

400 und 550 nm auf. Es ist noch unklar, ob es sich dabei um eigentliche Oxydationsprodukte, also um entsprechende Kobalt(III)-Chelate oder um binucleare μ -Peroxo-dikobalt(III)-Komplexe handelt.

Dem Schweizerischen Nationalfonds (Projekt Nr. 2.357.70) und der CIBA-GEIGY AG danken wir für die finanzielle Unterstützung der Arbeit. Die Verbrennungsanalysen verdanken wir der mikroanalytischen Abteilung der CIBA-GEIGY AG (Dr. W. Padowetz). Herrn Dr. B. Prijs danken wir für die Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] S. Fallab, *Chimia* 21, 538 (1967).
- [2] F. Miller, J. Simplicio & R. Wilkins, *J. Amer. chem. Soc.* 91, 1962 (1969).
- [3] S. Fallab, *Chimia* 23, 177 (1969).
- [4] A. Zuberbühler, Th. Kaden & F. Koehlin, *Helv.* 54, 1502 (1971).
- [5] P. Paoletti, M. Ciampolini & L. Sacconi, *J. chem. Soc.* 1963, 3589.
- [6] A. G. Sykes & J. A. Weil, *Inorganic Reaction Mechanisms*; edited by J. O. Edwards, New York 1970, p. 28 ff.
- [7] S. W. Foong, J. D. Miller & F. D. Oliver, *J. chem. Soc. (A)* 1969, 2847.
- [8] A. R. Gainsford & D. A. House, *Inorg. Nucl. Chem. Letters* 4, 621 (1968).
- [9] M. Mori, J. A. Weil & M. Ishiguro, *J. Amer. chem. Soc.* 90, 615 (1968).
- [10] M. Mori & J. A. Weil, *J. Amer. chem. Soc.* 89, 3732 (1967).

162. Die vermutliche Struktur der Anodendroside

Glykoside und Aglykone, 331. Mitteilung¹⁾

von H. Lichti^{a)}, J. von Euw^{b)}, K. Stöckel^{b)}, J. Polonia^{c)} und T. Reichstein^{b)}

^{a)} Forschungslaboratorien der SANDOZ AG, Basel

^{b)} Institut für Organische Chemie der Universität, Basel

^{c)} Faculdade de Farmácia, Universidade de Porto

(28. IV. 72)

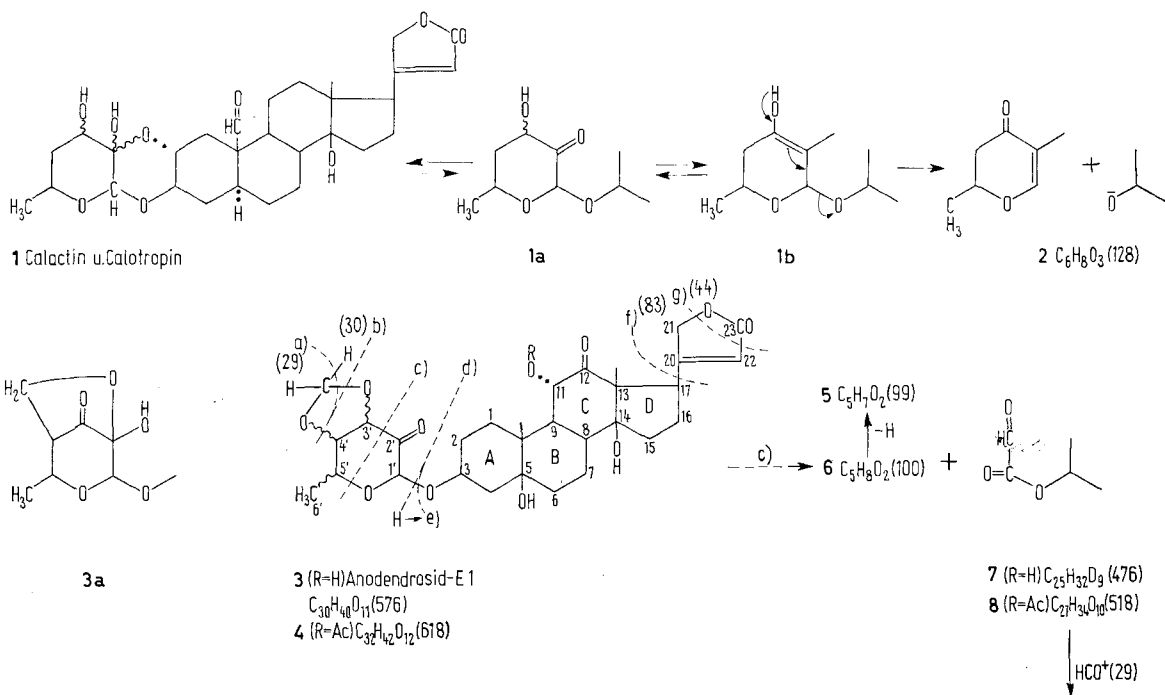
Summary. Five crystalline compounds (anodendrosides) have been isolated from *Anodendron paniculatum* (Roxb.) A. DC. (Apocynaceae). They represent glycosides containing unusual sugars. Tentative structures for anodendroside-A (155), -E₁ (3), -E₂ (84), -F (144) and -G (115) are now presented. These structures are based on UV., IR., but mostly on high resolution mass spectra. NMR.-spectra could be performed with A, O-acetyl-E₂ and O-acetyl-G, which are in good agreement with the suggested structures. The unusual methylenedioxy group postulated in the sugar moiety of A, E₁ and E₂ was also established by chemical methods, yielding approximately 1 Mol. equiv. of formaldehyde after acid hydrolysis of anodendroside-E₂.

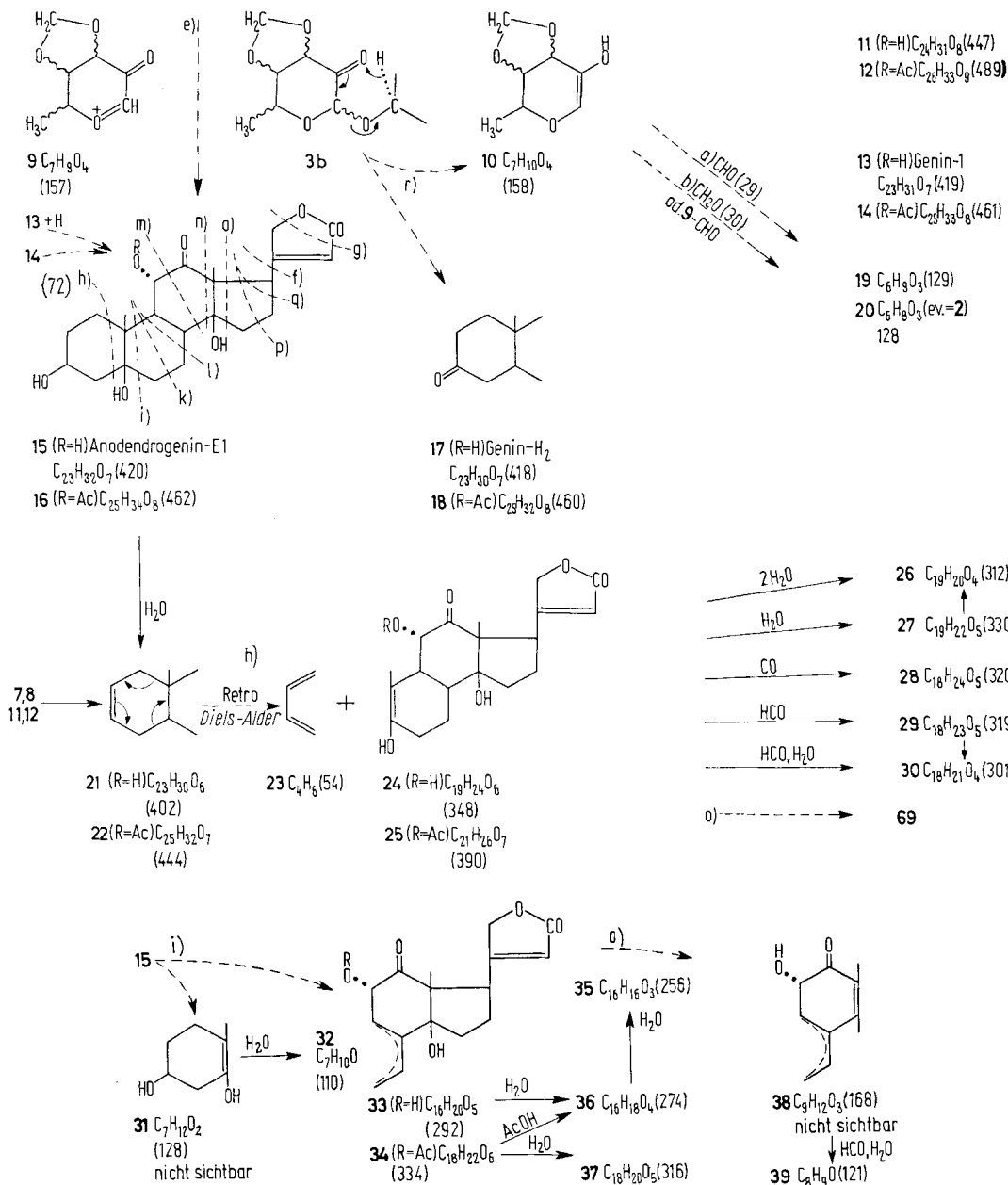
Vor kurzem wurde die Isolierung von 5 krist. Cardenoliden aus *Anodendron paniculatum* (Roxb.) A. DC. (Apocynaceae) beschrieben, die als Anodendroside A, E₁, E₂, F und G bezeichnet wurden [2]. Wir berichten hier über die vermutlichen Strukturen dieser Stoffe. Wegen Materialmangels mussten diese zur Hauptsache aus den Massenspektren erschlossen werden, die deshalb mit besonderer Sorgfalt analysiert wurden. Dazu haben wir jeweils bei einer grösseren Anzahl von (teilweise auch relativ schwa-

¹⁾ 330. Mitt.: A. Saner, K. Stöckel & T. Reichstein [1].

chen) Ionen die Bruttoformeln durch Hochauflösung ermittelt. In drei Fällen (O-Acetyl-E₂, O-Acetyl-G und Anodendrosid-A) konnten auch noch NMR.-Spektren aufgenommen werden, um die abgeleiteten Strukturen weiter zu sichern. Auffallend bei den 5 krist. Anodendrosiden ist ihr (im Vergleich zu anderen pflanzlichen Cardenolid-Glykosiden) sehr geringer H-Gehalt und die Tatsache, dass nach energischer saurer Hydrolyse zwar Lösungen resultieren, die *Fehling'sche* Lösung reduzieren, in denen sich jedoch in Papierchromatogrammen mit Anilinium-hydrogenphthalat kein Zucker nachweisen lässt [2]. Sie verhalten sich in dieser Beziehung ähnlich wie die *Calotropis*-Glykoside Calotropin und Calactin (**1**) und das ähnlich gebaute Gomphosid [3] [4]. Während letztere aber bei der *Hesse*-Reaktion [5] einen stark positiven Befund geben [3c, Tab. 1], reagieren die Anodendroside negativ [2]. Die *Calotropis*-Glykoside und Gomphosid bilden ferner thermisch sehr leicht die «Herzgiftreduktinsäure» **2** [3c, Tab. 1, und frühere Lit. daselbst]. Ein analoger Zerfall sollte bei den Anodendrosiden zu einem Homologen oder Derivat von **2** führen, wurde in den Massenspektren (vgl. Fig. 1, 5–11) aber nicht beobachtet. Am besten begründet, wenn auch noch hypothetisch, sind die Strukturen der Anodendroside E₁, E₂ und G; sie werden daher zuerst besprochen.

