

171. Die Cardenolide der Samen von *Mallotus paniculatus* MÜLL.-ARG. (Euphorbiaceae). 2. Mitt.: Strukturbeweise

Glykoside und Aglykone, 295. Mitteilung¹⁾

von **K. D. Roberts**²⁾, **Ek. Weiss** und **T. Reichstein**

(26. VI. 67)

Kürzlich [2] beschrieben wir die Isolierung der folgenden 5 neuen Cardenolide aus den Samen von *Mallotus paniculatus*: Genin D = 11-Oxo-uzarigenin (**1**), Genin F = Mallogenin (**3**), Glykosid K = Mallosid (**5**), Glykosid L = Panosid (**21**) und Glykosid N = Glucopanosid (**22**). Hier wird über die Strukturbestimmung dieser Stoffe berichtet, denen danach die Formeln **1**, **3**, **5**, **21** und **22** zukommen. Die zwei letztgenannten sind allerdings noch nicht in ganz eindeutiger Weise mit einem Steroid von gesicherter Struktur verknüpft worden, doch kann an ihrer Richtigkeit trotzdem kaum gezweifelt werden.

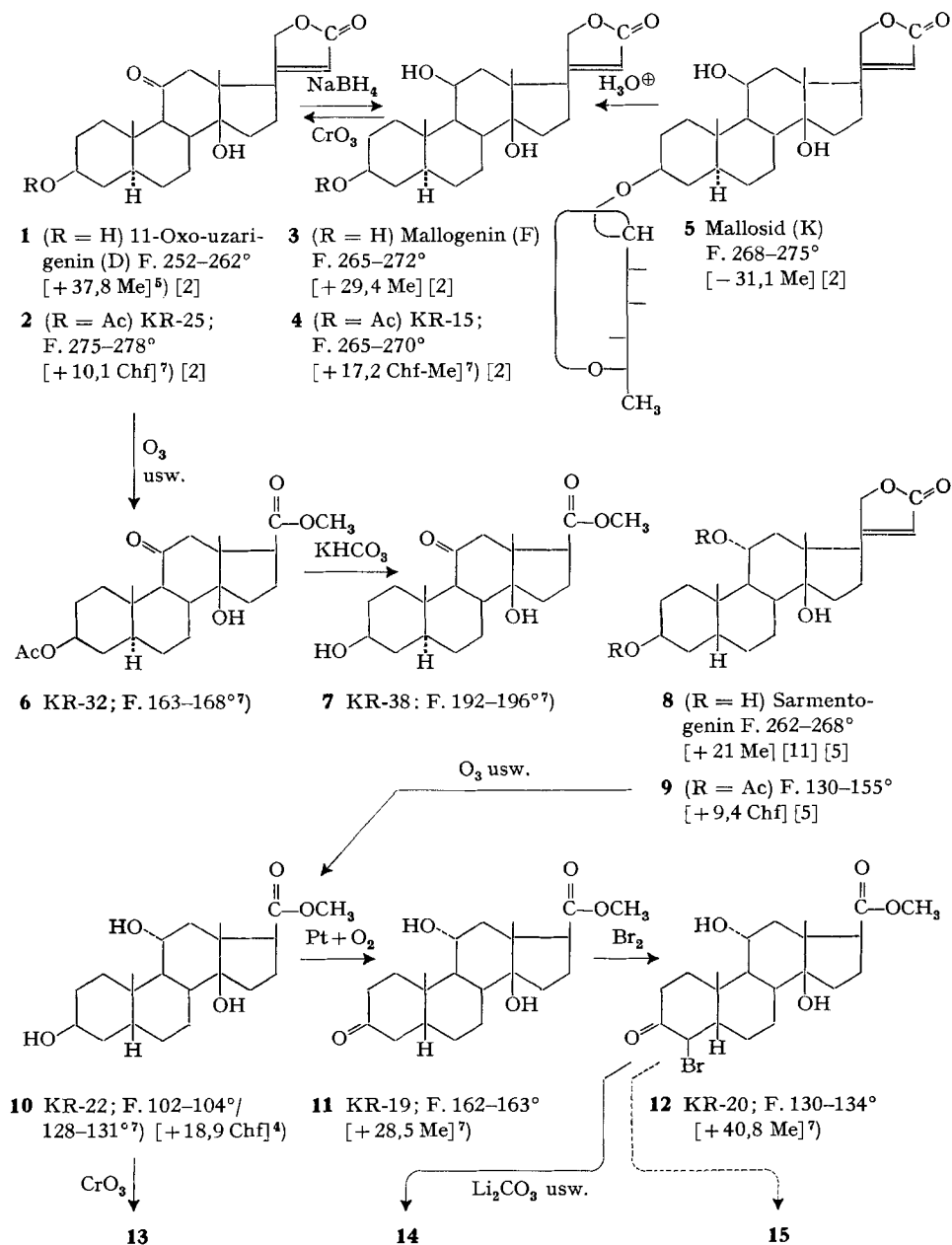
Genin D = Oxo-uzarigenin (1), Genin F = Mallogenin (3) und Glykosid K = Mallosid (5). Diese drei Stoffe liessen sich wie folgt direkt miteinander verknüpfen: Genin D (**1**) lieferte durch Reduktion mit NaBH₄ das Genin F (**3**), und umgekehrt konnte O-Acetyl-Genin F (**4**) durch Dehydrierung mit CrO₃ in O-Acetyl-Genin D (**2**) übergeführt werden. Weiter konnten aus Mallosid (**5**) durch Hydrolyse mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT [3] Mallogenin (**3**) und L-Rhamnose (**20**) erhalten werden.

Alle drei Stoffe enthalten nach den UV.- und IR.-Spektren [2] einen Butenolidring. Die Analysen zeigen, dass die Geneine D und F total 5 Sauerstoffatome tragen. Von diesen stehen 2 im Butenolidring. Nach dem oben erwähnten Befund muss F (Mallogenin (**3**)) eine acetylierbare und eine bei 20° nicht acetylierbare sekundäre HO-Gruppe enthalten. Das letzte O-Atom liegt, wie üblich, als tertiäre HO-Gruppe vor, da im IR.-Spektrum von O-Acetyl-Genin D (**2**) (in CH₂Cl₂ aufgenommen) noch die Bande einer freien HO-Gruppe bei 2,775 μ sichtbar ist. Diese Befunde führten zur Aufstellung der hypothetischen Formeln **1–4**; danach sind die Geneine D (**1**) und F (**3**) raumisomer mit den bekannten Cardenoliden Desarogenin [4] und Sarmentogenin [5]. Die Formeln **1–4** wurden auch durch Protonenresonanzspektren³⁾ weitgehend gestützt. O-Acetyl-Genin F (**4**) musste in Pyridin gemessen werden, wobei die zwei tertiären Methylgruppen deutlich sichtbar waren. Besser liess sich das O-Acetyl-Genin D (**2**) messen (vgl. Fig. 13), da es in Chloroform genügend löslich war. Die Signale der

¹⁾ 294. Mitteilung vgl. REICHSTEIN *et al.* [1].

²⁾ Fellow of THE JANE COFFIN CHILDS MEMORIAL FUND FOR MEDICAL RESEARCH (New Haven, Conn., USA). Jetzige Adresse: Columbia University, College of Physicians and Surgeons, Dept. of Obstetrics and Gynecology, New York 32, N. Y.

³⁾ Wir danken Herrn PD. Dr. R. F. ZÜRCHER im Physikalabor der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme und Auswertung der Spektren. – Dazu diente ein modifizierter VARIAN-Spektrograph, Modell V-4302, bei 60 Megahertz und 21°. Als interne Bezugssubstanz ($\delta = 0$) diente Tetramethylsilan. Signale bei kleinerer Feldstärke wurden positiv gezählt. Die chemischen Verschiebungen δ wurden in ppm angegeben.

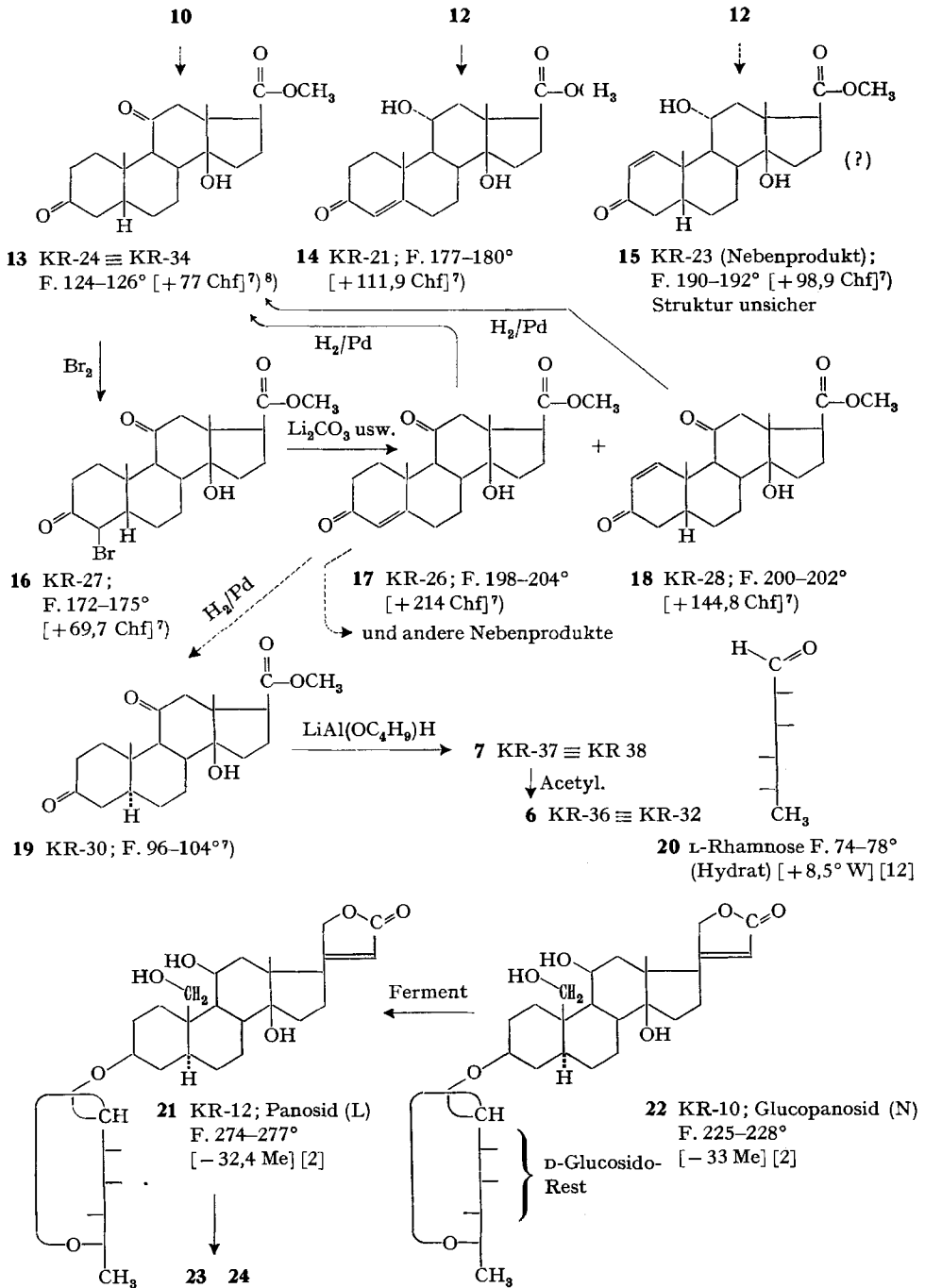


⁴⁾ Dieser Ester wurde bereits früher von Herrn Dr. A. LARDON bereitet, aber nicht beschrieben (AL 819). Schon mehrmals beschrieben ist sein 3,11-Di-O-acetylderivat [5] [8].

