

SUMMARY

The radiation chemistry of liquid toluene has been studied between -80 and $+180^{\circ}\text{C}$ and from 1–100 Mrad. The yields of the isomeric bitolyls, phenyltoluenes, benzyl-methyl-cyclohexadienes, xylenes and of bibenzyl have been measured. The production of the bitolyls increases with temperature, but the ratio of the six isomeres remains constant. The percentage of the *o,o'*-isomer is much lower than expected. The benzyltoluenes do not show any temperature dependence between -80° and $+80^{\circ}$, and their isomer distribution is nearly statistical. Part of the results may be discussed within the framework of free radical reactions.

Physikalisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

37. Die Konstitution von Adynerin¹⁾

Glykoside und Aglykone, 245. Mitteilung³⁾

von P. St. Janiak, Ek. Weiss, J. v. Euw und T. Reichstein

(5. XII. 62)

Aus den Blättern des Oleanders *Nerium oleander* L. isolierte NEUMANN⁴⁾ ein Glykosid, das biologisch nicht wirksam war und das er Adynerin nannte⁵⁾. Die Analysen passten auf $\text{C}_{30}\text{H}_{44-46}\text{O}_7$ und bei der katalytischen Hydrierung (Pt in Eisessig) wurden 1,1 Mol. H_2 aufgenommen⁸⁾. NEUMANN⁴⁾ hat auch angegeben, wie man aus Adynerin durch sehr milde saure Hydrolyse das unversehrte Adynerigenin gewinnen kann, dessen Analysen auf die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{32-34}\text{O}_4$ passten. In der Folge haben sich die wasserstoffärmeren Formeln bestätigt.

¹⁾ Teilweise Auszug aus Diss. JANIÁK²⁾. Das Resultat wurde am 30. Mai 1962 am IX. Congresso della Società Chimica Italiana, tenuto congiuntamente con la Société Suisse de Chimie, in Neapel vorgetragen. Eine vorläufige Mitteilung wurde am 12. Mai 1962 an die Gazzetta chimica Italiana geschickt.

²⁾ Diss. P. ST. JANIÁK, Basel 1962.

³⁾ 244. Mitt.: H. TOBIAS, Helv. 46, 147 (1963).

⁴⁾ W. NEUMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 70, 1547 (1937).

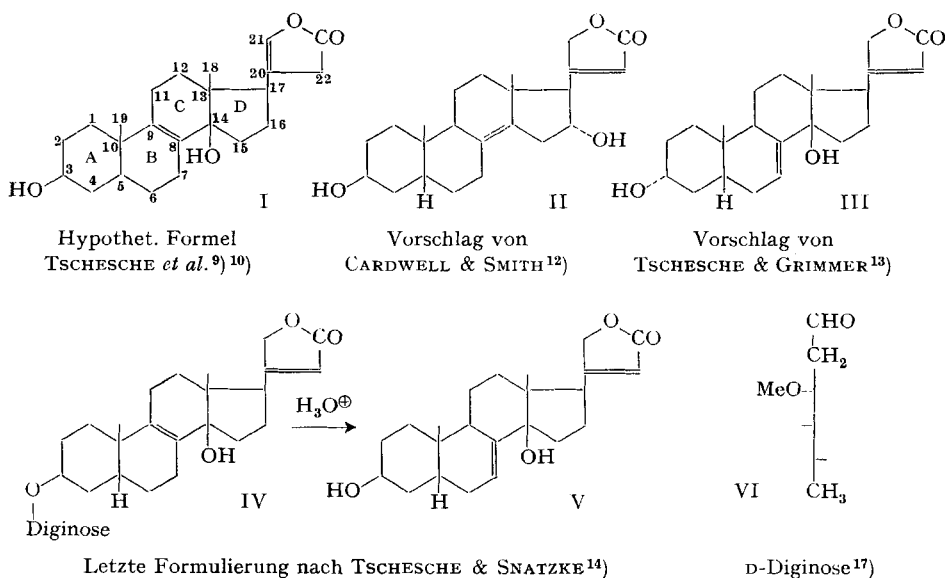
⁵⁾ NEUMANN verwendete Rückstände von Extrakten, die zur technischen Gewinnung von Oleandrin⁶⁾ gedient hatten. Adynerin wurde auch aus den Blättern von *Nerium odorum* von T. TAKEMOTO & K. KOMETANI isoliert (J. Pharm. Soc. Japan 74, 1263 (1954); Chem. Abstr. 49, 4233 (1955)). Relativ reich sind die Fruchtschalen (Pericarp)²⁾ von *N. oleander*. In den Samen wurde es nicht gefunden⁷⁾. P. L. POULY, Diss. Lausanne 1961, sowie L. FAUCONNET & P. L. POULY beschrieben Nachweismethoden. Über die Isolierung von Bi- und Triosiden aus den Samen, Fruchtschalen und Blättern berichtet I. TURCOVIC, J. Pharm. Belgique 14, 263, 376, 447 (1959).

⁶⁾ «Folinerin» der Fa. SCHERING-KAHLBAUM AG., Berlin.

⁷⁾ HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 977 (1959).

⁸⁾ Vielleicht wurde ein zu wenig aktiver Katalysator verwendet. Nach unseren Befunden nimmt Adynerin unter den genannten Bedingungen etwas über 2 Mol. H_2 auf.

Über die Konstitution des Adynerins ist schon verschiedentlich publiziert worden⁹⁻¹⁵). Sicher bewiesen ist der Bau der Zuckerkomponente; es handelt sich nicht, wie ursprünglich vermutet^{9) 10)}, um L-Oleandrose, sondern um D-Diginose (VI)¹³). Mehr Mühe bereitet die Ableitung der Struktur des zugehörigen Aglykons, des Adynerigenins. Schon die Bereitung dieses Stoffes stösst auf erhebliche Schwierigkeiten^{4) 2)}, da er bereits mit sehr verdünnten Mineralsäuren durch Wasserabspaltung rasch in das Anhydro-adynerigenin $C_{23}H_{30}O_3$ übergeführt wird⁹⁾. Für Adynerigenin sind im Laufe der Zeit die Formeln I, II, III und V vorgeschlagen worden. In den letzten Formelvorschlägen von TSCHESCHE und Mitarb.^{13) 14)} wird angenommen, dass im Adynerin eine Doppelbindung in 8:9-Stellung vorliegt (IV), die bereits bei der Überführung des Glykosids ins freie Genin in die 7:8-Stellung (V) wandert¹⁶⁾. Be-



wiesen ist in diesen Formeln das Kohlenstoffgerüst sowie die Anordnung der Substituenten an C-3, C-5 und C-17 auf Grund folgender Resultate: Anhydro-adynerigenin $C_{23}H_{30}O_3$ zeigt im UV. (in Chloroform) ein Maximum bei 247 $m\mu$, $\epsilon = \text{ca. } 12600^9)$, was einem heteroannularen Dien entspricht. TURNER¹¹⁾ schlug für diesen Stoff

⁹⁾ R. TSCHESCHE & K. BOHLE, Ber. deutsch. chem. Ges. 71, 654 (1938).

¹⁰⁾ R. TSCHESCHE, K. BOHLE & W. NEUMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 71, 1927 (1938).

¹¹⁾ R. B. TURNER, Chem. Reviews 43, 1, bes. 16-17 (1948).

¹²⁾ H. M. E. CARDWELL & S. SMITH, J. chem. Soc. 1954, 2012.

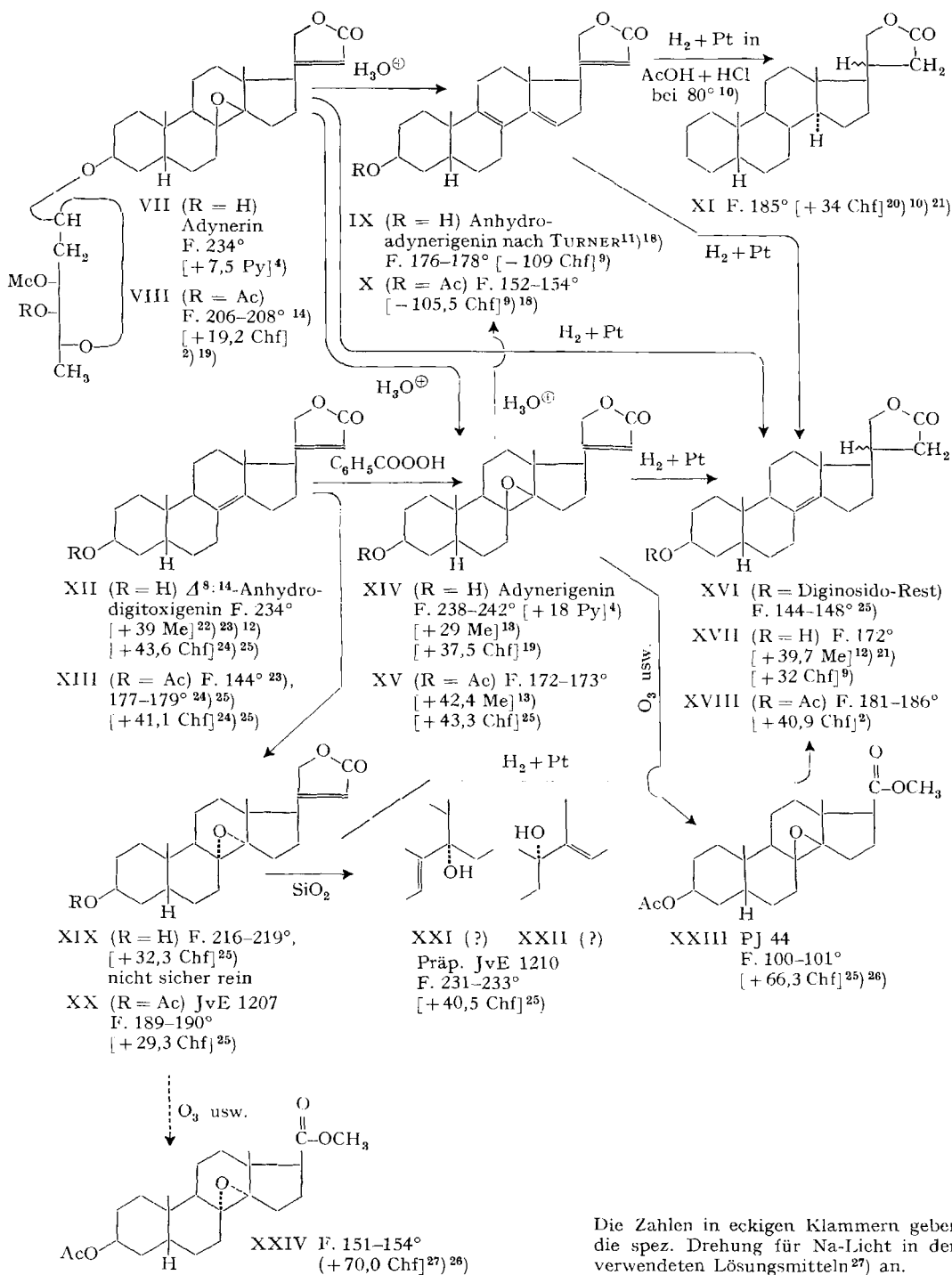
¹³⁾ R. TSCHESCHE & G. GRIMMER, Chem. Ber. 87, 418 (1954).