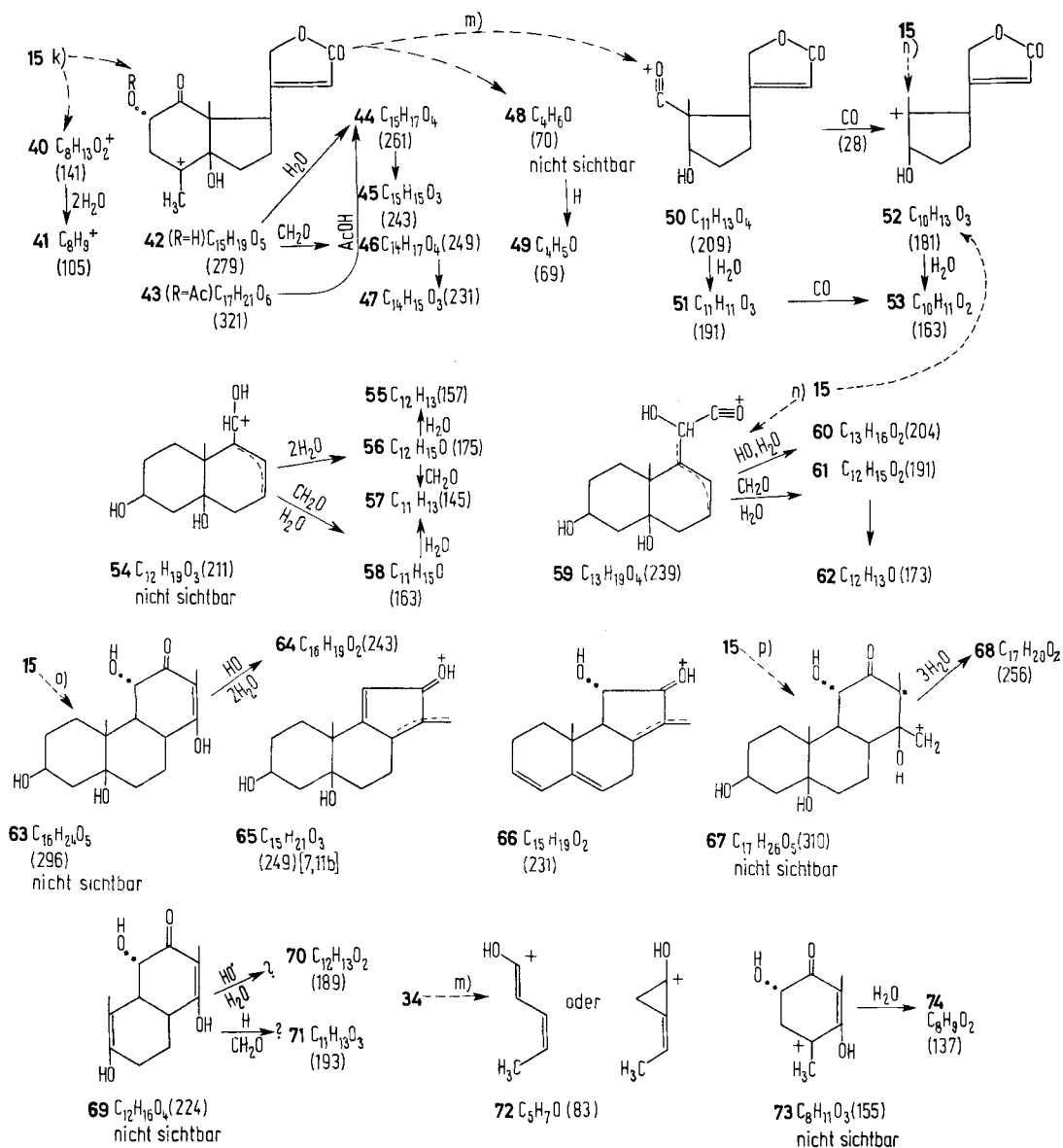
Anodendrosid-E₁ (3). – Die postulierte Teilstruktur **3** gründet sich auf folgende Befunde: Das Massenspektrum (Fig. 1) zeigt eine starke Spitze des Molekel-Ions (576) entspr. der Bruttoformel C₃₀H₄₀O₁₁. Die weitere Analyse dieses Spektrums (vgl. Formeln **3–74** und Legende bei Fig. 1) spricht stark dafür, dass es sich um ein Glykosid handelt, das aus einem Zucker C₇H₁₀O₅ und einem Genin C₂₃H₃₂O₇ zusammen-





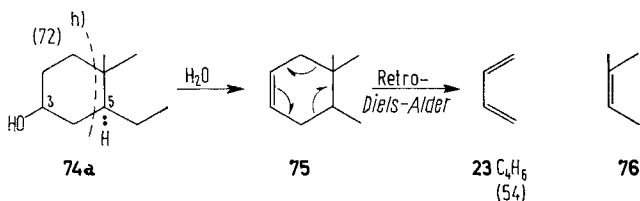
gesetzt ist. Die Bruttoformel des letzteren sowie die UV.- und IR.-Spektren von Anodendrosid-E₁ [2] lassen die Annahme als begründet erscheinen, dass dieses noch unbekannte Genin (15) ein normales Cardenolidgerüst [6] besitzt, ohne zusätzliche Doppelbindung im Ring C, aber vermutlich mit einer Ketogruppe in 12-Stellung.

Acetylierung von Anodendrosid-E₁ mit Acetanhydrid in Pyridin bei 20° liefert nur ein Mono-O-acetylderivat (4), das nach Massenspektrum (Fig. 5) die Acetylgruppe im Genin-Anteil tragen muss. Der Zuckeranteil im Anodendrosid-E₁ enthält somit überhaupt keine acetylierbare HO-Gruppe.

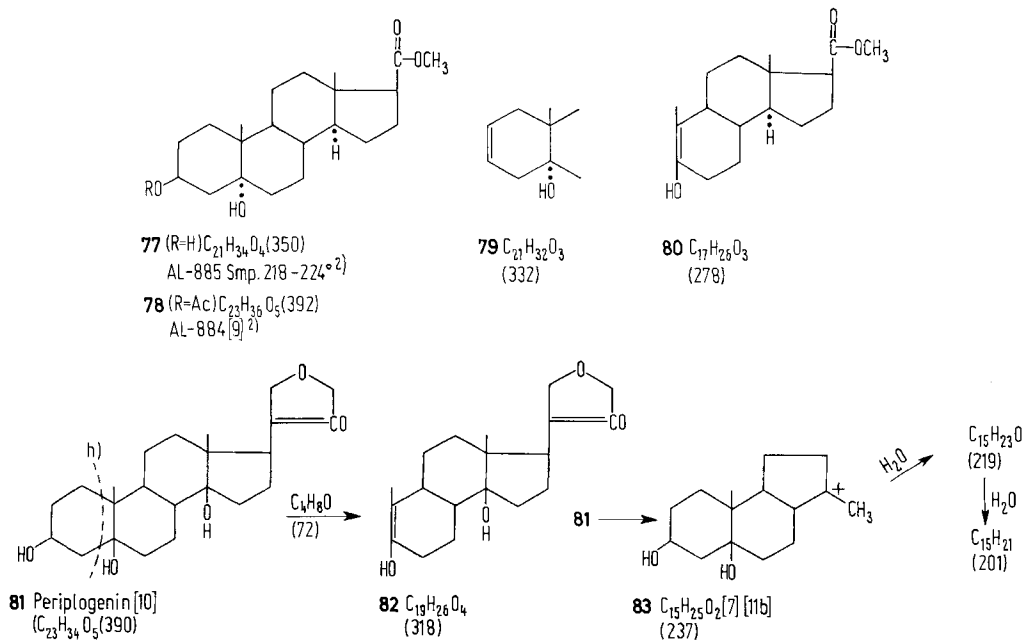


Alle Formeln sind hypothetisch. Ladungszeichen wurden meistens nur bei Ionen mit ungerader Anzahl von H-Atomen angebracht. Die Formulierung dieser und aller folgenden in den Massenspektren entstehenden Ionen geschah rein schematisch, sie soll nur die Bezirke andeuten, aus denen sie stammen, ihre wahre Struktur bleibt fraglich.

Für die Strukturermittlung ist ferner die sehr starke Spitze bei m/e 348 wichtig. Auf Grund ihrer Bruttoformel ($C_{19}H_{24}O_6$) dürfte sie aus dem Genin (**15**) durch Verlust von C_4H_8O (72) entstanden sein, formal entsprechend H_2O + Butadien. Ein solches Verhalten ist typisch für 3-Hydroxy-5 α -Steroide (**74a**) [7], da nur bei diesen die



Wasserabspaltung bevorzugt zu Δ^1 -Derivaten (**75**) führt, die eine Retro-*Diels-Alder*-Spaltung (**23** + **76**) eingehen können, was formal dem Verlust des A-Rings (Schema h) entspricht. Diese Reaktion wird bei normalen 5 α -Steroiden aber nur in relativ schwachem Ausmass beobachtet (vgl. [7] sowie Massenspektrum von Uzarigenin [8]). Sehr begünstigt wird diese Spaltung aber durch Anwesenheit einer HO-Gruppe an C(5). So wird im Massenspektrum des 3 β ,5 α -Dihydroxy-ätiansäure-methylesters (**77**) (vgl. Fig. 2) und seines Mono-3-O-acetylderivats (**78**) (vgl. Fig. 3) die dem Ion **80** entsprechende Spitze bei m/e 278 zur stärksten Spitze des ganzen Spektrums. Die Spaltung nach Schema h) kann aber auch bei 5 β -Steroiden erfolgen, sofern sie an C(5)



²⁾ Wir danken Herrn Dr. A. Lardon auch hier bestens für die Herstellung dieses Präparates. Die freie Hydroxyverbindung **77** scheint bisher nicht beschrieben zu sein. Sie wurde aus **78** durch Verseifung mit 1proz. KOH in 80proz. Methanol (17 Std. bei 20°), Remethylierung des Rohproduktes mit CH_3N_2 und Kristallisation aus Methanol/Äther erhalten.

eine HO-Gruppe tragen; diese scheint die H₂O-Eliminierung der 3-ständigen HO-Gruppe teilweise nach Δ^2 (entsprechend **79**) zu lenken. So zeigten *Brown et al.* [11a]³⁾ kürzlich, dass Marinobufagin [12] im Massenspektrum eine sehr deutliche Spitze zeigt, die der Spaltung nach Schema h) entspricht; dasselbe konnten wir jetzt für Periplogenin (**81**) (vgl. Fig. 4) bestätigen⁴⁾. Eine ganz analoge Wirkung einer HO-Gruppe wurde vor einiger Zeit für Δ^5 -Steroide festgestellt [13]. Bei diesen wurde eine starke Retro-Diels-Alder-Spaltung auch nur bei Anwesenheit einer HO-Gruppe an C(8) beobachtet⁵⁾.

Die Spaltung nach Schema h) beim Genin E₁ zeigt somit, dass dieser Stoff im Ring A an C(3) und C(5) je eine HO-Gruppe trägt, sonst aber keinen weiteren Substituenten und keine Doppelbindung enthält. Es liegt aber noch kein Beweis vor, ob die anguläre HO-Gruppe 5 α - oder 5 β -ständig angeordnet ist. Die bisher bekannten natürlichen Cardenolide mit HO-Gruppe an C(5) zeigen alle 5 β -Konfiguration [14]. Dies trifft auch für Anodendrosid-E₂ (**84**) zu, wie sich aus dem NMR.-Spektrum seines O-Acetylderivats ergab (vgl. Text daselbst u. Fig. 14). Aus biogenetischen Gründen dürfte daher auch E₁ 5 β -Konfiguration entsprechend Formel **3** besitzen.

Die weitere Verteilung der funktionellen Gruppen im Genin-Anteil erschlossen wir aus den verschiedenen Bruchstücken, die im Massenspektrum auftreten. Alle beobachteten Ionen lassen sich mit der vorgeschlagenen Formel **15** deuten, wenn man annimmt, dass die Spaltungen den für Steroide bekannten Wegen [7] [11] [13] [15] [16] folgen, die wir in Formel **15** schematisch (als f–q) angedeutet haben. Wir konnten keine andere Struktur formulieren, welche die beobachteten Bruchstücke so gut erklärt. Die wichtigsten Fragmente werden im folgenden kurz besprochen:

Spaltung nach i) sollte die Fragmente **31** und **33** geben, von denen das erstgenannte zwar nicht direkt sichtbar ist, wohl aber sein Folgeprodukt **32**. Gut sichtbar sind das Bruchstück **33** und seine Folgeprodukte **35** und **36**.

Diese Spaltstücke bestätigen, dass Ring A ausser den zwei HO-Gruppen an C(3) und C(5) keine Substituenten trägt.

Spaltung nach k) liefert theoretisch die zwei Fragmente **40** und **42**, von denen das letztere deutlich ist, während **40** nur als vermutliches Folgeprodukt **41** (evtl. Methyltropylium-Ion) in Erscheinung tritt. Diese Produkte zeigen, dass sich an C(6) kein Substituent befindet.

Spaltung nach l) ist kaum sicher festzustellen, hingegen ist eine solche nach m) recht deutlich. Von den erwarteten Bruchstücken **54** und **50** ist allerdings nur das letztere sichtbar. Wir glauben, dass **54** zu den sichtbaren Ionen **55–58** führt. Abspaltung der C-Atome 14–17 plus Butenolidring [7] [11b] führt zu **65** und **66** sowie Folgeprodukten. Diese Befunde stützen die Annahme der Ketogruppe in 12-Stellung sehr stark und sprechen für Anwesenheit einer HO-Gruppe an C(11), ohne sie zu beweisen. Der Nachweis des Bruchstückes **52**, das eine sehr starke Spitze hervorbringt, spricht

³⁾ Wir danken den Autoren bestens für die Übersendung ihres Manuskriptes vor dessen Publikation.

⁴⁾ Das Massenspektrum des Periplogenins (**81**) wurde inzwischen auch von *Brown et al.* [11b] publiziert, die ebenfalls die Spaltung nach Schema h) feststellten. Eine solche Spaltung wird nach *Kamano et al.* [11c] auch durch eine 8(9)-Doppelbindung begünstigt.

⁵⁾ Eine HO-Gruppe an C(9) dürfte vermutlich eine ähnliche Wirkung entfalten.