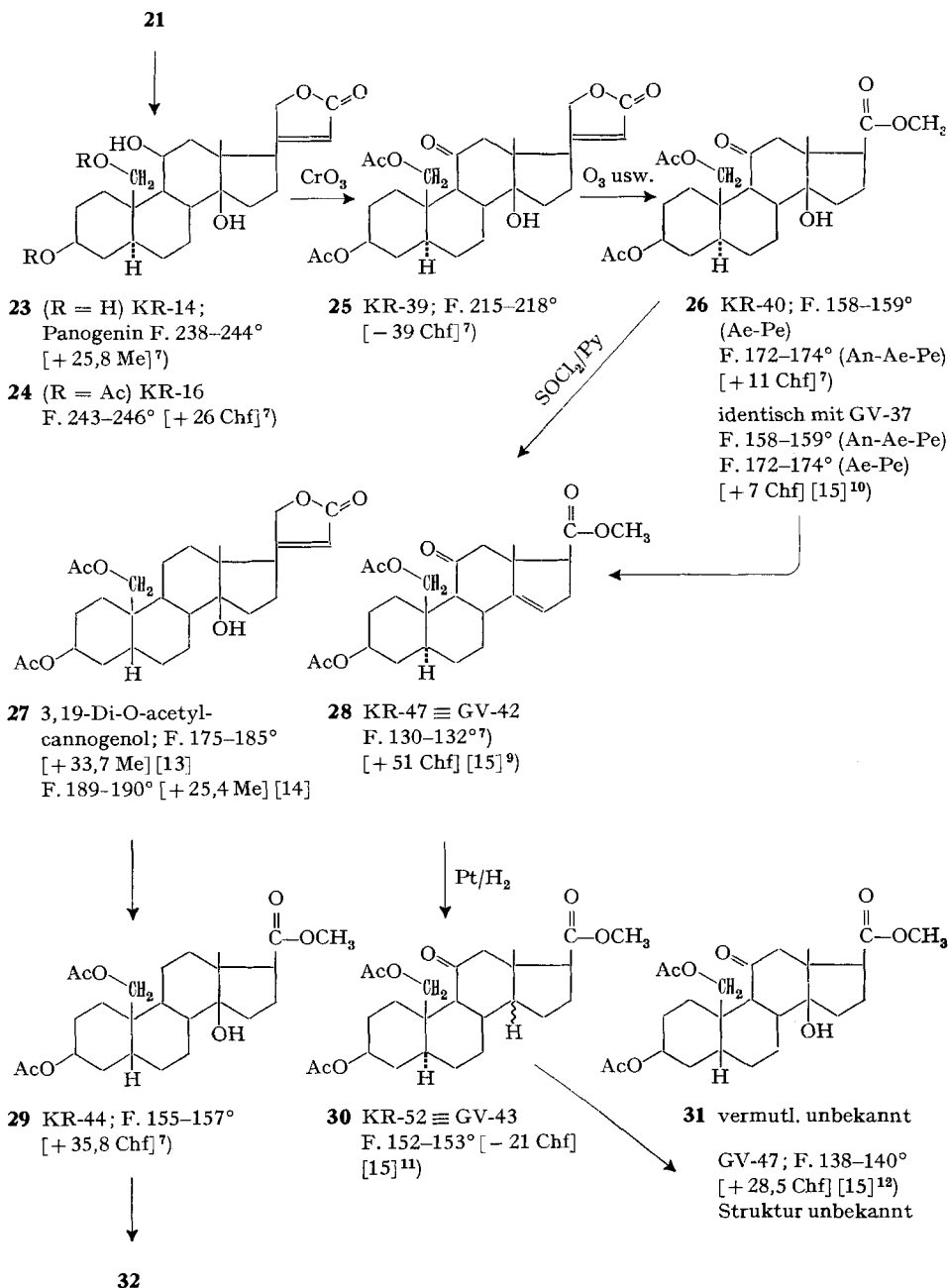
⁵⁾ Die Zahlen in langen eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in den vermerkten Lösungsmitteln⁶⁾ an.

⁶⁾ Abkürzungen für Lösungsmittel usw. vgl. Einleitung zum Exper. Teil.

⁷⁾ Vgl. Exper. Teil dieser Arbeit.



⁸⁾ Dieser Ester wurde von Herrn Dr. A. LARDON schon vor längerer Zeit hergestellt und analysiert (AL-259).

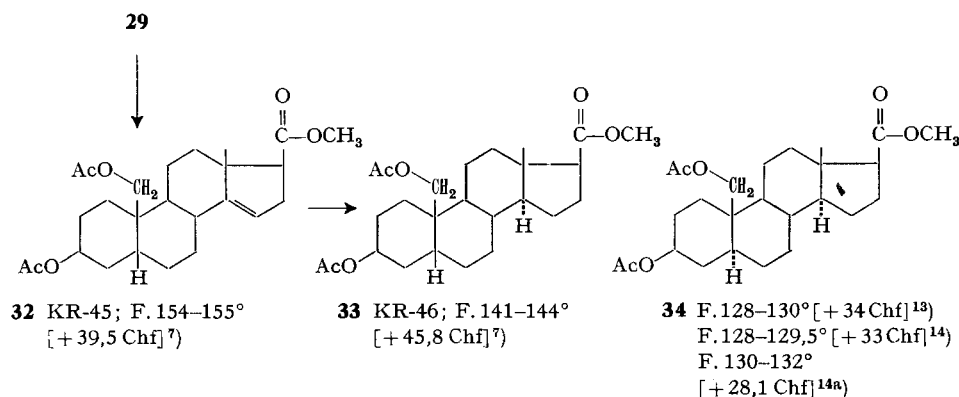


⁹⁾ Bei VOLPP *et al.* [15] (S. 1420, Formel X) als 5 β -Derivat formuliert.

¹⁰⁾ Bei VOLPP *et al.* [15] (S. 1420, Formel VI) als 5 β -Derivat formuliert.

¹¹⁾ Bei VOLPP *et al.* [15] (S. 1420, Formel IX) als 5 β -Derivat formuliert.

¹²⁾ Bei VOLPP *et al.* [15] (S. 1420, Formel XV) als 5 β -Derivat formuliert.



zwei Methylgruppen (δ für 18-Methyl = 0,858 und für 19-Methyl = 1,013) passten auch ungefähr für Formel **2**, für die sich nach ZÜRCHER [6] die Verschiebungen von 0,842 und 1,042 berechnen. Das Signal bei $\delta = 4,70$ (entspr. einem H) passt gut für eine äquatoriale Acetoxygruppe. Die genannten Formeln **1–5** liessen sich wie folgt eindeutig beweisen:

O-Acetyl-Genin-D (**2**) wurde mit der Ozonmethode [7] zur entsprechenden Ätiansäure abgebaut und diese als krist. Methylester **6** isoliert. Entsprechend der äquatorialen Lage der Acetoxygruppe liess sich diese bereits mit KHCO_3 in wässrigem Methanol verseifen. Der so erhaltene Ester **7** war wegen seiner guten Kristallisierfähigkeit für Vergleichszwecke geeignet. Er wurde, ausgehend von Sarmentogenin (**8**), wie folgt bereitet: Acetylierung, Abbau mit Ozon usw. lieferte den $3\beta, 11\alpha, 14\beta$ -Trihydroxy-5 β -ätiansäure-methylester **10**⁴⁾. Von hier wurden zwei Wege versucht, von denen nur der zweite bis zum Ende verfolgt wurde.

a) Via 3-Oxoderivat **11**. Der Ester **10** wurde mit Pt und O_2 [9] partiell zum 3-Oxo-11 $\alpha, 14\beta$ -dihydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (**11**) dehydriert. Bromierung lieferte den krist. Bromester **12**, der bei der HBr-Abspaltung mit Li_2CO_3 und LiCl in Dimethylformamid [10] den gesuchten Δ^4 -ungesättigten Ester **14** (Spektr. vgl. Exper. Teil) lieferte. Daneben entstanden weitere Produkte, u. a. ein Präp. KR-23, das vielleicht unreines Δ^1 -Derivat **15** darstellt, obgleich die Maxima im UV. (237 und 307 nm) nicht dazu passen. Es wurde nicht weiter untersucht. Die Ausbeuten an **14** waren unbefriedigend; daher wurde für die Hauptmenge der Weg b) beschriftet.

b) Via 3,11-Dioxoderivat **13**. **10** gab bei Dehydrierung mit CrO_3 den 3,11-Dioxo-14 β -hydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (**13**)⁸⁾. Bromierung führte zum krist. Bromester **16**. HBr-Abspaltung mit Li_2CO_3 und LiCl in Dimethylformamid lieferte auch hier als Hauptprodukt den Δ^4 -ungesättigten Ester **17**, daneben konnte auch der Δ^1 -ungesättigte Ester **18** gefasst werden. Letzterer zeigte im UV. (in Alkohol) ein Maximum bei 224 nm ($\log \epsilon = 3,93$), was nicht ganz der erwarteten Lage (ca. 230 nm)¹⁵⁾ entspricht. An der Struktur bestehen jedoch keine Zweifel, denn bei der Hydrierung mit

¹³⁾ Aus Strophanthidol, vgl. KOEHLIN & REICHSTEIN [16].

¹⁴⁾ Aus Ouabagenin, vgl. VOLPP & TAMM [17].

^{14a)} Aus Coroglaucigenin, vgl. HUNGER & REICHSTEIN [22].

¹⁵⁾ Vgl. Fussnote ²⁴⁾ bei FLURY *et al.* [18], sowie SCHLEGEL *et al.* [19].

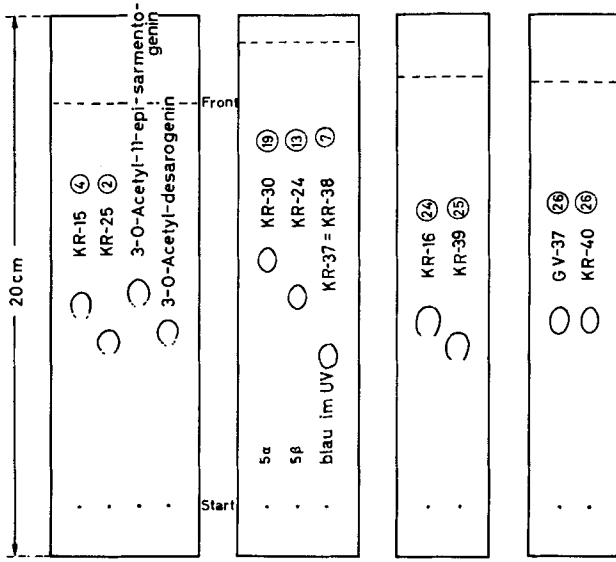


Fig. 1
 $C_2H_5OAc-Ae(1:1)$
 1 Std.

Fig. 2
 $C_2H_5OAc-Ae(1:1)$
 1 Std.

Fig. 3
 C_2H_5OAc
 1 Std.

Fig. 4
 C_2H_5OAc
 1 Std.

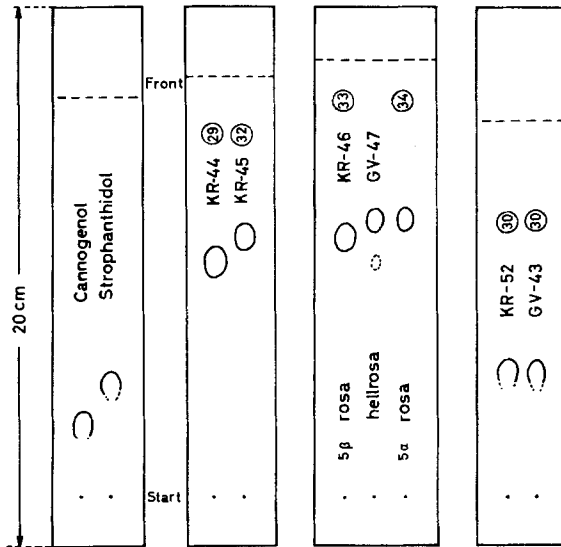


Fig. 5
 Chf-Me-
 (9:1)
 45 Min.

Fig. 6
 C_2H_5OAc
 1 Std.

Fig. 7
 $C_2H_5OAc-Ae-$
 (1:1)
 1 Std.

Fig. 8
 Be-Me-
 (95:5)
 45 Min.

Fig. 1–8 sind Beispiele von DC, aufsteigend an SiO_2 (Kieselgel G «MERCK») nach STAHL [27]. Darunter Angabe der Fließmittel⁶⁾ und der ungefähren Zeitdauer. Fig. 5: Entwicklung mit KEDDE-

Reagens [28], sonst überall durch Sprühen mit 20-proz. *p*-Toluolsulfonsäure in Alk und nachträgliches Erhitzen auf ca. 110°.

