

Wir danken den Herren Dr. *W. Arnold*, Dr. *G. Englert* (*F. Hoffmann-La Roche & Co.*, Basel) und Dr. *W. Regel* (früher Universität Zürich) bestens für NMR.-Spektren und Herrn dipl. chem. *P. Matzinger* für experimentelle Mithilfe. Zu danken haben wir ferner dem *Schweizerischen Nationalfonds*.

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *Gy. Fráter & H. Schmid*, *Helv. 51*, 190 (1968).
- [2] *Gy. Fráter & H. Schmid*, *Helv. 53*, 269 (1970).
- [3] *H. Labhart & G. Wagnère*, *Helv. 42*, 2219 (1959).
- [4] *J. Zsindely & H. Schmid*, *Helv. 51*, 1510 (1968).
- [5] *C. A. Cupas, W. Schumann & W. E. Heyd*, *J. Amer. chem. Soc. 92*, 3237 (1970).
- [6] *C. A. Cupas, W. E. Heyd & M. S. Kong*, *J. Amer. chem. Soc. 93*, 4623 (1971).
- [7] *N. Fukamiya, M. Kato & A. Yoshikoshi*, *Chem. Commun. 1971*, 1120.
- [8] *A. Krantz & C. Y. Lin*, *Chem. Commun. 1971*, 1287.
- [9] *T. Imagawa, M. Kawanisi & K. Sisido*, *Chem. Commun. 1971*, 1292.

## 56. Massenspektrometrische Untersuchungen von Naturprodukten; Cardenolide

von **Peter Brown**<sup>1)</sup>, **Fred Brüsweiler**<sup>2)</sup> und **Georg R. Pettit**<sup>1)</sup>

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. *A. Wettstein* zu seinem 65. Geburtstag gewidmet

(12. I. 72)

*Summary.* The mass spectrometry of cardenolides is briefly reviewed. Recent developments in the characterization of the cardiac glycosides by a combination of electron impact and field ionization methods are discussed, with emphasis on the information obtained regarding the sequence of monosaccharide residues in the case of oligosaccharide glycosides. Recent efforts to understand the detailed fragmentation behaviour of cardenolide aglycones in terms of their structure and substitution pattern are also discussed.

**1. Einleitung.** – Die Cardenolide [1] gehören zu einer Gruppe von Naturprodukten, die schon ausgiebig untersucht wurden. Die aus Pflanzen [2] und Insekten [3] isolierten Substanzen zeigen oft interessante physiologische Aktivitäten. Charakteristische Strukturmerkmale der Cardenolide sind das Steroidgerüst, welches durch eine 3-O-glykosidische Bindung mit dem Zuckerrest verbunden ist. Die bis jetzt bekannten Oligosaccharide sind linear angeordnet und enthalten 1 bis 5 Zuckereinheiten. Als Beispiel seien Neriifolin (1) und K-Strophanthin- $\beta$  (2) erwähnt. Als allgemeines Merkmal der Cardenolid-Aglykone gelten der Butenolidring in 17-Stellung und die 14 $\beta$ -Hydroxylgruppe, wie Digitoxigenin (3) zeigt. Die zurzeit ca. 60 bekannten Cardenolid-Aglykone [2] unterscheiden sich vom Digitoxigenin, das als Prototyp angesehen werden kann, in Anzahl, Stellung und Stereochemie von weiteren, Sauerstoff enthaltenden funktionellen Gruppen, in der Anzahl von Doppelbindungen und in der Stereochemie des Steroidgerüsts.

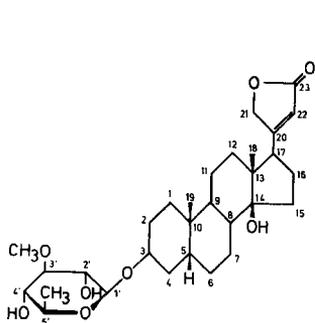
1) Department of Chemistry, Arizona State University, Tempe, Arizona 85281, USA.

2) Entwicklungslaboratorien der Division Pharmazeutika der CIBA-GEIGY AG, Basel.

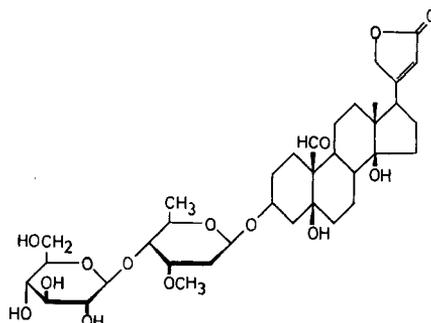
Als Strukturmodifikationen sind bekannt [2]: a)  $3\alpha$  oder  $5\alpha$  Epimere; b) Doppelbindungen an C(4), C(5) und C(16); c) Hydroxyl-Gruppen an  $1\beta$ ,  $2\alpha$ ,  $5\beta$ ,  $11\alpha$ ,  $11\beta$ ,  $12\alpha$ ,  $12\beta$ ,  $15\beta$ ,  $16\beta$  und 19; diese können teilweise acyliert sein, wobei vor allem an  $16\beta$  der Formyl-, der Acetyl-, in einem Fall auch der Isovaleroyl-Rest auftritt; d) Oxo-Gruppen an 11, 12 und 19; e) Epoxygruppen in  $7,8\beta$ ;  $8,14\beta$  und  $11,12\beta$ .

Bei den natürlichen Cardenolid-Glykosiden sind ca. 40 Monosaccharid-Bausteine bekannt [2]. Mit Ausnahme der Zucker im Gomphosid [4], Afrosid [4], Calactin, Calotropin, Uscharidin [5], sind alle in freier Form bekannt und deren Struktur gesichert.

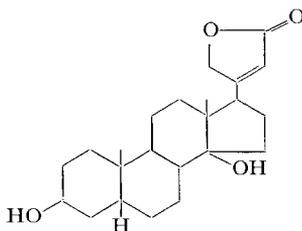
Die bekannten Zucker sind: a) D-Glucose und zwei O-Methyl-Derivate, b) sieben 6-Desoxyhexosen und elf O-Methyl-Derivate, c) zwei 2-Desoxyhexosen, d) vier 2,6-Didesoxyhexosen und sieben O-Methyl-Derivate, e) D-Xylose.