¹⁴⁾ R. TSCHESCHE & G. SNATZKE, Chem. Ber. 88, 511 (1955).

¹⁵⁾ L. F. FIESER & MARY FIESER, Steroids, p. 761-762 (Reinhold Publ. Corp., New York 1959), bzw. deutsche Ausgabe, p. 837-839. (Verlag Chemie, Weinheim 1961).

¹⁶⁾ Die genannten Autoren schlagen darum vor, das erhaltene Aglykon (also das Adynerigenin von NEUMANN) nun als « $\Delta^{7:8}$ -Adynerigenin» zu bezeichnen. Dieser Vorschlag ist, unseres Erachtens mit Recht, von den FIESERS¹⁵⁾ nicht akzeptiert worden.

¹⁷⁾ CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 31, 1630 (1948), und frühere Lit. daselbst.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den verwendeten Lösungsmitteln²⁷⁾ an.

daher die Formel IX vor¹⁸⁾. Hydrierung liefert ein krist. Tetrahydro-anhydro-adynerigenin. CARDWELL & SMITH¹²⁾ haben darauf aufmerksam gemacht, dass dieses Hydrierungsprodukt auf Grund seiner physikalischen Daten mit dem von ihnen bereiteten Dihydro-« α »anhydro-digitoxigenin (XVII) identisch sein muss. Die Identität ist von TSCHESCHE & SNATZKE¹⁴⁾ durch direkten Vergleich definitiv bewiesen worden.

Das Kohlenstoffgerüst des Adynerigenins und die Lage einer HO-Gruppe an C-3 sind bereits schon früher von TSCHESCHE und Mitarb.¹⁰⁾ gesichert worden. Durch energische Hydrierung des Anhydro-adynerigenins (IX) bei 80° unter Zusatz von HCl entstand unter Hydrogenolyse der 3-ständigen HO-Gruppe ein gesättigtes Lacton C₂₃H₃₆O₂, das mit dem bekannten Cardanolid XI (aus Digitoxigenin zugänglich) identisch war. Bei Hydrierung des acetylierten Derivats konnte der Verlust der 3-ständigen HO-Gruppe verhindert werden. Nach Oxydation derselben liess sich das entsprechende 3-Oxoderivat in Kristallen fassen und mit authentischem Material identifizieren.

Eigene Versuche. Für die folgenden Versuche haben wir ein Präparat von Adynerin verwendet, das aus Fruchtschalen von *Nerium oleander* isoliert worden war²⁾ 19). Es zeigte die richtigen Konstanten, gab im Papierchromatogramm und auf der Dünnschichtplatte nur *einen* Fleck, enthielt aber nach den UV.- und IR.-Spektren kleine Mengen von mindestens zwei Verunreinigungen, die nicht abgetrennt werden konnten²⁰⁾. Das daraus bereitete Adynerigenin war nach Papierchromatogramm identisch mit einem von Herrn Prof. R. TSCHESCHE freundlichst zur Verfügung gestellten Vergleichspräparat. Es wurde vorwiegend in Form des O-Acetylderivats verwendet, das auch im UV.- und IR.-Spektrum keine Verunreinigungen erkennen liess²⁾ 19).

¹⁸⁾ Nach FIESER & FIESER¹⁵⁾ könnte Anhydro-adynerigenin auch eine $\Delta^{7,14}$ -Diengruppe besitzen. Für cisoide Diene dieses Typs werden jedoch Maxima bei ca. 242 m μ (ϵ = ca. 9200) gefunden. Nach CARDWELL & SMITH¹²⁾ könnte es sich auch um ein Δ^8 :^{14,15}-Dien handeln, für das sich ein Maximum von ca. 244 m μ berechnet. – Für den Strukturbeweis ist die Lage der Doppelbindungen im Anhydro-adynerigenin unwesentlich. Von den genannten Formeln ist aber nur X mit dem Protonenresonanzspektrum²⁾ 19) vereinbar.

¹⁹⁾ P. ST. JANIÁK, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, spätere Mitteilung.

²⁰⁾ A. WINDAUS & C. FREESE, Ber. deutsch. chem. Ges. 58, 2503 (1925); A. WINDAUS & G. STEIN, *ibid.* 61, 2436 (1928).

²¹⁾ Nach CARDWELL & SMITH¹²⁾ enthalten die hier beschriebenen Hydrierungsprodukte in 20-Stellung sehr wahrscheinlich die β -Konfiguration (Nomenklatur nach FIESER & FIESER¹⁵⁾), identisch mit derjenigen bei Cholesterol. Ein eindeutiger Beweis existiert aber, soweit wir feststellen konnten, nicht. Vgl. auch B. F. BROWN & S. E. WRIGHT, J. Pharmacy Pharmacol. 13, 262 (1961).

²²⁾ W. A. JACOBS & R. C. ELDERFIELD, J. biol. Chemistry 113, 611 (1936).

²³⁾ S. SMITH, J. chem. Soc. 1935, 1050.

²⁴⁾ A. RHEINER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 687 (1952).

²⁵⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

²⁶⁾ A. LARDON & T. REICHSTEIN, Helv. 46, 392 (1963), folgende Mitteilung.

²⁷⁾ A. LARDON, H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1457 (1959).

²⁸⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

²⁹⁾ Das Präparat zeigte eine zusätzliche Bande bei ca. 265 m μ im UV., die von einer unbekanntem Verunreinigung stammt, sowie eine kleine zusätzliche Bande im IR. bei 5,88 μ , die von Glykosid b' herrührt²⁾ 19).

Zunächst zeigen bereits die Spektren, dass alle bisher für Adynerigenin und Adynerin vorgeschlagenen Formeln (I–V) unmöglich richtig sein können. Es ist besonders folgendes hervorzuheben:

a) O-Acetyl-adynerin (VIII) und O-Acetyl-adynerigenin (XV) enthalten *keine* freie HO-Gruppe. In den IR.-Spektren (Fig. 2 und Fig. 3)³⁰⁾ ist im 2,8–3,20- μ -Gebiet keine Absorption festzustellen³¹⁾.

IR.-Absorptionsspektren⁴³⁾

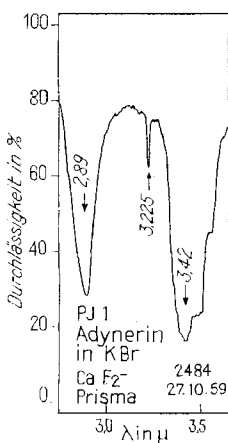


Fig. 1. Adynerin (VII, Präp. PJ 1)
3,35 mg fest in KBr (ca. 300 mg) mit CaF_2 -
Prisma

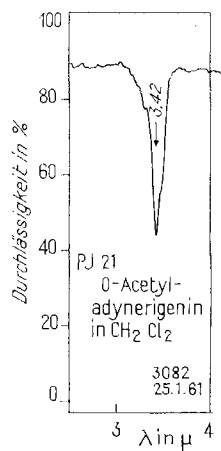


Fig. 2. 3-O-Acetyl-adynerigenin (XV, natür-
liches Präp. PJ 21)
0,06 Mol/l in CH_2Cl_2 , $d = 0,2$ mm

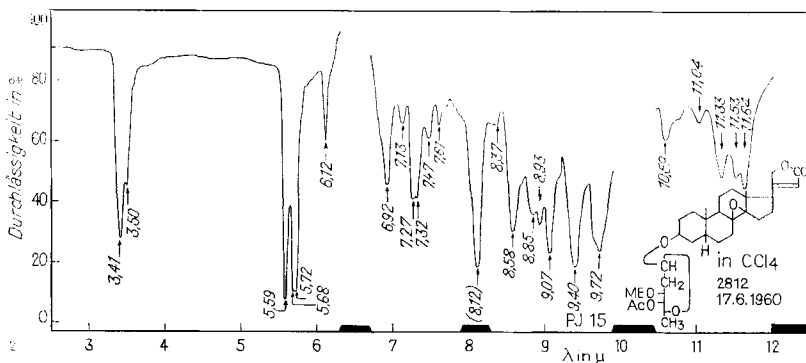


Fig. 3. IR.-Absorptionsspektrum von 3-O-Acetyl-adynerin (VIII, Präp. PJ 15)
0,032 Mol/l in CCl_4 , $d = 0,49$ mm⁴³⁾

³⁰⁾ Kleine Zacken in den Kurven bei Fig. 6 im 2,5–3,0- μ -Gebiet sind vermutlich von Wasser-
spuren verursacht, die sich in CH_2Cl_2 -Lösung nicht immer ganz vermeiden lassen. Eindeutig
ist Fig. 3 in CCl_4 .

³¹⁾ Dies ist auch schon aus Abbild. 2 bei TSCHESCHE & SNATZKE¹⁴⁾ ersichtlich. Nach brieflicher
Mitteilung von Herrn Prof. R. TSCHESCHE sind die dort abgebildeten Spektren von den Fest-
körpern, gepresst in KBr, mit einem PERKIN-ELMER double beam IR.-Spektrophotometer,
Modell 21, mit NaCl-Prisma aufgenommen worden.

b) Adynerin und Adynerigenin enthalten ausser dem Butenolidring *keine* weitere C=C-Doppelbindung. Dies folgt aus den UV.-Spektren sowie aus dem Befund bei der Tetranitromethanprobe (Tab. 1).

Tabelle 1. Färbung mit Tetranitromethan³²⁾

Substanz	Färbung
1. 3-O-Acetyl-adynerin (VIII)	farblos
2. 3-O-Acetyl-adynerigenin (XV)	farblos
3. 3-O-Acetyl-anhydro-adynerigenin (X)	stark gelb
4. 3-O-Acetyl-digitoxigenin	farblos
5. 3-O-Acetyl- $\Delta^{8:14}$ -anhydro-digitoxigenin (XIII)	gelb
6. 3-O-Acetyl-dihydro- $\Delta^{8:14}$ -anhydro-digitoxigenin (XVIIII)	gelb
7. 3-O-Acetyl- Δ^{14} -anhydro-digitoxigenin ³³⁾ 12)	gelb
8. 3-O-Acetyl-« δ »-anhydro-digitoxigenin ²⁴⁾ 2)	gelb

Der Butenolidring allein gibt bekanntlich (wie alle α,β -ungesättigten Ester und Lactone) keine Färbung (vgl. Nr. 4 in Tab. 1). Zusätzliche isolierte oder konjugierte Doppelbindungen geben deutliche Gelbfärbung (Nr. 3 sowie 5–8 von Tab. 1). Es ist richtig, dass eine allylständige RO-Gruppe die Färbung stark abschwächt³³⁾; die Reaktion wird aber meistens erst mit beidseitiger Besetzung durch RO-Gruppen ganz negativ.

