

- [8] J. E. BLOOR & S. GARTSIDE, *Nature* 184, 1313 (1959).  
 [9] C. T. MORTIMER, «Reaction Heats and Bond Strengths», Pergamon Press, London 1962.  
 [10] S. KAARSEMAKER & J. COOPS, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* 71, 261 (1952).  
 [11] A. A. FROST & R. G. PEARSON, «Kinetics and Mechanism», J. Wiley & Sons, Inc., New York 1953.  
 [12] F. GERSON, B. WEIDMANN & E. HEILBRONNER, *Helv.* 47, 1951 (1964).  
 [13] A. STREITWIESER JR., «Molecular Orbital Theory for Organic Chemists», J. Wiley & Sons, Inc., New York 1961.  
 [14] T. URBANSKI & M. WOLFF, *Roczniki Chemii* 39, 1447 (1965).  
 [15] S. D. ROSS, M. FINKELSTEIN & R. C. PETERSEN, *J. Amer. chem. Soc.* 80, 4327 (1958).  
 [16] A. G. ANDERSON JR. & R. G. ANDERSON, *J. Amer. chem. Soc.* 77, 6610 (1955).

## 219. Nigrescigenin, Identifizierung mit Sarmentosigenin A<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglykone, 281. Mitteilung<sup>2)</sup>

von R. Brandt, H. Kaufmann und T. Reichstein

(25. VI. 66)

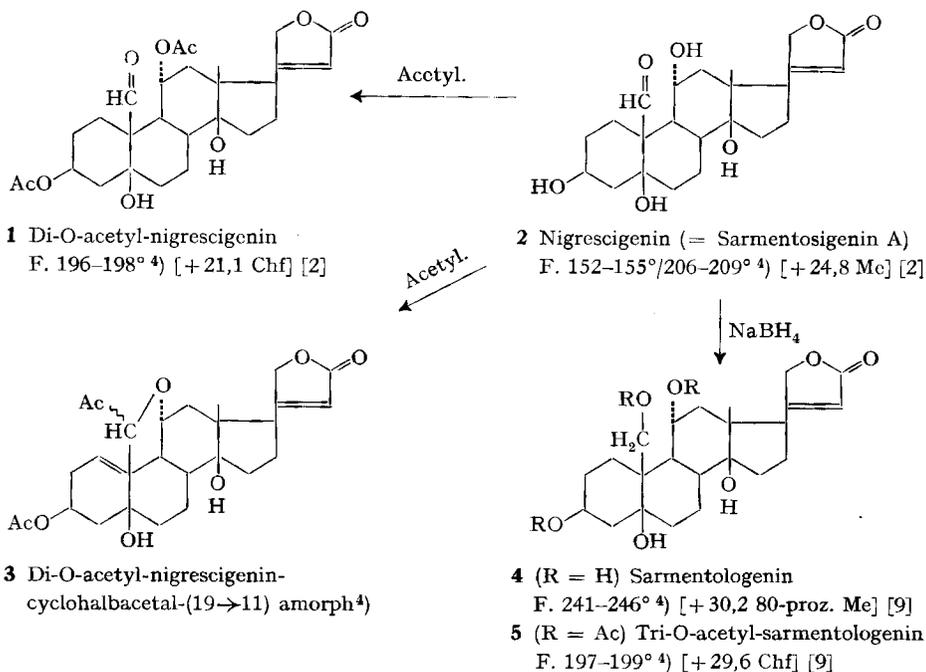
1. *Frühere Versuche.* Nigrescigenin wurde nur einmal von SCHENKER [2] aus dem Holz von *Parquetina nigrescens* (AFZEL.) BULLOCK [3] (= *Periploca nigrescens* AFZEL.), einer polymorphen, im tropischen Westafrika weit verbreiteten Liane (*Asclepiadaceae*) isoliert. Es kommt darin mit D-Glucose verknüpft in Form hochpolarer Glucoside vor, die nicht in reinem Zustand isoliert wurden, die aber durch fermentativen Abbau mit Strophanthobiase das gut kristallisierende Aglykon lieferten. Es zeigte die Summenformel C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>7</sub>. Auf Grund des Absorptionsspektrums und der relativ starken digitalisartigen Wirkung lag ein Cardenolid vor. Es liess sich durch ein krist. Di-O-acetylderivat C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>9</sub> charakterisieren. Zwei spätere Versuche [4]<sup>3)</sup>, aus getrockneter Droge ähnlicher aber nicht identischer Provenienz etwas grössere Mengen von Nigrescigenin zu bereiten, um die Struktur abklären zu können, führten nicht zum Ziel. Beide Drogenmuster enthielten reichliche Mengen von Strophanthidin- und anderen Cardenolid-Glykosiden, lieferten aber kein Nigrescigenin. Es handelt sich vermutlich um «chemische Rassen», die sich morphologisch nicht eindeutig differenzieren lassen<sup>3)</sup>. Ähnliche Verhältnisse sind auch bei anderen cardenolidführenden Pflanzen, z.B. bei *Strophantus sarmentosus* [5] sowie bei *Acokanthera schimperi* [6] vorgefunden worden.