Neviofolin (1)  
Z1 =  $\alpha$ -L-Thevetose



K-Strophanthin- $\beta$  (2)  
Z1 =  $\beta$ -D-Cymarose; Z2 =  $\beta$ -D-Glucose



Digitoxigenin (3)

Für den grössten Teil der erwähnten Cardenolide sind die Strukturen seit längerer Zeit bekannt und durch Abbau und Teilsynthesen bestätigt worden. Für andere wieder konnten erst in den letzten Jahren dank besserer analytischer Methoden neue Strukturvorschläge gemacht werden [4], die anschliessend auf chemischem Wege bestätigt werden konnten [6]. Im folgenden wird die Anwendung der Massenspektroskopie zur Identifikation von Cardenoliden besprochen; von den oft nur in kleinsten Mengen isolierten Naturprodukten kann auf diesem Wege die Struktur des Genins, des Zuckers und bei mehreren Zuckern deren Reihenfolge festgelegt werden.

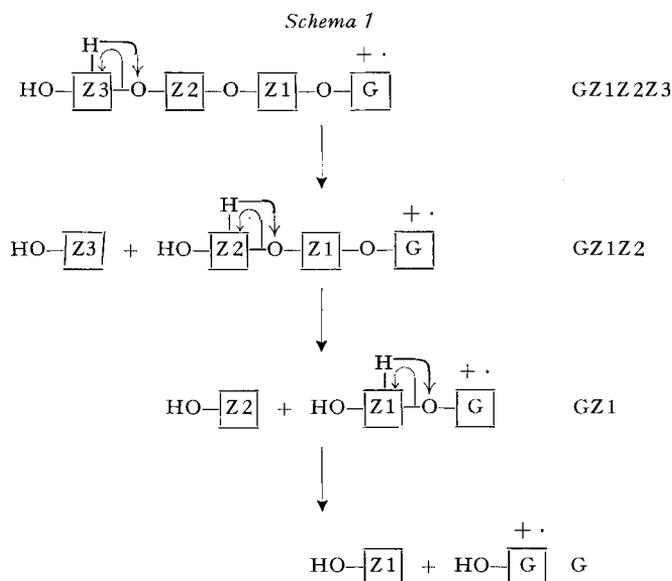
**2. Herzglycoside.** – Massenspektren verschiedener Herzglykoside mit nur einem Zuckerrest sind publiziert für Cymarin [7], Somalin [7], Helveticosid [7],

Bullosid [8], Adigosid [9], Convallosid [10], Mansonin [11] als Anionenspektren; Strogosid [12], Acofriosid-L [13], Oppovenosid [13], Acolongiflorosid-H [13], Acenovenosid [13], Oppofriosid [13], Procerosid [5], Uscharidin [4], Calactin [4], Gomphosid [4], Afrosid [4], Calotropin [3], Calotoxin [3], Neriifolin [14] und Cymarin [14] als Kationenspektren.

Elektronenstoss(EI)-Massenspektren wurden veröffentlicht von den Disaccharid-Cardenoliden Thevebiosid [14] und K-Strophanthin- $\beta$  [14] und von den Trisaccharid-Cardenoliden Digitoxin [14], Cerberosid [14], K-Strophanthosid [14] und Pentaacetyl-Gitoxin [15]. Dazu kamen die Feld-Ionisation(FI)-Massenspektren von Somalin [16], Neriifolin [14], Cymarin [14], Helveticosid [14], Thevebiosid [14], K-Strophanthin- $\beta$  [14], Cerberoxid [14] und K-Strophanthosid [14].

In kürzlich erschienenen Arbeiten über Massenspektren von Zuckern [16] [17] und Naturprodukten, die Zuckerreste enthalten, wie z. B. bei Nucleosiden [18], wurde festgestellt, dass Feld-Ionisation (FI) im allgemeinen weniger Fragmentierung ergibt als Elektronenstoss(EI)-Ionisierung. Erstere führt auch zu grösseren Ionenbruchstücken. Dies wurde ebenfalls für Herzglykoside festgestellt [14].

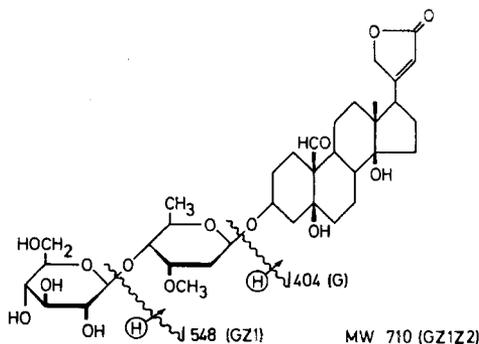
Anhand genauer Messungen der Hauptspitzen bei Mono-, Di- und Trisaccharid-Cardenoliden wurde ein Fragmentierungsschema (Schema 1) aufgestellt, aus welchem auch die Reihenfolge der Zucker (Z) abgeleitet werden kann.



Bei einem Cardenolid-trisaccharidglykosid werden die einzelnen Monosaccharide, entsprechend Schema 1 unter jeweiliger Wasserstoffverschiebung, schrittweise abgespalten. Bruchstelle ist jeweils die glykosidische Bindung. Die stufenweise Eliminierung der «Monosaccharid-H<sub>2</sub>O»-Einheit führt schliesslich zum isolierten Genin.

Die Reihenfolge der Zuckeranordnung am Genin und die Masseneinheit für den betreffenden Zucker können aus der Massendifferenz der Hauptfragmente abgelesen werden. Die Massendifferenzen aus GZ1Z2Z3-GZ1Z2, GZ1Z2-GZ1 und GZ1-G jeweils

vermehrt um 18, geben die Masseneinheiten für den endständigen, mittelständigen und den dem Genin direkt angeschlossenen Zucker an.



Fragmentierungsschema von *K-Strophanthin-β*; Mol.-Gew. für GZ1Z2: 710

Als Beispiel sei die Fragmentierung von *K-Strophanthin-β* erwähnt. Die Hauptspitzen entsprechen GZ1Z2 für *M* (Molekulargewicht), GZ1 und G mit den *m/e* 710, 548 und 404 (Tab.1). Die Massendifferenzen betragen 162 für Z2 und 144 für Z1. Die Massendifferenzen um 18 vermehrt ergeben für Z2 ein Molekulargewicht von 180 (D-Glucose) und für Z1 = 162 (D-Cymarose). Daraus kann geschlossen werden, dass der endständige Zucker D-Glucose ist und D-Cymarose direkt am Genin angeschlossen ist.

Dies steht im Einklang mit der Besonderheit der Cardenolide, die einen Desoxyzucker und D-Glucose enthalten, dass der Desoxyzucker jeweils direkt mit dem Aglykon verknüpft ist. Das Molekulargewicht des Genins (G) beträgt in diesem Beispiel 404 für Strophanthidin.