Es ist bemerkenswert, dass **2** auf der Dünnschichtplatte *langsamer* läuft als **4** (Fig. 1). Ebenso verhalten sich die 3-O-Acetylderivate der entsprechenden 5 β -Verbindungen (3-O-Acetyl-desarogenin und 3-O-Acetyl-11-*epi*-sarmentogenin in Fig. 1). Auch Cannogenol läuft langsamer als Strophanthidol (Fig. 5).

Pd in Me wurde erwartungsgemäss der Ester **13** erhalten. Die Hydrierung des Δ^4 -ungesättigten Esters **17** lieferte ein Gemisch. Die Hauptmenge war das 5 β -Derivat **13**. Daneben konnte in kleiner Menge ein offenbar isomerer Ester erhalten werden, dem daher die 5 α -Konfiguration zukommen muss. Dieser Ester **19** war leicht löslich und daher schwer kristallisierbar. Zur besseren Reinigung wurde er mit Li-Al-Tri-*t*-butoxy-hydrid [20] partiell zum entsprechenden 3-Hydroxyderivat reduziert. Es ist bekannt, dass 3,11-Dioxosteroide von diesem Reagens nur in 3-Stellung angegriffen werden und dabei die äquatorialen 3-Hydroxyderivate liefern [20b]. Das hier erhaltene krist. Präparat KR-37 erwies sich nach Mischprobe, DC, IR.- und Massenspektrum (vgl. Fig. 17) als identisch mit dem aus Mallosid (**5**) via **3** und **1** gewonnenen Ester **7** (Präp. KR-38). Eine Probe wurde acetyliert und lieferte nach Chromatographie an SiO₂ Kristalle, die nach Laufstrecke, Färbung und Mischprobe mit **6** (Präp. KR-32) identisch waren.

Glykosid L = Panosid (21) und Glykosid N = Glucopanosid (22). Wie bereits früher [2] erwähnt, lieferte Glucopanosid beim fermentativen Abbau mit Schneckenferment Panosid (L); die genaue Stellung des D-Glucoserestes ist aber noch nicht ermittelt worden. Panosid wurde mit HCl in Aceton nach MANNICH & SIEWERT [3] gespalten, wobei L-Rhamnose und ein neues krist. Genin C₂₅H₃₄O₆ erhalten wurden, das wir Panogenin nennen. IR.-Spektrum vgl. Fig. 9. Die Struktur **23** desselben ergab sich aus folgenden Befunden:

Panogenin (**23**)^{1a)} gab bei der Acetylierung mit Acetanhydrid in Pyridin bei 20° ein Di-O-acetylderivat **24**. Das UV.-Absorptionsspektrum (in Alkohol nur ein Maximum bei 218 nm, log ϵ = 4,19, ber. auf C₂₇H₃₈O₈), das IR.-Spektrum (Fig. 10) und das Protonenresonanzspektrum (Fig. 14) passen gut auf die angegebene Struktur. Insbesondere zeigt letzteres die Anwesenheit nur *einer* tertiären Methylgruppe sowie von insgesamt zwei Acetoxygruppen. Das Signal bei δ = 4,73 entspricht dem 3 α -H eines 5 α -Steroids; für ein 5 β -Steroid sollte sich ein 3 α -H-Signal bei δ = ca. 5,07–5,13 ergeben; dieser Bereich ist im Spektrum leer. Das Di-O-acetyl-panogenin (**24**) muss noch eine (schwer acetylierbare) sekundäre HO-Gruppe besitzen, denn Dehydrierung mit CrO₃ lieferte das entsprechende Ketoderivat **25**. (UV.-Spektrum vgl. Exper. Teil, IR.-Spektrum vgl. Fig. 11, Massenspektrum vgl. Fig. 18). Dieses wurde nach der Ozonmethode [7] abgebaut und lieferte einen krist. Ätiansäure-methylester (Präp. KR-40, C₂₅H₃₆O₈), der aus folgenden Gründen die Struktur **26** besitzen muss: Präp. KR-40 erwies sich nach Mischprobe, DC, Farbreaktionen und IR.-Spektrum (Fig. 12) als identisch mit einem Präparat (GV-37), das VOLPP *et al.* [15] durch Abbau von Ouabagenin erhalten hatten. Sie haben ihm zwar die isomere Formel **31** mit 5 β -Konfiguration zugeschrieben, weil es bei der Rotationsdispersion einen negativen COTTON-

^{1a)} Panogenin gibt bei der JENSEN-Reaktion [21] (Trichloressigsäure + «Chloramin T») eine hellblaue Fluoreszenz, obwohl es an C-12 keine HO-Gruppe trägt.

Effekt¹⁷⁾ zeigte und weil es ferner nach Entfernung der 14-ständigen HO-Gruppe via **28** und **30** und anschliessender Entfernung der 11-ständigen Ketogruppe (Hydrierung, Wasserabspaltung und erneute Hydrierung) einen Ester GV-47 lieferte, der mit dem bekannten Ester **34**¹⁸⁾ isomer, aber nicht identisch war. Es wurde daher angenommen, dass GV-47 den damals noch unbekanntesten Ester **33** darstellt. Diesen Ester **33** haben wir jetzt aus Di-O-acetyl-cannogenol (**27**)¹⁹⁾, dessen Struktur gesichert ist, *via* **29** und **32** bereitet. Wir glauben, dass die angegebene Formel **33** auch in bezug auf die Konfiguration an C-14 richtig ist, weil Δ^{14} -ungesättigte Steroide (besonders solche ohne zusätzliche Substituenten im C-Ring) bei der Hydrierung bisher immer fast ausschliesslich die normalen (14 α -)Derivate geliefert haben [24]²⁰⁾. Der so gewonnene Ester **33** war erwartungsgemäss von **34** verschieden, der Misch-Smp. war erniedrigt, und auch auf der Dünnschichtplatte (Fig. 7) war ein kleiner, aber deutlicher Unterschied feststellbar. Ein direkter Vergleich des Präparates GV-47 von VOLPP *et al.* [15]¹²⁾²¹⁾ zeigte, dass dieses nicht nur von **34** (wie bereits von VOLPP *et al.* festgestellt), sondern auch von **33** verschieden war. Auf der Platte (Fig. 7) zeigte es im verwendeten System zwar dieselbe Laufstrecke wie **34**, der Misch-Smp. zeigte aber eine starke Depression. Das Präparat GV-47 von VOLPP *et al.* ist vermutlich mit **33** und **34** isomer und könnte sich von letzterem z. B. durch Raumisomerie an C-9 oder C-14 unterscheiden. Seine Struktur ist unsicher. Aus folgenden Gründen glauben wir, dass die Formel **26** für den Abbauester und somit die Formel **23** für Panogenin trotzdem als gesichert gelten können. Da die Struktur des Ouabagenins bewiesen ist²²⁾, kann an der Verteilung der funktionellen Gruppen im Ester **26** kaum gezweifelt werden. Die Konfiguration an C-3 und C-5 wird, wie oben gezeigt wurde, durch den Abbau von VOLPP *et al.* [15]

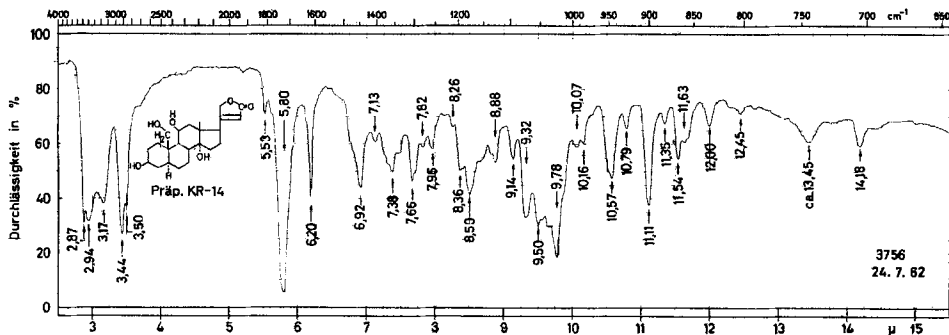


Fig. 9. IR.-Absorptionsspektrum von Panogenin (**23**), 1,0 mg fest in ca. 300 mg KBr²³⁾.

- 17) Wir vermuten, dass die Acetoxygruppe an C-19 eine Umkehrung des erwarteten Verlaufs (Lit. vgl. Fussn. 15 bei VOLPP *et al.* [15]) bewirkt.
- 18) Dieser Ester **34** wurde von KOEHLIN & REICHSTEIN [16] aus Strophanthidol und von HUNGER & REICHSTEIN [22] aus Coroglaucigenin erhalten, dessen Struktur gesichert ist [23]. Seine Konfiguration ist daher eindeutig bewiesen.
- 19) Eine vereinfachte Vorschrift zur Isolierung von Cannogenol vgl. Exper. Teil.
- 20) Für Ausnahmen siehe z. B. Fussnote 13) bei JANIÁK *et al.* [25].
- 21) Wir danken Herrn Prof. CH. TAMM auch hier bestens für die Überlassung des Originalpräparates.
- 22) Vgl. VOLPP & TAMM [17], VOLPP *et al.* [15] und frühere Lit. daselbst.
- 23) Aufgenommen von den Herren K. LIEBL & W. SCHWAB auf einem PERKIN-ELMER-Zweistrahler-IR.-Spektrophotometer, Modell 21 mit NaCl-Prisma.

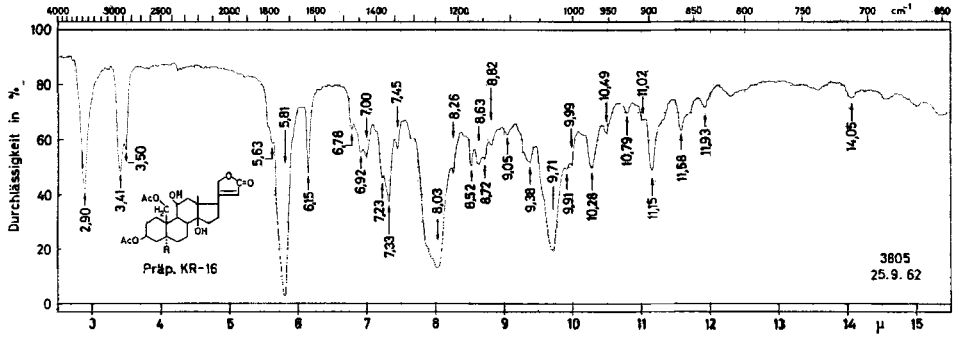


Fig. 10. IR-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-panogenin (**24**), 0,7 mg fest in ca. 300 mg KBr²³).

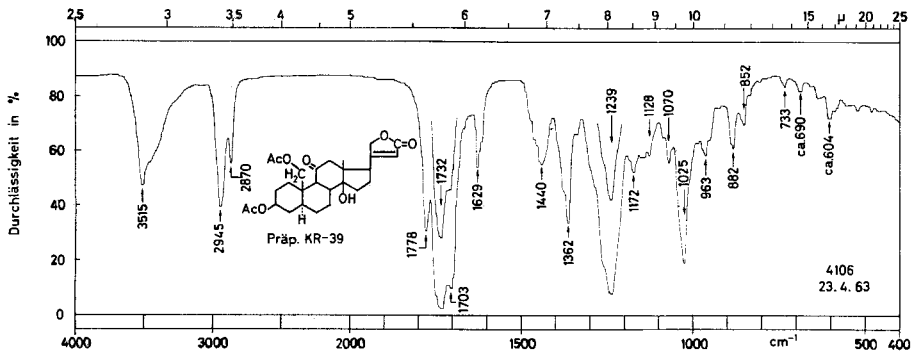


Fig. 11. IR-Absorptionsspektrum von Di-O-acetyl-11-dehydro-panogenin (**25**), 1,1 bzw. 0,35 mg fest in ca. 300 mg KBr²⁴).