Im UV.-Spektrum zeigen Adynerin und Adynerigenin sowie ihre Acetylderivate eine gewisse Anomalie, indem das Maximum des Butenolidringes nicht ganz die normale Lage (216,5 $m\mu$ in Alk, bzw. 211,5 $m\mu$ in Cyclohexan²⁾) einnimmt, sondern etwas gegen kürzere Wellenlängen verschoben ist (gefunden 213–214 $m\mu$ in Alk, bzw. 210 $m\mu$ in Cyclohexan²⁾ 19), vgl. auch Fig. 7). Durch Vergleich mit den Spektren anderer Cardenolide, die ausser der Butenolidgruppe noch eine isolierte Doppelbindung (z. B. in 5-, 8-, 8:14- oder 14-Stellung) enthalten³⁴⁾, ist aber leicht ersichtlich, dass in den Kurven von Adynerin, Adynerigenin und ihren Acetylderivaten kein Platz für die Absorption einer isolierten C=C-Doppelbindung vorhanden ist.

Das vierte Sauerstoffatom des Adynerins muss demnach in einer Epoxygruppe vorliegen. Wie im folgenden gezeigt wird, besitzt Adynerin Formel VII und Adyneri-

³²⁾ Die Reaktion wurde mit den 3-O-Acetylderivaten ausgeführt, um eine möglichst hohe Konzentration zu gewährleisten. Im Glühröhr ca. 1 mg Subst. in ca. 0,005 ml Chloroform mit 1 Tröpfchen $C(NO_2)_4$ versetzt und verschlossen bei Tageslicht auf weisser Unterlage beobachtet.

³³⁾ Literatur vgl. p. 175 bei den FIESERS¹⁵⁾.

³⁴⁾ Vgl. z. B. die Kurven in Fig. 16a, 16d und 16f bei W. SCHMID, H. P. UEHLINGER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 72 (1959). Die richtigen Formeln der gemessenen Stoffe (mit 5-ständiger Doppelbindung) vgl. J. POLONIA, A. KURITZKES, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1437 (1959); L. F. FIESER, T. GOLAB, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 43, 102 (1960). Die numerischen Werte der Differenzkurven 16b, 16e und 16g sind vermutlich ungenau, weil die verwendete Apparatur unter 200 $m\mu$ damals grössere Fehler gab als vermutet (vgl. R. BÜHRER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 389 (1962)). Für die Erkennung der Doppelbindung hat dies aber keine wesentliche Bedeutung, da die inzwischen verbesserte Apparatur den Unterschied zwischen dem Cardenolid mit und ohne zusätzliche Doppelbindung noch deutlicher sichtbar werden lässt. Weitere Kurven von Cardenoliden mit zusätzlicher Doppelbindung vgl. Diss. JANIÄK²⁾ sowie spätere Mitteilung³⁵⁾.

³⁵⁾ P. ST. JANIÄK, J. V. EUW, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, spätere Mitteilung.

genin die Formel XIV mit einem 8,14 β -Oxiraning. Der erste Hinweis dafür ergab sich aus dem Hydrierungsergebnis.

Adynerin (VII) (es musste ein Präparat verwendet werden, das noch etwas Glykosid b' ²⁾ ¹⁹⁾ als Verunreinigung enthielt) nahm bei der Hydrierung mit Pt in Eisessig etwas mehr als 2 Mol. H₂ auf. Dabei entstand ein Gemisch, das zunächst durch Chromatographie an SiO₂ vorgetrennt wurde. Das leichter eluierbare Material (Hauptprodukt) war immer noch ein Gemisch, lieferte aber ein krist. Glykosid, das die Formel XVI (C₃₀H₄₆O₆) haben muss, obgleich die Analyse nicht genau stimmte. Es gab mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung und zeigte im UV. selektive Absorption in Alkohol bei 203 m μ (log ϵ = 4,02, berechnet auf C₃₀H₄₆O₆ = 502,67). Eine solche Absorption ist für $\Delta^{8:14}$ -5 β -Steroide charakteristisch ³⁶⁾. Der in geringer Menge erhaltene stärker polare Stoff, dessen Analyse auf C₃₀H₄₅O₈ passte, zeigte Smp. 156–161°; er besitzt im UV. über 200 m μ keine selektive Absorption und war gegen Tetranitromethan gesättigt; möglicherweise lag das Dihydroderivat von Glykosid b' vor. Das oben genannte Gemisch der schwach polaren Hydrierungsprodukte (rohes XVI) wurde anschliessend mild hydrolysiert. Das erhaltene Geningemisch lieferte Kristalle, die mit Dihydro- $\Delta^{8:14}$ -anhydro-digitoxigenin (XVII) identisch waren. Zur völligen Reinigung ³⁷⁾ wurde das Acetylderivat XVIII bereitet. Derselbe Stoff XVII entsteht, wie oben erwähnt, nach CARDWELL & SMITH ¹²⁾ sowie nach TSCHESCHE & SNATZKE ¹⁴⁾ auch bei der Hydrierung von Anhydro-adynerigenin (IX), was wir bestätigen können. Es hat sich somit der scheinbar paradoxe Befund ergeben, dass bei der Hydrierung eines gesättigten Epoxids unter O-Verlust eine C=C-Doppelbindung entstanden ist. Dieses Verhalten ist aber für 8,14-Epoxide von 5 β -Steroiden charakteristisch ³⁸⁾ ²⁷⁾ ²⁶⁾ ³⁹⁾. Adynerigenin sollte demnach ein 8,14-Epoxy-14-desoxy-digitoxigenin (XIV oder XIX) sein. Dies liess sich durch Teilsynthese beweisen.

Teilsynthese. Als Ausgangsmaterial diente das 3 β -Acetoxy-5 β -carda-^{8:14,20:22}-dienolid (= α -Anhydro-digitoxigenin XII), das wir nach einem verbesserten, von FRÈREJACQUE angegebenen Verfahren ⁴⁰⁾, mit Ameisensäure herstellten. Epoxylierung dieses Stoffes oder seines O-Acetylderivates XIII mit überschüssiger Benzopersäure in Äther liefert ein Gemisch der zwei raumisomeren Epoxide XIV und XIX, bzw. ihrer O-Acetylivate XV und XX. Die letzteren liessen sich durch sorgfältige Chromatographie an Al₂O₃ trennen. SiO₂ ist für diesen Zweck ungünstig, da das α -Epoxid XX dabei teilweise zu einem ungesättigten Stoff (Präparat JvE 1210) isomerisiert wird, der möglicherweise Formel XXI oder XXII besitzt, der aber nicht weiter untersucht wurde. Wenn man aus Gemischen von XV und XX nur das

³⁶⁾ K. STICH, G. ROTZLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1480 (1959); R. BÜHRER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 389 (1962), und weitere Lit. daselbst.

³⁷⁾ Die Reinigung ist verlustreich, weil vermutlich ein Gemisch der zwei an C-20 raumisomeren Stoffe sowie anderer Stoffe vorliegt. Das rohe Geningemisch (Kristalle und Mutterlaugen) wurde acetyliert. Das Material gab im Dünnschichtchromatogramm 4 Flecke (a, b, c und d).

³⁸⁾ PL. A. PLATTNER, L. RUZICKA & S. HOLTERMANN, *Helv.* 28, 1660 (1945).

³⁹⁾ Wie sich inzwischen gezeigt hat ²⁶⁾ (siehe auch diese Arbeit weiter unten), wird nur bei 8 α ,14 α -Epoxiden die Doppelbindung bei der Hydrierung fast vollständig regeneriert; bei den isomeren 8 β ,14 β -Epoxiden entsteht daneben viel 14 β -Hydroxyverbindung.

⁴⁰⁾ M. FRÈREJACQUE, briefliche Mitteilung. Wir danken Herrn Prof. FRÈREJACQUE, Paris, auch hier bestens für die Bekanntgabe seiner Erfahrungen.

β -Epoxid XV isolieren will, kann diese Reaktion jedoch mit Vorteil verwendet werden, weil XV gegen SiO_2 beständig ist und Präparat JvE 1210 von XV leichter trennbar ist als XX.

Die Fig. 7 und 8 zeigen die UV.-Spektren der zwei reinen Epoxide XV und XX. Wie oben erwähnt, liegt das Maximum bei XV in Alkohol um ca. $3\text{ m}\mu$ kurzweiliger als im Digitoxigenin und anderen Cardenoliden, während es beim α -Epoxid XX fast die normale Lage einnimmt. Die IR.-Spektren von XV und XX sind sehr ähnlich (vgl. Fig. 4–6); ein deutlicher Unterschied ist aber im Gebiet der Acetoxybanden bei $7,90\text{--}8,20\ \mu$ und bei $9,70\text{--}9,75\ \mu$ sichtbar. XV und XX liessen sich auf der Dünnschichtplatte bei normaler Ausführung (Fig. 12) kaum eindeutig unterscheiden. Bessere Unterschiede lieferte die durchlaufende Ausführung nach BRENNER & NIEDERWIESER⁴¹). Auch im Papierchromatogramm gaben normale Systeme nur

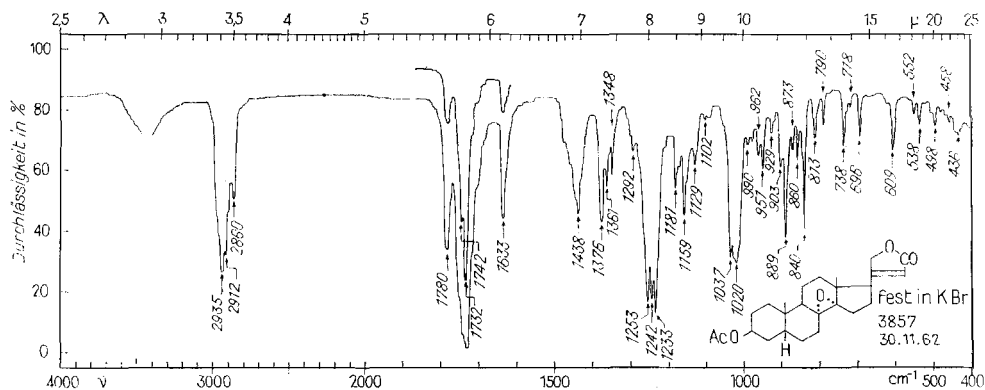


Fig. 4. IR.-Absorptionsspektrum von β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XX) 1,1 mg und 0,2 mg Präp. JvE 1207, fest in KBr (ca. 300 mg)⁴²

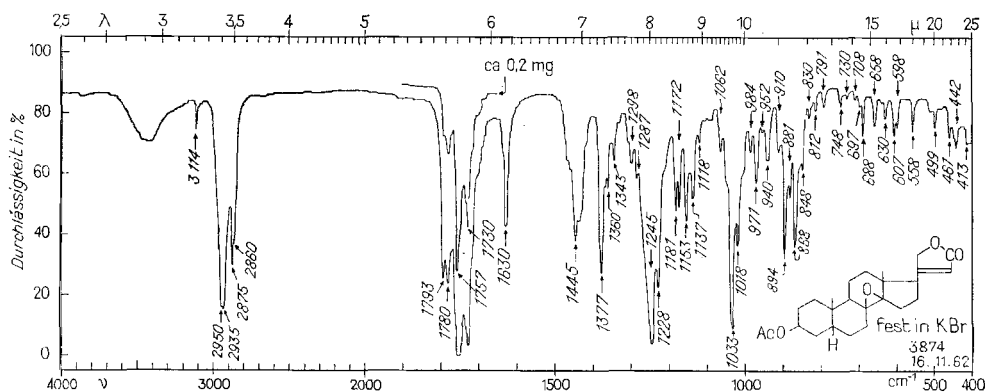


Fig. 5. IR.-Absorptionsspektrum von synthetischem 3-O-Acetyl-adynerigenin = β -Acetoxy-8,14 β -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XV) 1,0 und 0,2 mg Präp. JvE 1209, fest in KBr (ca. 300 mg)⁴²

⁴¹) M. BRENNER & A. NIEDERWIESER, *Experientia* 17, 237 (1961).