Im Falle von Digitoxin [14] (Tab.1) liegen die stärksten Spitzen bei *m/e* 764 (GZ1Z2Z3), 634 (GZ1Z2), 504 (GZ1) und 374 (G), mit einer Massendifferenz von

Tabelle 1. Wichtigste Bruchstücke in den EI/FI-Massenspektren verschiedener Herzglykoside [14]

Cardenolide	G	Z1	GZ1	Z2	GZ1Z2	Z3	GZ1Z2Z3
Neriifolin	374 <sup>a)</sup>	160 <sup>b)</sup>	534 ( <i>M</i> )	–	–	–	–
Thevebiosid	374 <sup>a)</sup>	160 <sup>b)</sup>	534	162 <sup>c)</sup>	696 ( <i>M</i> )	–	–
Cerberosid	374 <sup>a)</sup>	160 <sup>b)</sup>	534	162 <sup>c)</sup>	696	162 <sup>c)</sup>	858 ( <i>M</i> )
Cymaridin	404 <sup>d)</sup>	144 <sup>e)</sup>	548 ( <i>M</i> )	–	–	–	–
<i>K-Strophanthin-β</i>	404 <sup>d)</sup>	144 <sup>e)</sup>	548	162 <sup>c)</sup>	710 ( <i>M</i> )	–	–
<i>K-Strophanthosid</i>	404 <sup>d)</sup>	144 <sup>e)</sup>	548	162 <sup>c)</sup>	710	162 <sup>c)</sup>	872 ( <i>M</i> )
Digitoxin	374 <sup>a)</sup>	130 <sup>f)</sup>	504	130 <sup>f)</sup>	634	130 <sup>f)</sup>	764 ( <i>M</i> )

<sup>a)</sup> Genin = Digitoxigenin

<sup>b)</sup> Z + 18 = 178 (L-Thevetose)

<sup>c)</sup> Z + 18 = 180 (D-Glucose)

<sup>d)</sup> Genin = Strophanthidin

<sup>e)</sup> Z + 18 = 162 (D-Cymarose)

<sup>f)</sup> Z + 18 = 148 (D-Digitoxose)

jeweils 130 (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>) zwischen den einzelnen Spitzen. Dies deckt sich mit der bekannten Struktur für Digitoxin, ein Trisaccharid mit 3 identischen Zuckereinheiten (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>, MG. 148), der D-Digitoxose.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Massenspektren gleichzeitig das Molekulargewicht des Cardenolid-Aglykons, das Molekulargewicht der betreffenden Zucker und ihre Reihenfolge [14] angeben.

Um die Struktur möglicher Isomere zu ermitteln, müssen andere massenspektroskopische Fragmente betrachtet werden. Dies soll in Abschnitt 3 näher ausgeführt werden. Cardenolide mit mehreren freien Hydroxylgruppen oder anderen polaren Gruppen geben in EI- oder FI-Massenspektren selten Molekelspitzen (parent peaks), wie z. B. bei K-Strophanthosid [14]. Molekelspitzen werden in diesem Falle indirekt an deren Derivaten, z. B. peracetylierten Produkten [15], bestimmt. Erfolgreich konnten auch 1-Phenylflavazol-Derivate bei Polysaccharid-Bestimmungen angewendet werden [19].

**3. Genine.** – Massenspektren verschiedener Aglykone sind in der Literatur angegeben, z. B. für Digitoxigenin [7] [14], Adigenin [9], Anhydroafrogenin [20], Anhydrogratogenin [21], Acovenosigenin A [13], Antiarigenin [5], Syriogenin [5], Calotropagenin [4], Digoxigenin [4], Sarmetogenin [4], Gomphogenin [6], Strophanthidin [14] und verschiedene Cyclocardenolide [22]; alle in Form von EI-Spektren. Erste Arbeiten über Massenspektren von Geninen wurden von *Spiteller* [23] und Mitarbeiter [24] publiziert. Sie behandeln grundlegende Fragmentierungsprozesse.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit [25] über Bufadienolide (Krötengifte) setzen wir sowohl einen nieder- ('low resolution'), wie einen hochauflösenden ('high resolution') Massenspektrometer und die Verschiebungstechnik ('shift-technique') [26] ein. Einzelne spezifische Gruppierungen ergaben dabei charakteristische «Ionen-