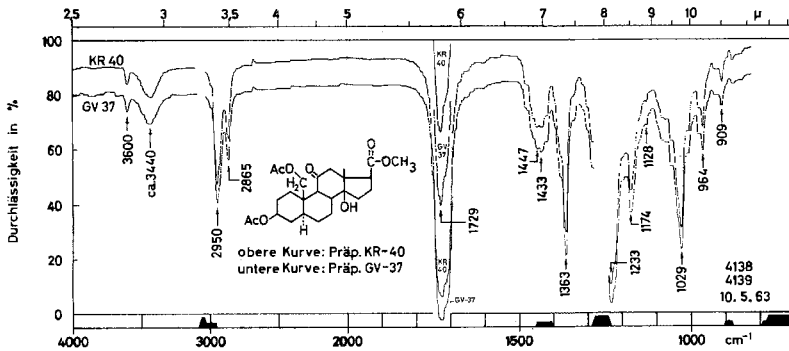


Fig. 12. IR-Absorptionsspektren von 3 β ,19-Diacetoxy-11-oxo-14 β -hydroxy-5 α -ätiansäure-methylester (**26**)

Obere Kurve = Präp. KR-40; untere Kurve = Präp. GV-37; beide ca. 0,06 und 0,02 molar in CH₂Cl₂, Schichtdicke 0,2 mm²⁴).

²⁴) Aufgenommen von den Herren W. SCHWAB und CH. SENN auf einem PERKIN-ELMER-Zwei-strahl-IR.-Gitter-Spektrophotometer, Modell 125.

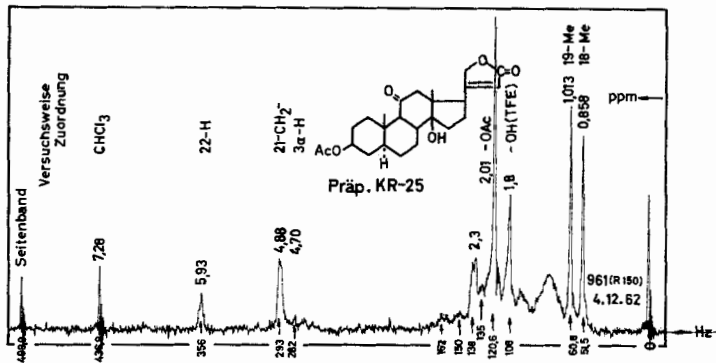


Fig. 13. Protonenresonanzspektrum (R 150) von *O*-Acetyl-11-oxo-uzarigenin (2)³.

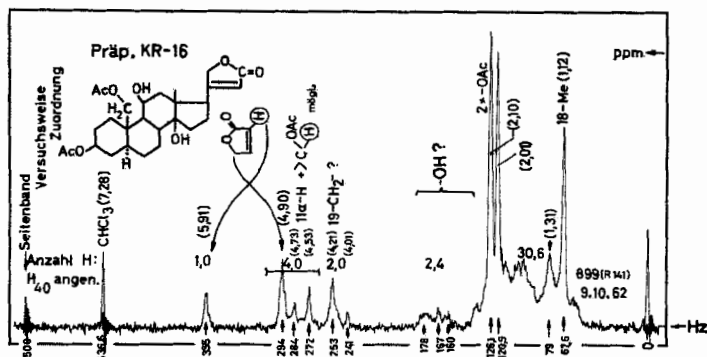


Fig. 14. Protonenresonanzspektrum (R 141) von Di-*O*-acetyl-panogenin (24)³.

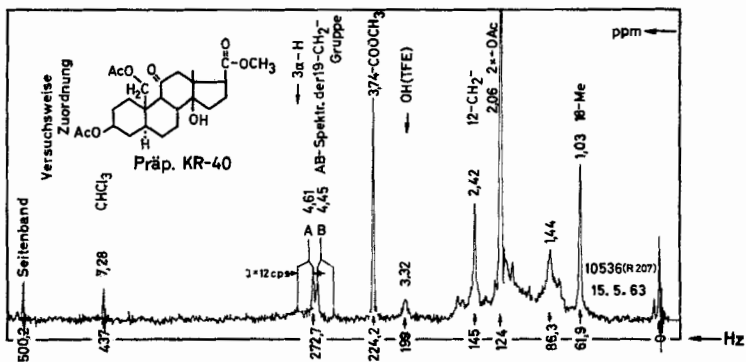


Fig. 15. Protonenresonanzspektrum (R 207) von 3 β ,19-Diacetoxy-11-oxo-14 β -hydroxy-5 α -ätiansäure-methylester (26), Präp. KR-40³.

nicht bewiesen. Die äquatoriale Lage der 3-ständigen Acetoxygruppe ist wie bei **24** (siehe oben) wieder aus dem Protonenresonanzspektrum (Fig. 15) von **26** ersichtlich (Signal bei $\delta = 4,77$). Von den dadurch verbleibenden zwei Möglichkeiten 3 α -Hydroxy-5 β - oder 3 β -Hydroxy-5 α -Steroid kommt die erstgenannte wegen der hohen biologi-

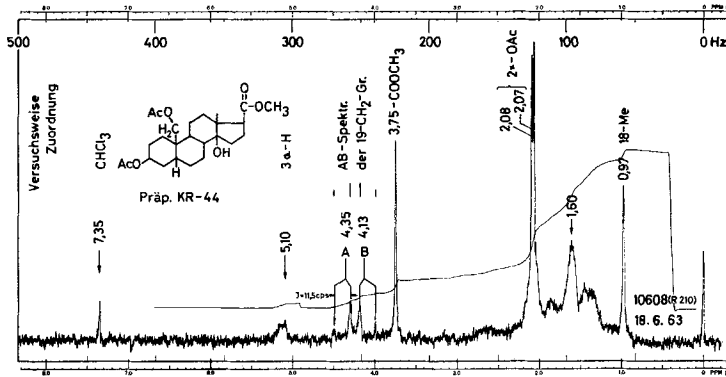


Fig. 16. Protonenresonanzspektrum (R 210) von 3,19-Diacetoxy-14 β -hydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (29), Präp. KR-44³⁾.

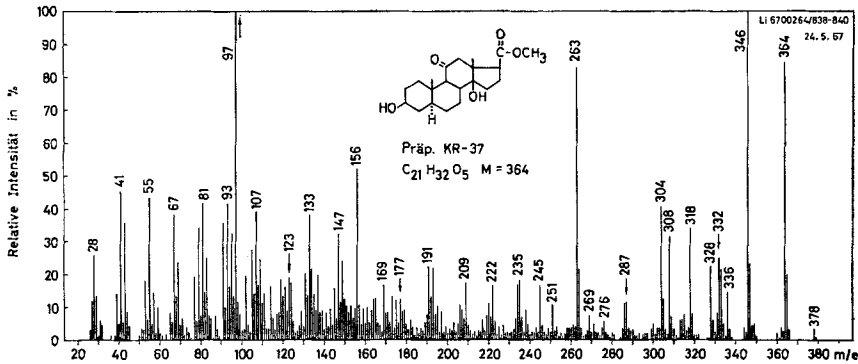


Fig. 17. Massenspektrum von 3 β ,14 β -Dihydroxy-11-oxo-5 α -ätiansäure-methylester (Präp. KR-37) (7), Smp. 186–190°, C₂₁H₃₂O₅ (364)²⁵⁾. Ein genau gleiches Spektrum gab das aus 6 bereitete Präp. KR-38.

Versuchweise Zuordnung: 364 = M, 346 = M – H₂O, 336 = M – CO oder C₂H₄²⁶⁾, 333 = M – OCH₃, 332 = M – CH₃OH, 328 = M – 2 H₂O, 318 = M – H₂O – CO oder C₂H₄, 308 = M – CO – C₂H₄, 304 = M – COOCH₃ – H und ev. M – CO bzw. C₂H₄ – CH₃OH, 287 = M – COOCH₃ – H₂O und ev. M – H₂O – OCH₃ – CO bzw. C₂H₄, 286 = M – H₂O – COOCH₃ – H, 276 = M – CO bzw. C₂H₄ – COOCH₃ – H, 269 = M – 2 H₂O – COOCH₃, 263 = M – 101 (Abspaltung von Ring D nach Tschesche *et al.* [29]), 251 = ?, 245 = 263 – H₂O, 235 = 263 – CO. Die kleine Bande bei m/e 378 könnte dem Molekel-Ion des entsprechenden Äthylesters C₂₂H₃₄O₅ entsprechen.

schen Wirksamkeit von Panosid kaum in Frage; auch erwiesen sich die anderen aus den Samen von *Mallotus paniculatus* isolierten Cardenolide ebenfalls alle als 3 β -Hydroxy-5 α -Steroide.

Bei der Formulierung des Panosids (21) wurde angenommen, dass der Zucker wie bei anderen Cardenoliden (soweit dies abgeklärt ist) pyranoid gebunden ist. Ein Be-

²⁵⁾ Wir danken Herrn Dr. H. LICHTI und Herrn W. BLUM, Forschungslaboratorien der SANDOZ AG, Basel, bestens für die Aufnahme dieses Spektrums. Hierzu diente ein CEC-Massenspektrometer 21-110B mit direktem Einlass-System, Elektronenenergie 70 eV.

²⁶⁾ Zur Äthylenabspaltung vgl. R. TSCHESCHE *et al.* [29] sowie U. EPPENBERGER *et al.* [30]; weitere Lit. daselbst.

weis liegt nicht vor. Aus den molekularen Drehungen des Panosids ($\Phi = -178^\circ \pm 17^\circ$ in Me) und des Panogenins ($\Phi = +105^\circ \pm 12^\circ$ in Me) ergibt sich als Drehungsbeitrag für den L-Rhamnopyranosyl-Rest ein Wert von $\Delta\Phi = -283^\circ \pm 29^\circ$, was nur mit einer α -glykosidischen Verknüpfung vereinbar ist²⁷⁾. Die sich so ergebende Struktur **21** entspricht wieder der Regel von KLYNE [26].

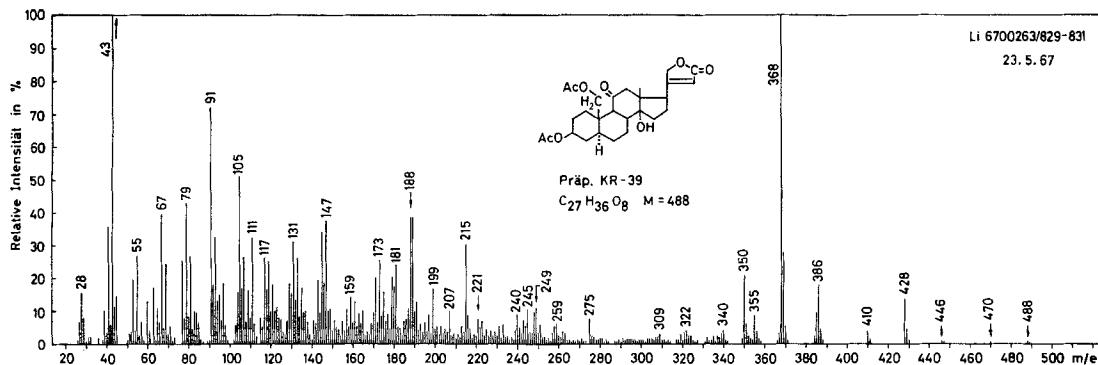


Fig. 18. Massenspektrum von 3,19-Di-O-acetyl-11-dehydro-panogenin (Präp. KR-39) (**25**), Smp. 215–218°, C₂₇H₃₆O₈ (488)²⁵⁾

Versuchswise Zuordnung: 488 = M, 470 = M – H₂O, 446 = M – 42 (CH₂=CO), 428 = M – AcOH, 410 = M – H₂O – AcOH, 386 = M – AcOH – 42 (CH₂=CO), 368 = M – 2 AcOH oder M – AcOH – CH₂=CO – H₂O, 355 = M – AcOH – CH₂-OAc, 350 = M – 2 AcOH – H₂O.

Der eine von uns (K.D.R.) dankt dem JANE COFFIN CHILDS MEMORIAL FUND FOR MEDICAL RESEARCH, New Haven, Conn., USA, für ein Stipendium, das ihm die Ausführung dieser Arbeit in Basel ermöglichte. Wir danken dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit und dem BUNDESAMT FÜR INDUSTRIE, GEWERBE UND ARBEIT, Bern, für einen solchen zur Beschaffung des Pflanzenmaterials, das zur Isolierung der hier beschriebenen Stoffe gedient hatte. Ferner danken wir Herrn Dr. H. ALLGEIER bestens für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

Experimenteller Teil

Allgemeines. Alle Smp. sind auf dem KOFLE-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Substanzproben zur Bestimmung der Drehung und Aufnahme der Spektren wurden 1 Std. bei 0,02 Torr und 60° getrocknet. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Aufnehmen in Chf-Ae-(1:3), Waschen mit 2N HCl, 2N Na₂CO₃-Lösung und W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Ausführung der Adsorptionschromatographie an Al₂O₃ «WOELM», neutral (eingestellt auf die gewünschte Aktivität), oder SiO₂ «MERCK», 0,05–0,2 mm (zur Chromatographie), nach der Durchlaufmethode [31].