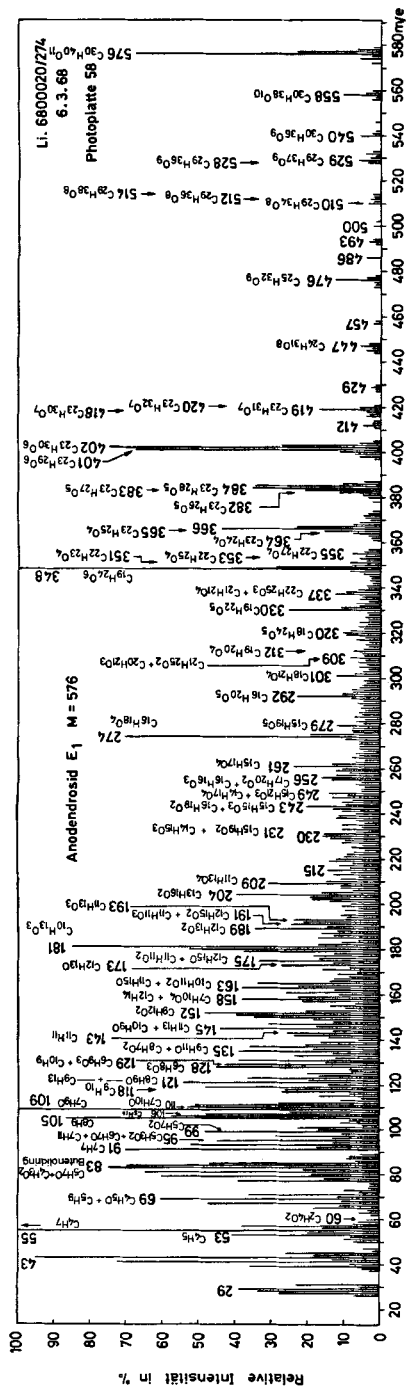


Fig. 1. Massenspektrum von Anodendrosid-E₁ (3), Präp. JP-2, Smp. 279–282°; Temp. der Ionenquelle 290° (6)

Versuchsweise Zuordnung: 576 = M⁺; 558 = M - H₂O; 546 = M - CH₂O; 540 = M - 2H₂O; 529 = M - H₂O - HCO; 528 = M - H₂O - CH₂O; 514 = M - H₂O - CO₂; 512 = M - 2H₂O - CO; 510 = M - 2H₂O - CH₂O; 500 = M - H₂O - CO - CH₂O; 493 = M - C₂H₅O (f); 486 = M - H₂O - CO₂ - CO; 476 = 7 - H - H₂O; 447 = 11; 445 = 7 - H - CH₂O; 429 = 11 - H₂O; 420 = 15; 419 = 13; 418 = 17; 402 = 15 - H₂O; 401 = 13 - H₂O; 384 = 15 - 2H₂O; 383 = 13 - 2H₂O; 382 = 17 - 2H₂O; 366 = 15 - 3H₂O; 365 = 13 - 3H₂O; 364 = 17 - 3H₂O; 355 = 384 - HCO; 353 = 382 - HCO; 351 = 366 - CH₃; 348 = 355 - H₂O plus 382 - CH₃ - CH₂O; 330 = 27; 320 = 28; 312 = 26; 309 = 353 - CO₂ plus C₂₁H₂₁O₄ - CO; 301 = 30; 292 = 33; 279 = 42; 274 = 36; 261 = 44; 256 = 68 plus 35; 249 = 65 plus 46; 243 = 64 plus 45; 231 = 66 plus 47; 230 = 63 - 2H₂O - CH₂O; 215 = 243 - CO; 213 = 66 - H₂O; 209 = 50; 204 = 60; 193 = 71 (?) oder 51 + 2H⁺; 191 = 61 plus 51; 189 = 70; 181 = 52; 175 = 56 plus 193 - H₂O; 173 = 62; 163 = 53 plus 58; 158 = 10 plus 56 - HO; 157 = 9 (C₇H₉O₄) plus 55 (C₁₂H₁₃); 152 = 52 - HCO oder 38 + H - HO; 151 = 52 - CH₂O oder 38 - HO; 150 = 38 - H₂O; 145 = 57 plus 53 - H₂O; 143 = 182 (bei Anodendrosid-A); 137 = 74 oder 152 - CH₃ (C₈H₉O₂) plus 52 - CO₂ (C₉H₁₃O); 135 = 53 - CO plus C₈H₈O₂ = 38 - H₂O - CH₃; 133 = 53 - CH₂O (C₉H₉O) plus C₁₀H₁₃; 129 = 19 plus C₁₀H₉; 128 = 20; 121 = 39 plus C₉H₁₃; 118 = C₉H₁₀; 110 = 32; 109 = 32 - H; 106 = C₈H₁₀; 105 = Methyltropylium-Ion?; 99 = 5; 95 = 20 - CH₃ - H₂O plus 32 - CH₃ plus C₇H₁₁; 91 = Tropylium-Ion; 83 = 72 plus Butenoldirig (f); 69 = 49 plus C₃H₉; 60 = AcOH; 55 = 23 + H; 53 = 23 - H.

6) Die Massenspektren wurden mit einem CEC-Massenspektrometer 21-110 B auf Photoplaten aufgenommen. Ionenquelle E. B., direktes Einlass-System, Elektronenenergie 70 eV, Beschleunigungsspannung 6 kV. Die Massenzahlen wurden durch manuelle Ausmessung auf einem Vergrößerungsapparat (Profiprojektor Hauser) bestimmt. Zur Ermittlung der passenden Bruttoformeln diente der programmierbare Tischrechner Programm 101 (Olivetti). Die Resultate sind, soweit möglich, in die Figur eingesetzt und die vermessenen Spitzen in der Legende *kurssiv* gesetzt. Wo in der Figur kein Platz war, wurden die Bruttoformeln in der Legende eingesetzt.

7) Das ähnlich gebaute Sinogenin liefert im Massenspektrum bei *m/e* 191 nur eine schwache Spitze, zwei sehr starke aber bei 192 (C₁₁H₁₂O₃) und 193 (C₁₁H₁₃O₃), die nach Brown *et al.* [11b] die C-Atome 12–18 und 20–23 umfassen, entspr. 50, aber mit 1 bzw. 2 zusätzlichen Protonen. Die von uns gefundene Spitze bei *m/e* 193 könnte sehr wohl die von ihnen angegebene Struktur besitzen (also nicht wie 71 aus den Ringen B und C stammen). Die auch bei uns starke Spitze bei *m/e* 192 wurde nicht vermessen.

sehr dafür, dass der Ring D keine zusätzlichen Substituenten trägt. Spaltungen nach f) und g) lassen sich beim Glykosid und bei einigen Fragmenten feststellen.

Es bleibt nun vor allem noch der Bau des Zuckeranteils abzuleiten. Wir hatten für diesen zunächst auch Formel **3a** in Betracht ziehen müssen. Diese vermag die Resultate des Massenspektrums aber nur sehr schlecht zu erklären und ist mit dem NMR.-Spektrum des O-Acetyl-anodendrosids- E_2 , das denselben Zucker wie E_1 enthält, nicht vereinbar.

Schon die Spaltung zwischen Zucker und Genin zeigt im Massenspektrum gewisse unerwartete Resultate. Normalerweise wird die Bindung zwischen Zucker und Aglykon entsprechend Schema d) gebrochen, wobei ein Glykosyl-Kation **9** und das Radikal-Ion **13** (Genin minus H) entstehen; letzteres kann durch Protonierung in das Genin **15**

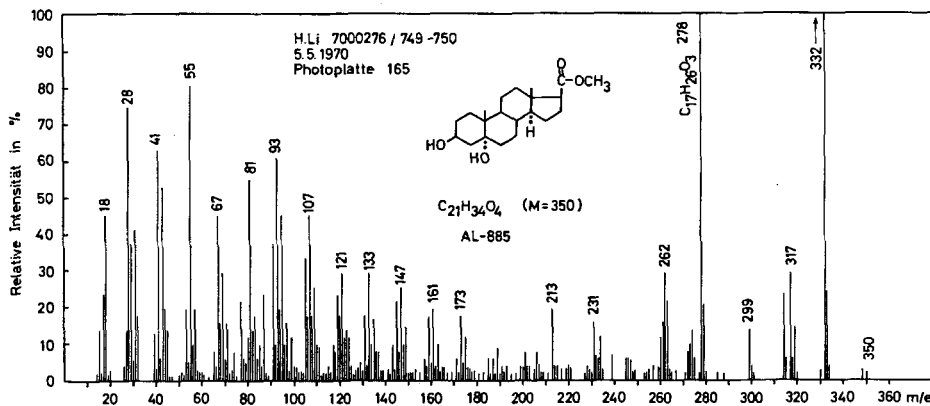


Fig. 2. Massenspektrum von $3\beta,5\beta$ -Dihydroxy-ätiansäure-methylester (**77**), Präp. AL-885, Smp. 218–224°; Temp. der Ionenquelle 180°⁶⁾

Versuchswise Zuordnung: 350 = M^+ ; 332 = $M - H_2O$; 319 = $M - CH_3O^+$; 317 = $M - H_2O - CH_3$; 314 = $M - 2H_2O$; 299 = $M - 2H_2O - CH_3$; 278 = **80**

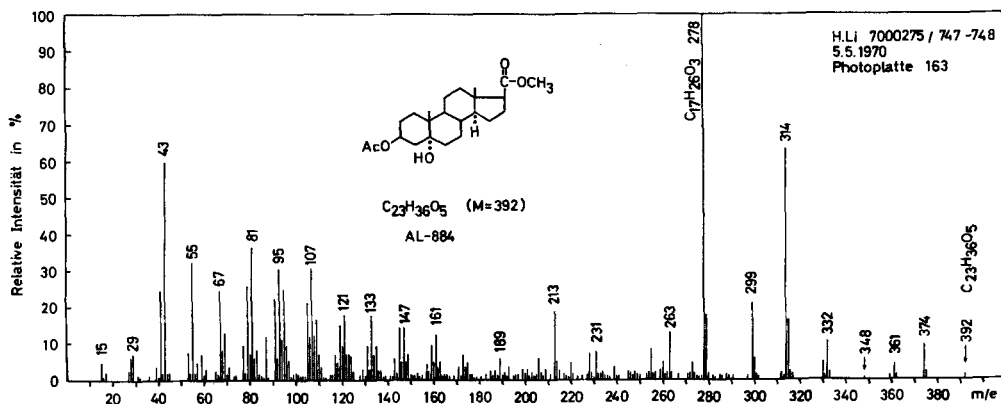


Fig. 3. Massenspektrum von 3β -Acetoxy- 5β -hydroxy-ätiansäure-methylester (**78**), Präp. AL-884, Smp. 203–206°; Temp. der Ionenquelle 200–210°⁶⁾

Versuchswise Zuordnung: 392 = M^+ ; 374 = $M - H_2O$; 361 = $M - CH_3O^+$; 359 = $M - H_2O - CH_3$; 332 = $M - AcOH$; 314 = $M - H_2O - AcOH$; 299 = $314 - CH_3$; 278 = **80**; 263 = **80** - CH_3

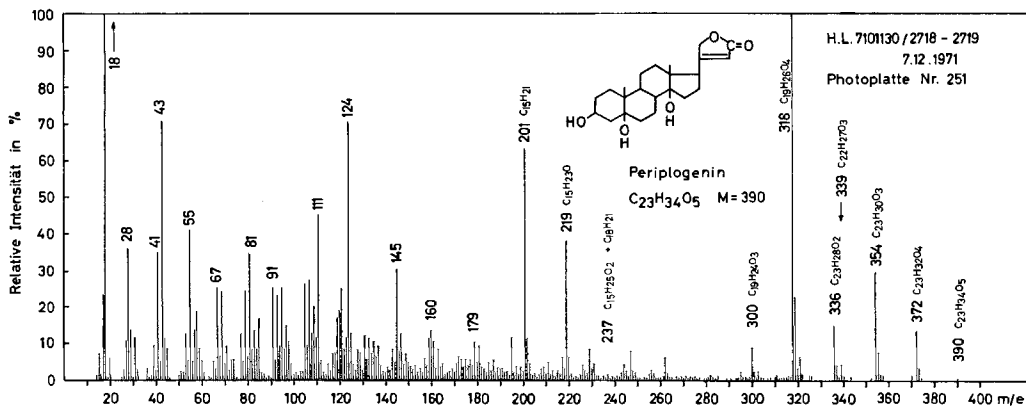


Fig. 4. Massenspektrum von Periplogenin (**81**), Präp. J. v. E., Smp. 233–237°; Temp. der Ionenquelle 290–300°⁶⁾

Versuchsweise Zuordnung: 390 = M^+ ; 372 = $M - H_2O$; 354 = $M - 2H_2O$; 336 = $M - 3H_2O$; 318 = **82**; 300 = **82** - H_2O ; 237 = **83**; 219 = **83** - H_2O ; 201 = **83** - $2H_2O$

übergehen. Auch eine H-Verschiebung kann eintreten, wobei Zucker - H_2O + Genin resultieren. Die genannten Ionen treten hier alle auf, wobei **13** überwiegt. Daneben tritt aber eine andere Spaltung ein, wobei unter umgekehrter Wasserstoff-Verschiebung ein Ion $C_7H_{10}O_4$ (**10**) entsteht, was formal der Eliminierung von einem O-Atom aus dem hypothetischen Zucker ($C_7H_{10}O_5$) entspricht. Wir glauben, dass es sich um eine *McLafferty*-Reaktion [15] [7] entsprechend **3b** handelt. Das Auftreten des genannten starken Ions **10** und seiner Folgeprodukte **19** und **20** sowie des Ions **17** mit Folgeprodukten, nach Schema r).

Die Formulierung des Zuckeranteils in **3** erlaubt auch das Auftreten von Ionen zu erklären, die der Spaltung nach a), b) und c) entsprechen und die sich sonst schwer verstehen liessen; dies betrifft vor allem die Ionen **7** und **11** sowie **8** und **12** beim O-Acetylderivat **4**. Dass die angegebene Struktur des ungewöhnlich gebauten Zuckeranteils unseres Erachtens nach richtig ist, ergibt sich aus dem NMR.-Spektrum des O-Acetyl-anodendrosids- E_2 (**85**), das offenbar denselben Zucker enthält. Dieses Spektrum (Fig. 14) ist mit der angegebenen Struktur gut vereinbar.

Das Massenspektrum des O-Acetyl-anodendrosids- E_1 (**4**) (Fig. 5) zeigt ganz analoge Spitzen wie das freie Glykosid (Fig. 1), mit dem Unterschied, dass sowohl das Molekel-Ion wie alle Bruchstücke, die noch den intakten C-Ring enthalten, um 42 Masseneinheiten (C_2H_2O) schwerer sind. Deutung der weiteren Spitzen vgl. Fig. 5. Dieses Spektrum wurde nur in Niederauflösung aufgenommen.

