erfolgte durch Besprühen mit 2, 4, 2', 4'-Tetranitrodiphenyl-KOH-Reagens<sup>14)</sup> oder einer 10-proz. Lösung von Schwefelsäure in Alkohol und Erwärmen auf 110°.

**Auoxydation von Strophanthidin.** – 2 g an Aluminiumoxid gereinigtes Strophanthidin wurden mit 20 ml Aceton versetzt. Die Suspension stand im Dunkeln unter losem Papierverschluss bei Zimmertemperatur. Sie wurde häufig umgeschwenkt; das verdunstete Lösungsmittel wurde laufend ergänzt. Während der ersten 3 Tage ging alles Strophanthidin in Lösung. Nach 8 Tagen war der Strophanthidinfleck im Papierchromatogramm verschwunden. Die Lösung wurde zur Trockne eingedampft, in 150 ml Chloroform-Alkohol (4:1) aufgenommen, dreimal mit je 10 ml 2N Sodalösung und fünfmal mit je 10 ml Wasser gewaschen und mit 50 ml Chloroform-Alkohol (4:1) nachextrahiert. Die über Natriumsulfat getrockneten organischen Phasen hinterliessen 1,2 g neutrale Anteile. Die Sodauszüge wurden mit 2N Schwefelsäure angesäuert und mit Chloroform-Alkohol (9:1) extrahiert. Aus den Sodaauszügen resultierten 406 mg Säuren (siehe unten).

*Aglykon A.* Der Neutralteil kristallisierte aus Methanol-Äther in Prismen (= Aglykon A), Doppel-Smp. 123–125°/212–213°<sup>27)</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = +36,0^\circ$  ( $c = 0,995$  in Methanol),  $+30,5^\circ$  ( $c = 0,651$  in Chloroform). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max} = 218 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 4,15$ ). LEGAL-Test: positiv. Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure: von gelb über gelborange nach orange.

$C_{22}H_{32}O_6, H_2O$  (410,5) Ber. C 64,4 H 8,3 O 27,3% Gef. C 64,9 H 8,0 O 27,7%

*Strophanthidin-19-carbonsäure-methylester.* Die 406 mg Säuren aus obigem Sodauszug wurden in 20 ml Methanol gelöst und bei 0° mit überschüssigem Diazomethan in ätherischer Lösung methyliert. Das Reaktionsgemisch wurde zur Trockne eingedampft. Der Rückstand kristalli-

<sup>24)</sup> Die Smp. wurden in einer Glaskapillare auf einem Kupferblock bestimmt und sind korrigiert. Substanzproben zur Bestimmung der Drehung wurden 1 Std. bei 100° und 0,1 Torr getrocknet. Die Mikroanalysen verdanken wir unserem Analytischen Laboratorium (Dr. W. SCHÖNIGER). Die Spektren wurden in unserer Spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. LEEEMANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen.

<sup>25)</sup> E. ANGLIKER, F. BARFUSS & J. RENZ, *Helv.* 41, 479 (1958).

<sup>26)</sup> E. STAHL, *Angew. Chem.* 73, 646 (1961).

<sup>27)</sup> Smp. auf KOFLER-Block bestimmt: 130–135°/205–218°.

sierte aus Methanol-Wasser in Nadeln, Smp. 151–155°;  $[\alpha]_D^{20} = +59^\circ$  ( $c = 0,600$  in Methanol). Misch-Smp. sowie Laufstrecke im Papierchromatogramm und Schwefelsäurefärbung wie authentischer Strophanthidin-19-carbonsäure-methylester<sup>8)</sup>).

$C_{24}H_{34}O_7$  (434,5) Ber. C 66,3 H 7,9 O 25,8% Gef. C 66,5 H 8,3 O 25,7%

*3-O-Acetyl-aglykon A.* 789 mg Aglykon A, gelöst in 5 ml Pyridin und 2 ml Essigsäureanhydrid, wurden 15 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung der farblosen Reaktionslösung gab 840 mg Rohprodukt, die aus Methanol-Äther in Form flacher Prismen kristallisierten, Smp. 238–243°<sup>28)</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = +26,2^\circ$  ( $c = 0,965$  in Methanol),  $+42,2^\circ$  ( $c = 0,665$  in Chloroform).