⁴²) Aufgenommen von Herrn W. SCHWAB auf einem PERKIN-ELMER-Zweistrahlgitter-Spektrophotometer, Modell 125.

schlechte Trennungen, am besten, aber auch ungenügend, war noch das System von Fig. 9–10. Viel besser trennte das System von Fig. 11 mit umgekehrten Phasen. Merklich verschieden waren auch die Farbreaktionen mit H_2SO_4 (Tab. 2). Beide Stoffe gaben mit Tetranitromethan keine Färbung. Durch direkten Vergleich liess sich feststellen, dass O-Acetyl-adynerigenin mit dem β -Epoxid XV identisch war.

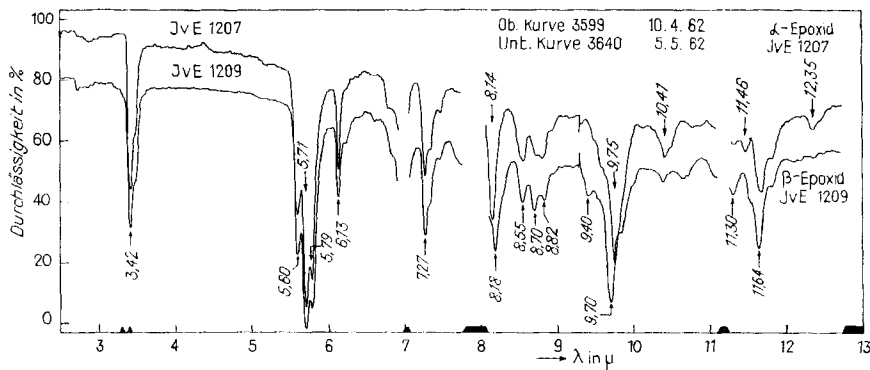


Fig. 6. IR.-Absorptionsspektren in CH_2Cl_2 ⁴³⁾

Obere Kurve = α -Epoxid XX, untere Kurve = β -Epoxid XV, teilsynthetisch.
Beide 0,06 Mol/l und $d = 0,2$ mm

Bei der Hydrierung nahmen beide Epoxide ziemlich genau 2 Mol. Wasserstoff auf und gaben den ungesättigten Ester XVIII, verhielten sich aber doch etwas verschieden. Aus dem α -Epoxid XX entstand fast ausschliesslich XVIII (vermutlich teilweise Gemisch der an C-20 raumisomeren Derivate). Das nur in Spuren erhaltene stärker polare Material gab Kristalle vom Smp. 263–265° (nicht untersucht)⁴⁴⁾.

Aus dem β -Epoxid XV entstand, genau wie aus dem natürlichen O-Acetyl-adynerigenin, ein etwas komplizierteres Gemisch, das hier etwas weiter getrennt werden konnte. Im Dünnschichtchromatogramm waren vier Flecke (a, a', c und d) nachweisbar. Nach Chromatographie an SiO_2 liessen sich 4 entsprechende krist. Präparate gewinnen. Subst. a war ungesättigt und wieder identisch mit XVIII. a' und c wurden nicht aufgeklärt. Das nur in Spuren erhaltene a' gab mit Tetranitromethan keine Färbung; die besten Kristalle zeigten Smp. 212–217°. Subst. c wurde in grösserer Menge erhalten und gab mit Tetranitromethan schwache Gelbfärbung; die besten Kristalle zeigten Smp. 160–167°. Das am schwersten eluierbare Material (Fleck d) war wieder gesättigt und gab Kristalle, die nach Dünnschichtchromatogramm und Mischprobe mit 3-O-Acetyl-dihydrodigitoxigenin⁴⁵⁾ identisch waren.

⁴³⁾ Aufgenommen von Fr. I. HÄTTENSCHWILLER und den Herren R. BÜHRER, A. SIEBER & K. LIEBL auf einem PERKIN-ELMER Zweistrahl-IR.-Spektrophotometer, Modell 21. Wo nichts anderes erwähnt, mit NaCl-Prisma.

⁴⁴⁾ Vielleicht lag das 14 α -Hydroxycardanolid vor.

⁴⁵⁾ Von diesem Stoff sind Präparate von verschiedenem Smp. bekannt (K. MEYER, Helv. 29, 718 (1946)), die sich vermutlich durch Raumisomerie an C-20 unterscheiden. Unser Präparat zeigte Smp. 174–177°. Bei Hydrierung von 3-O-Acetyl-digitoxigenin mit Pt in Eisessig erhielten wir Kristalle von gleichem Smp., die vielleicht nicht ganz einheitlich waren. Sie waren nach Mischprobe und Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm mit dem aus XV erhaltenen Material identisch.

Dieser Befund erlaubt bereits eine Entscheidung über den räumlichen Bau der zwei Epoxide XV und XX. Wegen der geringen Ausbeuten an Subst. d wurde dieser aber noch durch Abbau sichergestellt.

UV.-Absorptionsspektren in Alkohol⁴⁶⁾

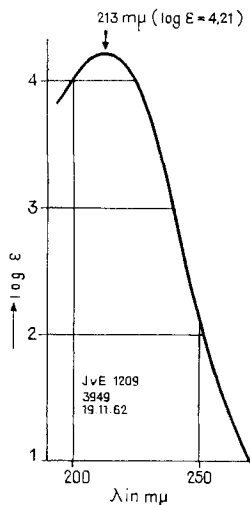


Fig. 7. Synthetisches 3-O-Acetyl-adynerigenin (= 3 β -Acetoxy-8,14 β -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XV)

Präp. JvE 1209,
c = 0,0005 Mol/l, d = 1 mm

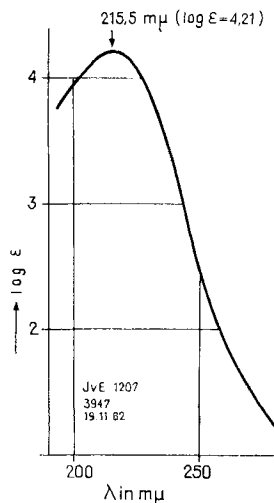


Fig. 8. 3 β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XX) Präp. JvE 1207,
c = 0,0005 Mol/l, d = 1 mm

In Cyclohexan zeigte XV ein Maximum bei 210 m μ (log ϵ = 4,19) und XX ein solches bei 211 m μ (log ϵ = 4,20)

Zu diesem Zweck wurde natürliches O-Acetyl-adynerigenin (XV) dem Abbau mit Ozon⁴⁷⁾ usw. unterworfen. Es entstand ein krist. Methylester (Präp. PJ 44) vom Smp. 101–102°, der von dem bekannten α -Epoxyester XXIV vom Smp. 151–153° verschieden war. Die Konfiguration der Epoxygruppe dieses Esters war bisher nicht sicher bekannt, ist aber inzwischen²⁶⁾ bewiesen worden. Der Abbauester (Smp. 101–102°) war jedoch identisch mit dem β -Epoxyester XXIII, der inzwischen von LARDON²⁶⁾ teilsynthetisch bereitet worden war und dessen Konfiguration ebenfalls eindeutig gesichert ist. Damit ist auch die Konfiguration der zwei raumisomeren

⁴⁶⁾ Aufgenommen von Herrn W. SCHWAB auf einem selbstregistrierenden Spektralphotometer BECKMAN, Modell DK2. Die Apparatur, die vor einiger Zeit sehr starkes Streulicht zeigte (vgl. BÜHRER & REICHSTEIN³⁶⁾), konnte durch Einsetzen einer neuen Wasserstofflampe und eines neuen Photomultiplikators (beide mit Suprasil-Fenster) sowie Reinigung der Spiegel und gute Justierung des Strahlenganges so weit verbessert werden, dass sich sehr zuverlässige Messungen in Cyclohexan bis 188 m μ und in Alkohol bis 195 m μ durchführen ließen, wobei das Streulicht mit Vicorglas gemessen praktisch 0 war (für Zellen von 0,1 mm aus Suprasil). Die Einwaagen erfolgten hier auf der Mikrowaage, so dass die gefundenen Extinktionen auf ca. \pm 3% genau sein sollten.

⁴⁷⁾ Methode vgl. K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 30, 1508 (1947), aber Abbau des Ketols mit NaJO₄ nach O. RENKONEN, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Croatica chem. Acta* 29, 239 (1957).

Epoxycardenolide XV und XX bewiesen. Es mag noch erwähnt werden, dass der analoge Abbau des α -Epoxids XX zum Ester XXIV nicht gelang. Die Kontrolle zeigte, dass die 8,14 α -Epoxygruppe die Behandlung mit O_3 , mit Zn in Eisessig sowie mit $NaJO_4$ verträgt, durch Einwirkung von Diazomethan aber sehr rasch zerstört wird. Wie diese Reaktion verläuft, wurde nicht untersucht. Das aus XX gebildete Abbauprodukt ist demnach offenbar bei der zuletzt erfolgten Methylierung mit CH_2N_2 zum grössten Teil zerstört worden. Der β -Epoxyester XXIII wird bei kurzer Behandlung mit CH_2N_2 dagegen nicht verändert.

Adynerigenin ist das erste Cardenolid mit Oxiranring, das bisher in der Natur aufgefunden wurde⁴⁸⁾. Ein weiteres liegt im Tanghinigenin vor⁴⁹⁾.