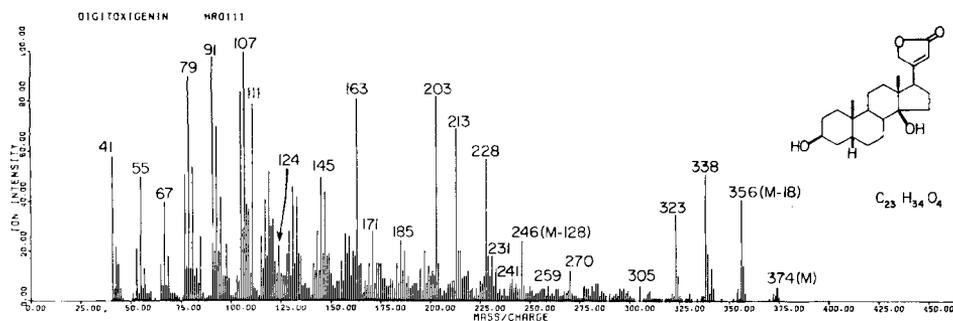


Fig. 1. Massenspektrum (70 eV) von Digitoxigenin

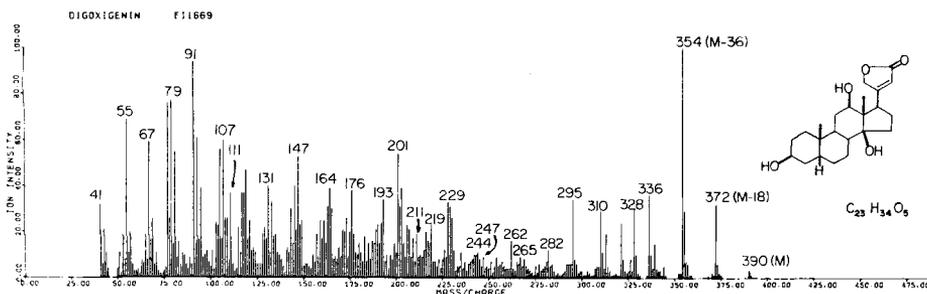


Fig. 2. Massenspektrum (70 eV) von Digoxigenin

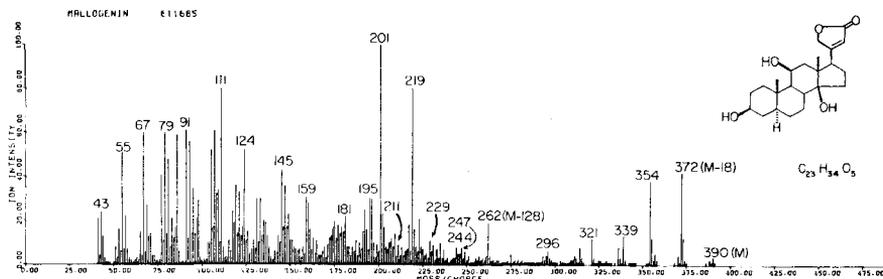


Fig. 3. Massenspektrum (70 eV) von Mallogenin

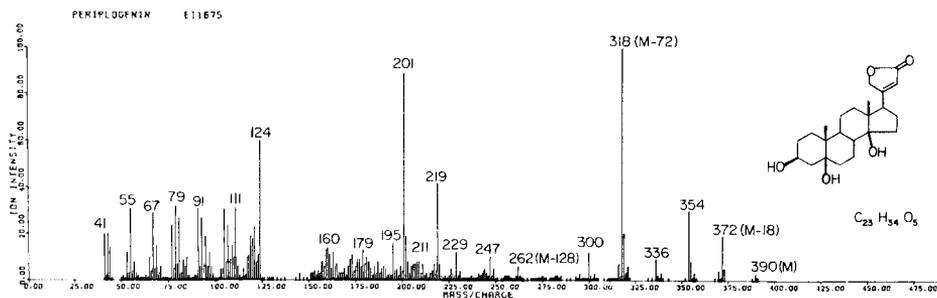


Fig. 4. Massenspektrum (70 eV) von Periplogenin

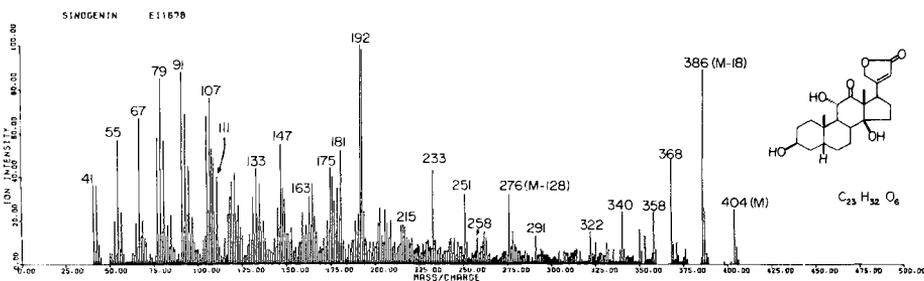


Fig. 5. Massenspektrum (70 eV) von Sinogenin

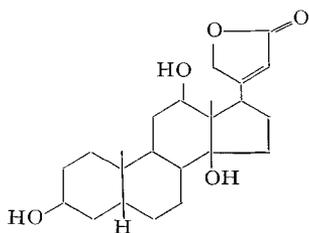
Tabelle 2. Hauptfragmente im Spektrum von Digitoxigenin (Fig. 1) und deren Ionenzuordnung

<i>m/e</i>	Zuordnung	<i>m/e</i>	Zuordnung	<i>m/e</i>	Zuordnung
85	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> O	145	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub>	197	{ C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> (30%) C <sub>11</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> (70%)
98	{ C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O (75%) C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> (25%)	147	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub>	203	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub>
107	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub>	163	{ C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> (40%) C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> O (20%) C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> (40%)	213	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub>
111	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub>	174	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub>	219	C <sub>15</sub> H <sub>23</sub> ( <sup>c</sup> )
121	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub>	175	C <sub>13</sub> H <sub>19</sub>	228	C <sub>17</sub> H <sub>24</sub>
124	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	185	C <sub>14</sub> H <sub>17</sub>	231	C <sub>16</sub> H <sub>23</sub> O
131	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub>	195	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub>	246	C <sub>17</sub> H <sub>26</sub> O
133	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub>			259	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> O

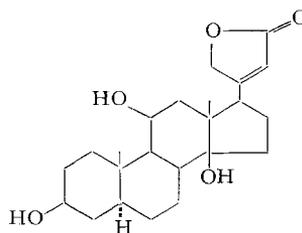
Tabelle 3. Analoge Bestimmungen wie in Tab. 2 für Digoxigenin (Fig. 2)

<i>m/e</i>	Zuordnung	<i>m/e</i>	Zuordnung	<i>m/e</i>	Zuordnung
111	$C_8H_{15}$ (25%)	201	$C_{15}H_{21}$	230	$C_{16}H_{22}O$ (65%)
	$C_7H_{11}O$ (25%)	203	$C_{15}H_{23}$ (65%)		$C_{15}H_{18}O_2$ (35%)
	$C_6H_7O_2$ (50%)		$C_{14}H_{19}O$ (35%)		
119	$C_9H_{11}$	228	$C_{15}H_{16}O_2$	295	$C_{21}H_{27}O$ (50%)
164	$C_{11}H_{16}O$ (35%)	229	$C_{16}H_{21}O$ (65%)		$C_{20}H_{23}O_2$ (50%)
	$C_{10}H_{12}O_2$ (65%)		$C_{15}H_{17}O_2$ (35%)		

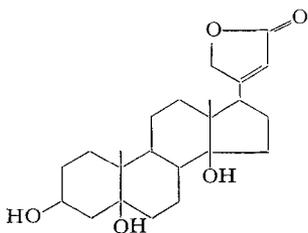
typen», welche identifiziert werden konnten. Gleiche Resultate erhielten wir in unseren neuesten Arbeiten über Cardenolid-Aglykone. Fig. 1 zeigt das nieder-aufgelöste Spektrum von Digitoxigenin. Analoge Spektren sind die von Digoxigenin (Fig. 2), Mallogenin (Fig. 3), Periplogenin (Fig. 4) und Sinogenin (Fig. 5). Bestimmte Spitzen aus hochaufgelösten Spektren sind für Digitoxigenin und Digoxigenin in Tab. 2 und 3 zusammengestellt.