$C_{24}H_{34}O_7$  (434,5) Ber. C 66,3 H 7,9 O 25,8% Gef. C 66,9 H 7,7 O 25,7%

*Reduktionsversuch von Aglykon A mit Natriumborhydrid.* 105 mg Aglykon A, in 5 ml Methanol gelöst, wurden mit 60 mg Natriumborhydrid, gelöst in 1 ml Wasser, versetzt. Nach 4 Std. Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurde wie üblich aufgearbeitet, wobei 100 mg Ausgangsmaterial zurückgehalten wurden.

*Versuch der Oximherstellung von Aglykon A.* 100 mg Aglykon A, in 5 ml Methanol gelöst, wurden mit 100 mg Hydroxylamin-hydrochlorid, 150 mg Natriumacetat-trihydrat und 1 ml Wasser 1 Std. auf 60° erhitzt. Die Aufarbeitung lieferte nur unverändertes Ausgangsmaterial.

*Verhalten von Aglykon A gegen wässrig-alkoholische Salzsäure.* 110 mg Aglykon A, gelöst in 4 ml Alkohol, wurden mit 4 ml heisser 2-proz. wässriger Salzsäure versetzt. Nach 15 Min. Erwärmen auf 90° wurde aufgearbeitet. Es wurde Ausgangsmaterial mit Spuren von Nebenprodukten erhalten.

**Autoxydation von 3-O-Acetyl-strophanthidin.** – *a) In 1-proz. Lösung:* 1,0 g 3-O-Acetyl-strophanthidin, gelöst in 100 ml Aceton, wurde 48 Std. bei Luftzutritt im Dunkeln aufbewahrt. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand in 300 ml Chloroform-Äther (4:1) aufgenommen. Die übliche Aufarbeitung lieferte 850 mg Sodaauszug und 85 mg Neutralteil. Der Sodaauszug kristallisierte aus Chloroform in farblosen Nadeln, Smp. 236–241°;  $[\alpha]_D^{20} = +62,6^\circ$  ( $c = 1,035$  in Chloroform-Methanol 9:1),  $+46,2^\circ$  ( $c = 0,71$  in Methanol). Diese Substanz war nach Misch-Smp., Papierchromatogramm und IR.-Spektrum identisch mit 3-O-Acetyl-strophanthidin-19-carbonsäure<sup>9)</sup>.

*b) In 10-proz. Lösung:* 100 mg 3-O-Acetyl-strophanthidin, in 1 ml Aceton gelöst, standen 48 Std. bei Luftzutritt im Dunkeln. Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels lieferte die übliche Aufarbeitung in Chloroform-Äther (4:1) 15 mg Säuren und 80 mg Neutralteil. Letzterer kristallisierte aus Methanol-Äther in Prismen, Smp. 234–239°; nach Misch-Smp. und Papierchromatogramm identisch mit 3-O-Acetyl-aglykon A.

**Autoxydation von Cymarin.** – Eine Lösung von 5 g Cymarin in 25 ml Aceton wurde 5 Tage unter losem Papierverschluss im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Das verdunstete Aceton wurde jeweils ergänzt. Dann brachte man zur Trockne, nahm den Rückstand in 240 ml Chloroform-Äther (3:1) auf und schüttelte rasch dreimal mit je 20 ml eiskalter 2N Sodalösung und fünfmal mit je 10 ml Wasser aus. Sodalösung und Waschwasser wurden zweimal mit je 50 ml Chloroform-Äther (3:1) nachextrahiert (Aufarbeitung der Sodalösung vgl. unten). Die über Natriumsulfat getrockneten organischen Auszüge lieferten beim Eindampfen 2,65 g Neutralteil.

*Aglykon-A-cymarosid.* Der Neutralteil gab aus Methanol 1,822 g farblose, feine Nadeln; Doppel-Smp. 129–131°/207–210°;  $[\alpha]_D^{20} = +33,7^\circ$  ( $c = 1,060$  in Methanol),  $+29,6^\circ$  ( $c = 0,810$  in Chloroform). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max} = 218 m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,24$ ).