Anodendrosid- E_2 (84**).** – Für diesen Stoff schlagen wir die Teilformel **84** vor. Er unterscheidet sich von Anodendrosid- E_1 somit nur durch die zusätzliche Doppelbindung in 16-Stellung. Die UV.- und IR.-Spektren [2] stehen damit im Einklang. Die Formel ergibt sich aus dem Massenspektrum (Fig. 6), das demjenigen des Anodendrosids- E_1 (**3**) analog ist mit dem Unterschied, dass das Molekel-Ion sowie alle Ionen, die den D-Ring noch enthalten, eine um zwei Einheiten niedrigere Masse besitzen (vgl. Legende bei Fig. 6). Dies trifft insbesondere für **94**, **96**, **98**, **103**, **106**, **112**, **113** und ihre Folgeprodukte zu. Dagegen zeigen die Ionen, die den D-Ring nicht enthalten

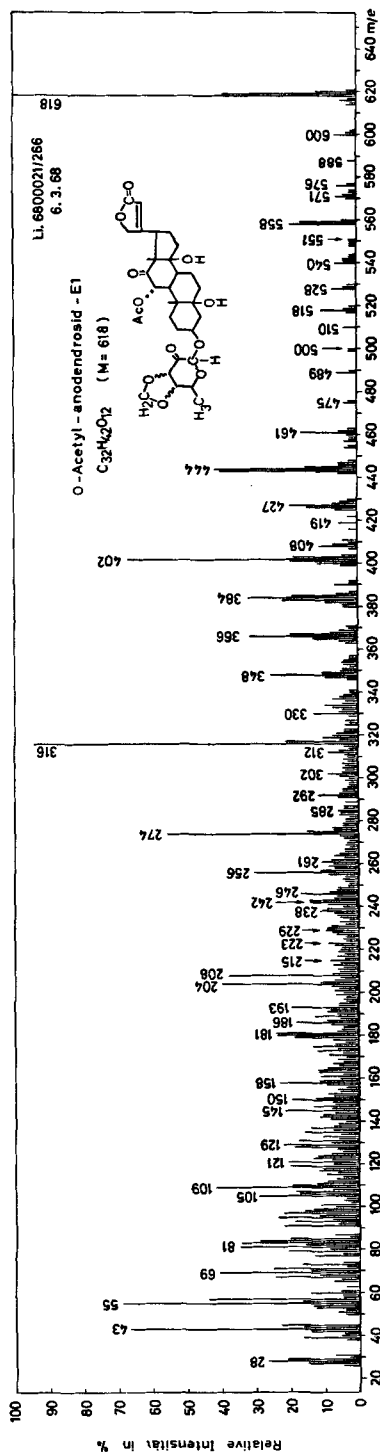
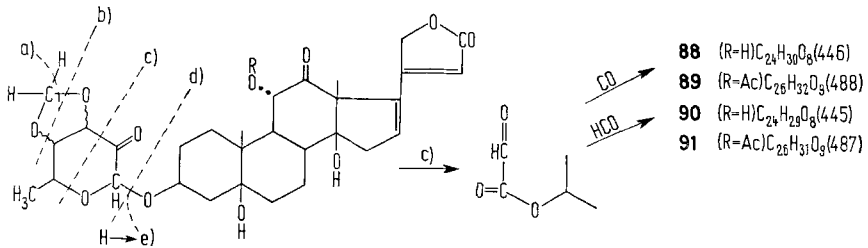


Fig. 5. Massenspektrum von O-Acetyl-anodendrosid-E₁ (4), Präp. TR-1381 = J.P-3; Smp. 273-278°; Temp. der Ionenquelle 275° ± 6)

Versuchsweise Zuordnung: 618 = M⁺ (4); 600 = M - H₂O; 588 = M - CH₂O; 576 = 3 - M - 42 (Keten); 571 = M - H₂O - CHO; 558 = M - AcOH; 540 = M - AcOH - H₂O; 528 = M - AcOH - CH₂O; 518 = 8; 510 = M - AcOH - H₂O - CH₂O; 500 = 8 - H₂O; 489 = 12; 476 = 7 (8 - Keten); 475 = 7 - H; 462 = 16; 461 = 14; 444 = 16 - H₂O (22 und Isomere); 443 = 14 - H₂O; 427 = 16 - H₂O - HO; 426 = 16 - 2H₂O; 419 = 13; 408 = 16 - 3H₂O; 402 = 16 - AcOH; 390 = 25; 384 = 16 - AcOH - H₂O; 366 = 16 - AcOH - 2H₂O; 348 = 16 - AcOH - 3H₂O oder 24 (25 - Keten); 334 = 34; 330 = 13 - AcOH; 316 = 37; 312 = 26; 302 = 28 - H₂O; 292 = 33; 285 = Ac - 64; 274 = 36 und evtl. Ac - 67 - AcOH - H₂O; 261 = Ac - 63 - AcOH - HO; 256 = 68 oder 35; 246 = 36 - CO; 243 = 64 und 45; 242 = 63 - 3H₂O; 238 = 68 - H₂O; 208 = 50 - H; 204 = 60; 193 = 71; 189 = 70; 186 = 60 - H₂O; 181 = 52; 180 = 52 - 1; 158 = 10 plus 56 - HO; 150 = 38 - H₂O; 145 = 57; 137 = 74; 129 = 19; 128 = 20; 121 = 39; 109 = 32 - H



84 (R=H)Anodendrosid-E2
TR-1382 C₃₀H₃₈O₁₁(574)

85 (R=Ac)C₃₂H₄₀O₁₃(616)
TR-1383 u.1396° Smp. 314-316°

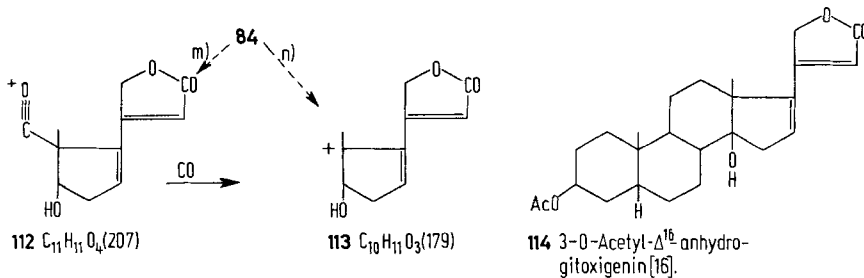
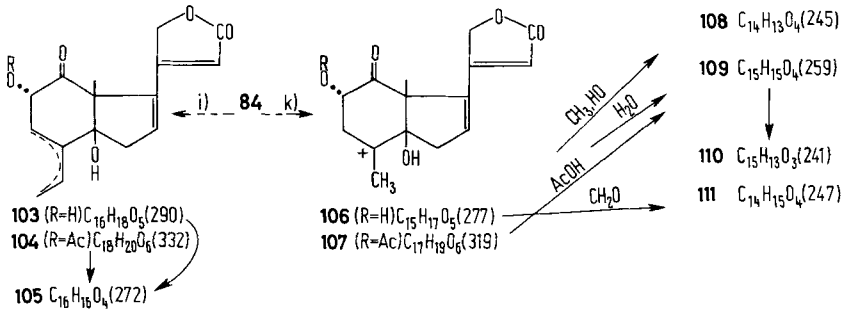
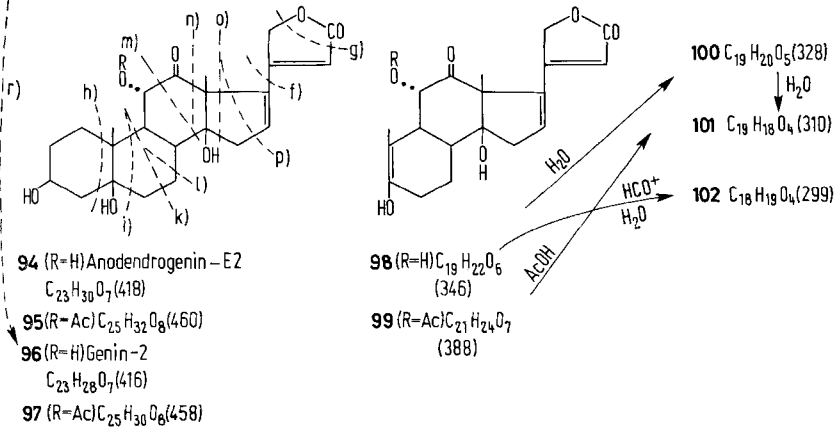
86 (R=H)C₂₅H₃₀O₉
(474)

87 (R=Ac)C₂₇H₃₂O₁₀
(516)

92 (R=H)C₂₃H₂₈O₇(Genin-H)
(417)

93 (R=Ac)C₂₅H₃₁O₈(459)

84 85



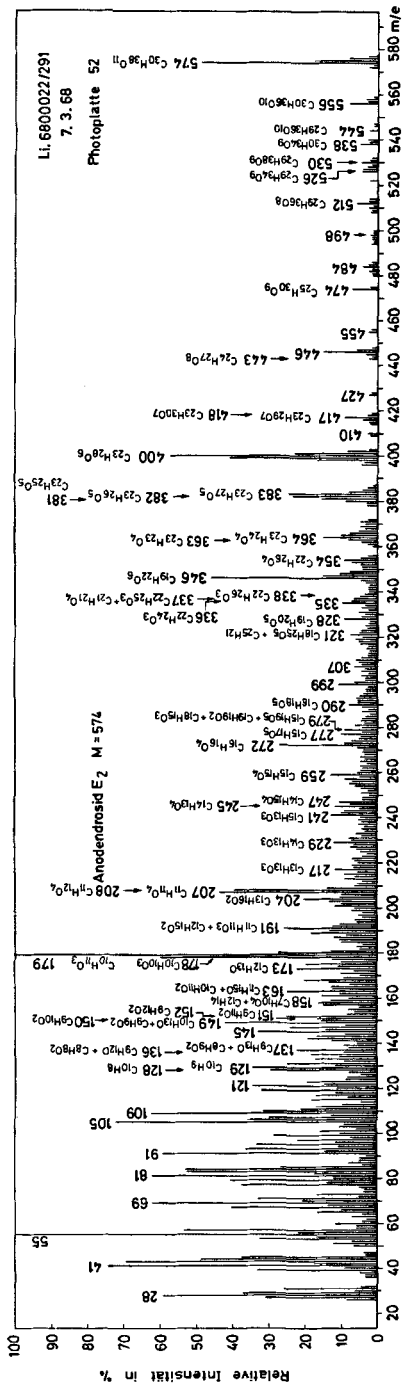


Fig. 6. Massenspektrum von Anodendrosid-E₂ (84), Präp. TR-1382, Smp. 326-333°; Temp. der Ionenquelle 290°⁶)

Versuchsweise Zuordnung: 574 = M⁺; 556 = M - H₂O; 544 = M - CH₂O; 538 = M - 2H₂O; 530 = M - CO₂; 526 = M - H₂O - CH₂O; 512 = M - H₂O - CO₂; 498 = 526 - H₂O; 484 = M - H₂O - CO₂ - CO; 474 = 86 - H₂O; 446 = 88 - H₂O; 443 = 86 - H - CH₂O?; 428 = 88 - H₂O; 427 = 90 - H₂O; 418 = 94; 417 = 92; 416 = 88 - 2H₂O; 400 = 94 - H₂O; 399 = 92 - H₂O; 398 = 96 - H₂O; 383 = 94 - HO - H₂O; 382 = 94 - 2H₂O; 381 = 92 - 2H₂O; 380 = 96 - 2H₂O; 364 = 94 - 3H₂O; 363 = 92 - 3H₂O; 354 = 382 - CO; 346 = 98; 338 = 382 - CO₂; 337 = 381 - CO₂ plus C₂H₃₁O₄ (= 382 - CH₂O - CH₃); 336 = 380 - CO₂; 335 = 364 - CHO; 328 = 100; 321 unsicher (Dublett); 307 = 335 - CO (?); 299 = 102; 290 = 103; 279 unsicher (Triplet); 277 = 106; 272 = 105; 259 = 109; 247 = 111; 245 = 108; 241 = 110; 229 = 111 - H₂O; 217 = 106 - 2CH₂O (?); 208 = 112 + H oder 69 - H - CH₂; 207 = 112; 204 = 60; 191 = C₁₁H₁₃O₃ = 112 - H₂O + 2H (vgl. Fussnote⁷) bei analoger Spitze m/e 193 in Fig. 1) plus C₁₂H₁₅O₂ = 61; 189 = 70 oder 112 - H₂O; 179 = 113; 178 = 113 - H; 173 = 62; 163 = 58 plus C₁₀H₁₁O₂, evtl. 112 - CO₂; 158 = 10 plus 56 - HO; 157 = C₇H₉O₄ = 9 plus C₁₂H₁₃ = 55; 152 = 38 + H - HO; 151 = 38 - HO; 150 = 38 - H₂O; 149 = 71 - CO₂ plus 109 - CH₂O; 137 = 69 - CH₂O - CHO - CO plus 74; 136 = 69 - 2H₂O - CO plus 74 - H; 129 = C₁₀H₉; 128 = C₁₀H₈. Durch die ¹⁶S-Doppelbindung wird offenbar die Bildung der Ionen 65 und 66 sehr zurückgedrängt. Die für das Dublett bei m/e 157 gefundenen Werte C₇H₉O₄ plus C₁₂H₁₃ sind in der Figur nicht eingetragen.