2. *Strukturabklärung durch Identifizierung mit Sarmentosigenin A.* Es wurde daher versucht, die Struktur mit Hilfe des alten noch von SCHENKER isolierten Materials abzuklären. Überraschenderweise ergab sich dabei, dass Nigrescigenin mit Sarmentosi-

<sup>1)</sup> Auszug aus Dissertation R. BRANDT, Basel 1966.

<sup>2)</sup> 280. Mitteilung: R. BRANDT *et al.* [1].

<sup>3)</sup> Das von SCHENKER *et al.* [2] untersuchte Material stammte aus Congo Oubangui, beim Dorf Bogona (Strasse Gemena-Karawa), das von BERTHOLD *et al.* [4] untersuchte Material aus dem Djumawald, früherer Congo belge, und das Material von SCHAUB (nicht publiziert) von Ibadan, Nigeria. In allen drei Fällen war zugehöriges gutes Herbarmaterial vorhanden, das bei [2] und [4] von den Herren BULLOCK, MILNE-REDHEAD und MEIKLE, Royal Botanical Gardens in Kew, kontrolliert und als *Parquetina nigrescens* identifiziert wurde.



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln an. Abkürzungen vgl. Einleitung zum exper. Teil.

genin A identisch ist, dessen Formel **2** von WEISS *et al.* [7] sowie FECHTIG *et al.* [8] abgeklärt worden ist. Sarmentosigenin A wurde von WEISS durch Spaltung von Sarmentosid A in Kristallen, aber nur in sehr schlechter Ausbeute erhalten. Das Präparat, von dem nur wenige mg vorlagen, konnte nicht genügend gereinigt werden und zeigte einen Smp. (220–230°) der anscheinend von demjenigen des Nigrescigenins (238–241°)<sup>5)</sup> verschieden war, was die Ursache dafür war, dass ein weiterer direkter Vergleich unterblieb. Die wichtigsten zur Strukturabklärung erforderlichen Reaktionen erfolgten seinerzeit auf der Stufe der Glykoside. Nach jetzt durchgeführtem Vergleich zeigten Nigrescigenin und Sarmentosigenin A im Papierchromatogramm in vier Systemen identische Laufstrecken. Auch die Farbreaktionen mit konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> waren gleich. Nigrescigenin (**2**) gab bei der Acetylierung erwartungsgemäss zwei Acetyl-derivate. Zur Hauptsache entstand das bereits bekannte krist. Di-O-acetyl-derivat **1**, das nach IR.-Spektrum (Fig. 2) und UV.-Spektrum ( $\lambda_{max}^{Alk} = 217$  nm ( $\log \epsilon = 4,21$ ) und 303 nm ( $\log \epsilon = 1,4$ )) eine freie Aldehydgruppe enthält. In kleinen Mengen entstand daneben (Verhältnis ca. 9:1) ein zweites Produkt (Präp. RB 13), das nach chromatographischer Reinigung in amorpher aber papierchromatographisch einheitlicher Form isoliert wurde. Es zeigte im UV.- und IR.-Spektrum (Fig. 3) keine freie Aldehydgruppe mehr. Wir vermuten, dass es sich um das isomere cyclische Acetat **3** handelt, denn genau gleich verhalten sich bei der Acetylierung die zwei

<sup>4)</sup> Siehe exper. Teil dieser Arbeit.