$C_{29}H_{44}O_9, H_2O$  (554,6) Ber. C 62,8 H 8,3 O 28,8% Gef. C 62,6 H 8,0 O 28,0%

Lactontitration: 30,825 mg Substanz verbrauchten 5,21 ml 0,01N Natronlauge; Äqu.-Gew. gef. 592. LEGAL-Test positiv, Tetranitromethanprobe in Chloroform negativ. Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure: von gelb über braungelb nach kastanienbraun.

Isolierung von Aglykon-A-cymarosid bei Verwendung von Amberlite-Mischharz MB 2: 5 ml einer 20-proz. acetonischen Lösung von Cymarin verweilten 7 Tage in einer 300-ml-Schliffbirne dicht verschlossen im Dunkeln bei Zimmertemperatur. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand (964 mg) wurde in 100 ml Methanol aufgenommen. Diese Lösung tropfte

<sup>28)</sup> Smp. auf KOFLER-Block bestimmt: 263–272°.

langsam durch eine Chromatographiesäule von 2 cm Durchmesser, die mit 40 ml Methanol gewaschenem Amberlite-Mischharz MB 2 beschickt war. Die Austauschersäule wurde mit 20 ml Methanol nachgewaschen. Die vereinigten Eluate gaben nach dem Eindampfen 665 mg Rückstand. Dieser kristallisierte aus Methanol-Äther in kurzen Prismen. Nach Umkristallisieren aus Methanol-Äther resultierten 420 mg Kristalle, Smp. 129–131°/207–210°.

**Cymarylsäure.** Die bei der Herstellung von Aglykon-A-cymarosid erhaltenen Sodauszüge und Washwasser wurden sofort mit 2N Schwefelsäure angesäuert und sechsmal mit je 200 ml Chloroform-Äther (1:3) ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Natriumsulfat getrockneten Auszüge lieferten beim Eindampfen 2,1 g saure Anteile. Aus Methanol-Äther kristallisierte Cymarylsäure in Form kurzer Spiesse; Smp. 152–155° (Sintern ab 150°);  $[\alpha]_D^{20} = +22,0^\circ$  ( $c = 1,062$  in Chloroform)<sup>29</sup>).

**Cymarylsäure-methylester.** Eine Lösung von 1,5 g obiger Cymarylsäure in 25 ml Methanol liess man bei 0° mit überschüssiger ätherischen Diazomethanlösung 10 Min. stehen. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels, Aufnehmen des Rückstandes in Chloroform, Waschen mit 2N Sodalösung und Wasser, Trocknen und Eindampfen der organischen Phase erhielt man 1,2 g Schaum. Dieser gab aus Aceton-Äther 953 mg Nadeln; nach weiterem zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol-Äther, Smp. 220–222°;  $[\alpha]_D^{20} = +54,5^\circ$  ( $c = 1,06$  in Methanol)<sup>30</sup>).

$C_{31}H_{48}O_{10}$  (578,7) Ber. C 64,3 H 8,0 O 27,6% Gef. C 64,3 H 8,1 O 27,3%

**Aglykon-A-O-acetyl-cymarosid.** 755 mg Aglykon-A-cymarosid, in 3 ml Pyridin gelöst, liess man 15 Std. mit 2 ml Essigsäureanhydrid bei Zimmertemperatur stehen. Die übliche Aufarbeitung der hellgelben Reaktionslösung lieferte einen Schaum, der aus Methanol-Äther in kurzen Prismen kristallisierte, Smp. 215–220°;  $[\alpha]_D^{20} = +42,5^\circ$  ( $c = 0,66$  in Chloroform),  $+43,0^\circ$  ( $c = 0,565$  in Methanol). Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure: von grüngelb über gelbbraun nach rotbraun.

$C_{31}H_{48}O_{10}$  (578,7) Ber. C 64,3 H 8,0 O 27,6% Gef. C 64,9 H 7,9 O 27,7%