Diskussion der Resultate. Die Formeln VII für Adynerin und XIV für Adynerigenin stehen mit den Befunden der Literatur gut in Einklang. Sie machen die Eigenschaften, insbesondere die grosse Empfindlichkeit gegen Säuren und den leichten Übergang in das Anhydro-adynerigenin (IX) gut verständlich. Die Formel des letzteren ist mit dem Protonenresonanzspektrum²⁾⁴⁹⁾ des Acetylderivates X gut verträglich. Die biologische Unwirksamkeit ist vermutlich durch die starke Veränderung des Ringsystems durch den starren Oxiranring und das Fehlen der 14-ständigen HO-Gruppe bedingt⁵⁰⁾. Bezüglich der Konstellation ist zu beachten, dass von den zwei Epoxiden XV und XX nur das α -Epoxid XX im IR.-Spektrum (Fig. 4, bei 7,98, 8,06 und 8,12 μ) Banden zeigt, die einer axialen Acetoxygruppe entsprechen⁵¹⁾. Beim β -Epoxid ist bei 8,04 μ nur eine nicht aufgespaltene Bande sichtbar⁵²⁾. Eine Unsicherheit ergibt sich aus dem Umstand, dass auch der Oxiranring in diesem Gebiet Absorption zeigt⁵³⁾. Trotzdem glauben wir, dass die Spektren dafür sprechen,

⁴⁸⁾ In der Bufadienolid-Reihe sind von K. MEYER und Mitarb. mehrere Vertreter mit Oxiranring festgestellt worden. Dieser lag in den bisher aufgeklärten Fällen aber immer in 14,15 β -Stellung. Vgl. Resibufogenin, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* 42, 807 (1959); Marinobufagin, H. SCHRÖTER, R. REES & K. MEYER, *Helv.* 42, 1385 (1959); Cinobufagin, P. HOFER, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* 43, 1955 (1960); Cinobufotalin, F. BERNOULLI, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* 45, 240 (1962); vermutl. auch Bufotalinin, H. SCHRÖTER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 41, 720 (1958).

⁴⁹⁾ Diss. E. FLURY, Basel 1962.

⁵⁰⁾ Das Fehlen der 14-ständigen HO-Gruppe allein ist nach M. S. RAGAB, H. LINDE & K. MEYER, *Helv.* 45, 1794 (1962), nicht ausreichend, um die digitaloide Wirkung aufzuheben, solange die 14 β -Konfiguration erhalten ist.

⁵¹⁾ R. N. JONES, P. HUMPHRIES, F. HERLING & K. DOBRINER, *J. Amer. chem. Soc.* 73, 3215 (1951); A. FÜRST, H. H. KUHN, R. SCOTONI JR. & HS. H. GÜNTARD, *Helv.* 35, 951 (1952); A. R. H. COLE, *J. chem. Soc.* 1952, 4969; A. R. H. COLE, R. N. JONES & K. DOBRINER, *J. Amer. chem. Soc.* 74, 5571 (1952); E. A. BRAUDE & E. S. WRIGHT, in W. KLYNE, *Progress in Stereochemistry* I, p. 167 (London 1954). Nach H. ROSENKRANTZ & P. SKOGSTRÖM, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 2237 (1955), ist auch das längerwellige Gebiet für die Charakterisierung von Acetoxyverbindungen gut brauchbar; vgl. R. N. JONES & F. HERLING, *ibid.* 78, 1152 (1956). Auch in diesem Gebiet (9,70–9,80 μ) unterscheiden sich XV und XX deutlich; es ist aber zu berücksichtigen, dass alle Cardenolide in diesem Bereich eine starke Absorption zeigen, so dass bei XV und XX nur ein Teil von der Acetoxygruppe herrührt. Beispiele von 3-O-Acetyluzarigenin und 3-O-Acetyl-3-*epi*-uzarigenin vgl. A. KURITZKES, J. V. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1502 (1959).

⁵²⁾ Die schwächere Bande bei 8,17 μ dürfte eher von einer anderen Gruppe, vielleicht vom Oxiranring, herrühren.

⁵³⁾ L. J. BELLAMY, *Ultrarot-Spektrum und chemische Konstitution*, Übersetzung von W. BRÜGEL, S. 93 (Steinkopf-Verlag, Darmstadt 1955).

dass im β -Epoxid entweder Ring A oder B (vermutlich der letztere) in einer flexiblen Form vorliegt, die einer Wannenform nahe kommt, wodurch die 3-ständige Acetylgruppe in eine annähernd äquatoriale Lage gedreht wird.

Adynerin und Adynerigenin zeigen im IR.-Spektrum (Fig. 1 und 5, in KBr) bei $3,225 \mu$ eine scharfe Bande, die wir der CH-Schwingung an C-22 des Butenolidringes zuordnen. Diese Bande wird bei fast allen Cardenoliden beobachtet, auch wenn sie nicht immer so deutlich ist⁵⁴). Auf keinen Fall kann sie als Beweis für das Vorliegen einer trisubstituierten isolierten Doppelbindung gelten, wie dies TSCHESCHE & GRIMMER¹³) annehmen. Für das Vorhandensein und die Lage der vermeintlichen Doppelbindung im Adynerin und Adynerigenin führen diese Autoren auch den Aus-

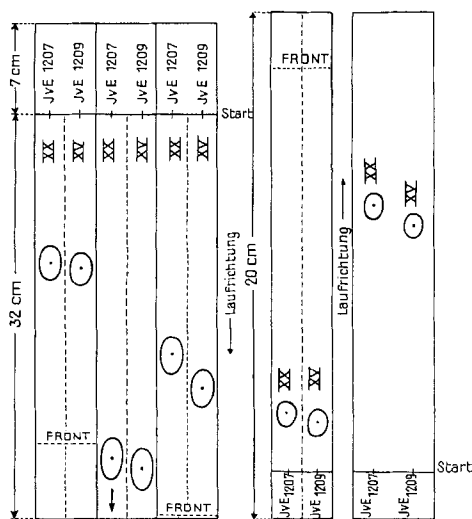


Fig. 9 Fig. 10 Fig. 11 Fig. 12 Fig. 13
Papierchromatogramme⁵⁵) Dünnschichtplatten⁵⁸)

Fig. 9. Tetrahydrofuran-Benzol-Cyclohexan-(1:1:8)/Propylenglykol (ca. 33%) auf WHATMAN-II-Papier. $2\frac{3}{4}$ Std.

Fig. 10. System wie für Fig. 9, aber 11 Std. (Front abgetropft).

Fig. 11. Imprägnierung mit 33% gewaschenem Olivenöl⁵⁹), Fliessmittel Methanol-Wasser-(88:12) auf WHATMAN-I-Papier.

Fig. 12. Ausführung auf Linienglas⁶⁰), Fliessmittel Äthylacetat-Cyclohexan-(1:2), ca. $1\frac{1}{2}$ Std.

Fig. 13. Ausführung durchlaufend nach BRENNER & NIEDERWIESER⁴¹), Laufzeit 7 Std., System wie für Fig. 12.

⁵⁴) Im Spektrum des isomeren α -Epoxids von Fig. 4 ist sie nicht sichtbar. Bei höherer Konzentration (4,2 mg pro 300 mg KBr) wird aber eine kleine Bande bei $3,23 \mu$ erhalten.

⁵⁵) Ausführung absteigend nach früheren Angaben⁵⁶), Entwicklung mit Tetranitrodiphenyl⁵⁷)-Reagens.

⁵⁶) O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 34, 108 (1951); F. KAISER, *Chem. Ber.* 88, 556 (1955).

⁵⁷) R. MAULI, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 40, 284 (1957).

⁵⁸) Ausführung aufsteigend auf Kieselgel G für Dünnschichtchromatographie nach STAHL, bezogen von E. MERCK AG, Darmstadt. Entwicklung durch Spritzen mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk und Erhitzen auf 100° .

⁵⁹) Olivenöl mehrmals gewaschen mit Methanol-Wasser-(88:12); Papier imprägniert mit Olivenöl-Chloroform-(1:4) und an der Luft getrocknet.

fall der Reaktion nach TORTELLI-JAFFÉ^{59a)} an. Wie unzuverlässig diese Reaktion für diesen Fall ist, lässt sich aus den widersprechenden Befunden der Autoren selbst sowie der Tabelle bei TSCHESCHE & SNATZKE¹⁴⁾ (vgl. auch p. 114 bei den FIESERS¹⁵⁾) entnehmen.

Nicht aufgeklärt durch die obigen Reaktionen ist die Struktur des «Iso-adynerins»⁹⁾. Es entsteht beim Kochen von Adynerin mit 1-proz. KOH in Methanol und besitzt nach TSCHESCHE & BOHLE⁹⁾ die Formel $C_{30}H_{44}O_7 + 2 H_2O$. Die zwei Mol. Wasser waren beim Trocknen nicht zu entfernen. Es könnte entweder eine Carbonsäure vorliegen oder ein Lacton, bei dem der Oxiranring hydrolytisch oder methanolytisch aufgespalten ist.

Tabelle 2. Farbreaktionen der zwei 8,14-Epoxycardenolide mit H_2SO_4

α -Epoxid XX (JvE 1207)		β -Epoxid XV (JvE 1209)		α -Epoxid XX (JvE 1207)		β -Epoxid XV (JvE 1209)	
Zeit		Färbung mit 84-proz. H_2SO_4		Zeit		Färbung mit konz. H_2SO_4	
1'	gelb		gelb	1'	blass gelb		leuchtend
2'	blass rosa		„				zitronengelb
5'	„ „		orange gelb	2'	„ „		leuchtend
10'	„ rosaviolett		orange gelb				zitronengelb
			mit Braunstich	5'	blass bräunlichgelb,		zitronengelb,
30'	rotviolett		braun,		Rand violett		Rand orange
			Rand rotviolett	10'	blass bräunlichgelb,		zitronengelb,
60'	violett		violett grau		Rand violett		Rand orange
2 h	violett blau		blaugrau	30'	violett, Rand blau		braunorange,
							Rand violett
				60'	violett		braunorange,
							Rand violett
				2 h	„		grau

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

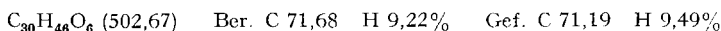
Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° ca. $\pm 2^\circ$, darüber $\pm 3^\circ$. Substanzproben für Drehung und Spektren wurden 45 Min. bei 60–70° und 0,02 Torr getrocknet; zur Analyse, wo nichts anderes vermerkt, 5 Std. bei 0,01 Torr und 100° über P_2O_5 . Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf (oder anderem Lösungsmittel, falls vermerkt), Waschen je zweimal mit 0,1N HCl bei 0°, 2N Na_2CO_3 und Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum. Die Adsorptionschromatographie wurde nach der Durchlaufmethode an Al_2O_3 (WOELM, neutral) oder SiO_2 (MERCK) durchgeführt. Es wurden die folgenden Abkürzungen verwendet: AcOH = Eisessig, $(Ac)_2O$ = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Alkohol, An = Aceton, Be = Benzol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, Eg = Äthylacetat, Me = Methanol, ML = eingedampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramm(e) und Papierchromatographie, Pe = Petroläther, Pn = *n*-Pentan, Pgl = Propylenglykol, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, W = Wasser.

3-O-Diginosido-5 β ,20 ξ -carda-8:14-enolid (= 3-O-Diginosido-dihydro-« α »-anhydro-digitoxigenin, XVI) und Nebenprodukte. 180 mg Adynerin (VII, nicht ganz rein²⁾), noch etwas Glykosid b'²⁾) enthaltend) wurden 16 Std. mit Pt in AcOH hydriert; die Aufnahme betrug 2,25 Mol. H_2 . Die übliche

^{59a)} Ausgeführt nach I. M. HEILBRON & F. S. SPRING, Biochem. J. 24, 133 (1930) sowie, nach U. WESTPHAL, Ber. deutsch. chem. Ges. 72, 1243 (1939); vgl. auch TSCHESCHE & SNATZKE¹⁴⁾.