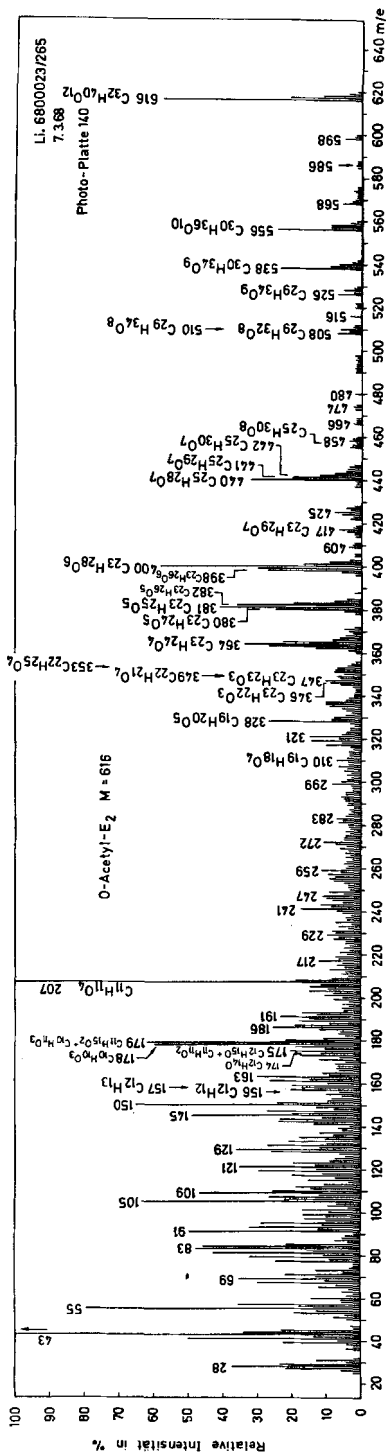


Fig. 7. Massenspektrum von *O*-Acetyl-anodendrosid-E₂ (85), Präp. T.R.-1396, Smp. 314–316°; Temp. der Ionenquelle 270° 6)

Versuchsweise Zuordnung: 616 = M⁺; 598 = M - H₂O; 586 = M - CH₂O; 568 = M - AcOH; 556 = M - H₂O - CH₂O; 556 = M - H₂O - CH₂O; 538 = M - H₂O - AcOH; 526 = M - H₂O - AcOH; 526 = M - AcOH - CH₂O; 516 = 87; 510 = 538 - CO; 508 = 526 - H₂O; 474 = 86; 460 = 95 (schwach); 459 = 93; 458 = 97; 442 = 95 - H₂O; 441 = 93 - H₂O; 440 = 97 - H₂O; 417 = 92; 400 = 95 - AcOH; 399 = 93 - AcOH; 398 = 97 - AcOH; 388 = 99 (schwach); 382 = 400 - H₂O; 381 = 399 - H₂O; 380 = 398 - H₂O; 364 = 382 - H₂O; 353 = 381 - CO; 349 = 364 - CH₂O; 347 = 364 - HO; 346 = 364 - H₂O; 328 = 106; 319 = 107; 310 = 106 - H₂O; 299 = 102; 272 = 105; 259 = 109; 247 = 111; 241 = 110; 229 = 111 - H₂O; 217 = 111 - CH₂O (?); 207 = 112; 193 = 71; 191 = 61 oder 112 - H₂O; 186 = 2; 179 = C₁₁H₁₅O₂ (= 54 - CH₃OH (?)) oder 106 + H - Butenolring (?) plus 113; 178 = 113 - H; 175 = 56 plus 71 - H₂O; 174 = 56 - H oder 61 - HO; 163 = 58; 161 = 113 - H₂O; 158 = 10 plus evtl. 56 - HO; 157 = 55 plus evtl. 9; 156 = 55 - H; 150 = 113 - HCO oder 38 - H₂O; 145 = 57 plus evtl. 53 - H₂O; 129 = C₁₀H₉ plus 19; 121 = 39 plus evtl. C₉H₁₃; 109 = 32 - H; 105 = Methyltropylium-Ion; 91 = Tropylium-Ion; 83 = 72 plus Butenolring; 69 = 49 plus C₆H₉; 55 = 23 + H; 43 = CH₃-C≡O⁺.

(z. B. **56**, **60**, **61** und **62**) oder die aus dem Zuckeranteil stammen (wie **9** und **10**), dieselbe Zusammensetzung wie bei **3**. Die zwei Ionen **19** und **20**, die bei E_1 beobachtet wurden und die bei E_2 aus dem Zuckeranteil ebenfalls entstehen sollten, wurden nicht beobachtet; sie sind offenbar bei E_2 durch isobare Ionen (m/e 128 und 129) von Kohlenwasserstoffen überdeckt. Auch Anodendrosid- E_2 liefert bei der Acetylierung nur ein Mono-O-acetylderivat (**85**); aus seinem Massenspektrum (Fig. 7) ist ersichtlich, dass sich die Acetylgruppe im Genin-Anteil befinden muss.

Vom O-Acetyl-anodendrosid- E_2 (**85**) konnte auch ein Protonenresonanzspektrum (Fig. 14) aufgenommen werden; es passt recht gut auf die vorgeschlagene Formel **85**. Um dieses Spektrum noch genauer zu deuten, haben wir zum Vergleich auch das Spektrum des 3-O-Acetyl- Δ^{16} -anhydro-gitoxigenins (**114**) aufgenommen (vgl. Fig. 13), dessen Struktur gesichert ist [17]. Dabei wurden besonders die Lage der Signale und die Kopplungen der Protonen an C(15) und C(16) ermittelt (vgl. Fig. 13). Die Zuordnung der anderen Signale ergab sich in Fig. 13 und 14 durch Vergleiche mit anderen bekannteren Steroiden [18]. Im Spektrum des O-Acetyl-anodendrosids- E_2 möchten wir nur zwei Einzelheiten hervorheben:

Das Signal bei 5,38 ppm (Dublett, $J = 11$ Hz) lässt sich gut dem 11β -H zuordnen, wie sich aus dem Vergleich mit den Spektren des $3\alpha, 11\alpha$ -Diacetoxy-12-oxo- 5β -cholan-säure-methylesters (zeigt d bei 5,45 ppm, $J = 10,5$ Hz, eigene Messung, R-225, unpubliziert), des 3,11-Di-O-acetyl-12-dehydro-tetrahydro-anhydro-drevogenins P (zeigt ein Dublett bei 5,45 ppm, $J = 10$ Hz [19]) sowie weiterer ähnlich gebauter Stoffe [20] ergibt.

Sehr deutlich sind ferner die beiden Singulette bei 5,04 und 5,11 ppm. Wir haben sie den zwei Protonen der Methylendioxy-Gruppe im Zuckeranteil zugeordnet, die eine verschiedene chemische Verschiebung aufweisen. Ihre geminale Kopplungskonstante beträgt hier weniger als 2 Hz. Nach *Crabb & Cookson* [21] [18c, p. 104] passt dies für eine Methylendioxygruppe in einem fünfgliedrigen Ring.

In der Formel des Anodendrosids- E_2 (**84**) wurde angenommen, dass der Zuckerrest an eine 3β -ständige HO-Gruppe gebunden ist, wie dies aus biogenetischen Gründen, bis auf wenige Ausnahmen, für alle natürlichen Cardenolide zutrifft [14]. Nimmt man an, dass dies richtig ist, so folgt aus dem NMR.-Spektrum des O-Acetylderivates **85**, dass der Stoff, wie in der Formel angegeben, an C(5) die β -Konfiguration besitzen muss. Das Signal des 3α -Protons in Fig. 14 zeigt nämlich eine sehr geringe Halbwertsbreite (8–10 Hz), besitzt somit äquatoriale Lage [18c, p. 80] [18d, p. 288]. Dies ist bei normalen Steroiden mit A-Ring in Sesselform nur bei 5β -Konfiguration möglich.

Chemischer Nachweis des Formaldehyds. Um die ungewöhnliche Struktur des Zuckeranteils in den Anodendrosiden- E_1 und - E_2 weiter zu stützen, haben wir Proben von E_2 einer energischen sauren Hydrolyse mit *Kiliani*-Mischung [22]⁸⁾ unterworfen, wobei sich eindeutig knapp 1 Mol Formaldehyd abspalten liess. Dieser wurde quantitativ mit Chromotropsäure [23] bestimmt⁹⁾. Ausserdem wurde der Aldehyd auch präparativ durch Kondensation mit Dimedon nachgewiesen. Das in Kristallen isolierte Formaldimedon (**196**) wurde durch Mischprobe und durch sein Massenspektrum

⁸⁾ 10 Vol. konz. HCl, 35 Vol. Eisessig und 55 Vol. H₂O.

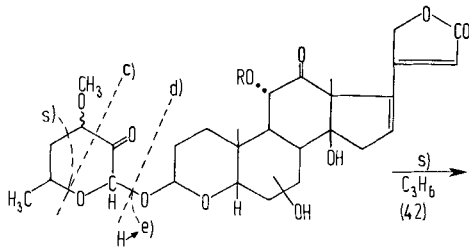
⁹⁾ Wir danken den Herren Dr. *H. G. Leemann* und *P. Graf* (†), Analytische Laboratorien, Pharm. Dep. der *SANDOZ AG*, Basel, auch hier bestens für diese Bestimmung (vgl. exp. Teil).

mit authentischem Material identifiziert, es enthielt noch eine Spur des höheren Homologen (**197**). Ferner wurde daneben noch ein weiteres Dimedonderivat **198** erhalten, das sich nach Chromatographie in reinen Kristallen isolieren liess und das sich nach Massenspektrum (Fig. 18) von einer Carbonylverbindung (Pentadienal oder Cyclopentenon) ableitet, die aus dem Zuckeranteil stammen dürfte, die aber nicht eindeutig identifiziert wurde.

Anodendrosid-G (115). – Der Bau dieses Stoffes konnte nur teilweise abgeklärt werden. Das vorhandene Präparat war auch nicht ganz rein, sondern enthielt noch eine kleine Menge von Anodendrosid-E₂ (**84**) oder eines Isomeren. Die vorgeschlagene Struktur **115** stützt sich auf folgende Befunde:

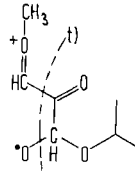
Nach Massenspektrum (Fig. 8) besitzt das Glykosid die Bruttoformel C₃₀H₄₀O₁₀ (560) und setzt sich aus einem Zucker C₇H₁₂O₄ sowie einem Genin C₂₃H₃₀O₇ (418) zusammen. Zum Unterschied von den Anodendrosiden-E₁ und -E₂ enthält es eine Methoxylgruppe, deren Signal (*s* bei 3,38 ppm) im NMR.-Spektrum des Acetylderivates (Fig. 15) deutlich sichtbar ist und die sich auch im Massenspektrum durch Verlust von CH₃OH auf verschiedenen Stufen bemerkbar macht. Die im Massenspektrum auftretenden Bruchstücke sprechen dafür, dass sie im Zuckeranteil lokalisiert ist. Auf Grund seiner Bruttoformel dürfte der Zucker eine Ketogruppe enthalten, die wir wegen der schweren Hydrolysierbarkeit des Glykosids wieder an C(2') angenommen haben. Die Lage der Methoxylgruppe ist unsicher, wir haben sie in 3'-Stellung angenommen, weil dies auf Grund der Spektren am wahrscheinlichsten ist.

Nach den UV.- und IR.-Spektren [2] enthält Anodendrosid-G an C(16) eine Doppelbindung. Dazu passen auch die Signale der CH₂(15)-Gruppe (*AB*-Spektrum, $\delta = 2,33$ und $2,43$ ppm) und des 16-H ($\delta = 6,22$ ppm) im NMR.-Spektrum des Acetylderivats **116** (Fig. 15). Dass im Ring D ausser der 14ständigen HO-Gruppe keine weiteren Substituenten vorhanden sind, zeigt auch das Auftreten der starken Spitzen bei *m/e* 207 und 179 im Massenspektrum (Fig. 8), deren Zusammensetzung den Ionen **112** und **113** entspricht. Die Anwesenheit der einzigen leicht acetylierbaren HO-Gruppe in 11 α -Stellung wird durch das deutliche Signal (Dublett bei 5,30 ppm, *J* = 10,5) im NMR.-Spektrum des Acetylderivats **116** (Fig. 15) gestützt. Wir vermuteten ursprünglich (vgl. Formel in Fig. 14 bei [2]), dass Anodendrosid-G dasselbe Genin enthält wie E₂. Dies kann aber keinesfalls zutreffen, da im Massenspektrum von G (Fig. 8) keine Ionen bei *m/e* 346 und 328 auftreten, die der Bildung von **98** und **100** durch Retro-Diels-Alder-Spaltung nach Schema h) entsprechen. G-Genin ist somit isomer mit E₂-Genin und kann an C-5 keine HO-Gruppe enthalten. Da der Stoff, wie oben erwähnt, bei milder Acetylierung aber auch nur ein Mono-O-acetylderivat (**116**) bildet (vgl. Massenspektrum in Fig. 9 und bes. NMR.-Spektrum in Fig. 15), muss sich eine schwer acetylierbare HO-Gruppe an anderer Stelle befinden. An C(8) kann sie nicht stehen, weil sonst im Massenspektrum viel stärkere Fragmente auftreten müssten, die dem Schema m) entsprechen [24]; auch an C(9) kann sie sich nicht befinden, da das Signal des 11 β -H im NMR.-Spektrum sonst als Singulett erscheinen müsste. Es muss sich somit um eine schwer acetylierbare (axiale oder stark verbrückte) sekundäre HO-Gruppe handeln. Sie kann sich somit nur an C(1), C(2), C(4), C(6) oder C(7) befinden, wobei C(6) oder C(7) am wahrscheinlichsten sind. Das Signal bei 3,20 ppm (Triplett, entspr. 1 Proton) im NMR.-Spektrum (Fig. 15), das sich im Spektrum von