<sup>5)</sup> Nigrescigenin zeigt je nach dem Lösungsmittel aus dem es umkristallisiert wurde einen etwas verschiedenen Smp.

Glykoside Sarmentosid A und Thollosid, die beide dasselbe Genin **2** enthalten. Ein gleiches Verhalten zeigte auch das alte Präparat von «Sarmentosigenin A» (Acetylierung im Mikromaßstab [7] und nochmalige Kontrolle): es entstand ein Gemisch, das

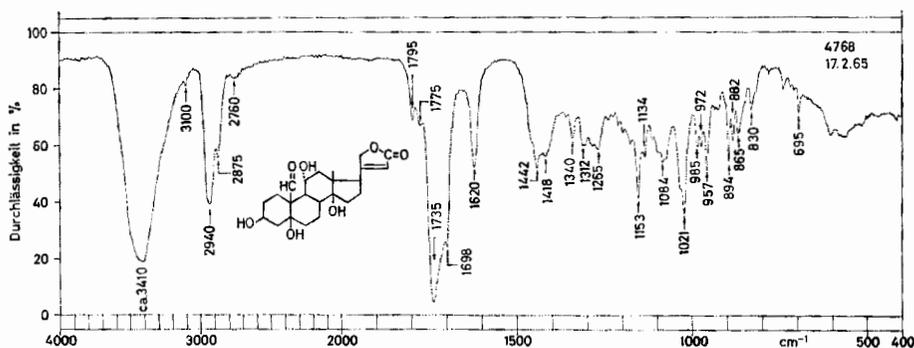


Fig. 1. IR.-Absorptionsspektrum von Nigrescigenin (**2**), Smp. 152/206°, 0,94 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>6)</sup>

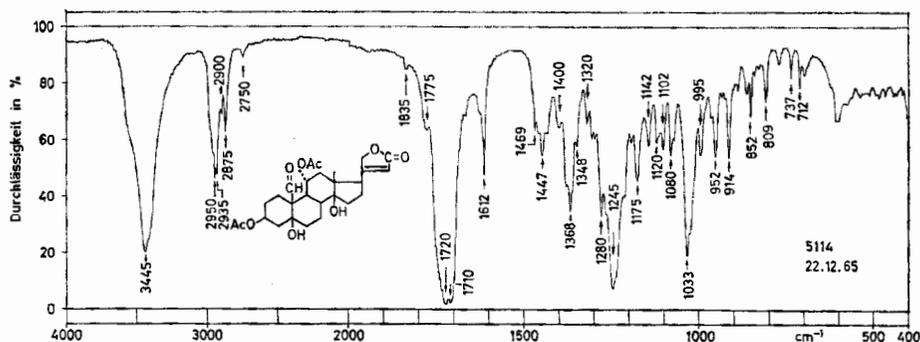


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-nigrescigenin (**1**), Smp. 196°, 0,75 mg fest in ca. 300 mg KBr<sup>6)</sup>