⁶⁰⁾ A. GAMP, P. STUDER, H. LINDE & K. MEYER, Experientia 18, 292 (1962).

Aufarbeitung gab 160 mg neutrales Rohprodukt (Verlust mechanisch), das an SiO_2 chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(1:1) eluierten Anteile (110 mg) gaben aus Ae-Pe 96 mg farblose Nadeln, Smp. 144–148°. Die Xanthidrol-Reaktion⁶¹⁾ war positiv. Das UV.-Spektrum in Alk zeigte ein Maximum bei 203 $\mu\mu$, $\log \epsilon = 3,98$ (ber. auf $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_6 = 502,7$).



Die mit Be-Chf-(2:3) eluierten Anteile (48 mg) gaben aus An-Ae 33 mg farblose Drusen, Smp. 156–161°. Die Xanthidrol-Reaktion war ebenfalls positiv. Das UV.-Spektrum in Alk zeigte im 190–350 $\mu\mu$ -Gebiet keine starke selektive Absorption.



3 β -Hydroxy-5 β , 20 ξ -carda-8:14-enolid (= *Dihydro-« α »-anhydro-digitoxigenin, XVII*) und *Nebenprodukte aus rohem XVI*. Das gesamte noch vorhandene Material (ca. 100 mg, Kristalle und Mutterlaugen der leichter eluierbaren Anteile von obigem Versuch) wurde in 5 ml Me und 5 ml 0,1N H_2SO_4 nach Vorschrift⁶²⁾ hydrolysiert. Der Zucker wurde nicht isoliert. Das rohe Genin (80 mg) gab bei der Xanthidrol-Reaktion⁶¹⁾ keine Färbung und wurde an SiO_2 chromatographiert. Die mit Be-Chf-(1:1) eluierten Anteile (76 mg) gaben aus Ae-Pe 58 mg Kristalle. Zweimaliges Umkristallisieren aus Ae-Pe lieferte farblose feine Nadeln (Präp. PJ 42), Smp. 148–154°, $[\alpha]_D^{26} = +40,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf). Das UV.-Spektrum in Alk zeigte ein Maximum bei 203 $\mu\mu$, $\log \epsilon = 3,96$ (ber. auf $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{O}_3 = 358,5$). Es war nach Mischprobe, Dünnschichtchromatogramm und IR.-Spektrum identisch mit Dihydro- $\Delta^8:14$ -anhydro-digitoxigenin (XVII), enthielt aber, dem zu tiefen Smp. entsprechend, vermutlich noch Isomere (an C-20).

Reinigung von rohem XVII durch Acetylierung. 54 mg rohes Genin (22 mg krist. Präp. PJ 42 und 32 mg ML) wurden mit 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml Ac_2O 16 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung gab 60 mg neutrales Rohprodukt, das auf der Dünnschichtplatte 4 Flecke gab (a, b, c und d)⁶³⁾. Es wurde an 3,6 g SiO_2 chromatographiert. Die Fr. 1–6 (eluiert mit Be und Be-Ae bis 4% Ae-Gehalt) gaben 2,9 mg amorphes Material (gab sehr schnell laufenden Fleck), verworfen. Die Fr. 7–9 (28,8 mg, eluiert mit Be-Ae von 7–15% Ae-Gehalt) gaben aus An-Ae 13 mg hexagonale Blättchen, nach Umkristallisieren Smp. 170–180°. Tetranitromethan gab starke Gelbfärbung; nach Mischprobe und Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm (gab nur *a-Fleck*)⁶³⁾ identisch mit *O-Acetyl-dihydro- $\Delta^8:14$ -anhydro-digitoxigenin (XVIII)*.

Die Fr. 10–11 (1,6 mg, eluiert mit Be-Ae-(78:22)) waren amorphe Gemische (a- und b-Fleck). Die Fr. 12–14 (8,4 mg, eluiert mit Be-Ae von 30–45% Ae-Gehalt) gaben aus An-Ae 2,1 mg farblose Nadeln, nach Umkristallisieren Smp. 206–209°; Tetranitromethan gab keine Färbung, in Dünnschichtplatte nur *c-Fleck*. Die Fr. 15–20 (6,8 mg, eluiert mit Ae) gaben keine Kristalle; im Dünnschichtchromatogramm noch schwachen c-Fleck sowie noch einen schwachen, langsamer wandernden Fleck (vermutlich d).

Bemerkung. Synthetisches 3-O-Acetyl-adynerigenin (XV) lieferte nach Hydrierung (siehe unten) ein Gemisch der vier Flecke a, a', c und d. 3-O-Acetyl- $\Delta^8:14$ -digitoxigenin (XIII) gab bei der Hydrierung ein Gemisch (rohes XVIII), das nur die zwei Flecke a und b zeigte. Die entsprechenden Stoffe liessen sich durch Chromatographie an SiO_2 wieder in Kristallen fassen, a war das Hauptprodukt. Die Eigenschaften der fünf Präparate, die jeweils nur die Flecke a, a', b, c und d gaben, sind in Tab. 3 zusammengestellt. Die Flecke a, b und d färben sich beim Entwickeln⁶⁴⁾ braun, c wird zuerst blaugrün, dann braun mit Violettschich.

3 β -Hydroxy-5 β , 20 ξ -carda-8:14-enolid (= *Dihydro-« α »-anhydro-digitoxigenin, XVII*) aus IX. 7,1 mg Anhydro-adynerigenin (IX) wurden im Apparat von CLAUSON-KAAS⁶⁴⁾ mit vorhydriertem PtO_2 in AcOH hydriert. Es wurden total 2,1 Mol. H_2 aufgenommen, davon nur die erste Mol. rasch. Das neutrale Rohprodukt (7 mg) gab aus Ae-Pe 4,9 mg Präp. PJ 35 in farblosen Nadelbüscheln, Smp. 140–146°, $[\alpha]_D^{24} = +36,5 \pm 4^\circ$ ($c = 0,49$ in Me), $\lambda_{\text{max}}^{\text{Alk}} = 203 \mu\mu$ ($\log \epsilon = 3,95$). Trotz zu tiefem Smp. (Isomerie an C-20?) war das IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2) genau gleich wie

⁶¹⁾ P. BELLET, Ann. pharmac. franç. 8, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* 10, 104 (1952).

⁶²⁾ S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. 32, 939 (1949).

⁶³⁾ Ausführung wie Fig. 12⁶⁸⁾, aber Fließmittel Äthylacetat-Cyclohexan-(2:1).

⁶⁴⁾ N. CLAUSON-KAAS & F. LIMBORG, Acta chem. scand. 7, 884 (1947).

Tabelle 3. *Eigenschaften der fünf Präparate a, a', b, c und d*

Stoff	identifiziert mit	Kristalle aus	Smp.	Relative Laufstrecke im Dünnschichtchrom. ⁶³⁾	Gelbfärbung mit Tetranitromethan
a	XVIII (Hauptprodukt)	An-Ae hexagon. Blättchen	171–179°	130 mm	+ +
a'	–	Ae Blättchen	212–217°	122 mm	–
b	XVIII (? Nebenprodukt, evtl. 20-Iso-Verb.)	An-Ae kleine Drusen	192–200°	115 mm	+
c	–	An-Ae Nadeln	206–209°	100 mm	–
d	3-O-Acetyl-dihydrodigitoxigenin	Ae Blättchen	174–177°	93 mm	–

dasjenige vom Dihydro- $\Delta^{8:14}$ -anhydro-digitoxigenin (XVII), und die Mischprobe gab keine Depression.

3 β -Hydroxy-5 β -carda-8:14;20:22-dienolid (= α -Anhydro-digitoxigenin, XII). 1 g Digitoxigenin wurde in 6 ml reiner 99–100-proz. Ameisensäure gelöst und 16 Std. bei 20° stehengelassen⁴⁰⁾. Dann wurde im Vakuum bei 20° auf 3 ml eingengt, mit Eiswasser versetzt und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die mehrmals mit verd. Na₂CO₃-Lösung und W bei 0° gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 1,08 g farblosen krist. Rückstand (Gemisch der O-Formylderivate von $\Delta^{8:14}$ - und Δ^{14} -Anhydro-digitoxigenin). Dieses Material wurde in 80 ml Me gelöst, mit der Lösung von 1,8 g KHCO₃ in 20 ml W versetzt und 18 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde das Me im Vakuum bei 20° entfernt. Die ausgefallenen Kristalle wurden abgenutscht, mit W gewaschen und im Vakuum getrocknet (0,84 g). Die wässrige Lösung wurde noch mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt und lieferte noch 0,09 g Material (total 0,93 g). Dieses Gemisch zeigte einen Doppel-Smp. von ca. 130–140° \rightarrow 170–210°. Zur Trennung bewährte sich folgendes Verfahren: Lösen in trockenem Chf (frisch durch Al₂O₃ filtriert), Filtrieren, Zusatz von Benzol und teilweises Einengen im Vakuum gab prismatische Nadeln, Smp. 222–230°. Diese gaben aus Dioxan-Be-Ae Kristalle vom Smp. 228–232°. Aus An-Be reines XII (Präp. JvE 1206) in farblosen Nadeln, Smp. 232–235°, $[\alpha]_D^{25} = +43,6 \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Chf). Ausbeute 372 mg reinste Kristalle sowie 118 mg vom Smp. 228–233, bzw. 220–228°.

3 β -Acetoxy-5 β -carda-8:14;20:22-dienolid (= 3-O-Acetyl- α -anhydro-digitoxigenin XIII). 205 mg 3 β -Hydroxy-5 β -carda-8:14;20:22-dienolid (= α -Anhydro-digitoxigenin, XII) vom Smp. 230–234° wurden in 1,2 ml abs. Py und 0,8 ml Ac₂O 16 Std. auf 35° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung (aber ohne Behandlung mit HCl) gab 238 mg Rohprodukt. Aus An-Ae, dann aus reinem Me 115 mg Präp. JvE 1208 in farblosen hexagonalen Plättchen oder Prismen, Smp. 177–179°, $[\alpha]_D^{25} = +41,1 \pm 2^\circ$ ($c = 1,3$ in Chf). Die ML gab noch 90 mg Kristalle vom Smp. 172–176°. Zur Trennung vom Δ^{14} -Anhydroderivat sind die O-Acetyl-derivate nicht geeignet.

Epoxylierung von 3 β -Acetoxy-5 β -carda-8:14;20:22-dienolid (= 3-O-Acetyl- α -anhydro-digitoxigenin, XIII). 158 mg XIII vom Smp. 175–178° wurden in 1 ml abs. Chf (frisch durch Al₂O₃ filtriert) gelöst, mit der Lösung von 100 mg gereinigter Benzopersäure⁶⁵⁾ in 2 ml Ae versetzt und 3 Std. bei 20° im Dunkeln stehengelassen. Hierauf wurde mit Chf-Ae-(1:3) verdünnt und mit 1N NaOH in Gegenwart von Eis ausgeschüttelt. Die mit W gewaschene und getrocknete Lösung gab beim Eindampfen 175 mg Rohprodukt. Aus An-Ae farblose Kristalle, Smp. 177–183°, diese aus Chf-Pe

⁶⁵⁾ Hergestellt nach H. WIELAND & F. BERGEL, Liebigs Ann. Chem. 446, 13, bes. 28 (1925). Die aus dem Na-Salz bei 0° mit verd. H₂SO₄ freigesetzte Säure wurde aber nicht mit Chf, sondern mit Ae ausgeschüttelt und diese Lösung mit wässriger KHCO₃-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet.