115 (R=H)Anodendrosid-G
C₃₀H₄₀O₁₀(560)

116 (R=Ac)C₃₂H₄₂O₁₁(602)

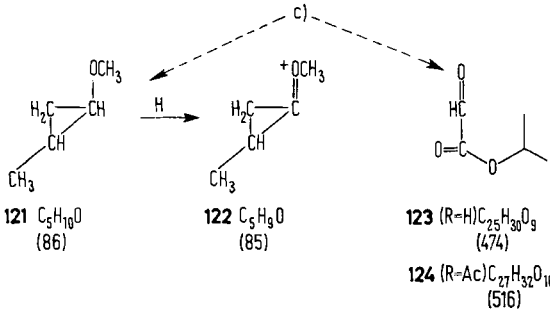


117 (R=H)C₂₇H₃₄O₁₀
(518)

118 (R=Ac)C₂₉H₃₆O₁₁
(560)

119 (R=H)C₂₅H₃₀O₈
(458)

120 (R=Ac)C₂₇H₃₂O₉
(500)

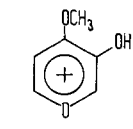


125 (R=H)C₂₄H₃₀O₈ \xrightarrow{CO} 133
(446)

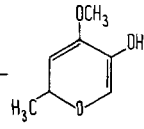
126 (R=Ac)C₂₆H₃₂O₉ \xrightarrow{CO} 134
(488)

127 (R=H)C₂₄H₂₈O₈ \xrightarrow{CO} 129 C₂₃H₂₉O₇
(445) (417)

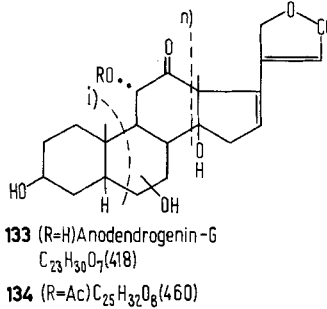
128 (R=Ac)C₂₆H₃₁O₉ \xrightarrow{CO} 130 C₂₅H₃₁O₈
(487) (459)



131 C₆H₇O₃
(127)

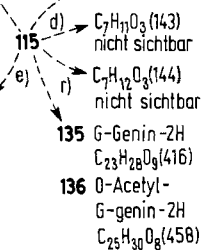


132 C₇H₁₀O₃
(142)



133 (R=H)Anodendrogenin-G
C₂₃H₃₀O₇(418)

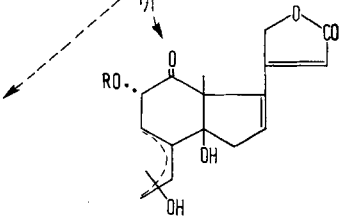
134 (R=Ac)C₂₅H₃₂O₈(460)



115 \xrightarrow{d} C₇H₁₁O₃ (143) nicht sichtbar
 \xrightarrow{e} C₇H₁₂O₃ (144) nicht sichtbar
 \xrightarrow{n} 135 G-Genin-2H C₂₃H₂₈O₈(416)
136 O-Acetyl-G-genin-2H C₂₅H₃₀O₈(458)



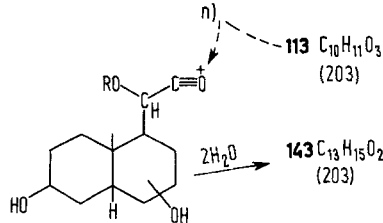
137 C₇H₁₂O (112)
nicht sichtbar



138 (R=H)C₁₆H₁₈O₆
(306)

139 (R=Ac)C₁₈H₂₀O₇
(348)

\downarrow H₂O bzw. AcOH
140 C₁₆H₁₆O₅(288)



141 (R=H)C₁₃H₁₉O₄(239)
nicht sichtbar

142 (R=Ac)C₁₅H₂₁O₅(281)
nicht sichtbar

113 C₁₀H₁₁O₃
(203)

143 C₁₃H₁₅O₂
(203)

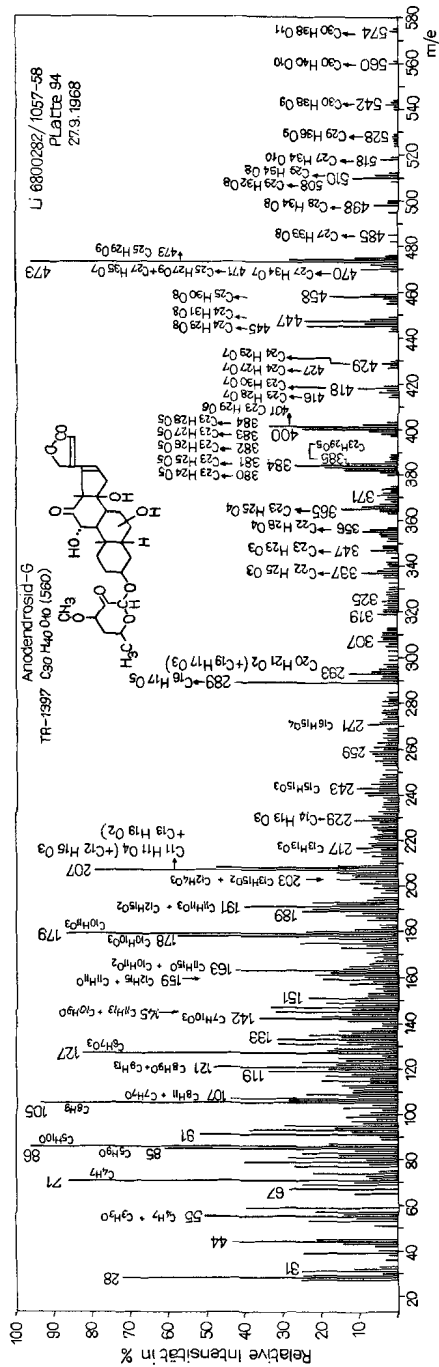


Fig. 8. Massenspektrum von Anodendrosid-G (115), Präp. TR-1397, Smp. 275–277°; Temp. der Ionenquelle 270°⁶)

Versuchsweise Zuordnung: 574 = $C_{30}H_{38}O_{11}$ = Verunreinigung (vermutl. E_2 oder Isomeres); 560 = M^+ ; 556 = $574 - H_2O$ (aus Verunreinigung); 542 = $M - H_2O$; 530 = $M - CH_2O$; 528 = $M - CH_3OH$; 518 = $117; 510 = M - H_2O - CH_3OH$; 508 = $574 - 2H_2O - CH_2O - CH_2O$ (aus Verunreinigung); 500 = $M - CH_3OH - CO$; 498 = $M - CH_3OH - CH_2O$; 485 = $500 - CH_3$; 473 = $123 - H$; 471 = $C_{35}H_{27}O_9$ (?) plus $500 - CHO$; 470 = $498 - CO$; 458 = $119; 447 = 125 + H$; 445 = $127; 429 = 447 - H_2O$; 427 = $127 - H_2O$; 418 = $133; 416 = 133 - HO$; 400 = $133 - H_2O$; 385 = $C_{23}H_{29}O_5$; 384 = $C_{23}H_{28}O_5$; 383 = $401 - H_2O$; 382 = $133 - 2H_2O$; 381 = $129 - 2H_2O$; 380 = $135 - 2H_2O$; 365 = $401 - 2H_2O$; 356 = $133 - H_2O - CO_2$; 347 = $401 - 3H_2O$; 337 = $401 - 2H_2O - CO$ oder $129 - 2H_2O - CO_2$; 319 = $401 - 3H_2O - CO$; 307 = $138 + H$; 293 = $C_{29}H_{21}O_2$ = $129 - 2H_2O - CO_2 - CH_3 - CH_2O$ plus $C_{10}H_{17}O_3$, evtl. $101 - HO$ (?); 289 = $140 + H$; 271 = $289 - H_2O$; 243 = $271 - CO$; 241 = evtl. $110; 229 = 111 - CO_2$; 217 = $108 - CO$; 207 = 112 plus $C_{12}H_{15}O_3$ (= $69 - HO$) plus $C_{13}H_{19}O_3$; 203 = 143 plus $C_{12}H_{11}O_3$; 191 = $C_{11}H_{11}O_3$ ($69 - H_2O - CH_3$) plus $61; 179 = 113; 178 = 113 - H$; 163 = 58 plus $112 - CO_2$; 159 = $C_{12}H_{15}$ ($143 - CO_2$) plus $C_{11}H_{11}O$ ($70 - CH_2O$); 145 = 57 plus $C_{10}H_9O$ ($112 - CO_2 - H_2O$); 142 = $132; 127 = 131; 121 = 39$ (?) plus C_9H_{13} ; 107 = C_8H_{11} plus C_7H_2O ($112 -$ Butenolidring-HO); 105 = Methyltropylium-Ion; 86 = $121; 85 = 122; 71 = C_4H_7O$ ($121 - CH_3$); 55 = C_4H_7 ($121 - CH_3$); 55 = C_4H_7 ($121 - CH_3$) plus C_3H_3O (evtl. $CH_2=CH-CO^+$ aus $C(2^+)-C(4^+)$ von Zucker)

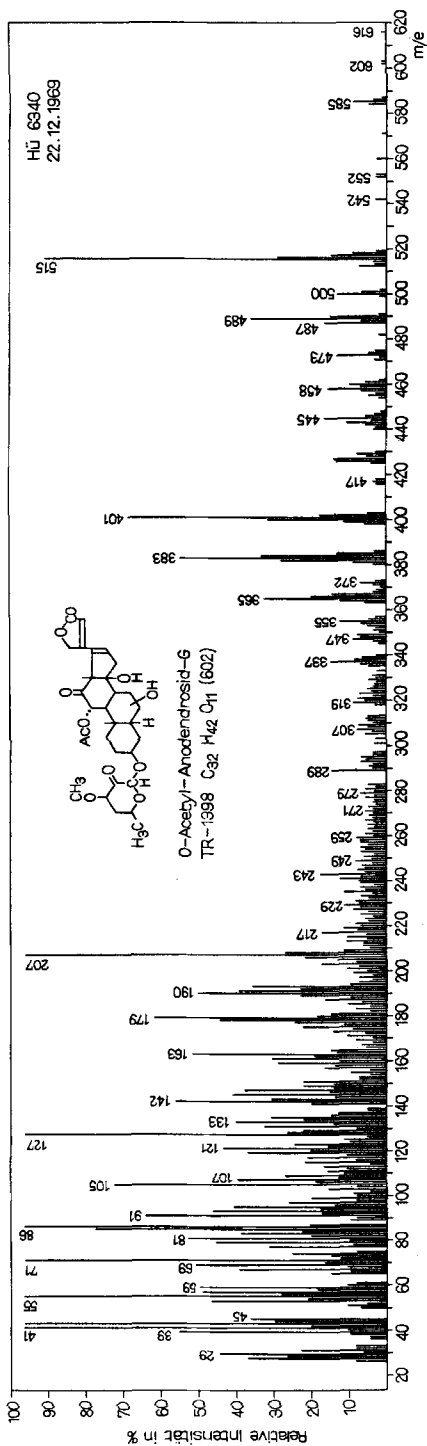


Fig. 9. Massenspektrum von O-Acetyl-anodendrosid-G (116), Präp. TR-1398, Smp. 245-246° 11)

Versuchsweise Zuordnung: 616 = Verunreinigung (vermutlich O-Acetyl-E₂ (85)); 602 = M⁺; 560 = M - C₂H₂O (Keten) oder 118; 552 = ?; 542 = M - AcOH; 516 = 124 - H; 500 = 120 - H; 489 = 126 + H; 487 = 128; 473 = 123 - H; 460 = 134; 458 = 119 oder 136; 445 = 123 - CHO oder 134 - CH₃; 443 = 134 - HO oder 136 - CH₃; 427 = 445 - H₂O; 417 = 445 - CO; 401 = 133 - HO; 400 = 133 - H₂O; 383 = 133 - HO - H₂O; 382 = 133 - 2H₂O; 372 = 133 - H₂O - CO; 365 = 383 - H₂O; 355 = 383 - CO; 347 = 133 - HO - 3H₂O; 337 = 133 - HO - 2H₂O - CO; 319 = 133 - HO - 3H₂O - CO; 289 = 140 + H; 207 = 112 oder 69 - HO (?); 190 = 112 - HO; 179 = 113; 163 = 58; 142 = 132; 127 = 131

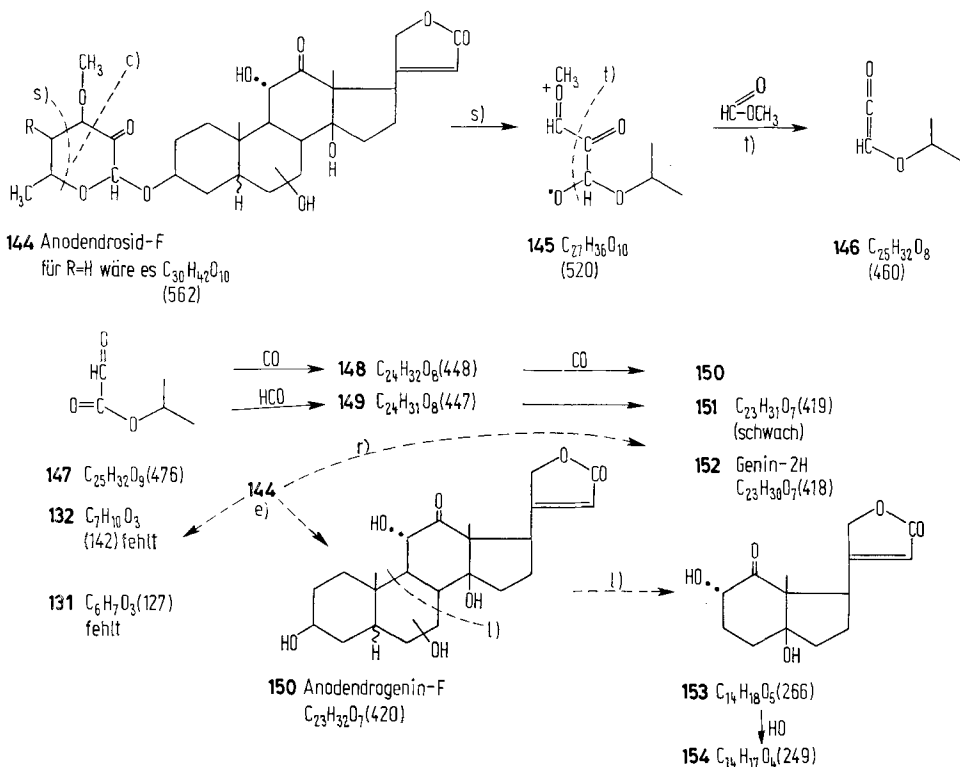
11) Wir danken Herrn Dr. H. Hürzeler, Physikalaboratorium der CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, auch hier bestens für die Aufnahme dieses Spektrums. Sie erfolgte auf einem Atlas-Massenspektrometer Modell CH-7 mit direktem Einlass-System, Elektronenenergie 70 eV, Temp. der Probe 170°.