Abkürzungen: Ac₂O = Acetanhydrid, AcOH = Eisessig, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, DC = Dünnschichtchromatogramm(e) und Dünnschichtchromatographie, Dmfmd = Dimethylformamid, Eg = Äthylacetat, Fmd = Formamid, Fr = Fraktion(en), *i*Pr = Isopropanol, Me = Methanol, Mek = Methyläthylketon, ML = eingedampfte Mutterlauge, PC = Papierchromatogramm, Pe = Petroläther, Pn = Pentan, PTS = *p*-Toluolsulfonsäure, Py = Pyridin, THF = Tetrahydrofuran, W = Wasser. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

Mallogenin (3) aus 1. 0,3 mg Genin D = 11-Oxo-uzarigenin (**1**) wurden in 1 ml 80-proz. Alk bei 0° mit 5 mg NaBH₄ versetzt, mit AcOH auf pH = ca. 8 gestellt und 2 Std. bei 0° stehenge-

²⁷⁾ In Convallatoxin gibt der α -L-Rhamnopyranosyl-Rest einen Drehungsbeitrag von -177° , in β -Antiarin -169° und in Evomonosid -232° .

lassen. Nach üblicher Aufarbeitung²⁸⁾ zeigte das Produkt im PC (Chf/Fmd, Front, ca. 3 Std.) nur einen Fleck mit Laufstrecke genau wie Mallogenin (F).

Hydrolyse von Glykosid K = Mallosid (5). 50 mg Mallosid vom Smp. 268–275° wurden in 5 ml 1-proz. konz. HCl in An 5 Tage bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 10 ml W versetzt, das An im Vakuum entfernt, die Lösung mit 5 ml Me versetzt und 16 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde das Me im Vakuum entfernt und 5mal mit Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig W, Sodalösung und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben 37 mg Rückstand (rohes Genin). – Die saure wässrige Phase und das erste Waschwasser wurden im Vakuum von Chf-Resten befreit und durch eine Säule von 5 g frisch gewaschenem Anionenaustauscher (Amberlite IR-4B in HO-Form) filtriert. Das neutrale Filtrat gab beim Eindampfen im Vakuum 15 mg rohen Zuckersirup.

Identifizierung des Zuckers (L-Rhamnose (20)) aus Mallosid (5). Der rohe Zuckersirup (15 mg) wurde mit gleicher Menge aus zweitem Versuch vereinigt. Chromatographie an Celite-Kohle [32] und Trocknung bei 0,01 Torr gab 24 mg farblosen Sirup, $[\alpha]_D^{23} = +9,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,7$ in W). Im PC (Mek/W und Mek-Bu-(1:1)/Boraxpuffer) [33] zeigte das Material gleiche Laufstrecken wie L-Rhamnose.

Isolierung des Mallogenins (3) aus Mallosid (5). Die 37 mg rohes Genin wurden an 2 g SiO₂ chromatographiert (Fr von 3 ml). Die mit Chf-Me-(98:2) eluierten Anteile (12 mg) gaben aus Me-Ae 9 mg krist. Mallogenin, Smp. 275–285°, $[\alpha]_D^{25} = +25,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,72$ in Me+ Spur Chf). Nach IR.-Spektrum (Nr. 3740), Farbreaktionen und PC (Chf/Fmd) identisch mit authentischem Mallogenin [2].

3-O-Acetyl-mallogenin (4). Das wie früher [2] bereitete Derivat gab aus Chf-Me farblose Plättchen (KR-15), Smp. 285–295°, $[\alpha]_D^{25} = +18,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,59$ in Chf mit Spur Me). Das Protonenresonanzspektrum (in Py, R 142) zeigte zwei tertiäre Methylgruppen und eine Acetoxygruppe an. Zur Analyse²⁹⁾ wurde 3 Std. bei 100° und 0,01 Torr über P₂O₅ getrocknet.

C₂₅H₃₆O₆, 1/2 H₂O (441,55) Ber. C 68,00 H 8,45% Gef. C 68,02 H 8,16%

3-O-Acetyl-11-oxo-uzarigenin (2) aus 4. 73 mg O-Acetyl-mallogenin (4) wurden in 2,3 ml AcOH gelöst, portionsweise mit 2,3 ml 2-proz. CrO₃-AcOH-Lösung versetzt und 2 Std. bei 20° stehengelassen, worauf noch freie CrO₃ nachweisbar war. Dann wurde mit 0,5 ml Me versetzt und nochmals 6 Std. stehengelassen. Die Aufarbeitung mit Chf gab 68 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Ae 41 mg Präp. KR-25, farblose Kristalle, Smp. 270–274°, $[\alpha]_D^{24} = +10,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,69$ in Chf). Nach Misch-Smp., DC, Farbreaktionen und IR.-Spektren (Nr. 3835, 3961, 3965) identisch mit O-Acetyl-Genin D [2]. Das IR.-Spektrum in CH₂Cl₂ (Nr. 3965) zeigte bei 2,775 μ eine scharfe HO-Bande; die Butenolidbanden lagen bei 5,62; 5,73 und 6,13 μ und die Ketobande bei 5,81 μ (mit Schulter bei 5,84 μ). In KBr (Nr. 3961) lag die starke Ketobande bei 5,87 μ . Protonenresonanzspektrum vgl. Fig. 13. 2 läuft auf der Dünnschichtplatte *langsamer* als 4 (vgl. Fig. 1).

Für die zwei Signale der 19- und der 18-Methylgruppen berechnen sich nach ZÜRCHER [6] die folgenden Verschiebungen:

	19-H	18-H
5 α , 14 β -Androstan	46,0 Hz	59,5 Hz
3 β -Acetoxy-	+ 3,0 Hz	+ 0,5 Hz
11-oxo-	+ 13,0 Hz	- 2,0 Hz
14-hydroxy-	+ 1,0 Hz	- 1,5 Hz
17 β -butenolid	- 0,5 Hz	- 6,0 Hz
	<hr/>	<hr/>
	62,5 Hz ($\delta = 1,042$)	50,5 Hz ($\delta = 0,842$)

C₂₅H₃₄O₆ (430,52) Ber. C 69,74 H 7,97% Gef. C 69,95 H 8,12%

3 β -Acetoxy-11-oxo-14 β -hydroxy-5 α -ätiansäure-methylester (6) aus 2. 40 mg 3-O-Acetyl-11-oxo-uzarigenin (2) wurden nach früherer Vorschrift [7] in 10 ml Eg gelöst und bei -80° ozonisierter

²⁸⁾ Genaue Beschreibung siehe weiter unten bei NaBH₄-Reduktion von «Präparat R».

²⁹⁾ Ultra-Mikroanalyse, ausgeführt unter der Leitung von Herrn Dr. H. WAGNER auf einem PERKIN-ELMER Elemental Analyzer, Modell 240, im Mikroanalytischen Laboratorium der J.R. GEIGY AG, Basel. Für die Ausführung der Analyse sei auch hier bestens gedankt.

Sauerstoff 20 Min. durchgeleitet. Die blaue Lösung wurde im Vakuum auf 2 ml eingeengt, mit 1 ml AcOH und 1 ml W versetzt. Dann wurden bei 0° 100 mg Zinkstaub zugegeben und 15 Min. unter Kühlung mit Wasser geschüttelt, worauf mit KJ-Stärkepapier keine Peroxide mehr nachweisbar waren. Es wurde filtriert und mit Me nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit etwas wässriger NaOAc-Lösung versetzt, im Vakuum vom Me befreit und 5mal mit Chf ausgeschüttelt. Die mit W, Sodalösung und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 40 mg rohen *Glyoxylsäureester*.

Dieses Material wurde in 4 ml Me gelöst, mit der Lösung von 120 mg KHCO₃ in 2 ml W versetzt und 16 Std. bei 20° stehengelassen. – Das Me wurde im Vakuum entfernt und die Lösung 5mal mit Chf ausgeschüttelt. Die wie oben gewaschenen Auszüge gaben beim Eindampfen 27 mg rohes *Ketol*. – Die alkalische wässrige Phase sowie die wässrigen und Soda-Waschflüssigkeiten wurden im Vakuum von Me-Resten befreit, mit HCl bei 0° gegen Kongo angesäuert und 5mal mit Chf ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden mit überschüssiger ätherischer Diazomethanlösung versetzt und nach 15 Min. eingedampft. Sie gaben beim Eindampfen 13 mg rohen *Methylester*. Nach Chromatographie an SiO₂ gaben die mit Chf eluierten Anteile aus Ae-Pe 4,8 mg Kristalle (Präp. KR-31), Smp. 160–170°, nach Mischprobe, DC und IR.-Spektrum (Nr. 4067) identisch mit **6** (siehe unten). Beide Rohpräparate enthielten aber noch etwas freien Hydroxyester **7** (Verarbeitung zusammen).

Die 27 mg rohes *Ketol* wurden in 2 ml Me gelöst, mit der Lösung von 100 mg NaJO₄ in 1 ml W versetzt und 2 Std. bei 20° stehengelassen. Hierauf wurde bei 0° mit etwas wässriger H₂SO₄ versetzt und 5mal mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die Trennung in saure und neutrale Anteile gab 13 mg Neutralprodukt (nicht untersucht) und 12 mg rohe *Säure*, die direkt mit Diazomethan verestert wurde und 12 mg rohen *Methylester 6* lieferte. Er wurde mit Ac₂O in Py nachacetyliert, worauf er auf der Platte nur noch einen einzigen Fleck lieferte. Aus Ae-Pe 7,5 mg Präp. KR-32, farblose Kristalle, Smp. 163–168° (IR.-Spektrum Nr. 4068). Nach DC auch identisch mit Präp. KR-36 aus Sarmetogenin (**8**). Zur Analyse²⁹⁾ wurde 16 Std. bei 20° ohne Vakuum über CaCl₂ stehengelassen.

C₂₃H₃₄O₆ (406,50) Ber. C 67,96 H 8,43% Gef. C 67,71 H 8,22%

3β,14β-Dihydroxy-11-oxo-5α-ätiensäure-methylester (7). 8 mg **6** (alle verbleibenden Anteile von Präp. KR-31 und KR-32 wurden vereinigt) wurden in 2 ml Me gelöst, mit der Lösung von 5 mg KHCO₃ und 0,05 ml W versetzt und 16 Std. bei 20° stehengelassen. Dann wurde mit 2 ml W versetzt, das Me im Vakuum entfernt und die Mischung mit Ae ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 7 mg Rückstand, der an 1 g SiO₂ chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf und reinem Chf eluierten Anteile (4,2 mg) gaben aus An-Ae ca. 3 mg Präp. KR-38, Smp. 192–196°. Nach Misch-Smp., DC und Massenspektrum identisch mit dem aus Sarmetogenin (**8**) bereiteten Präp. KR-37. Eine Ultra-Mikroanalyse²⁹⁾ ergab einen etwas zu tiefen C-Gehalt, der vermutlich von einer im Massenspektrum bei m/e 478 und 480 sichtbaren Verunreinigung herrührte.

3β,11α,14β-Trihydroxy-5β-ätiensäure-methylester (10⁴). 1 g Sarmetogenin (**8**) wurde wie üblich acetyliert und das rohe Acetylierungsprodukt **9** mit Ozon abgebaut. Das Ozonid wurde wie oben in Eg nach Zusatz von AcOH und W mit Zn bei 0° reduziert. Die Aufarbeitung gab 13 mg saure und 1 g neutrale Anteile. Letztere gaben bei der Verseifung mit KHCO₃ in wässrigem Me 79 mg saure und 900 mg neutrale Anteile (rohes *Ketol*). Die letzteren wurden in 30 ml Me mit 2,5 g NaJO₄ in 20 ml W 1 Std. bei 20° stehengelassen. Die Aufarbeitung gab jetzt 220 mg neutrale und 683 mg saure Anteile. Die rohe *Säure* wurde mit 0,8 g KOH in 8 ml W und 20 ml Me 2 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Me im Vakuum entfernt, die Lösung mit HCl bis zur kongosauren Reaktion versetzt und mit Eg ausgeschüttelt. Trocknen und Eindampfen im Vakuum gab 510 mg rohe *Säure*, daraus mit Diazomethan 530 mg rohen *Methylester 10*. Aus An-Ae farblose Kristalle (Präp. KR-22) mit Doppel-Smp. 102–104° und 128–131°. IR.-Spektrum Nr. 3878.