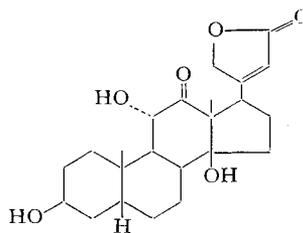
Digoxigenin (4)



Mallogenin (5)

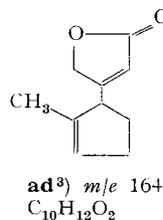
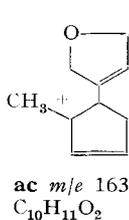
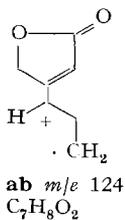
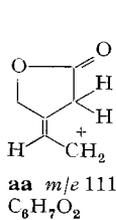


Periplogenin (6)



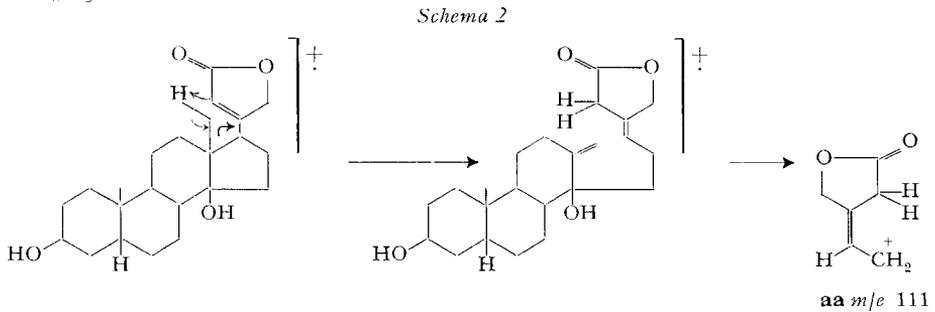
Sinogenin (7)

Ionen-Typen, die einen Butenolid-Ring enthalten:



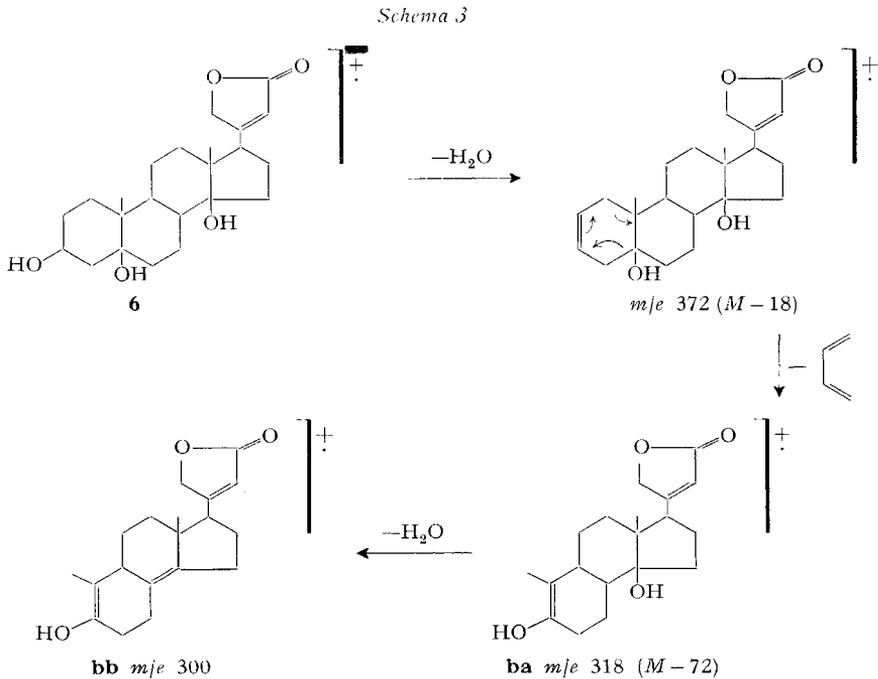
<sup>3)</sup> Es kann nicht mit Bestimmtheit gesagt werden, welcher Fragmentierungsweg zu diesem Ion führt. Der angegebene Radikalcharakter ist fraglich.

Ionen-Typ **aa** ( $C_6H_7O_2$ ) besteht aus dem Butenolidring + C(17) + C(16) und erscheint in den Spektren von Aglykonen ohne Substituenten am C(16), z.B. bei Digitoxigenin (**3**), Digoxigenin (**4**) und Substanzen, die entsprechend Schema 2 zerfallen [20].

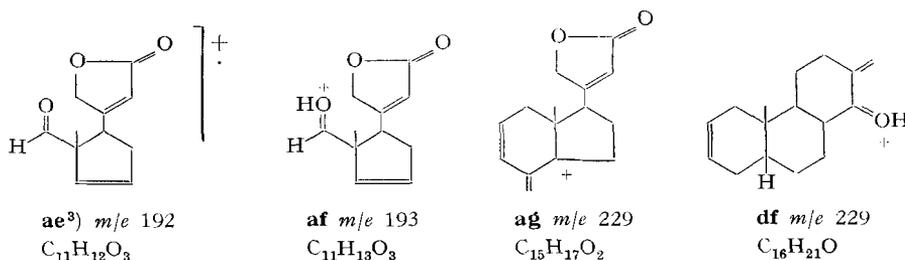


Ionen-Typ **ab** ( $C_7H_8O_4$ ) enthält den Butenolidring + C(17) + C(16) + C(15). Ionen-Typen **ac** ( $C_{10}H_{11}O_2$ ) und **ad** ( $C_{10}H_{12}O_2$ ) bestehen aus dem Butenolidring + Ring D + C(18) und erscheinen dominierend in den Spektren von Digitoxigenin und Digoxigenin. Ionen-Typ **ae** ( $C_{11}H_{12}O_3$ ) und **af** ( $C_{11}H_{13}O_3$ ) schlagen wir vor für die beiden stärksten Spitzen in den Spektren von Sinogenin (**7**) bei *m/e* 192 und 193.

Im Spektrum von Digoxigenin (Tab.3) besteht die Spitze bei *m/e* 229 aus 65%  $C_{16}H_{21}O$  und 35%  $C_{15}H_{17}O_2$ . Ionen-Typ **df** enthält die Ringe A, B und C, während Ionen-Typ **ag** aus Butenolidring + Ring D + Ring C + C(7) besteht. Die exakten



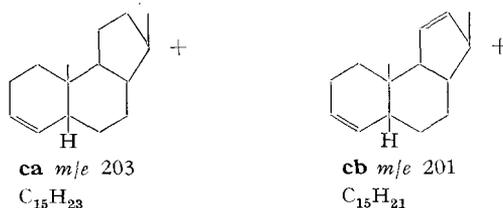
Massen für die beiden Ionen-Typen **df** und **ag** sind 229,343 und 229,300 und können bei hochaufgelösten Spektren gut voneinander getrennt beobachtet werden.