Doppel-Smp. $184^{\circ} \rightarrow 189^{\circ}$, dann aus reinem Me 20 mg reines α -Epoxid (XX = Pröp. JvE 1207) vom Smp. $188 \rightarrow 192^{\circ}$ sowie 24 mg vom Smp. $186 \rightarrow 189^{\circ}$. Die ML (114 mg) wurde mit 44 mg Material aus einem zweiten Versuch vereinigt und das Ganze (158 mg) an 8 g Al_2O_3 (Akt. III) chromatographiert. Aus den mit Be-Ae-Gemischen eluierten Anteilen liessen sich nochmals 12 mg krist. α -Epoxid (JvE 1207) abtrennen. Die ML und amorphen Anteile (total 58 mg) enthielten noch etwas Ausgangsmaterial. Sie wurden nochmals wie oben mit Benzopersäure behandelt. Das erhaltene Gemisch (99 mg) wurde nochmals an 4,5 g Al_2O_3 (Akt. III) chromatographiert.

Die Fr. 1–4 (eluiert mit Pe-Be von 33–70% Be-Gehalt) gaben nur 1,2 mg amorphes Eluat (verworfen).

Die Fr. 5–12 (48 mg, eluiert mit Pe-Be und reinem Be) gaben aus Spur An mit Ae 17 mg β -Epoxid (XV = Pröp. JvE 1209) vom Smp. 170 – 172° .

Die weiteren Fr. 13–24 (27 mg, eluiert mit Be sowie Be-Ae) gaben noch 6 mg krist. α -Epoxid XX.

Ein ganz ähnliches Resultat wurde erhalten, als freies « α »-Anhydro-digitoxigenin (XII) mit Benzopersäure epoxyliert wurde. Aus 102 mg Gemisch von XIV und XIX (Hauptprodukt) wurden nach Kristallisation aus Chf-Ae, dann aus Spur Chf-Be 27 mg lange, dünne Nadeln vom Smp. 216 – 219° (Pröp. JvE 1205) erhalten, bei denen es sich vermutlich um weitgehend reines XIX handelt. $[\alpha]_D^{25} = +32,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1$ in Chf), $[\alpha]_D^{25} = +30,0^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,7$ in Me), $[\alpha]_D^{25} = +35,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1,2$ in Py). Nach Acetylierung der ML und Chromatographie an Al_2O_3 liessen sich wieder XV und XX rein fassen.

3β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-carda-20:22-enolid (XX) (Pröp. JvE 1207). Aus Chf-Be farblose flache Nadeln, Doppel-Smp. $188^{\circ} \rightarrow 192^{\circ}$, aus Me Nadeln, Smp. 189 – 190° , $[\alpha]_D^{25} = +29,3^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 0,9$ in Chf), $[\alpha]_D^{25} = +28,4^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,66$ in Me). IR.-Spektren vgl. Fig. 4 und 6, UV.-Spektrum Fig. 8. Farbreaktion mit H_2SO_4 siehe Tab. 2.

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (414,52) Ber. C 72,43 H 8,27% Gef. C 72,17 H 8,25%

3β -Acetoxy-8,14 β -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XV) (Pröp. JvE 1209). Aus Spur An-Ae ca. 1:10 farblose Nadelchen, Smp. 172 – 173° , $[\alpha]_D^{20} = +43,3^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,7$ in Chf), $[\alpha]_D^{25} = +37,1^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,63$ in Me). IR.-Spektren siehe Fig. 5 und 6; UV.-Spektrum vgl. Fig. 7. Farbreaktion mit H_2SO_4 siehe Tab. 2. Laufstrecke im Pchr und auf der Dünnschichtplatte vgl. Fig. 9–13. Die Mischprobe mit XX schmolz bei 145 – 185° . Die Mischprobe mit natürlichem 3-O-Acetyl-adynerigenin gab keine Depression.

Isomerisierung des α -Epoxids XX an SiO_2 . 75 mg 3β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XX) (Pröp. JvE 1207) wurden in ca. 5 ml abs. Be an eine Säule von 8 g Kieselgel (MERCK, 0,05–0,20 mm, für Chromatographie) adsorbiert und 62 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde chromatographiert.

Fr. 1–11 (eluiert mit Be sowie Be-Ae bis 22% Ae-Gehalt) gaben nur 2,5 mg amorphes Eluat (verworfen).

Die Fr. 12–14 (33 mg, eluiert mit Be-Ae von 33–50% Ae-Gehalt) gaben aus An-Ae 24,5 mg krist. Ausgangsmaterial, Smp. $183 \rightarrow 189^{\circ}$, Mischprobe mit Pröp. JvE 1207 ebenso.

Die Fr. 15 (ca. 4 mg, eluiert mit Be-Ae-(1:1)) war ein Gemisch.

Die Fr. 16–20 (37 mg, eluiert mit Be-Ae-(1:3) und reinem Ae) gaben aus Chf-Ae 30 mg Kristalle, Smp. 220 – 230° . Aus Chf-Ae 23 mg reines Präparat JvE 1210 (XXI oder XXII?) in flachen Nadelchen, Smp. 231 – 233° , nach starkem Reiben Smp. 242 – 246° , $[\alpha]_D^{24} = +40,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$ ($c = 1$ in Chf). Tetranitromethan gab schwache, aber deutliche Gelbfärbung. Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 : gelb \rightarrow violett. Trocknung zur Analyse 20 Std. bei 80° und 0,01 Torr über P_2O_5 .

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (414,52) Ber. C 72,43 H 8,27% Gef. C 72,14 H 8,33%

Behandlung unreiner Gemische. 230 mg unreine Gemische von XV und XX wurden wie oben an 20 g SiO_2 adsorbiert. Bei der Chromatographie wurden erhalten:

63 mg Fr. 27–33 (eluiert mit Be-Ae von 15–30% Ae-Gehalt), daraus aus An-Ae 44 mg krist. XV. Das weitere mit Be-Ae und reinem Ae eluierte Material gab noch 61 mg krist. Pröp. 1210, Smp. 229 – 232° (stark gerieben Smp. 238 – 242°).

Hydrierung des α -Epoxids XX. 37 mg 3β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XX) (Pröp. JvE 1207) wurden mit 25 mg $\text{PtO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ in 1,5 ml AcOH 2 Std. in H_2 -Atmosphäre geschüttelt. Die Gasaufnahme betrug 4,0 ml (= 2 Mol-Äquiv.), sie war bereits nach 20 Min. beendet.

Es wurde filtriert, im Vakuum eingengt, in $\text{Chf-Ae}(1:3)$ aufgenommen, mit KHCO_3 -Lösung und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (38 mg) wurde an 3 g Silicagel (MERCK, 0,05–0,2 mm) chromatographiert.

Die Fr. 1–6 (eluiert mit Be sowie Be-Ae bis 10% Ae-Gehalt) gaben nur 0,8 mg amorphes Material (verworfen).

Fr. 7 (9,5 mg, eluiert mit Be-Ae(88:12)) gab aus An-Ae 4 mg lange flache Nadeln, Smp. 185–190°. Die Kristalle gaben auf der Dünnschichtplatte nur einen *Fleck a* (entspr. XVIII). Die Mischprobe mit authentischem XVIII (Smp. 180–190°) schmolz bei 178–188°.

Die Fr. 8–10 (19,5 mg, eluiert mit Be-Ae von 12–15% Ae-Gehalt) gaben aus Ae-Pn 5 mg farblose Blättchen, Smp. 181–186°, sowie 4,5 mg vom Smp. 157–177°. Beide Kristallisate gaben auf der Dünnschichtplatte nur einen *Fleck a* (entspr. XVIII). Die Mischprobe der ersten Qualität mit authentischem XVIII (Smp. 180–190°) schmolz bei 178–187°.

Die Fr. 11–14 (1 mg, eluiert mit Be-Ae von 15–30% Ae-Gehalt) gaben nur amorphes Material, verworfen.

Die Fr. 15–17 (0,9 mg, eluiert mit Be-Ac(1:1) und reinem Ae) gaben aus Ae wenig Kristalle, Smp. 263–265°.

Die weiteren Fr. 18–24, eluiert mit Ae unter Zusatz von 1–60% Chf-Me-Eg-(1:1:1) gaben nur noch Spuren Material (verworfen).

Hydrierung von synthetischem 3-O-Acetyl-adynerigenin (XV). 40 mg teilsynthetisches 3-O-Acetyl-8,14 β -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XV, Präp. JvE 1209) wurden mit 20 mg $\text{PtO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ in 1,5 ml AcOH 3 Std. wie oben hydriert (Gasaufnahme 3,6 ml entspr. 2 Mol-Äquiv.). Aufarbeitung wie oben gab 38 mg Rohprodukt, das an 3,5 g Silicagel chromatographiert wurde.

Die Fr. 1–4 (eluiert mit Be und Be-Ae bis zu 10% Ae-Gehalt) gaben nur 0,8 mg amorphes Eluat (verworfen).

Die Fr. 5–6 (7,5 mg, eluiert mit Be-Ac(9:1)) gaben aus Ae-Pe 3,8 mg farblose Blättchen, Smp. 171–179°, nach Dünnschichtplatte (*Fleck a*) und Mischprobe *identisch mit XVIII*. Tetranitromethan gab starke Gelbfärbung.

Die Fr. 7–16 (total 5,7 mg, eluiert mit Be-Ae von 12–30% Ae-Gehalt) lieferten aus Ae wenig Kristalle, Blättchen, Smp. 199–201°, sowie 0,5 mg vom Smp. 212–217°. Alle zeigten auf der Dünnschichtplatte nur den *Fleck a'* mit Laufstrecke zwischen a und b. Tetranitromethan gab keine Gelbfärbung. Fleck b konnte hier nicht festgestellt werden.

Die Fr. 17–19 (19,6 mg, eluiert mit Be-Ac(1:1) sowie mit reinem Ae) gaben aus An-Ac Kristallgemische, die im Dünnschichtchromatogramm nur den *c-Fleck* zeigten. Das beste Präparat (3,8 mg) zeigte den Smp. 160–167°, die Hauptmenge (6,5 mg) schmolz bereits bei 130–150°. Tetranitromethan gab schwache Gelbfärbung.

Die Fr. 20–22 (4,3 mg, eluiert mit Ae und Zusatz von 1–4% einer Mischung von Chf-Me-Eg) gab aus Ae 1,8 mg Kristalle, Smp. 174–177°. Tetranitromethan gab keine Gelbfärbung. Nach Mischprobe und Laufstrecke im Dünnschichtchromatogramm (gab nur den *d-Fleck*) *identisch mit 3-O-Acetyl-dihydrodigitoxigenin*.