**Saure Hydrolyse von Aglykon-A-cymarosid.** – a) **Aglykon A:** 2,65 g Aglykon-A-cymarosid wurden in 50 ml heissem Methanol gelöst, mit 50 ml heisser 0,1N Schwefelsäure versetzt und 40 Min. auf 70° erwärmt. Nach dem Abdampfen des Methanols wurde im Vakuum unter Zugabe von 50 ml Wasser nochmals 30 Min. auf 60° erwärmt. Dann schüttelte man fünfmal mit je 100 ml Chloroform-Alkohol (9:1) aus und wusch zweimal mit je 10 ml Wasser. Die über Natriumsulfat getrocknete organische Phase ergab nach dem Eindampfen 2,1 g Rückstand. Dieser lieferte aus Methanol nach zweimaligem Umkristallisieren 785 mg kurze Prismen mit Doppel-Smp. 123–125°/212–213°. Das Präparat erwies sich nach Misch-Smp., Papierchromatogramm und Schwefelsäurefärbung als identisch mit Aglykon A.

b) **Cymarose:** Die wässrige Phase der obigen sauren Hydrolyse wurde an Amberlite-Mischharz MB 2 von Ionen befreit. Die neutrale, Sulfat-Ionen-freie Lösung lieferte nach dem Einengen im Vakuum bei 45° Badtemperatur einen Sirup, der im Hochvakuum bei 85° Badtemperatur destilliert wurde. Das Destillat ergab im Papierchromatogramm (System Toluol-Methyläthylketon (1:1), Wasser gesättigt<sup>17</sup>) bei der Anfärbung mit saurem Anilinphthalat-Reagens<sup>18</sup>) nur 1 Fleck mit gleicher Laufstrecke und Färbung wie Cymarose. Der Sirup gab  $[\alpha]_D^{20} = +55,3^\circ$  ( $c = 0,62$  in Wasser).

**Autoxydation von O-Acetyl-cyamarin.** – a) **In 2-proz. acetonischer Lösung:** 50 mg O-Acetyl-cyamarin verweilten 48 Std., in 2,5 ml Aceton gelöst, in einem 100-ml-Schliffkölbchen. Dann wurde das Lösungsmittel abgedampft und der Rückstand in Chloroform-Äther (1:3) aufgenommen. Die sauren Anteile wurden der organischen Lösung durch Ausschütteln mit eiskalter 2N Sodalösung entzogen. Die organische Phase lieferte nach Eindampfen 2 mg Rückstand. Die Sodauszüge wurden sofort mit 2N Schwefelsäure angesäuert und mit Chloroform-Äther (1:3) erschöpfend ausgezogen. Man erhielt 45 mg Säuren, die gemäss Prüfung im Papierchromatogramm nur O-Acetyl-cymarylsäure darstellten.

<sup>29</sup>) L. KELLER & CH. TAMM<sup>10</sup>) geben für Cymarylsäure an: Smp. 154–157°;  $[\alpha]_D^{23} = +21,8^\circ$  (in Chloroform).

<sup>30</sup>) W. BLOME & T. REICHSTEIN<sup>10</sup>) geben für Cymarylsäure-methylester an: Smp. 231–233°;  $[\alpha]_D^{15} = +58,6^\circ$  ( $c = 1,86$  in Chloroform). L. KELLER & CH. TAMM<sup>10</sup>) geben an: Smp. 225–226°;  $[\alpha]_D^{22} = +56,5^\circ$  ( $c = 1,098$  in Methanol).

b) *In 10-proz. acetonischer Lösung:* 2 g O-Acetyl-cymarín liess man zwei Tage im Dunkeln in 20 ml Aceton gelöst unter losem Papierverschluss stehen. Dann wurde zur Trockne eingedampft und in 320 ml Chloroform-Äther (1:3) aufgenommen. Nach dreimal Waschen mit je 10 ml eiskalter 2N Sodalösung und sechsmal mit je 10 ml Wasser wurde über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es wurden 613 mg Neutralprodukt erhalten, die aus Methanol-Äther in feinen Nadeln kristallisierten, Smp. 215–220°. Schwefelsäurefärbung und Laufstrecke im Papierchromatogramm waren gleich wie bei Aglykon-A-O-acetyl-cymarosid; Misch-Smp. ohne Depression. Die Sodalösungen wurden wie unter a) aufgearbeitet und lieferten nicht kristallisierende 1,2 g Säuren. 780 mg davon wurden in 20 ml Methanol gelöst, die Lösung wurde auf 4° abgekühlt und mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach 15 Min. Stehen unter Eiskühlung dampfte man die Lösung im Vakuum zur Trockne ein. Der Rückstand liess sich nicht kristallisieren. 720 mg davon löste man in 50 ml Methanol und versetzte mit 20 ml 5-proz. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung. Nach 15 Tagen Stehen bei Zimmertemperatur wurde im Vakuum bei 20° Badtemperatur auf 15 ml konzentriert. Die erhaltene Suspension wurde fünfmal mit je 100 ml Chloroform-Äther (1:3) extrahiert. Die mit Wasser gewaschenen Auszüge lieferten beim Eindampfen 651 mg weissen Schaum, der aus Aceton-Äther in kurzen, zu Büscheln verwachsenen Spiessen kristallisierte, Smp. 220–222°; gemäss Papierchromatogramm, Schwefelsäurefärbung und IR.-Spektrum war er identisch mit Cymarylensäure-methylester.