Eine sehr wichtige und für die Struktur charakteristische Fragmentierung findet bei Periplogenin (**6**) (Fig. 4) statt: das ( $M - 18$ )-Ion erleidet eine Retro-Diels-Alder-Reaktion [27], was in der intensiven Spitze bei *m/e* 318 für ( $M - 72$ ) erscheint.

Wie bekannt ist [25] [28] findet diese Fragmentierung nur statt, wenn die 5(10)-Doppelbindung im Ionen-Typ **ba** (Schema 3) stabilisiert ist, wie hier, durch eine 5-Hydroxylgruppe [25] oder, wie beim von Kamano & Mit. untersuchten Fall, durch eine 8(9)-Doppelbindung [28].

*Ionen-Typen ohne Butenolid-Ring:*

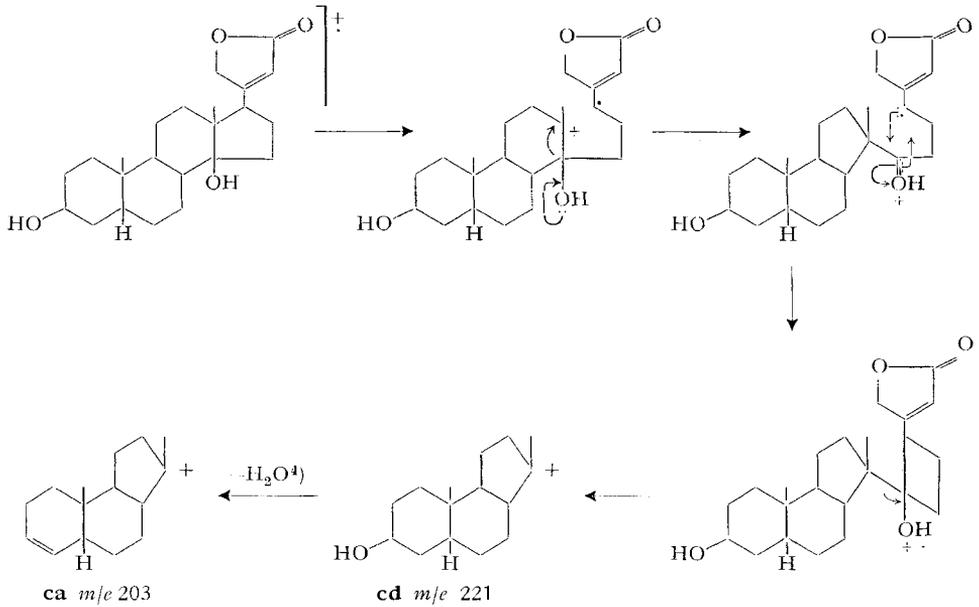


Genine mit einer Hydroxylgruppe im Ring A, B oder C ausser der Hydroxylgruppe am C(14) zeigen eine sehr starke Spitze bei *m/e* 203 (Ionen-Typ **ca**,  $C_{15}H_{23}$ ) [23] [24] [25], wie aus den Spektren von Digitoxigenin (**3**) (Fig. 1), Gitoxigenin und Adigenin [9] hervorgeht (Schema 4). Meist verläuft diese Fragmentierung über das Ion *m/e* 221 ( $C_{15}H_{25}O$ ; **cd**).

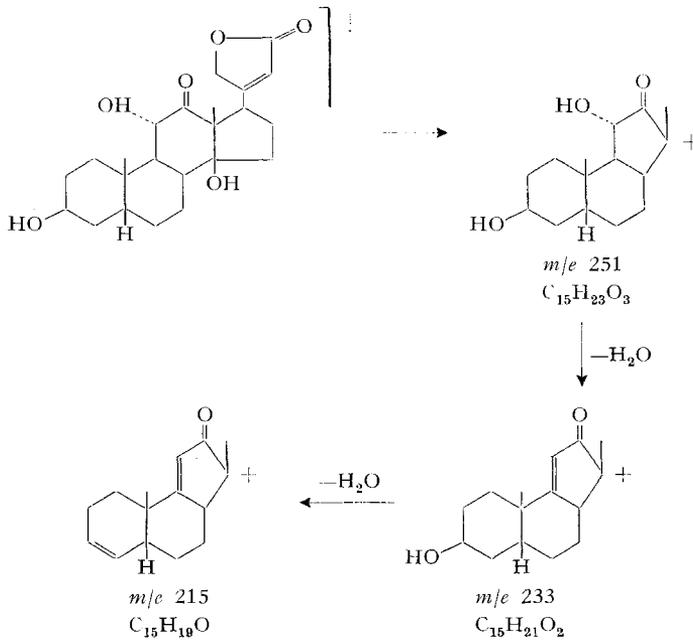
Genine mit zwei Hydroxylgruppen in den Ringen A, B und C ausser der Hydroxylgruppe am C(14) zeigen starke Spitzen bei *m/e* 201 für das Ion **cb** ( $C_{15}H_{21}$ ) oder dessen Isomere. Spektren dieser Art geben Digoxigenin (Fig. 2) [4], Mallogenin (Fig. 3), Periplogenin (Fig. 4), Coroglaucigenin, Acovenosigenin A [13], Sirogenin [5], Sarmetogenin [4] und Gomphogenin [4]. Genine mit einer Hydroxylgruppe und einer Doppelbindung in den Ringen A, B und C, wieder nebst der Hydroxylgruppe an C(14), ergeben gleiche Resultate, wie z. B. bei Xysmalogenin. Hauptbruchstücke also, die bei weiterem Verlust von  $H_2O$  den Ionen-Typ **cb** ergeben, sollten bei *m/e* 219 ( $C_{15}H_{23}O$ ) und 237 ( $C_{15}H_{25}O_2$ ) ebenfalls, wenn auch schwache Spitzen zeigen, wie aus Fig. 2, 3 und 4 hervorgeht.

Eine analoge Serie von Ionen erscheint im Massenspektrum von Sinogenin (**7**) (Fig. 5), Sarmetogenin und Candogenin bei *m/e* 251, 233 und 211, entsprechend Schema 5.