O-Acetyl-anodendrosid-E₂ (Fig. 14) nicht vorfindet, spricht stark für eine solche Annahme¹⁰⁾. Ferner zeigt die relativ geringe Halbwertsbreite des 3 α -H-Signals (ca. 8–10 Hz), dass dieses 3 α -Proton eine äquatoriale Lage besitzt, was auch für Anodendrosid-G die 5 β -Konfiguration ergibt.

Anodendrosid-G zeigt im Massenspektrum folgende Besonderheiten, die sich mit Formel **115** erklären lassen. Abspaltung von Methanol liefert die Bruchstücke mit *m/e* 528 und 510. Abspaltung von Propylen (Schema s)) liefert **117**, das C₂H₄O₂ (möglicherweise Methylformiat entspr. Schema t)) verlieren kann, wobei **119** entsteht. Spaltung nach Schema c) gibt hier neben **123** das Fragment **121**, das durch Verlust eines H-Atoms **122** liefert. Eine *McLafferty*-Spaltung nach Schema r) findet hier höchstens in untergeordnetem Masse statt, denn das Fragment **135** (Genin – 2H) liefert nur eine recht schwache Spitze und das zweite dabei zu erwartende Fragment (C₇H₁₂O₃ = 144) ist überhaupt kaum sichtbar. Die wichtigste Spaltung zwischen Zucker und Genin erfolgt nach Schema e) unter H-Verschiebung, wobei neben **133** (G-Genin) das Fragment **132** gebildet wird, das weiter in **131** übergeht. Aus dem Genin werden ganz ähnliche Bruchstücke erhalten, wie sie bei den E₁- und E₂-Geninen beobachtet wurden, mit dem wichtigen Unterschied, dass die *Retro-Diels-Alder*-Spaltung nach Schema h), wie erwähnt, unterbleibt. Einzelheiten sind aus Fig. 8 und der zugehörigen Legende ersichtlich.

Anodendrosid-F. – Wegen Materialmangels konnte hier nur ein Massenspektrum ohne Hochauflösung aufgenommen werden. Dies ist der Hauptgrund, warum für diesen Stoff nur die vermutliche Teilstruktur **144** ermittelt werden konnte. Das UV.-Spektrum [2] passt auf ein Cardenolid mit gesättigtem D-Ring. Im Massenspektrum (Fig. 10) sind Spitzen bei *m/e* 209, 191, 181 und 163 deutlich, die wir den Ionen **50**, **51**, **52** und **53** zuschreiben, wodurch der Bereich der C-Atome 12–23 gut gesichert ist. Unsicher ist vor allem die genaue Bruttoformel des Stoffes, weil das Präparat noch kleine Mengen von Verunreinigungen enthielt, so dass die Zuordnung der recht schwachen Spitzen im Bereich der hohen Massen unsicher ist. Eine grosse Anzahl von Spitzen im Massenspektrum wären mit Formel **144** (R = H) erklärbar. Das würde bedeuten, dass Anodendrosid-F denselben Zucker enthält wie Anodendrosid-G (**115**) und sich von ihm nur durch fehlende Doppelbindung an C(16) im Genin unterscheidet. Dem widerspricht aber die Tatsache, dass im Massenspektrum des Anodendrosids-F die Spitzen der Zuckerfragmente **131** (127) und **132** (142) fehlen. Da aber die grossen Fragmente, die man bei Spaltung nach Schema s) erwartet, alle vorhanden sind, vermuten wir, dass Anodendrosid-F einen ähnlich gebauten Zucker enthält, der aber an C(4') noch einen unbekanntem Substituenten R trägt. Die vorgeschlagene Teilstruktur **144** mit hypothetischem Genin **150** stützt sich auf folgende weitere Befunde:

¹⁰⁾ Die Form des Signals zeigt, dass die genannte HO-Gruppe sekundär gebunden sein muss. Das 7 β -H in 3 β -Acetoxy-7 α -hydroxy-5 α -cholestan (eigene Aufnahme, R-42, unpubliziert) zeigt in CDCl₃ sein Signal bei δ = 3,25 ppm, das 7 α -H im isomeren 3 β -Acetoxy-7 β -hydroxy-5 α -cholestan (eigene Messung, R-43, unpubliziert) bei 3,81 ppm, und das 6 α -H im 5 α -Cholestan-3 β ,6 β -diol (eigene Messung, R-37, unpubliziert) bei 3,79 ppm. Wir haben jetzt auch noch ein IR.-Spektrum des Mono-O-acetyl-anodendrosids-G (**116**) in CH₂Cl₂ aufgenommen (7374, 8.3.72), es zeigt in der HO-Region zwei Banden bei ca. 3502 und ca. 3562 cm⁻¹.



Die Spitzen im Bereich der hohen Massenzahlen (z. B. $m/e = 520, 460$ und 447) lassen sich erklären, wenn man Spaltungen nach Schema s) und c) annimmt. Für das F-Genin ergibt sich dann Formel **150**, ebenso ist das nach Schema r) zu erwartende Ion **152** bei $m/e 418$ (Genin – 2H) vorhanden. Da das Fragment der Retro-Diels-Alder-Spaltung (analog **24**) und seine Folgeprodukte fehlen, nehmen wir an, dass F-Genin an C(5) keine HO-Gruppe trägt. Wir vermuten wieder, dass sich eine solche an C(6) oder C(7) befindet. Dafür spricht das sehr starke Ion bei $m/e 291$ (vermutlich **33** – H), das dem ebenfalls recht starken Ion mit $m/e 289$ bei Anodendrosid-G (Fig. 8) entspricht. Auffallend sind im Massenspektrum des Anodendrosids-F die Spitzen bei $m/e 267$ und 249 , die sich um 18 Masseneinheiten (H_2O) voneinander unterscheiden und die in den Spektren der anderen Anodendroside nicht beobachtet wurden. Sie könnten Ionen der Formeln **153** + H und **154** entsprechen; ohne Hochauflösung bleibt das aber reine Spekulation.

Anodendrosid-A (155). – Die vorgeschlagene Struktur wurde zunächst nur auf Grund des früher [2] publizierten UV.-Spektrums und vor allem des Massenspektrums (Fig. 11) abgeleitet. Kürzlich konnte noch ein NMR.-Spektrum (Fig. 16) aufgenommen werden¹²⁾, das mit dieser Struktur **155** sehr gut übereinstimmt.

¹²⁾ Wir danken Herrn Dr. G. Englert, Physiklabor der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, auch hier bestens für diese Aufnahme, die mit ca. 0,15 mg Substanz bewerkstelligt wurde.

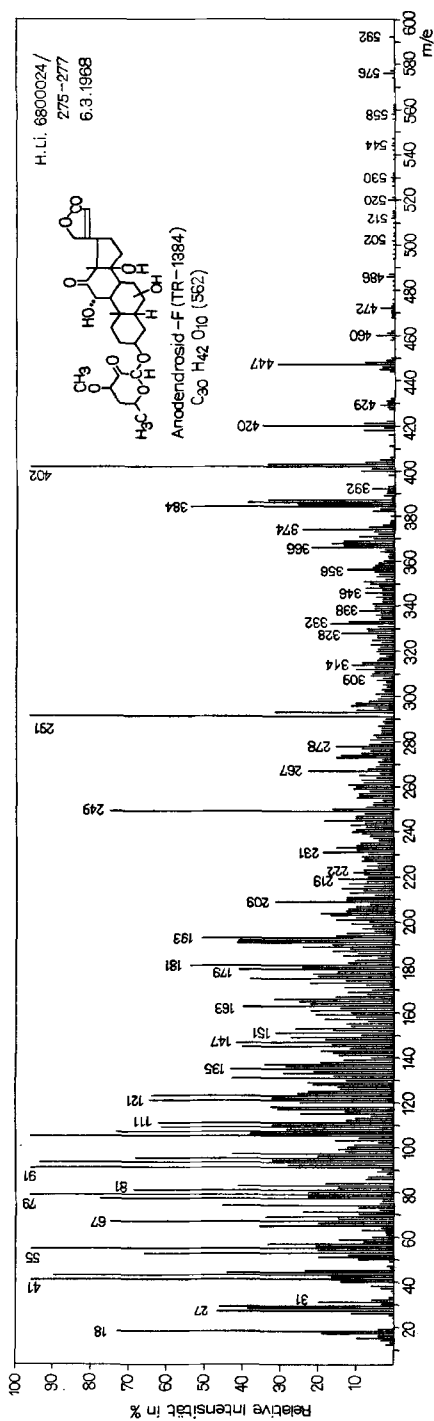
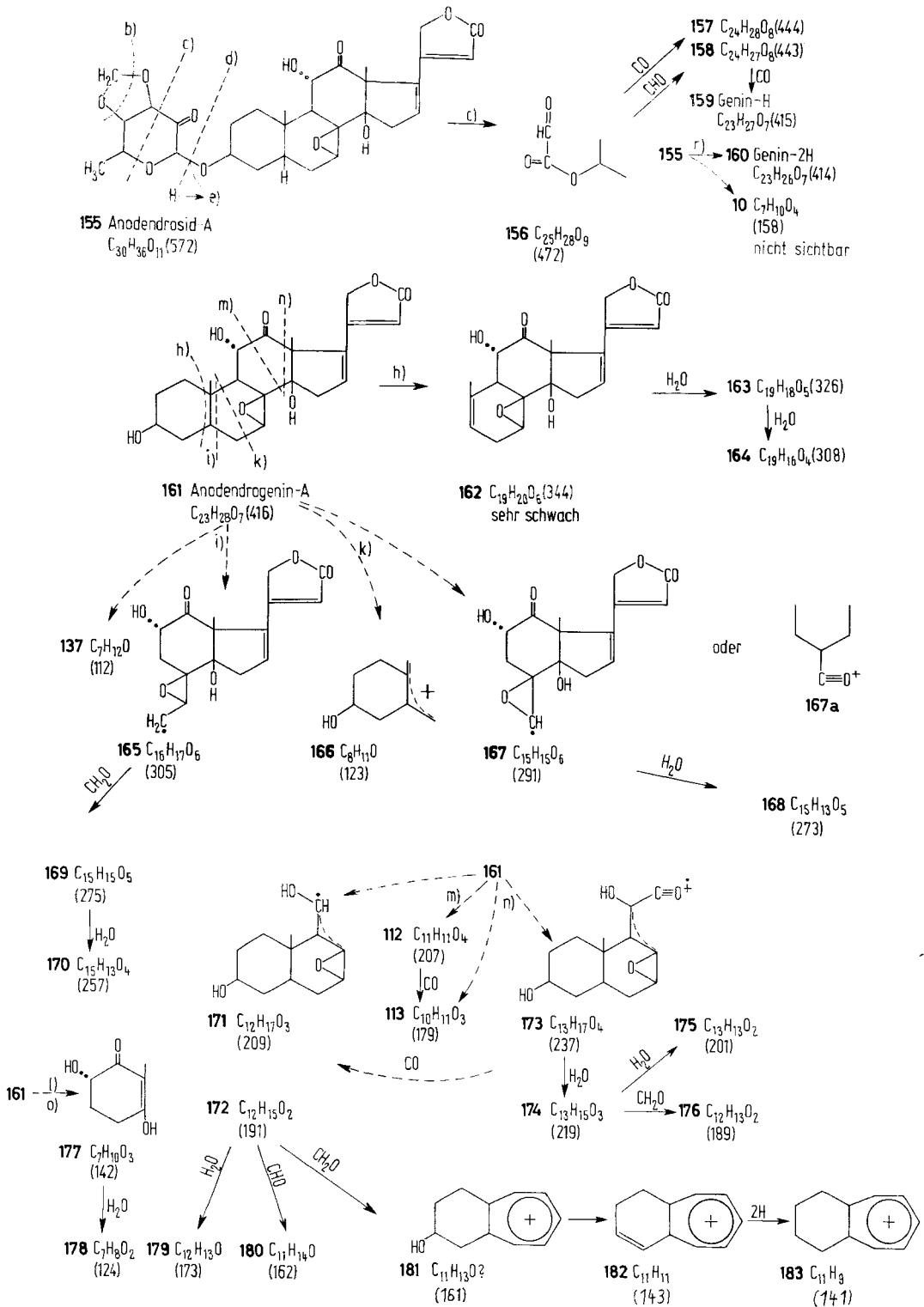
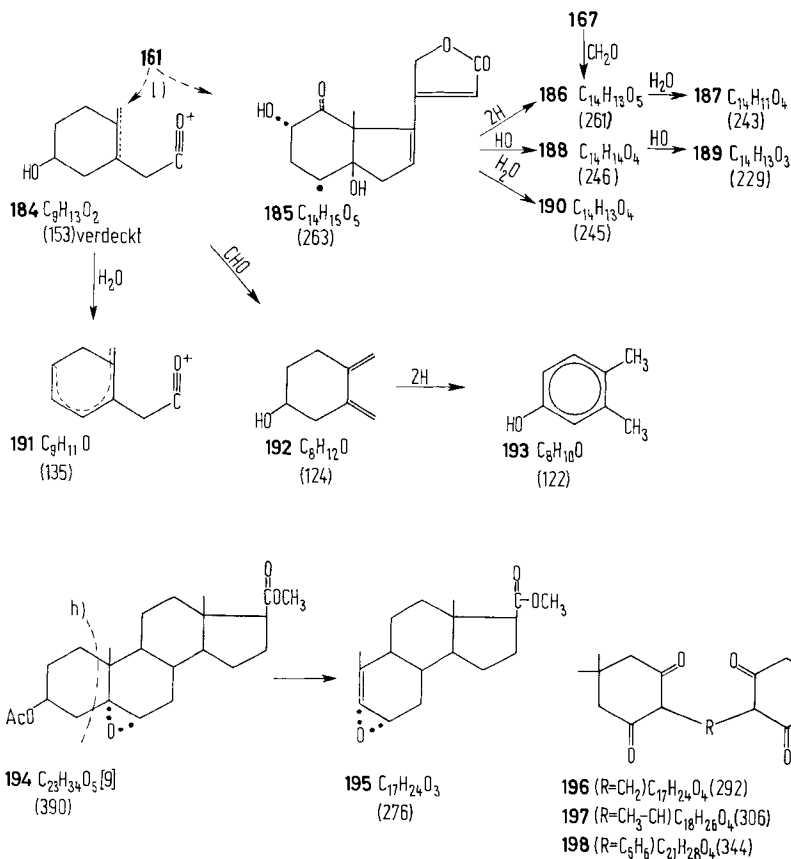