*Verseifung von Aglykon-A-O-acetyl-cymarosid.* 160 mg Aglykon-A-O-acetyl-cymarosid, gelöst in 10 ml Methanol, wurden mit 3 ml 5-proz. Kaliumhydrogencarbonat-Lösung versetzt. Die Aufarbeitung nach 5 Tagen lieferte 90 mg rohes Neutralprodukt, das aus Methanol-Äther kristallisierte einen Doppel-Smp. von 128–130°/208–210° aufwies; Misch-Smp. mit Aglykon-A-cymarosid, aus Cymarín hergestellt, ohne Depression.

**Autoxydation von Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid.** – a) *In 4-proz. acetonischer Lösung:* Eine Lösung von 2 g Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid in 50 ml Aceton wurde nach einer Verweilzeit von 92 Stunden bei Luftzutritt zur Trockne gebracht. Der Rückstand kristallisierte aus Methanol in feinen Nadeln von *Substanz P* (Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure), Smp. 188–190°;  $[\alpha]_D^{20} = -3,0^\circ$  ( $c = 1,09$  in Chloroform). Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure: von gelbbraun über orangefot nach weinrot.

$C_{56}H_{78}O_{27}$  (1183,2) Ber. C 56,9 H 6,6 O 36,5% Gef. C 56,7 H 6,8 O 36,5%

*Methylester von Substanz P* (Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure-methylester). 1,0 g *Substanz P* wurde in 20 ml Methanol gelöst und bei 0° mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach 10 Min. wurde das Reaktionsgemisch im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand kristallisierte bis jetzt nicht, zeigte aber im Papierchromatogramm nur 1 Fleck (vgl. Fig. 6, Startpunkt 3). Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure: von gelb über gelbbraun nach rotbraun.

*Vergleichspräparate.* – 1) *Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure:* 2,009 g Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid, gelöst in 20 ml Eisessig, wurden mit 12 ml 2-proz. Chromtrioxid in Eisessig 20 Std. stehengelassen. Der Überschuss an Chromtrioxid wurde durch Zugabe von 1 ml Methanol zerstört. Nach dem Konzentrieren im Vakuum zum Sirup wurde dieser in 200 ml Chloroform-Äther (3:1) aufgenommen, viermal mit je 10 ml 1N Schwefelsäure und zehnmal mit je 10 ml Wasser gewaschen. Die organische Phase lieferte beim Eindampfen 1,930 g hellgrünen Schaum. Dieser wurde an 30 g Aluminiumoxid chromatographiert. Die mit Chloroform-Methanol (95:5) bis (9:1) eluierten Anteile (1,303 g) kristallisierten aus Methanol in feinen Nadeln vom Smp. 188–190°;  $[\alpha]_D^{20} = -4,2^\circ$  ( $c = 1,02$  in Chloroform). Misch-Smp. mit *Substanz P* ohne Depression. Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure sowie die Laufstrecke im Papierchromatogramm (vgl. Fig. 6, Startpunkt 4) gleich wie bei *Substanz P*.

2) *Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure-methylester:* 243 mg Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure, in 5 ml Methanol gelöst, wurden bei 0° mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Nach Eindampfen der Reaktionslösung resultierten 240 mg Rohprodukt, die im Papierchromatogramm beim Besprühen mit KEDDE-Reagens nur 1 Fleck (Startpunkt 5 in Fig. 6) erkennen liessen.

b) *In 20-proz. acetonischer Lösung:* 1,00 g Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid wurde, in 5 ml Aceton gelöst, 65 Std. bei Luftzutritt stehengelassen. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Im Rückstand wurden die Komponenten quantitativ papierchromatographisch bestimmt.