3-Oxo-11α,14β-dihydroxy-5β-ätiensäure-methylester (11). 385 mg **10** in 20 ml 20-proz. AcOH wurden mit dem durch Vorhydrierung aus 200 mg PtO₂, H₂O erhaltenen und mit 20-proz. AcOH gewaschenen Pt 22 Std. in O₂-Atmosphäre geschüttelt. Nach Filtration wurde mit Chf ausgeschüttelt. Die mit W, verd. Sodalösung und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 346 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 258 mg Präp. KR-19, nach Umkristallisieren farblose grosse Prismen, Smp. 162–163°, [α]_D²⁴ = +28,5° (Me). Das IR.-Spektrum

(Nr. 3846, fest in KBr) zeigte in der CO-Region erwartungsgemäss nur ein Maximum bei 5,85 μ . Zur Analyse²⁹) wurde 16 Std. bei 20° ohne Vakuum über CaCl₂ stehengelassen.

C₂₁H₃₂O₅ (364,47) Ber. C 69,20 H 8,85% Gef. C 68,92 H 8,59%

3-Oxo-4 β -brom-11 α ,14 β -dihydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (**12**). 258 mg **11** wurden in 2 ml AcOH gelöst, tropfenweise mit 115 mg Br₂ in 1 ml AcOH versetzt und 2 Std. bei 20° stehengelassen. Die farblose Lösung wurde mit 25 ml Eiswasser versetzt und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Die mit verd. Sodalösung und W bei 0° gewaschenen Auszüge gaben beim Eindampfen 310 mg Rohprodukt. Umkristallisieren aus An-Pe gab 127 mg krist. Präp. KR-20. Die Spitzenfraktion zeigte Smp. 130–134°, $[\alpha]_D^{24} = +40,8^\circ$ (Me). Das IR.-Spektrum (Nr. 3856, fest in KBr) zeigte im CO-Gebiet zwei Banden bei ca. 5,82 und 5,86 μ .

3-Oxo-11 α ,14 β -dihydroxy- Δ^4 -ätiansäure-methylester (**14**) und Nebenprodukt KR-23 (**15**?). 120 mg **12** wurden mit 20 mg (1 Mol-Äquiv.) Li₂CO₃ und 34 mg (3 Mol-Äquiv.) LiCl in 3 ml Dmfmd 2 $\frac{1}{2}$ Std. nnter N₂ auf 135–140° erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingedampft, mit 10 ml W versetzt und mit Chf ausgeschüttelt. Die mit KHCO₃ und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 87 mg neutrales Rohprodukt, das an 2 g SiO₂ chromatographiert wurde (Kontrolle durch DC).

Die Fr. 12–13 (13,5 mg, eluiert mit Chf) enthielten rasch laufendes Material: zwei Flecke, Rf = 0,47 und 0,375. Fr. 14 (21,5 mg, eluiert mit Chf) zeigte nur einen Fleck mit Rf = 0,294, entspr. Präp. KR-23 (**15**?). Die Fr 15–19 (50 mg, eluiert mit Chf) gaben zwei Flecke mit Rf = 0,294 entspr. Präp. KR-23 sowie 0,235 entspr. **14**.

Fr 14 gab nach Vereinigung mit weiterer Menge gleichen Materials aus zweitem Versuch und wiederholtem Umkristallisieren aus An-Ae-Pe 10 mg Präp. KR-23 (Nebenprodukt evtl. **15**, Konstitution unsicher) in farblosen Kristallen, Smp. 190–192°, $[\alpha]_D^{24} = +98,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,81$ in Chf). Das UV.-Spektrum (Nr. 4017, in Alk) zeigte ein Maximum bei 237 nm ($\log \epsilon = 3,96$) und ein zweites, sehr flaches, bei ca. 307 nm ($\log \epsilon = 1,85$). Das IR.-Spektrum (Nr. 4060, fest in KBr) zeigte im CO-Gebiet Banden bei 5,83; 5,88 μ sowie eine breite Bande bei 6,00–6,09 mit deutlicher Spitze bei 6,09 μ .

Die Fr 15–19 gaben aus An-Pe zunächst 16 mg Kristalle, Smp. 174–181° (Gemisch von **14** + KR-23). Die ML (33 mg) lieferten dann 21 mg krist. Präp. KR-21 (**14**), das auf der Platte nur noch den langsamen Fleck gab, dessen Reinheit trotzdem nicht völlig sicher ist. Smp. 177–180°, $[\alpha]_D^{24} = +111,9^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,89$ in Chf). Das UV.-Spektrum (Nr. 3941, in Alk) zeigte ein Maximum bei 240 nm ($\log \epsilon = 4,19$) sowie eine Schulter bei ca. 285 nm ($\log \epsilon = 2,80$). Das IR.-Spektrum (Nr. 3877, in CH₂Cl₂) zeigte in der CO-Region Banden bei 5,86; 6,02 und 6,21 μ ; in KBr (Nr. 3859) waren dort Banden sichtbar bei 5,77; 5,92; 6,00 und 6,21 μ . Wegen der schlechten Ausbeute wurde dieser Stoff nicht weiter untersucht.

3,11-Dioxo-14 β -hydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (**13**). 530 mg roher 3 β ,11 α ,14 β -Trihydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (**10**) wurden in 15 ml AcOH portionsweise mit 2-proz. CrO₃-AcOH-Lösung versetzt, bis nach 6 Std. bei 20° noch CrO₃ nachweisbar war. Dann wurde mit 2 ml Me versetzt und noch 10 Std. stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung mit Chf-Ae-(1:3) gab 395 mg rohes Neutralprodukt, das an 10 g SiO₂ chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(1:1) eluierten Anteile (297 mg) gaben aus Ae-Pe 245 mg Präp. KR-24, Smp. 124–126°, $[\alpha]_D^{24} = +77,0^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 1,08$ in Chf). Das IR.-Spektrum (Nr. 3884, fest in KBr) zeigte eine komplexe Carbonylbande mit Schwerpunkt bei ca. 5,85–5,89 μ . Das Präparat war nach Misch-Smp. identisch mit Präp. AL-259; für dieses wurde von Dr. A. LARDON gefunden: Smp. 124–126°, $[\alpha]_D^{18} = +80,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,2$ in Chf).

C₂₁H₃₀O₅ (362,45) Ber. C 69,58 H 8,34% Gef. C 69,54 H 8,37%

3,11-Dioxo-4 β -brom-14 β -hydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (**16**). 235 mg **13** wurden in 4 ml AcOH gelöst und tropfenweise eine Lösung von 104 mg Br₂ in 1,3 ml AcOH zugegeben. Nach Entfärbung wurde mit 10 ml Eiswasser versetzt, 5mal mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt, mit KHCO₃-Lösung und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (285 mg) wurde an 2 g SiO₂ chromatographiert. Die Fr 4–8 (206 mg, eluiert mit Be-Chf-(2:1)) waren nach DC (Eg) einheitlich und gaben aus Ae-Pe 154 mg krist. Präp. KR-27 (**16**), Smp. 172–175°, $[\alpha]_D^{23} = +69,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,81$ in Chf). Im IR.-Spektrum war wieder eine komplexe Bande vorhanden, praktisch gleich wie bei **13**.

Die weiteren mit Be-Chf-(2:1) eluierten Fr. 9–11 (74 mg) bestanden nach DC aus einem Gemisch von **13**+**16**. Es wurde mit Zn-Staub in wässriger Essigsäure entbromt und gab wieder rohes **13**, das zusammen mit ähnlichem Material aus zweitem Versuch für eine neue Bromierung verwendet wurde.

3,11-Dioxo-14 β -hydroxy- Δ^4 -ätiansäure-methylester (17). 202 mg **16** (Kristalle und ML) wurden in 6 ml Dmfmd gelöst, mit 34 mg (1 Mol-Äquiv.) Li_2CO_3 und 58 mg (3 Mol-Äquiv.) LiCl versetzt und $2\frac{1}{2}$ Std. unter N_2 auf 140° erhitzt. Dann wurde im Vakuum eingengt, mit 10 ml W versetzt und mit Chf-Ae-(1:3) ausgeschüttelt. Waschen, Trocknen und Eindampfen gaben 140 mg neutrales Rohprodukt. Dieses wurde mit 150 mg analogem Material vereinigt, das in gleicher Weise aus regeneriertem Diketon **13** (inkl. ML) bereitet wurde. Das Ganze (290 mg) wurde an 150 g SiO_2 chromatographiert, wobei jede Fr mit 10 ml Eg-Ae-(1:1) eluiert wurde.

Die Fr 1–20 gaben praktisch keinen Rückstand; die Fr 20–25 lieferten 45 mg amorphes Material (nicht untersucht) und Fr 26 noch 2 mg Rückstand. Die Fr. 27–31 (67 mg) waren rohes Δ^1 -Derivat **18** (siehe unten); die Fr 32–33 (14 mg) waren nach DC ein Gemisch von **17** und **18** (nicht getrennt). Die Fr 34–42 (108 mg) zeigten im DC nur einen Fleck **17** und gaben aus An-Ae 86 mg reines Präp. KR-26 (**17**), Smp. $198\text{--}204^\circ$, $[\alpha]_D^{25} = +214^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,61$ in Chf). Das UV.-Absorptionsspektrum (Nr. 4005 in Alk) zeigte ein Maximum bei 237 nm, $\log \epsilon = 4,16$, sowie eine Schulter in der Gegend von ca. 300 nm ($\log \epsilon = 2,08$). Das IR.-Spektrum (Nr. 4047, fest in KBr) zeigte in der Carbonylregion Banden bei 5,85 (zusätzliche Zacke bei 5,87); 6,02 und 6,18 μ .

$\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$ (360,43) Ber. C 69,97 H 7,83% Gef. C 70,30 H 8,05%

3,11-Dioxo-14 β -hydroxy- Δ^1 -5 β -ätiansäure-methylester (18). Die 67 mg Rohprodukt (siehe oben) gaben aus An-Ae 22 mg Präp. KR-28, Smp. $200\text{--}202^\circ$, $[\alpha]_D^{26} = +144,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,07$ in Chf). Das UV.-Absorptionsspektrum (Nr. 4006, in Alk) zeigte ein Maximum bei 224 nm, $\log \epsilon = 3,93$, sowie eine Schulter zwischen 280 und 300 nm ($\log \epsilon = 2,49$ bei 280 nm). Das IR.-Spektrum (Nr. 4046, fest in KBr) zeigte in der Carbonylregion Banden bei 5,85; 5,89 und 5,96 sowie eine kleine Zacke bei ca. 6,19 μ .

3,11-Dioxo-14 β -hydroxy-5 β -ätiansäure-methylester (13) aus 18. 10 mg **18** wurden in 1 ml Me mit 5 mg 10-proz. Pd-Kohle hydriert. Die Gasaufnahme war nach 1 Std. beendet. Filtration und Eindampfen gab 10 mg Rohprodukt. Aus Ae-Pe farblose Nadeln, Smp. $124\text{--}126^\circ$. Nach Misch-Smp. und DC (Violett färbung mit PTS) identisch mit Präp. KR-24 (**13**).

3,11-Dioxo-14 β -hydroxy-5 α -ätiansäure-methylester (19). 86 mg **3,11-Dioxo-14 β -hydroxy- Δ^4 -ätiansäure-methylester (17)** wurden in 5 ml Me mit 40 mg 10-proz. Pd-Kohle hydriert. Die Gasaufnahme war nach 30 Min. beendet. Filtration und Eindampfen gaben 86 mg Rohprodukt. Dieses zeigte im DC (System von Fig. 2) einen Hauptfleck (entspr. **13**, mit gleich laufendem Nebenprodukt) sowie einen schwachen, rascher laufenden Fleck (entspr. **19**). Es wurde mit 7 mg gleichem Material aus Vorversuch vereinigt und zusammen (93 mg) an 100 g SiO_2 chromatographiert. Zur Elution diente Eg-Ae-(1:1). Die Fr 37–44 gaben 10 mg rohes 5 α -Derivat **19**, Fr 45 (3 mg) war ein Gemisch von **19** mit **13**, und die Fr 46–56 lieferten 76 mg rohes 5 β -Derivat **13**, das aber noch eine unbekannte Verunreinigung enthielt, die im System von Fig. 2 gleich lief wie **13**.