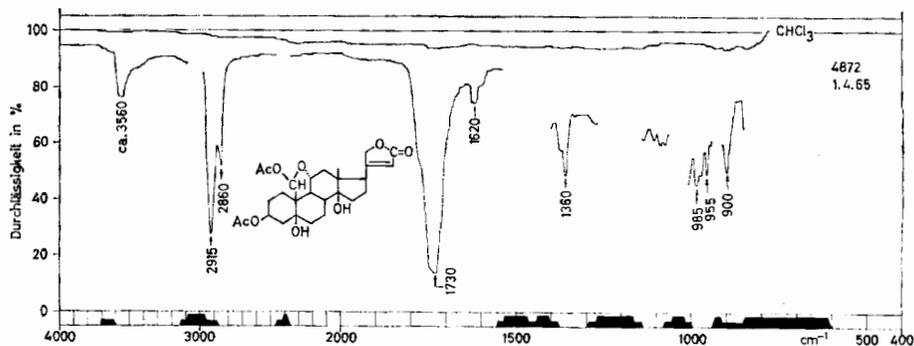


Fig. 3. IR.-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-nigrescigenin-cyclohalbacetal (**3**), amorph, 0,01M in CHCl<sub>3</sub>, d = 1 mm<sup>6)</sup>

<sup>6)</sup> Aufgenommen von den Herren Dr. U. HEIDRICH, W. SCHWAB und K. AEGERTER auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Zweistrahlgitterspektrographen, Modell 125.

im Papierchromatogramm die zwei Flecke von **1** und **3** (Mengenverhältnis ca. 9:1) zeigte. Schliesslich wurde Nigrescigenin auch noch mit  $\text{NaBH}_4$  reduziert. Das krist. Reduktionsprodukt und das daraus bereitete ebenfalls krist. Acetylderivat waren identisch mit Sarmentologenin (**4**) bzw. Tri-O-acetyl-sarmentologenin (**5**), deren Struktur gesichert ist [9]. Die Identität von Nigrescigenin und Sarmentosigenin A ist damit eindeutig bewiesen. Da der Name Nigrescigenin älter ist, muss er in Zukunft für den Stoff der Formel **2** verwendet werden.

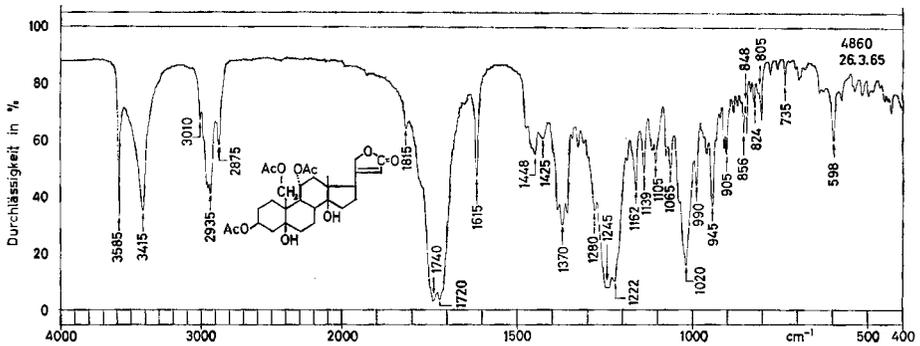


Fig. 4. IR-Absorptionsspektrum von Tri-O-acetyl-sarmentologenin (**5**), Smp.  $197^\circ$ , 1,25 mg Präp. RB 15 aus Nigrescigenin, fest in ca. 300 mg KBr<sup>6)</sup>

Das Spektrum des Originalpräparats von FECHTIG [9] aus Sarmentosid war vollkommen identisch, so dass es hier nicht abgebildet wird