Es konnten 4% intaktes Ausgangsmaterial, 62% Substanz P (Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure) und 31% Substanz R nachgewiesen werden.

900 mg des Reaktionsgemisches wurden an 30 g Aluminiumoxid chromatographiert. Mit Chloroform-0,5% Methanol liessen sich 273 mg Substanz R, mit Chloroform-Methanol (95:5) bis (1:1) 487 mg Substanz P eluieren.

**Substanz R** (Aglykon-A-hepta-O-acetyl-strophanthotriosid). Aus Methanol feine Nadeln, Smp. 155–157°;  $[\alpha]_D^{20} = +5,2^\circ$  ( $c = 1,05$  in Chloroform). UV.-Spektrum:  $\lambda_{max} = 218 m\mu$  ( $\log \epsilon = 4,23$ ), keine Absorption bei  $\lambda = 290$ –310  $m\mu$ . Färbung mit 84-proz. Schwefelsäure: von grün über oliv, rötlichbraun nach gelbbraun.

$C_{55}H_{78}O_{28}$  (1155,2) Ber. C 57,2 H 6,8 O 36,0% Gef. C 57,5 H 7,0 O 35,9%

**Desacetylierung von Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure** (Substanz P). Die Lösung von 109 mg im Hochvakuum getrockneter Substanz P in 10 ml Methanol liess man 2 Std. mit 0,5 ml ca. 0,3N Bariummethylatlösung stehen. Anschliessend neutralisierte man mit 1,65 ml 0,1N Schwefelsäure, liess 10 Min. stehen, fügte wenig *Hyflo* zu und filtrierte. Das klare Filtrat ergab nach dem Eindampfen 75 mg Rückstand, der im Papierchromatogramm nur *eine* mit KEDDE-Reagens anfärbbare Substanz aufwies (Substanz S, k-Strophanthosid-19-carbonsäure, vgl. Fig. 7, Startpunkt 2).

**Saure Hydrolyse von k-Strophanthosid-19-carbonsäure** (Substanz S). 70 mg Substanz S hydrolysierte man mit 5 ml 0,05 N methanolisch-wässriger Schwefelsäure 60 Min. bei 70°. Übliche Aufarbeitung durch Aufnehmen in Chloroform-Alkohol (9:1) lieferte 28 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm gleiche Laufstrecke wie Strophanthidin-19-carbonsäure aufwies.

**Saure Hydrolyse von Hepta-O-acetyl-k-strophanthosid-19-carbonsäure** (Substanz P). 400 mg Substanz P wurden in 10 ml Methanol gelöst, mit 5 ml 1-proz. Salzsäure versetzt und 4 Std. auf 70° erwärmt. Nach Zugabe von 10 ml Wasser wurde fünfmal mit je 50 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden mit Wasser, dann zweimal mit je 10 ml 2N Sodalösung gewaschen. Die Sodalösungen stellte man sofort mit Salzsäure auf pH 5, engte auf 20 ml ein und extrahierte erschöpfend mit Chloroform. Diese Chloroformlösungen gaben nach Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen 94 mg Rückstand, die im Papierchromatogramm nur den Fleck von Strophanthidin-19-carbonsäure zeigten.

**Aglykon-A-strophanthotriosid**. 114 mg im Hochvakuum getrocknetes Aglykon-A-hepta-O-acetyl-strophanthotriosid (Substanz R) wurden, in 10 ml Methanol gelöst, mit ca. 0,3N Bariummethylatlösung 2 Std. verseift. Nach Verdünnen auf 30 ml mit Methanol wurden 8 g frisch mit Methanol gewaschenes *Amerlite*-Mischharz MB 2 zugegeben, 10 Min. gerührt, filtriert und das klare Filtrat zur Trockne gebracht. Der Rückstand (89 mg) kristallisierte bis jetzt noch nicht. Nach dem Papierchromatogramm beurteilt, handelte es sich um reines Aglykon-A-strophanthotriosid (vgl. Fig. 7, Startpunkt 3).