Schema 4

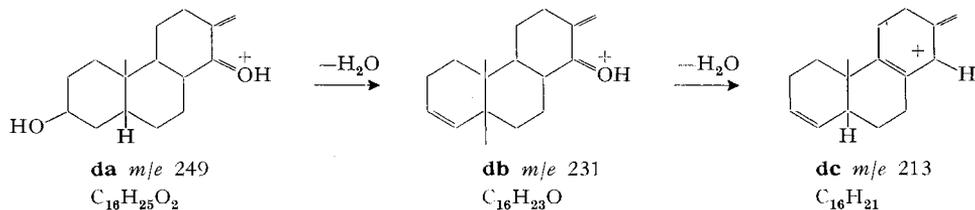


Schema 5

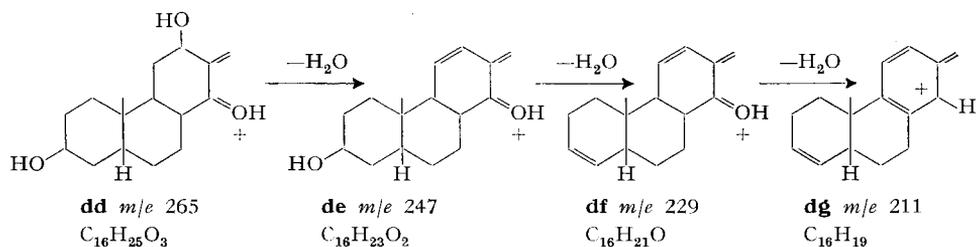


4) Wenn die 5-Stellung protoniert ist, erfolgt die Wasserabspaltung bei der A/B-*cis*-Ringanordnung in 3,4; bei der *trans*-Anordnung der A/B-Ringe in 2,3-Stellung.

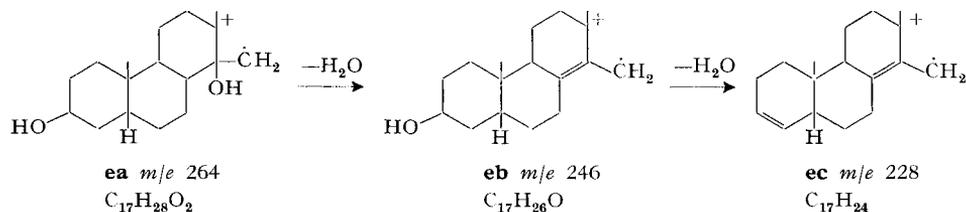
Eine für ihre Struktur spezifische Serie von Spitzen zeigen Digitoxigenin (Fig. 1) und Gitoxigenin mit dem Ionen-Typ **da**, für  $m/e$  249 (Ringe A, B, C und C(18), C(19)), 231 für **db** und 213 für **dc**. Beide Geneine haben nur eine Hydroxylgruppe in den Ringen A, B oder C, nebst der an C(14). Diese gemeinsamen Bruchstücke entstehen aus der Spaltung der 14,15-Bindung, wie in Schema 2 gezeigt wurde.



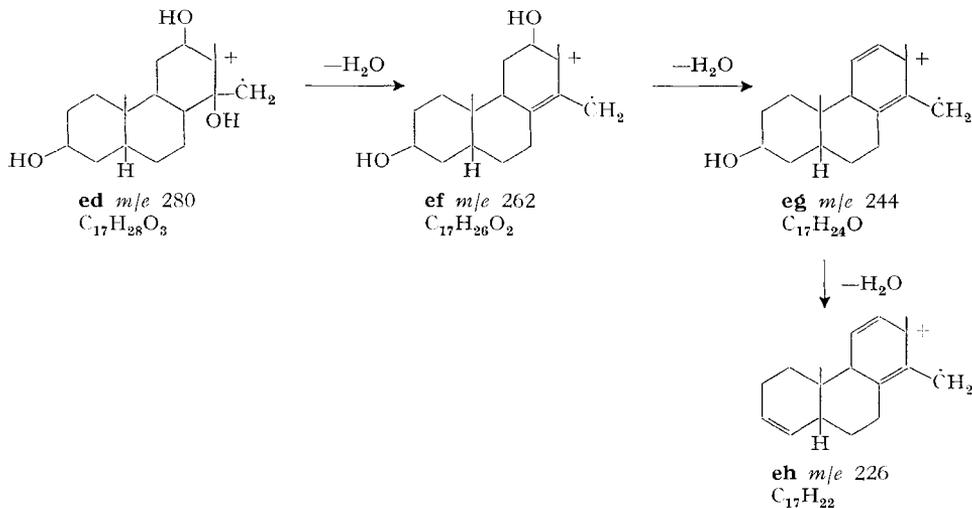
Cardenolid-Aglykone mit 2 Hydroxylgruppen in den Ringen A, B und C zeigen eine spezifische Serie von Spitzen bei  $m/e$  265 (Ionen-Typ **dd**), 247 (**de**), 229 (**df**) und 211 (**dg**). Diese sind bei den Spektren von Digoxigenin (Fig. 2), Mallogenin (Fig. 3), Periplogenin (Fig. 4) und Gomphogenin gut ersichtlich.



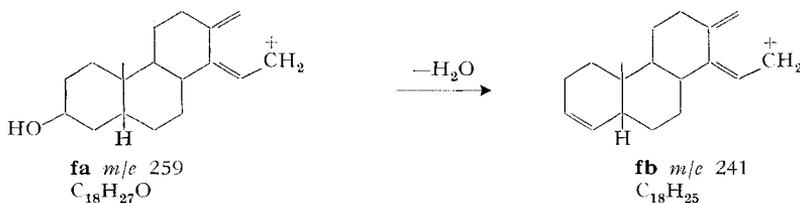
Wie schon von *Spiteller* [24] gezeigt, finden wir eine Serie von verwandten Ionen bei  $m/e$  264 (Ionen-Typ **ea**), 246 (**eb**) und 228 (**ec**) in den Spektren von Geninen mit einer Hydroxylgruppe (nebst derjenigen an C(14)) in den Ringen A, B oder C. Dieser Fragmentierung geht ein Verlust des C(17), C(16) und des Butenolidringes voraus. Diese charakteristischen Ionen findet man in den Spektren von Digitoxigenin (Fig. 1) und Gitoxigenin, bei letzterem nach Verlust seiner Hydroxylgruppe an C(16).



Sind bei einem Aglykon 2 Hydroxylgruppen in den Ringen A, B und C, erscheinen die analogen Spitzen nun bei  $m/e$  280 (Ionen-Typ **ed**), 262 (**ef**), 244 (**eg**) und 226 (**eh**), wie in den Spektren von Digoxigenin (Fig. 2), Mallogenin (Fig. 3), Periplogenin (Fig. 4), Gomphogenin, Coroglucigenin und Sarmentogenin ersichtlich. Die Spitze bei  $m/e$  280 kann unter Umständen wegfallen.