3 β -Acetoxy-8,14 β -epoxy-5 β -ätiensäure-methylester (XXIII) aus XV. 39,4 mg natürliches 3-O-Acetyl-adynerigenin (XV) vom Smp. 171–173° wurden in 5 ml Eg gelöst, auf -80° abgekühlt, während 10 Min. ozonhaltiger Sauerstoff durchgeleitet (ca. 100 ml pro Min., mit ca. 4% O_3) und noch 30 Min. bei -80° stehengelassen. Dann wurde die blaue Lösung im Vakuum bei 0° auf ca. 2 ml eingengt, mit 2 ml AcOH, 0,5 ml wässriger, 10-proz. Na-Acetat-Lösung und bei 0° unter Schütteln mit ca. 0,3 g Zn-Staub versetzt. Nach einer Minute war die Probe mit KJ-Stärkepapier negativ. Es wurde filtriert, mit wenig Me und Ae nachgewaschen, das Filtrat mit 3 ml Na-Acetat-Lösung versetzt und im Vakuum auf ca. 3 ml eingengt. Dann wurde mit Eg ausgeschüttelt. Die bei 0° mit W, 10-proz. KHCO_3 -Lösung und W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (39 mg) wurde in 5 ml Me gelöst, mit der Lösung von 55 mg KHCO_3 in 2 ml W versetzt und 24 Std. stehengelassen. Dann wurde mit 2 ml W versetzt, das Me im Vakuum entfernt, die wässrige Lösung auf -10° abgekühlt, mit gekühlter 1N H_2SO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und in Gegenwart von Eis mit Chf ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen und getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 37 mg rohes Ketol. Es wurde in 2,5 ml Me gelöst, mit der Lösung von 110 mg Na_2J_4 in 1 ml W und 1 ml Me versetzt und bei 20° stehengelassen. Bereits nach 10 Min. begannen sich Nadeln abzuschneiden. Es wurde total 1 Std. stehengelassen. Dann wurde mit 3 ml W versetzt, das Me im

Vakuum entfernt, die Mischung auf -10° abgekühlt und mit gekühlter 1N H_2SO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und mit Chf ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschenen Auszüge wurden mit 2N Sodalösung in Gegenwart von Eis sowie mit Eiswasser je dreimal ausgeschüttelt. – Die verbliebene Chf-Phase hinterliess nach Trocknen und Eindampfen 5 mg neutrale Anteile (nicht untersucht). Die vereinigten Soda-Auszüge und Waschwasser wurden bei -10° wieder mit gekühlter H_2SO_4 bis zur eben kongosauren Reaktion versetzt und mit Chf-Ae ausgeschüttelt. Die mit Eiswasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge wurden mit überschüssiger, frisch dest. ätherischer Diazomethanlösung versetzt und 10 Min. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit verd. Essigsäure und Sodalösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der kristalline Rückstand (30 mg) wurde mit 0,6 ml abs. Py und 0,4 ml $(\text{Ac}_2)\text{O}$ 24 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 30 mg amorphes Rohprodukt, das zur Reinigung an SiO_2 chromatographiert wurde. Die mit Be-Ae-(9:1) eluierten Anteile (22 mg) gaben aus Pn 12,8 mg Präp. PJ 44 in farblosen feinen Nadeln, Smp. $101-102^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = +61,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,77$ in Chf). Nach Mischprobe, Farbreaktionen, IR.-Spektrum und Protonenresonanzspektrum identisch mit authentischem *3 β -Acetoxy-8,14 β -epoxy-5 β -ätiensäure-methylester* (XXIII) (Präp. AI. 604)²⁶. Trocknung zur Analyse 2 Std. bei 0,01 Torr und 20° über P_2O_5 .

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (390,50) Ber. C 70,74 H 8,78% Gef. C 71,09 H 9,06%

Abbau von 3 β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-5 β -carda-20:22-enolid (XX). 65 mg XX wurden in 5 ml Eg wie oben behandelt. Nach Reduktion mit Zn-Staub wurden 68 mg neutrales Reduktionsprodukt erhalten, das alkalische Silberdiammin-Lösung sofort stark reduzierte. Verseifung mit KHCO_3 gab 62 mg rohes Ketol, das, mit 60 mg NaJO_4 abgebaut, 8 mg neutrale und ca. 47 mg saure Anteile lieferte. Letztere wurden mit Diazomethan methyliert und gaben 48 mg rohen Methylester, der mit $(\text{Ac}_2)\text{O}$ -Py wieder nachacetyliert wurde. Das Material gab auf der Dünnschichtplatte mehrere (mindestens 3) Flecke, von denen einer die für den *α -Epoxyester* XXIV passende Laufstrecke zeigte. Es wurde an 1,5 g Al_2O_3 chromatographiert.

Fr. 1–2 (9,8 mg, eluiert mit Be) gab keine Kristalle und in der Dünnschichtplatte einen Fleck, der rascher lief als XXIV und langsamer als *3 β -Acetoxy-5 β -äti-8:14-ensäure-methylester* (AL 448)²⁷.

Die Fr. 3–8 (16 mg, eluiert mit Be-Ae von 1–5% Ae-Gehalt) gaben verschiedene Kristalle (Smp. zwischen ca. $110-115^\circ$ und $120-140^\circ$), die alle auf der Dünnschichtplatte wie XXIV liefen und die sich wie dieses beim Entwickeln blau anfärbten. Reiner Ester XXIV liess sich nicht fassen.

Die Fr. 9–12 (4 mg, eluiert mit Be-Ae von 8–30% Ae-Gehalt) gaben noch wenig Kristalle, Smp. $85-135^\circ$, die auf der Dünnschichtplatte 2–3 Flecke gaben.

Die weiteren Fraktionen gaben noch 13,4 mg Eluat, die nicht kristallisierten und die auf der Dünnschichtplatte 3–5 Flecke gaben.

Beständigkeitsprüfungen an 3 β -Acetoxy-8,14 α -epoxy-5 β -ätiensäure-methylester (XXIV). – a) *Ozon und Zn*. 12 mg XXIV vom Smp. $151-153^\circ$ wurden in 2 ml Eg gelöst und bei -80° 30 Min. ozonisierter Sauerstoff durchgeleitet. Dann wurde das überschüssige Ozon im Vakuum bei 0° entfernt, 0,2 ml Eisessig, 0,1 ml Wasser, 0,05 g Na-Acetat und 0,1 g Zn-Staub zugegeben und 2 Std. bei 20° geschüttelt. Aufarbeitung wie oben gaben 12 mg neutrales Rohprodukt, das sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwies.

b) *NaJO₄*. 12 mg XXIV wurden in 0,8 ml Me gelöst, mit der Lösung von 10 mg NaJO_4 in 0,2 ml W versetzt und $1\frac{1}{2}$ Std. stehengelassen. Dann wurde bei -10° mit verd. H_2SO_4 bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Ae ausgeschüttelt. Die Aufarbeitung gab 12 mg Ausgangsmaterial.

c) *Diazomethan*. 17 mg XXIV wurden in ätherischer Diazomethanlösung gelöst und 15 Min. bei 20° stehengelassen. Der Eindampfrückstand gab aus Ae-Pn 9,5 mg farblose Blättchen, Smp. $144-152^\circ$; nach Dünnschichtchromatogramm identisch mit Ausgangsmaterial. Die Mutterlauge gab im Dünnschichtchromatogramm 4–5 Flecke, davon einer wie XXIV, einer rascher und 2–3 langsamer laufend wie dieser.

Die Mikroanalysen wurden von Herrn E. THOMMEN im mikroanalytischen Labor des Instituts ausgeführt.

SUMMARY

The structure of adynerigenin as 3 β -hydroxy-8,14 β -epoxy-5 β -carda-20:22-enolide (XIV) has been established by degradation and partial synthesis. Adynerin is the corresponding β -D-diginoside (VII).

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

38. Konfiguration der raumisomeren 3 β -Acetoxy-8,14-epoxy-ätiansäure-methylester und verwandter Stoffe

Gallensäuren und verwandte Stoffe, 58. Mitteilung¹⁾

von A. Lardon und T. Reichstein

(7. XII. 62)

Vor einiger Zeit wurde ein krist. 3 β -Acetoxy-8,14-epoxy-ätiansäure-methylester beschrieben, dem wir die 8,14 α -Konfiguration VII zuschrieben²⁾. Zur Sicherung der Struktur des Adynerigenins³⁾ war es erwünscht, diese Konfiguration zu beweisen sowie den raumisomeren Ester VIII kennenzulernen.

Als Ausgangsmaterial wurde der ungesättigte Ester V benötigt. Dieser entsteht aus dem Hydroxyester I mit SOCl₂ in Pyridin nur in Spuren²⁾, Hauptprodukt ist der Δ^{14} -Ester IV. Bessere Ausbeute an V liefert die Wasserabspaltung mit Ameisensäure nach FRÈREJACQUE⁴⁾. Es wurden aber auch hier stets Gemische erhalten, deren Zusammensetzung je nach angewandten Bedingungen stark schwankte. Bei 20° (16 Std.) entstanden fast nur IV und V, bei 80° und kurzer Einwirkung (15 Min.) bildete sich ausser IV und V ein drittes Isomeres, das vermutlich Formel VI besitzt (siehe unten). Bei 80° und längerer Einwirkung (3 Std.) liess sich fast nur noch VI nachweisen. Aus solchen Gemischen der drei Ester IV, V und VI liess sich bestenfalls ein Teil von IV oder V isolieren, und dies nur dann, wenn einer dieser Stoffe stark überwog. Daher haben wir die früher beschriebene²⁾ Methode verwandt: Das Gemisch der isomeren ungesättigten Ester IV, V und VI wird zuerst mit Pt in Eisessig hydriert. Dabei wird IV in den gesättigten Ester II übergeführt, V und VI werden jedoch nicht verändert (siehe unten). Anschliessend wird mit Benzopersäure behandelt, wobei II unverändert bleibt und jeder der zwei ungesättigten Ester V und VI zwei raumisomere Epoxide VII und VIII bzw. IX und XI (die Struktur 159

¹⁾ 57. Mitt.: H. TOBIAS, *Helv.* 46, 159 (1963).

²⁾ A. LARDON, H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1457 (1959).

³⁾ P. ST. JANIÁK, EK. WEISS, J. V. EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 46, 374 (1963).

⁴⁾ Vgl. Fussnote 40 bei JANIÁK *et al.*³⁾.

⁵⁾ F. HUNZIKER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 28, 1472 (1945).

⁶⁾ T. REICHSTEIN & H. G. FUCHS, *Helv.* 23, 658 (1940).

⁷⁾ H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 38, 1721 (1955).

⁸⁾ Experimenteller Teil dieser Arbeit.

⁹⁾ Die Struktur dieses Stoffes ist nicht gesichert. Die zwei raumisomeren Epoxide IX und XI unterscheiden sich nur durch die räumliche Stellung des Epoxidringes, die Zuordnung (8, 9 α oder 8, 9 β) ist vorläufig willkürlich.

¹⁰⁾ A. LARDON & T. REICHSTEIN, *Helv.* 45, 943 (1962).