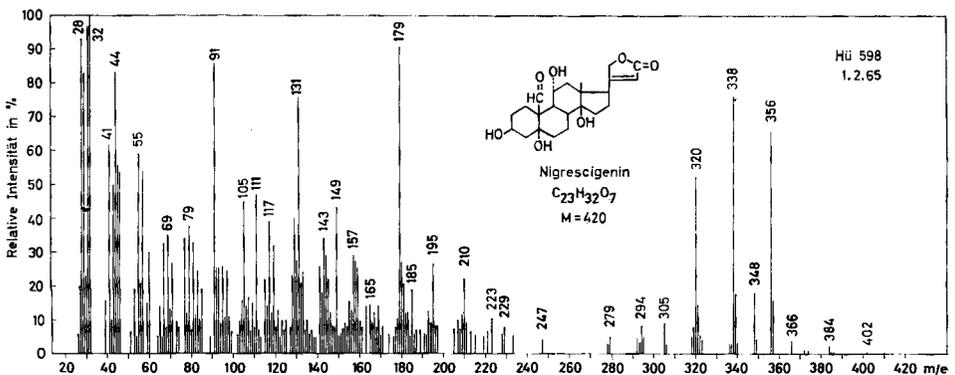


Fig. 5. Massenspektrum von Nigrescigenin (**2**), Smp.  $152-155^\circ/206-209^\circ$ , Kationenspektrum  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_7$  (420)<sup>7)</sup>

Versuchswise Zuordnung:  $402 = M-18$ ;  $384 = 402-18$ ;  $366 = 384-18$ ;  $356 = 384-28$ ;  $320 = 348-28$ . Eine Spitze des Molekel-Ions ( $M = 420$ ) ist nicht sichtbar. Die starke Spitze bei  $m/e = 179$  ist für Nigrescigenin recht charakteristisch, im isomeren Antiarigenin hebt sie sich nicht von den benachbarten ab.

<sup>7)</sup> Aufgenommen im Physikalaboratorium der CIBA-AKTIENGESELLSCHAFT Basel, auf einem ATLAS-Massenspektrometer, Modell CH 4, Elektronenenergie 70 eV, Elektronenstrom  $35 \mu\text{Amp}$ , Temperatur Ionenquelle  $95^\circ$ . Wir danken Herrn Dr. H. HÜRZELER auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums.

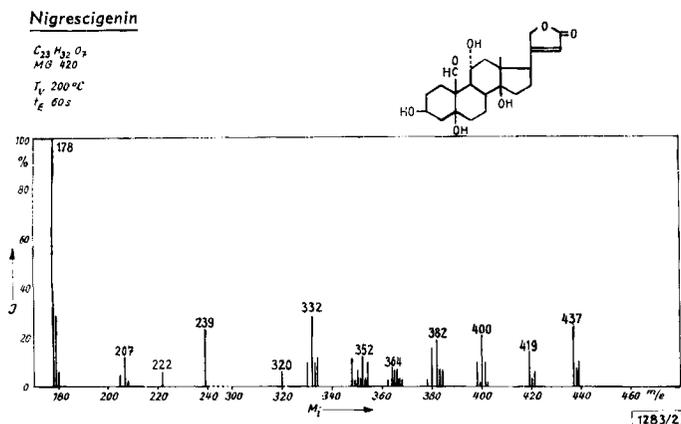


Fig. 6. Massenspektrum von Nigrescigenin (2), Smp. 152–155°/206–209°, Anionenspektrum  $C_{23}H_{32}O_7$  (420)<sup>6)</sup>

Methodik vgl. [10].  $T_v = 200^\circ$  und  $t_E = 60$  s. 439 = 402 + 37 und 437 = 402 + 35 (Cl-Anlagerung aus Verunreinigung der Ionenquelle). Die weiteren Spitzen dürften wie folgt zu deuten sein: 419 =  $M - 1$ ; 401 = 419 – 18; 400 = 401 – 1; 382 = 400 – 18; 364 = 382 – 18. Bei höherer Temperatur war auch die Spitze bei 418 (evtl.  $M - 2$ ) deutlich.