Die 10 mg rohes 5 α -Derivat **19** wurden in Ae durch wenig Al_2O_3 filtriert. Das farblose Eluat (9 mg) gab aus Spur Ae mit Pn bei 0° langsam 4 mg Kristalle (Präp. KR-30), Smp. $96\text{--}104^\circ$. Wegen der hohen Löslichkeit ist es schwer, diesen Stoff in kleinen Mengen umzukristallisieren.

3 β ,14 β -Dihydroxy-11-oxo-5 α -ätiansäure-methylester (7) aus 19. 4 mg **19** wurden in 1 ml frisch dest. THF bei 0° mit 0,75 ml $\text{LiAl}(\text{OC}_4\text{H}_9)_3\text{H}$ -Reduktionslösung [20b] versetzt und 15 Min. bei 0° stehengelassen. In Vorversuchen hatte es sich gezeigt, dass dies zur Reduktion von 3-Oxogruppen völlig ausreicht. Es wurde mit 2 ml 5-proz. wässriger AcOH versetzt und 5mal mit Chf ausgeschüttelt. Die mit KHCO_3 und W gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 4 mg Rückstand. Dieser zeigte auf der Dünnschichtplatte einen starken Hauptfleck entspr. **7** (Fig. 2), daneben noch zwei rascher schwache Flecke. Das Material wurde acetyliert und dann an 0,5 g SiO_2 chromatographiert. Die Fr 1–13 (eluiert mit Be sowie Be-Chf bis zu 30% Chf-Gehalt) gaben 1,8 mg schwach polares Material (nicht untersucht). Die Fr 14–17 (eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben 1,5 mg Rückstand, der auf der Platte nur einen Fleck gab mit gleicher Laufstrecke und Färbung wie KR-32 (**6**). Die weiteren Fr 18–20 (eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben noch 0,8 mg Rückstand, der im DC nur einen Fleck gab mit einer Laufstrecke, die ca. 0,82, ver-
glichen mit derjenigen von **6**, betrug (Eg-Ae).

Die 1,5 mg von Fr 14–17 gaben aus Ae-Pn Kristalle (KR-36), Smp. 152–162°, nach Misch-Smp. identisch mit KR-32 (6). Wegen grosser Löslichkeit lässt sich dieser Stoff schlecht umkristallisieren, wenn kleine Mengen vorliegen. Daher wurde nochmals der freie *Hydroxyester* 7 bereitet. Hierzu wurden 4,5 mg Kristall-ML des Diketons 19 verwendet, die im DC nur *einen* Fleck gaben, aber trotzdem noch eine gleich laufende Verunreinigung enthalten hatten. Reduktion mit Li-Tri-(*t*-butoxy)-aluminium-hydrid gab 4,5 mg Material. Dieses zeigte bei der DC neben dem Fleck von 7 noch einen zweiten, der wie das Diketon 19 lief. Wiederholung der Reduktion mit 10-fachem Überschuss an Reduktionsmittel brachte diese Fleck nicht zum Verschwinden. Diese Verunreinigung dürfte die Kristallisation des Diketons 19 erschwert haben. Das reduzierte Material (6,4 mg) wurde an 0,5 g SiO₂ chromatographiert. Die Fr 1–3 (eluiert mit Be) gaben 1,8 mg schwach polares Material. Die Fr 4–12 (1,6 mg, eluiert mit Be-Chf von 25–50% Chf-Gehalt) waren auch noch schwach polar. Die Fr 13–20 (1,7 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) waren Gemische (nicht getrennt). Die Fr 21–25 (1,3 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1)) gaben im DC nur *einen* Fleck entspr. 7. Aus Ae-Pn 0,5 mg Präp. KR-37, Smp. 190–195°, nach Misch-Smp., DC, Färbung, IR.-Spektrum (Nr. 4103 und 4104, in CH₂Cl₂, Mikrozelle) und Massenspektrum (Fig. 17) identisch mit dem aus Mallosoid (5) erhaltenen Präp. KR-38 (7).

Hydrolyse von Glykosid L = Panosid (21). 50 mg Panosid wurden mit HCl in Aceton hydrolysiert wie bei Mallosoid (5) beschrieben. Erhalten wurden 35 mg rohes Genin und 15 mg *Zuckersirup*. Letzterer zeigte nach Reinigung durch Chromatographie an Celite-Kohle $[\alpha]_D^{24} = +8,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,0$ in W), die Laufstrecken im PC (Mek/W sowie Mek-Bu-(1:1)/Boraxpuffer) waren genau gleich wie bei *L-Rhamnose*. Grössere Mengen wurden genau gleich hydrolysiert.

Panogenin (23). Die 35 mg rohes Genin wurden an 2 g SiO₂ chromatographiert. Die mit Chf-Me-(95:5) eluierten Anteile (12 mg) gaben aus Me krist. Präp. KR-14 in farblosen Nadeln, Smp. 238–244°, $[\alpha]_D^{24} = +25,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,63$ in Me). IR.-Spektrum vgl. Fig. 9. Trocknung zur Analyse (110°, 5 Std., 0,01 Torr) gab 0,4% Gewichtsverlust.

C₂₃H₃₄O₆ (406,50) Ber. C 67,95 H 8,43% Gef. C 67,83 H 8,59%

Di-O-acetyl-panogenin (24). Wie üblich mit Ac₂O in Py bei 20° (24 Std.) bereitet (Präp. KR-16). Aus An-Ae farblose Nadeln, Smp. 243–246°, $[\alpha]_D^{24} = +26,3^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,55$ in Chf). Das UV.-Absorptionsspektrum (Nr. 4056, in Alk) zeigte nur ein Maximum bei 218 nm, $\log \epsilon = 4,19$. IR.-Spektrum vgl. Fig. 10. Protonenresonanzspektrum, R 141, vgl. Fig. 14. Trocknung zur Analyse gab 3,2% Gewichtsverlust.

C₂₇H₃₈O₈ (490,57) Ber. C 66,10 H 7,81% Gef. C 66,26 H 8,03%

Di-O-acetyl-11-dehydro-panogenin = Di-O-acetyl-11-oxo-coroglaucigenin (25). 116 mg Di-O-acetyl-panogenin (24) (Kristalle und ML) wurden wie bei O-Acetyl-mallogenin beschrieben mit CrO₃ oxydiert und das neutrale Rohprodukt (98 mg) an 3 g SiO₂ chromatographiert. Die mit Chf eluierten Anteile (78 mg) gaben aus An-Ae 44 mg Präp. KR-39, Smp. 215–218°, $[\alpha]_D^{24} = -39,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,08$ in Chf); 25 läuft im DC (vgl. Fig. 3) langsamer als 24. Das UV.-Spektrum (Nr. 4055, in Alk) zeigte Maxima bei 214,5 nm, $\log \epsilon = 4,21$ und 296 nm, $\log \epsilon = 1,55$; IR.-Spektrum vgl. Fig. 11; Massenspektrum vgl. Fig. 18. Zur Analyse²⁹⁾ wurde 16 Std. über CaCl₂ bei 20° ohne Vakuum getrocknet.

C₂₇H₃₆O₈ (488,56) Ber. C 66,38 H 7,43% Gef. C 66,65 H 7,61%

3β,19-Diacetoxy-11-oxo-14β-hydroxy-5α-ätiansäure-methylester (26) aus 25. 65 mg Präp. KR-39 25 wurden, wie oben bei der Bereitung von 6 aus 2 beschrieben, mit Ozon abgebaut. Nach Verseifung mit KHCO₃ wurden 46 mg Neutralteile (rohes *Ketol*) und 8 mg saure Anteile (nicht untersucht) erhalten. Das rohe *Ketol* (46 mg) gab nach Abbau mit Na₂JO₄ 35 mg rohe *Säure* und 8 mg neutrale Anteile (nicht untersucht). Die 35 mg *Säure* wurden mit Diazomethan methyliert und der rohe *Methylester* mit Ac₂O in Py nachacetyliert. Das Rohprodukt (38 mg) wurde zur Reinigung an 1 g SiO₂ chromatographiert. Die mit Chf eluierten Anteile (34 mg) gaben aus Ae-Pe 22 mg Präp. KR-40 in farblosen feinen Nadeln, Smp. 158–159°, $[\alpha]_D^{23} = +11,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,04$ in Chf). Das UV.-Spektrum (Nr. 4074, in Alk) zeigte ein flaches Maximum bei ca. 296 nm, $\log \epsilon = 1,45$. Umkristallisieren aus An-Ae-Pe unter Impfen mit der hochschmelzenden Form (Smp. 172–174°) von Präp. GV-37 von Volpp *et al.* [15] (Formel VI auf S. 1420 ihrer Publikation) gab ebenfalls zu Drusen vereinigte Nadeln, Smp. 172–174°. Die Mischprobe schmolz gleich, auch die Laufstrecke im DC (vgl. Fig. 4) sowie die Färbung bei Entwicklung mit PTS waren dieselben, ebenso

die IR.-Spektren, vgl. Fig. 12. Protonenresonanzspektrum (R 207) vgl. Fig. 15. Kein Gewichtsverlust bei Trocknung.

$C_{26}H_{36}O_8$ (464,54) Ber. C 64,63 H 7,81% Gef. C 64,63 H 7,80%

3β,19-Diacetoxy-11-oxo-Δ¹⁴-5α-ätiansäure-methylester (28). 21 mg **26** (Präp. KR-40 aus Pano-genin) wurden in 0,5 ml abs. Py bei 0° mit 0,025 ml reinstem SOCl₂ versetzt, 15 Min. unter W-Ausschluss bei 0° stehengelassen, dann mit Eis zerlegt. Die übliche Aufarbeitung mit Ae gab 19 mg neutrales Rohprodukt. Es wurde an 1 g Al₂O₃ chromatographiert. Fr 5 (4 mg, eluiert mit Be-Ae-(3:1)) gab aus Ae-Pe langsam 2 mg Präp. KR-47 in farblosen Kristallen, Smp. 130–132°. Nach Misch-Smp. und Laufstrecke im DC identisch mit Präp. GV-42 (Formel X auf S.1420 bei VOLPP *et al.* [15]). Die ML und alle weiteren Fr (total 15 mg) dienten zur Hydrierung.

3β,19-Diacetoxy-11-oxo-5α,14ξ-ätiansäure-methylester (30). 15 mg rohes Präp. KR-47 (**28**) wurden mit 3 mg PtO₂ in 3 ml AcOH hydriert. Die Gasaufnahme war nach 20 Min. beendet. Das Rohprodukt wurde mit CrO₃ nachoxydiert. Die Aufarbeitung gab 13 mg rohes Hydrierungsprodukt. Es gab im DC (Fig. 8) nur einen Hauptfleck mit Laufstrecke und Färbung (hellgelb nach Entwicklung mit PTS) wie Präp. GV-43 (Formel IX auf S.1420 von VOLPP *et al.* [15]). Kristallisation aus Ae-Pn gab 6 mg unscharf schmelzende Kristalle. Nach Umkristallisation Stäbchen in Drusen vom Smp. 142–145° (Präp. KR-52); Misch-Smp. mit Präparat GV-43 (Smp. 152–154°) ohne Depression.

Isolierung von Cannogenol. Cannogenol ist früher aus Cannogenin gewonnen worden [13] [14]. Da Cannogenin und seine Glykoside sehr autoxydabel sind, haben wir jetzt das rohe Gemisch der Glykoside (wie es aus *Apocynum cannabinum* erhalten wird) zuerst mit NaBH₄ reduziert, dann hydrolysiert und hierauf die Trennung von Cannogenol und Cymarol durchgeführt.