**Saure Hydrolyse von Aglykon-A-strophanthotriosid**. 80 mg Substanz wurden mit 10 ml 0,05 N methanolisch-wässriger Schwefelsäure 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Zugabe von 5 ml Wasser wurde viermal mit je 20 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge wurden mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Es resultierten 45 mg weisser Schaum, der aus Methanol-Äther nach Animpfen mit Aglykon A sofort kristallisierte, Smp. 121–124°/206–209°. Im Papierchromatogramm zeigte das Hydrolysenprodukt die gleiche Laufstrecke wie Aglykon A.

**Autoxydation von k-Strophanthosid**. – 3,0 g k-Strophanthosid verweilten, in einem 1-Liter-Kolben verschlossen, 30 Tage in 20 ml Chloroform-Methanol (1:1) gelöst im Dunkeln. Die Prüfung der Reaktionslösung im quantitativen Papierchromatogramm ergab die in Tabelle 2, oberer Teil, aufgeführten Resultate. Der nach dem Entfernen des Lösungsmittels erhaltene Rückstand wog 2,95 g. 1,744 g davon wurde mit 50 ml 0,05 N methanolisch-wässriger Schwefelsäure 60 Min. bei 70° gespalten. Dann wurde unter Zugabe von 25 ml Wasser im Vakuum das Methanol entfernt. Die wässrige Lösung wurde viermal mit je 100 ml Chloroform-Alkohol (9:1) ausgezogen. Die mit Wasser gewaschenen Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 776 mg Rohprodukt. Die quantitativ-papierchromatographische Prüfung dieses Rohproduktes ergab die in Tab. 2, unterer Teil, aufgeführte Zusammensetzung (vgl. auch Fig. 4, Startpunkt 5).

**Autoxydation von Cymarin bei beschränktem Sauerstoffangebot**. – 2192 mg Cymarin (4 mMol), gelöst in 10 ml Aceton, standen 16 Tage in einem dicht verschlossenen Gefäss



von 133 ml Inhalt. Das Autoxydationsgemisch (2141 mg) wies dann die in Tabelle 4 angegebene Zusammensetzung auf. Die vorhandene Luftmenge (123 ml bei 22°) entsprach 25,8 ml entspr. 1,15 mMol Sauerstoff. Da bei der Bildung von 1 Mol Aglykon-A-cymarosid 1 Mol Kohlendioxid freigesetzt wird<sup>16)</sup>, muss für diese Reaktion 1 Mol Sauerstoff verbraucht werden. Zur Autoxydation von 1 Mol Cymarin zu Cymarylsäure wird nur  $\frac{1}{2}$  Mol. Sauerstoff benötigt. Die Übereinstimmung von vorhandener Sauerstoffmenge (1,15 mMol) mit einer für die Autoxydation zu 1 mMol Aglykon-A-cymarosid und 0,3 mMol Cymarylsäure benötigten Menge war wie ersichtlich recht gut.

Tabelle 4. *Zusammensetzung des Autoxydationsproduktes einer 20-proz. Cymarin-Lösung in Aceton bei Sauerstoffunterschuss*

Luftvolumen: 123 ml; eingesetztes Cymarin: 2192 mg;  
erhaltenes Autoxydationsprodukt: 2141 mg

Substanz	Mol- gewicht	gefundene Menge		
		in % *)	in mg	in mMol
Cymarin . . . . .	548	62	1327	2,4
Aglykon-A-cymarosid. .	536	24,6	526	1,0
Cymarylsäure . . . . .	564	8	171	0,3
Verlust . . . . .	—	5,4	116	—

\*) Die angegebenen Werte wurden quantitativ papierchromatographisch bestimmt mit Hilfe der modifizierten BALJET-Reaktion nach BELL & KRANTZ<sup>11)</sup>.

#### SUMMARY

It is shown that in presence of air solutions of strophanthidine, its glycosides and its acetyl derivatives are rapidly autoxidized. With small concentrations of material, chiefly the corresponding 19-carboxylic acids are formed.

With higher concentrations, a good yield of neutral reaction products is obtained besides. These products have one C atom less than the corresponding starting materials of the strophanthidine series.

The new oxidation products could be derived from a parent substance which is called aglycone A and which has been produced from strophanthidine.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien  
SANDOZ AG., Basel