**Experimentelles.** – *Allgemeine Angaben.* Alle Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis  $200^\circ \pm 2^\circ$ , darüber  $\pm 3^\circ$ . Substanzproben zur Drehung wurden 1 Std. bei 0,02 Torr und  $60^\circ$  getrocknet; für die Spektren wurden sie bis zur Gewichtskonstanz bei ca. 740 Torr und  $20^\circ$  über  $CaCl_2$  getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Einengen im Vakuum, Versetzen mit Wasser, Ausschütteln mit angegebem Lösungsmittel, Waschen der Auszüge mit 2 N HCl, 2 N  $Na_2CO_3$  und Wasser, Trocknen über  $Na_2SO_4$  und Eindampfen im Vakuum. Zur Adsorptionschromatographie diente Kieselgel MERCK, Korngrösse 0,05–0,2 mm, zur Dünnschichtchromatographie Kieselgel H MERCK. Papierchromatographie auf WHATMAN-Papier Nr. 1 [11]. Die Papiere wurden zur Imprägnierung mit Formamid kurz durch ein Aceton-Formamid-(4:1)-Gemisch gezogen. Zur Imprägnierung mit Wasser zog man sie durch ein Aceton-Wasser-(2:1)-Gemisch und liess sie an der Luft hängen bis sie einen Wassergehalt von 35% des Papiertrockengewichts erreicht hatten. Entwicklung der Papiere mit KEDDE-Reagens [12], der Dünnschichtplatten mit *p*-Toluolsulfonsäure.

Es wurden folgende Abkürzungen verwendet:  $Ac_2O$  = Acetanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Ml = eingedampfte Mutterlauge, Pchr = Papierchromatogramme und Papierchromatographic, Py = Pyridin, W = Wasser; Smp. = F. = Schmelzpunkt. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

*Nigrescigenin (2).* Mehrmalige Umkristallisation des von SCHENKER [2] isolierten Materials aus Me-Ae gab 74 mg farblose Kristalle vom Doppel-Smp. 152–155°/206–209°. Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$ : braun (1'), braun-violett (15'), braunrot (30'), grau-grün (4 Std.), grau (6 Std.). IR.-Absorptionsspektrum: Fig. 1; Massenspektren: Fig. 5 und 6.

*Di-O-acetyl-nigrescigenin (1).* – a) Aus Nigrescigenin-Präparat SCHENKER *et al.* [2] aus *Parquetina nigrescens*. 32 mg Nigrescigenin 2 vom Doppel-Smp. 152–155°/206–209° wurden mit 0,4 ml  $Ac_2O$  und 0,6 ml abs. Py 18 Std. bei  $35^\circ$  stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung mit Chf-Alk-(3:2) erhielten wir 34 mg Rohprodukt. Dieses zeigte im Pchr. mit Be-Chf-(7:5)/Fmd zwei Flecke ( $R_f = 0,35$  und 0,66), Verhältnis der Intensitäten ca. 9:1. Zweimalige Kristallisation aus Me/Ae gab 15 mg farblose Spiesse vom Smp. 196–198°. Die Substanz war nach Drehung, Farbreaktion mit konz.  $H_2SO_4$  und Laufstreifen im Pchr. identisch mit dem Diacetat 1 von SCHENKER [2].

<sup>6)</sup> Wir danken den Herren Prof. M. v. ARDENNE und Dr. R. TÜMLER auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums.

Das UV.-Spektrum in Alk zeigte eine Absorption bei 217 nm ( $\log \epsilon = 4,21$ ) und bei 303 nm ( $\log \epsilon = 1,4$ ). IR.-Spektrum vgl. Fig. 2.

Die MI der obigen Kristalle wurde durch präparative Pchr. [13] auf zwei Blättern WHATMAN-Papier Nr. 1 im System Be-Chf-(7:5)/Fmd getrennt. Die das Acetat **3** enthaltenden Zonen wurden ausgeschnitten und mit Me eluiert. Nach einer Reinigung an wenig Silicagel erhielten wir 3,7 mg reines Di-O-acetyl-nigrescigenin-cyclohalbacetal (**3**), das jedoch nicht kristallisierte. Dieser Stoff zeigte im Pchr. gleiche Laufstrecken wie die bei der Acetylierung von Sarmentosigenin (siehe unten) erhaltene, rascher laufende Substanz. Wir vermuten, dass es sich wie bei WEISS [7] um das cyclische Halbacetal-(19→11) handelt. Das UV.-Spektrum zeigte nur noch das Maximum des Butenolidringes bei  $\lambda = 215$  nm ( $\log \epsilon = 4,07$ ). IR.-Spektrum vgl. Fig. 3.