15 g «Präparat R»⁸⁰⁾ wurden in 100 ml 80-proz. Alk bei 0° mit der Lösung von 1,5 g NaBH₄ in 20 ml W versetzt, mit AcOH auf pH = 8,0 gestellt und 3 Std. bei 0° stehengelassen. Dann wurde mit verd. H₂SO₄ bis zur sauren Reaktion auf Kongo versetzt und 3mal mit Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt. Die mit wenig W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 200 ml Me gelöst, mit 200 ml 0,1N H₂SO₄ versetzt und 20 Min. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde das Me im Vakuum entfernt und die wässrige Suspension mit Chf ausgeschüttelt. Die mit W, Sodalösung und W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen im Vakuum 12 g neutrales Rohprodukt. Es zeigte im DC (Fig. 5) zwei Hauptflecke entspr. Strophanthidol und Cannogenol. Es wurde an 400 g Al₂O₃ (Akt. III) chromatographiert. Die Fr 1–6 (4,85 g, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1)) gaben mit KEDDE-Reagens keine Färbung (verworfen). Die Fr. 7–9 (eluiert mit Chf-Me-(98:2)) lieferten 2,2 g Material, das auf der Dünnschichtplatte nur Strophanthidol anzeigte. Die Fr. 10–16 (2,938 g, eluiert mit Chf-Me von 3–5% Me-Gehalt) waren ein Gemisch von Strophanthidol und Cannogenol; Trennung durch nochmalige Chromatographie. Die weiteren Fr 17–18 (eluiert mit Chf-Me-(9:1)) gaben noch 0,1 g KEDDE-negatives Material, verworfen.

Obige Fr 10–16 (2,938 g) wurden an 1 kg SiO₂ nach DUNCAN [34] chromatographiert, Eluiermittel Chf-iPr-(4:1) mit 300 ml/Fr. Die Fr 1–11 gaben 0,390 g KEDDE-negatives Material. Die Fr 12–16 (total 1,255 g) enthielten nur Strophanthidol. Die Fr 17–25 (total 1,451 g) enthielten nur *Cannogenol*. Sie gaben aus An-Ae 1 g reine Kristalle, Smp. 234–236°, $[\alpha]_D^{24} = +26,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Me). Nach Misch-Smp., PC (Chf/Fmd) und DC (Chf-Me-(9:1)) identisch mit GÖSCHKES Präparat [14].

Acetylierung von 300 mg lieferte 295 mg Kristalle von *Di-O-acetyl-cannogenol (27)* (aus An-Ae) mit Doppel-Smp. 162–164°/188–189°, $[\alpha]_D^{24} = +26,0^\circ$ ($c = 1,04$ in Me).

3β,19-Diacetoxy-14β-hydroxy-5β-ätiansäure-methylester (29). 275 mg Di-O-acetyl-cannogenol (**27**) wurden mit Ozon abgebaut, genau wie bei **2**, **9** und **24** beschrieben, und lieferten nach Umkristallisieren aus Ae-Pn 81 mg Präp. KR-44 in farblosen Nadeln, Smp. 155–157°, $[\alpha]_D^{23} = +35,8^\circ$ ($c = 1,06$ in Chf). Das IR.-Spektrum (Nr. 4176, in CCl₄) zeigte nur eine assoziierte HO-Bande bei 2,88 μ sowie in der CO-Region starke Banden bei 5,76 (Acetoxy) und 5,83 μ (assoziierte Carbo-methoxygruppe); in KBr (Nr. 4175) lagen letztere bei 5,76 und 5,86 μ. Protonenresonanzspektrum vgl. Fig. 16. Zur Analyse wurde 48 Std. bei 20° über CaCl₂ stehengelassen.

$C_{26}H_{38}O_7$ (450,55) Ber. C 66,64 H 8,50% Gef. C 66,64 H 8,29%

⁸⁰⁾ Siehe GOLAB *et al.* [13], besonders dortige Fussnote 27.

3β, 19-Diacetoxy-Δ¹⁴-5β-ätiensäure-methylester (32). 62 mg **29** wurden in 0,5 ml abs. Py gelöst, bei 0° unter H₂O-Ausschluss mit 0,05 ml reinstem SOCl₂ versetzt und 5 Min. bei 0° stehengelassen. Zersetzen mit Eis und übliche Aufarbeitung gab 60 mg neutrales Rohprodukt. Aus Ae-Pn 45 mg Präp. KR-45 in farblosen Plättchen, Smp. 154–155°, $[\alpha]_D^{25} = +39,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,01$ in Chf). Im DC (Fig. 6) läuft der Ester nur wenig rascher als **29**. Zur Analyse²⁹⁾ wurde 16 Std. bei 20° ohne Vakuum über CaCl₂ getrocknet.

C₂₅H₃₀O₆ (432,54) Ber. C 69,42 H 8,39% Gef. C 69,37 H 8,40%

3β, 19-Diacetoxy-5β-ätiensäure-methylester (33). 38 mg **32** wurden in 2 ml AcOH mit 12,5 mg PtO₂ 1 Std. in H₂-Atmosphäre geschüttelt. Die H₂-Aufnahme betrug 1 Mol.-Äquiv. Filtration und Eindampfen gab 38 mg Rohprodukt. Aus Ae-Pn 22,5 mg Präp. KR-46 in farblosen Plättchen, Smp. 141–144°, $[\alpha]_D^{25} = +45,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1$ in Chf). Zur Analyse²⁹⁾ wurde 16 Std. ohne Vakuum bei 20° über CaCl₂ stehengelassen.

C₂₅H₃₀O₆ (434,55) Ber. C 69,10 H 8,81% Gef. C 68,96 H 8,80%

Vergleich von 33 mit 34 sowie mit Präp. GV-47 (Formel XV mit 5β-Konfiguration, zugeschrieben von VOLPP et al. [75]). Vom 5α, 14α-Ester **34** standen 2 Präparate zur Verfügung: a) KOEHLIN & REICHSTEIN [16], b) VOLPP & TAMM [17]; sie zeigten beide Smp. 128–130° und waren nach Misch-Smp. und DC identisch (System Fig. 7). Mischprobe von **33** (Smp. 141–144°) mit **34** (Smp. 128–130°) schmolz bei 115–125°; Mischprobe von **33** (Smp. 141–144°) mit GV-47 (Smp. 140–141,5°) schmolz bei 114–120°; Mischprobe von **34** (Smp. 128–130°) mit GV-47 (Smp. 140–141,5°) schmolz bei 105–125°.

DC vgl. Fig. 7.

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

SUMMARY

The structures of the following cardenolides, isolated from *Mallotus paniculatus* have been reported: Genin D = 11-oxo-uzarigenin (**1**), genin F = mallogenin = 11β-hydroxy-uzarigenin (**3**). Glycoside K = mallosid (**5**) is an L-rhamnoside of mallogenin, and glycoside L (**21**) is an L-rhamnoside of a new genine which we have called panogenin. Panogenin was isolated in crystalline form by the hydrolysis of panoside, and its structure was found to be that of 11β-hydroxy-coroglaucigenin (**23**). Glycoside N = glucopanoside (**22**), the predominant glycoside of the unfermented seeds, was found to contain one molecule of D-glucose bound in glycosidic form; its position was not investigated.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] T. REICHSTEIN, M. ROTHSCHILD, L. B. BROWER, L. FISHELSON, J. PARSONS & J. v. EUW, Naturwiss. Rundschau 20 (1967), im Druck.
- [2] K. D. ROBERTS, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, Helv. 49, 316 (1966).
- [3] C. MANNICH & G. SIEWERT, Ber. deutsch. chem. Ges. 75, 737 (1942).
- [4] J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 1560 (1952); O. SCHINDLER, Helv. 38, 538 (1955); H. LICHTL, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 39, 1933 (1956).
- [5] A. KATZ, Helv. 31, 993 (1948), und frühere Lit. daselbst.
- [6] R. F. ZÜRCHER, Helv. 46, 2054 (1963).
- [7] K. MEYER & T. REICHSTEIN, Helv. 30, 1508 (1947); vgl. auch J. v. EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 47, 711 (1964).
- [8] A. LARDON & T. REICHSTEIN, Pharmac. Acta Helv. 27, 287 (1952).
- [9] H. WIELAND, Ber. deutsch. chem. Ges. 45, 484, 2606 (1912); 46, 3327 (1913); 54, 2353 (1921); R. P. A. SNEEDEN & R. B. TURNER, J. Amer. chem. Soc. 77, 130, 190 (1955).
- [10] R. P. HOLYSZ, J. Amer. chem. Soc. 75, 4432 (1953); R. JOLY, J. WARNANT, G. NOMINÉ & D. BERTIN, Bull. Soc. chim. France 1958, 367.

- [11] W. A. JACOBS & M. HEIDELBERGER, *J. biol. Chemistry* **87**, 765 (1929).
[12] W. SCHNELLE & B. TOLLENS, *Liebigs Ann. Chem.* **271**, 61 (1892); R. S. TIPSON & H. S. ISBELL, *J. Res. nat. Bur. Standards* **66A**, 31 (1962).
[13] T. GOLAB, C. H. TRABERT, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **42**, 2418 (1959).
[14] R. GÖSCHKE, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **44**, 1031 (1961).
[15] G. VOLPP, G. BAUMGARTNER & CH. TAMM, *Helv.* **42**, 1418 (1959).
[16] H. KOEHLIN & T. REICHSTEIN, *Helv.* **30**, 1673 (1947).
[17] G. VOLPP & CH. TAMM, *Helv.* **42**, 1408 (1959).
[18] E. FLURY, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **48**, 1113 (1965).
[19] W. SCHLEGEL, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 1013 (1955).
[20] a) H. C. BROWN & R. F. MCFARLIN, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 5372 (1958); b) CH. TAMM, *Helv.* **43**, 338 (1960); weitere Lit. daselbst.
[21] K. B. JENSEN, *Acta pharmacol. toxicol.* **9**, 99 (1953); *C. A.* **48**, 2322 (1954); K. B. JENSEN & K. TENNÖE, *J. Pharmacy Pharmacol.* **7**, 334 (1955); *C. A.* **49**, 11955 (1955).
[22] A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 1073 (1952).
[23] O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **35**, 730 (1952).
[24] L. F. FIESER & M. FIESER, *Steroide*, übersetzt von H. GRÜNEWALD, Weinheim 1961, bes. S. 851.
[25] P. ST. JANIÁK, EK. WEISS & T. REICHSTEIN, *Helv.* **50**, 1249 (1967).
[26] W. KLYNE, *Biochem. J.* **47**, xli (1950).
[27] E. STAHL, *Angew. Chem.* **73**, 646 (1961); «Dünnschichtchromatographie», herausgeg. von E. STAHL, Springer-Verlag, Berlin 1962; K. RANDEATH, «Dünnschichtchromatographie», Verlag Chemie, Weinheim 1962.
[28] D. L. KEDDE, *Pharmac. Weekbl.* **82**, 741 (1947); J. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952); M. L. LEWBART, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **46**, 505 (1963).
[29] R. TSCHESCHE, P. WELZEL & H.-W. FEHLHABER, *Tetrahedron* **21**, 1797 (1965).
[30] U. EPPENBERGER, W. VETTER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **49**, 1505 (1966).
[31] T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, *Discuss. Farad. Soc.* **7**, 305 (1949).
[32] R. L. WHISTLER & D. F. DURSO, *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 677 (1950); W. J. WHELAN, J. M. BAILY & P. J. P. ROBERTS, *J. chem. Soc.* **1953**, 1293; T. GOLAB & T. REICHSTEIN, *Helv.* **44**, 616 (1961).
[33] M. T. KRAUSS, HERB. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, *J. Chromatogr.* **3**, 63 (1960).
[34] G. R. DUNCAN, *J. Chromatogr.* **8**, 37 (1962).

172. Über Pterinchemie

21., vorläufige Mitteilung [1]

Hydroxylierung der Tryptophans mittels Tetrahydropterin unter physiologischen Bedingungen

von M. Viscontini und G. Mattern

(8. VII. 67)

In der 15. und der 17. Mitteilung [2] hatten wir gezeigt, dass die Hydroxylierung von Phenylalanin mit Tetrahydropterin als Katalysator *o*-, *m*- und *p*-Tyrosin sowie Folgeprodukte liefert. In der vorliegenden Arbeit können wir jetzt aufzeigen, dass sich Tryptophan mittels Tetrahydropterin in Gegenwart katalytischer Mengen Fe^{II} und Natriumpyrophosphat unter physiologischen Bedingungen ebenfalls hydroxylieren lässt.

Ausführung der Untersuchungen: 10 mg (50 μ Mol) mit Tryptophan-[3-¹⁴C] versetztes Tryptophan, 1 mg (2,5 μ Mol) (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O und 1 mg (3,8 μ Mol) Natriumpyrophosphat wurden