Analoge Ionen zu **ef** und **eg** erscheinen beim Spektrum von Sinogenin (Fig. 5) bei  $m/e$  276 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_3$ ) und 258 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{O}_2$ ).



Spitzen bei  $m/e$  259 und 241 im Spektrum von Digitoxigenin (Fig. 1) erklären wir durch den Ionen-Typ **fa** ( $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{O}$ ) resp. **fb** ( $\text{C}_{18}\text{H}_{25}$ ). Sie werden gebildet durch die Eliminierung des Butenolidrings und des C(17).

Abschliessend sei erwähnt, dass mittels extrem hochauflösender Massenspektrometer viel besser auf einzelne bestimmte Fragmente und deren weiteren Zerfall geschlossen werden kann [25]. In Verbindung mit Computern wird es so möglich sein, die Massenspektrometrie mehr und besser zur Identifizierung bekannter und unbekannter Substanzen einzusetzen. Zudem weisen die verschiedenen Aufnahmetechniken (EI, FI und chemische Ionisation<sup>5)</sup>) auf neue Wege, deren Kombinationen wiederum zu neuen Erkenntnissen führen werden.

Wir danken der *National Science Foundation* (Gr. No. GP-6979/GP-4949) und dem *National Cancer Institute* (PHS-R.-Gr.: CA-11451-01 und CA-11451-02) in den USA für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit. Herrn Prof. *T. Reichstein* (Organisches Institut der Universität Basel) sind wir für das Überlassen von Substanzproben und das stete Interesse, das er unseren Arbeiten entgegenbringt, zu grossem Dank verpflichtet. Den Herren Dr. *G. F. Bonavia* und Dr. *H. Hürzeler* (*CIBA-GEIGY AG*, Basel) danken wir bestens für die Mithilfe beim Abfassen und Korrigieren des Manuskriptes.

<sup>5)</sup> Arbeiten über Massenspektroskopie von Cardenoliden mittels chemischer Ionisation sind an der University of New South Wales, Kensington/Australien, durch Dr. *Y. S. Shannon* im Gange. (Persönliche Mitteilung durch Herrn Prof. *T. Reichstein*, Basel.)

**Experimentelles.** – Die Spektren wurden von *Richard Scott* (Arizona State University, Tempe, USA) auf einem *Varian-MAT-SM1B*-Instrument aufgenommen. Das Instrument ist mit einer Elektronenstoss-(EI)/Feld-(FI)Ionisierungskammer ausgerüstet. Weitere Details sind aus früheren Arbeiten [14 b] ersichtlich. Einlasstemperaturen und Schmelzpunkte der Proben sind aus Tab. 4 ersichtlich.

Tabelle 4. *Smp. und Massenspektren-Einlasstemperaturen der untersuchten Genine*

Genin	Smp. (°C)	Einlasstemperatur (°C)
Digitoxigenin (Fig. 1)	249–254	150
Digoxigenin (Fig. 2)	207–210	220
Mallogenin (Fig. 3)	275–285	205
Periplogenin (Fig. 4)	210–235	175
Sinogenin (Fig. 5)	229–231	180

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *F. M. Dean*, «Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds», pp. 66–70, Butterworth & Co. Ltd., London (England) 1963.
- [2] *T. Reichstein*, *Naturwissenschaften* 3, 53 (1967).
- [3] *T. Reichstein*, *Naturwiss. Rundschau* 20, 499 (1967).
- [4] *F. Brüscheiler, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 2276 (1969).
- [5] *F. Brüscheiler, W. Stöcklin, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 2086 (1969).
- [6] *A. Lardon, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 1940 (1969).
- [7] *M. v. Ardenne, R. Tümmeler, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 47, 1032 (1964).
- [8] *G. R. Duncan, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 48, 649 (1965).
- [9] *S. Hoffmann, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 49, 1855 (1966).
- [10] *R. Brandt, H. Kaufmann & T. Reichstein*, *Helv.* 49, 2469 (1966).
- [11] *H. Allgeier, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 50, 456 (1967).
- [12] *U. P. Geiger, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 50, 194 (1967).
- [13] *P. Hauschild-Rogat, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 50, 2299 (1967).
- [14] a) *P. Brown, F. Brüscheiler, G. R. Pettit & T. Reichstein*, *J. Amer. chem. Soc.* 92, 4470 (1970);  
b) *P. Brown, F. Brüscheiler, G. R. Pettit & T. Reichstein*, *Org. Mass Spectrometry* 5, 573 (1971).
- [15] a) *B. Blessington & I. M. Morton*, *Org. Mass Spectrometry* 3, 95 (1970); b) *B. Blessington, Y. Nakagawa & D. Satoh*, *ibid.* 4, 215 (1970).
- [16] a) *H. D. Beckey*, *Z. analyt. Chem.* 99, 207 (1965); b) *H. D. Beckey*, *Int. J. Mass Spectrometry Ion Physics* 2, 500 (1969).
- [17] a) *H. Krone & H. D. Beckey*, *Org. Mass Spectrometry* 2, 427 (1969); b) *H. D. Beckey*, *Angew. Chem.* 81, 662 (1969).
- [18] *P. Brown, G. R. Pettit & R. K. Robins*, *Org. Mass Spectrometry* 2, 521 (1969).
- [19] *G. S. Johnson, W. S. Ruliffson & R. G. Cooks*, *Chem. Commun.* 1970, 587.
- [20] *H. Budzikiewicz, C. Djerassi & D. H. Williams*, «Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry», pp. 106–108, Holden-Day Inc., San Francisco (Cal.) 1964.
- [21] *P. Hauschild-Rogat, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 50, 2322 (1967).
- [22] *M. E. Wolff & W. Ho*, *J. org. Chemistry* 32, 1839 (1967).
- [23] *G. Spiteller*, *Z. analyt. Chem.* 197, 1 (1963).
- [24] *M. Spiteller-Friedmann & G. Spiteller*, *Fortschr. chem. Forsch.* 12, 440 (1969).
- [25] *P. Brown, Y. Kamano & G. R. Pettit*, *Org. Mass Spectrometry*, in press.
- [26] *K. Biemann*, «Mass Spectrometry: Organic Chemical Applications», p. 309, McGraw-Hill Inc., New York (N.Y.) 1962.
- [27] *H. Budzikiewicz, J. I. Brauman & C. Djerassi*, *Tetrahedron* 21, 1855 (1965).
- [28] *Y. Kamano, G. R. Pettit & P. Brown*, *J. org. Chemistry*, in press.