b) *Aus altem Präparat von «Sarmentosigenin A» aus Strophanthus thollonii*. 0,8 mg «Sarmentosigenin A» vom Smp. 143–149°/220–230° [7] wurde mit 0,1 ml Py und 0,08 ml Ac<sub>2</sub>O 18 Std. bei 36° acetyliert. Das neutrale Rohprodukt zeigte im Pchr. (System Be-Chf-(7:5)/Fmd) zwei Flecke mit gleichen Laufstrecken wie die zwei nach a) erhaltenen Acetate **1** und **3**.

*Sarmentologenin (4) aus Nigrescigenin*. 20 mg Nigrescigenin wurden in 1,5 ml 80-proz. Me gelöst und mit 3 mg NaBH<sub>4</sub> reduziert. Nach 4 Std. wurde die Lösung mit verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> leicht angesäuert und mit Chf-Alk-(3:2) wie üblich aufgearbeitet. Rohausbeute: 18 mg weisser Schaum. Aus Me/Ae 16 mg reine Kristalle (Präp. RB 14), Smp. 241–246°, die im Pchr. gleiche Laufstrecken wie Sarmentologenin (**4**) zeigten.

*Tri-O-acetyl-sarmentologenin (5) aus obigem Präparat*. Die aus Nigrescigenin hergestellten 16 mg Sarmentologenin (Präp. RB 14) wurden mit 0,4 ml abs. Py und 0,2 ml Ac<sub>2</sub>O 20 Std. bei 36° acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung mit Chf-Alk-(3:2) erhielten wir 20 mg Rohprodukt. Aus An-Ae kristallisierten 10 mg Triacetat **5**, Smp. 197–199°; Misch-Smp. mit dem Originalpräparat Tri-O-acetyl-sarmentologenin 196–199°; Vergleichs-IR.-Spektrum: Fig. 4.

Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTLICHEN FORSCHUNG für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit. Der eine von uns (R. B.) dankt dem STIPENDIENFONDS ZUR UNTERSTÜTZUNG VON DOKTORANDEN AUF DEM GEBIETE DER CHEMIE für ein Stipendium, das ihm die Ausführung seiner Dissertation gestattete. Herrn Dr. W. STÖCKLIN danken wir für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

#### SUMMARY

“Sarmentosigenin A” has been identified with nigrescigenin. The latter is the older and thus valid name for this 3 $\beta$ ,5 $\beta$ ,11 $\alpha$ ,14 $\beta$ -tetrahydroxy-19-oxo-card-20:22-enolide.

Institut für organische Chemie  
der Universität Basel

#### LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. BRANDT, W. STÖCKLIN & T. REICHSTEIN, *Helv.* **49**, 1662 (1966).
- [2] E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **37**, 1004 (1954).
- [3] A. A. BULLOCK, *Kew Bulletin* **15**, 193 (1961).
- [4] R. BERTHOLD, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **48**, 1634 (1965).
- [5] T. REICHSTEIN, *Planta Medica* **11**, 293 (1963).
- [6] T. REICHSTEIN, *Planta Medica* **13**, 382 (1965).
- [7] EK. WEISS, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **41**, 736 (1958).
- [8] B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **43**, 1570 (1960).
- [9] B. FECHTIG, J. v. EUW, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 1448 (1959).
- [10] M. v. ARDENNE, «Tabellen zur Angew. Physik», Bd. 1, S. 606, 611, 725 (VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1962); M. v. ARDENNE, K. STEINFELDER, R. TÜMLER & K. SCHREIBER, *Experientia* **19**, 178 (1963), und weitere Lit. daselbst.
- [11] O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 108 (1951).
- [12] D. L. KEDDE, *Diss. Leyden* 1946; *Pharmac. Weekbl.* **82**, 741 (1947).
- [13] E. v. ARX & R. NEHER, *Helv.* **39**, 1664 (1956).