Fig. 10. Massenspektrum von Anodendrosid-F (144), Präp. TR-1384, Smp. 230-235°, nicht ganz rein; Temp. der Ionenquelle 230° ± 6°.

Versuchsweise Zuordnung: 592 = vermutl. Verunreinigung (C₃₀H₄₀O₁₂?) oder 144 mit R = CH₃, 576 = vermutl. Verunreinigung (C₃₀H₄₀O₁₁ = E₁?) oder 144 mit R = CH₃; 562 = evtl. 144 mit R = H; 544 = 562 - H₂O; 530 = 562 - CH₃OH; 520 = 145; 512 = 562 - CH₃OH - H₂O; 502 = 145 - H₂O; 500 = 562 - CH₃ - H₂O - CH₂O; 486 = C₂₈H₃₈O₇ (144 - CH₃OH - CO) oder C₂₇H₃₄O₈(?); 476 = 147 (sehr schwach); 472 = 502 - CH₂O (?); 460 = 146; 447 = 149; 429 = 149 - H₂O; 418 = 152; 402 = 150 - H₂O; 400 = 151 - H₂O; 384 = 150 - 2H₂O; 374 = 150 - H₂O - CO; 366 = 150 - 3H₂O; 356 = 150 - 2H₂O - CO; 291 = 33 - H; 278 = 42 - H; 273 = 33 - H - H₂O; 267 = 153 + H oder Analogon von 63 - CHO; 249 = 154 oder 46 oder Analogon von 65; 231 = 249 - H₂O; 209 = 50; 193 = 71 oder 51 + 2H; 191 = 51; 181 = 52; 175 = 56; 163 = 53; 147 = 56 - CO; 145 = 57; 137 = 74; 135 = 53 - CO; 123 = 38 - HO - CO; 121 = 39.

Auf Grund des UV.-Spektrums [2] enthält der Stoff einen Butenolidring mit zusätzlicher Doppelbindung an C(16). Die vorgeschlagene Substitution an den C-Atomen 12–18 und 20–23 ergibt sich auch aus den starken Spitzen bei m/e 207 und 179 im Massenspektrum, die wir den Ionen **112** und **113** zuschreiben. Der Bau von Ring D wird auch durch das Signal bei 6,38 ppm (16-H) sowie die Signale zwischen 2,5 und 2,9 ppm (*AB*-Spektrum der $\text{CH}_2(15)$ -Gruppe) im NMR.-Spektrum (Fig. 16) bestätigt. Das Massenspektrum lässt sich ferner am besten deuten, wenn man annimmt, dass Anodendrosid-A die Bruttoformel $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$ besitzt und aus einem Zucker $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$ (174) und einem Genin $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_7$ (416) unter Austritt von einem Mol Wasser zusammengesetzt ist. Ein Zucker dieser Formel wurde als Baustein der Anodendroside-E₁ und -E₂ gefunden, und wir vermuten, dass es sich beim Anodendrosid-A um denselben Zucker handelt, obwohl einige der vermessenen Bruchstücke auf den ersten Blick nur schlecht mit dieser Annahme verträglich scheinen. So fehlt im Massenspektrum des Anodendrosids-A bei m/e 158 die dem Ion **10** entsprechende Spitze der Bruttoformel $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_4$. Wir müssen annehmen, dass sie durch die isobaren Ionen $\text{C}_{12}\text{H}_{14}$ und $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}$ verdeckt ist, denn ihre Folgeprodukte **19** (m/e 129 = $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$) und **20** (m/e 128 = $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_3$) sind deutlich. Etwas ähnliches muss beim Massenspektrum des Anodendrosids-E₂ angenommen werden. Dort wurde zwar die dem Ion **10** entsprechende Spitze gefunden, es fehlten jedoch diejenigen der Folgeprodukte **19** und **20**, die dort vermutlich durch die angegebenen isobaren Ionen C_{10}H_9 bzw. C_{10}H_8 verdeckt sind. Andererseits zeigte Anodendrosid-A bei m/e 142 eine deutliche Spitze, die nach Vermessung einem Ion $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_3$ entspricht. Ein Ion dieser Formel tritt auch im Massenspektrum des Anodendrosids-G auf (Fig. 8). Wir hatten vermutet, dass es dort aus dem Zuckeranteil entsteht und die Formel **132** besitzt. Ein solcher Stoff wäre aus Anodendrosid-A nicht zu erwarten. Es besteht aber die Möglichkeit, dass ein Ion derselben Bruttoformel hier aus dem Ring C entstanden ist und dass ihm schematisch die Struktur **177** zugeschrieben werden kann. Das Auftreten eines Ions der Formel $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_3$ kann daher nicht als Beweis gegen die Formel **155** angesehen werden. Dass Anodendrosid-A tatsächlich denselben Zucker enthält wie Anodendrosid-E₂, folgt aber besonders deutlich aus dem NMR.-Spektrum (Fig. 16 und Erläuterungen dasselbst). Gut vereinbar mit der vorgeschlagenen Formel **155** ist auch die Tatsache, dass Anodendrosid-A im Massenspektrum eine recht deutliche Spitze des Molekel-Ions (m/e 572) zeigt, genau wie dies für die Anodendroside-E₁ und -E₂ gefunden wurde. Bei den Anodendrosiden-F und -G, die einen anderen Zucker enthalten, ist das Molekel-Ion jeweils äusserst schwach. Beim Anodendrosid-A fehlen auch die Bruchstücke, die der Spaltung nach Schema s) (vgl. Formel **115**) entsprechen. Deutlich sind dagegen die Spitzen bei m/e 542 und 524, die eine Abspaltung von Formaldehyd anzeigen. Auch die Spitze bei m/e 472 (**156**), die der Spaltung nach Schema c) entspricht, ist deutlich, ebenso die Spitzen der Folgeprodukte bei m/e 454, 444, 443 und 426. Eine Spaltung nach Schema h) (*Retro-Diels-Alder*) findet beim Anodendrosid-A nur in sehr untergeordnetem Masse statt. Eine Spitze bei m/e 344, die dem Ion **162** entsprechen könnte, war so schwach, dass sie nicht vermessen werden konnte, dagegen waren die Folgeprodukte **163** und **164** eindeutig vorhanden, wenn auch nur als sehr schwache Spitzen sichtbar. Dies zeigt, dass Anodendrosid-A an C(5) keine HO-Gruppe trägt. Aus dem NMR.-Spektrum (Fig. 16) kann ferner abgeleitet werden, dass es an





C(5) die β -Konfiguration besitzen muss, da das 3α -H-Signal wieder eine sehr geringe Halbwertsbreite zeigt, entsprechend einem äquatorialen 3α -Proton.

Aus der Bruttoformel des Genins sowie einiger charakteristischer Bruchstücke im Massenspektrum folgt, dass es im Ring B noch ein Sauerstoff-Atom tragen muss. Falls dieses als HO-Gruppe vorläge, müsste eine zusätzliche Doppelbindung vorhanden sein. Dagegen spricht die auffallend geringe Polarität des Anodendrosids-A in Papierchromatogrammen (Fig. 3 bei [2]), wobei es viel rascher läuft als die Anodendroside-E₁, -E₂ und -G. Das zusätzliche O-Atom muss daher in Form einer Keto- oder Epoxy-Gruppe vorliegen. Die Zusammensetzung der Bruchstücke, die im Massenspektrum nach Schema i) und k) entstehen (**137** und **165** sowie **166** und **167**), sowie ihrer Folgeprodukte zeigt, dass sich eine Ketogruppe an C(7) oder ein Oxiraning in 7,8-Stellung befinden muss. Eine Ketogruppe an C(7) müsste aber bewirken, dass die zu ihr β -ständige HO-Gruppe an C(14) äusserst leicht abgespalten werden sollte, was nicht der Fall ist. Dies veranlasste uns, einen 7,8 β -ständigen Oxiraning anzunehmen, wie er beispielsweise in Tanghinigenin [24] und Sarverogenin [25] vorliegt. Diese Annahme wird durch das NMR.-Spektrum (Fig. 16) in überzeugender Weise bestätigt. Das Signal des 7α -H wird dort bei $\delta = 3,41$ ppm (Dublett, $J = 5,8$ Hz)

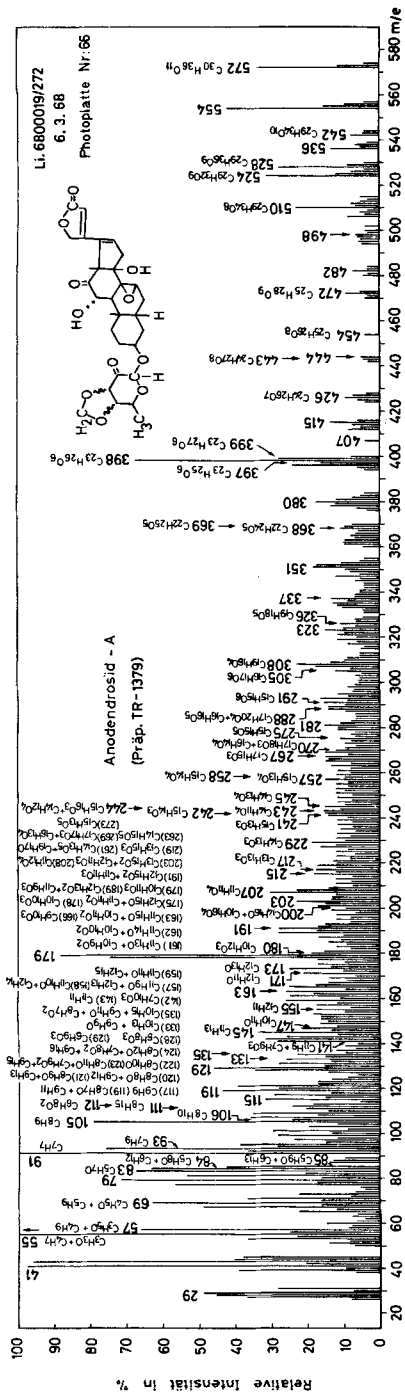


Fig. 11. Massenspektrum von Anodendrosid-A (155). Präp. J.P.-16 (TR-1379), Smp. 275-280°; Temp. der Ionenquelle 250°)

Versuchsweise Zuordnung: 572 = M; 554 = M - H₂O; 542 = M - CH₃O; 536 = M - 2H₂O; 528 = M - CO₂; 524 = M - CH₂O - H₂O; 510 = M - H₂O - CO₂; 506 = M - 2H₂O - CH₂O; 498 = M - CO₂ - CH₂O; 482 = 510 - CO; 472 = 156; 454 = 156 - H₂O; 444 = 157; 443 = 158; 426 = 157 - H₂O; 425 = 158 - H₂O; 416 = 161; 415 = 159 - 414 = 160; 407 = 158 - 2H₂O; 399 = 161 - HO; 398 = 161 - H₂O; 397 = 159 - H₂O; 396 = 160 - H₂O; 380 = 161 - 2H₂O; 379 = 159 - 2H₂O - CO; 378 = 160 - 2H₂O; 378 = 160 - H₂O - CO; 368 = 160 - H₂O - CO oder 161 - H₂O - CH₂O; 362 = 161 - 3H₂O; 352 = 161 - 2H₂O - CO; 351 = 159 - 2H₂O - CO; 347 = 362 - CH₃; 344 = 162 (sehr schwach); 337 = 352 - CH₃; 326 = 163; 323 = 159 - H₂O - CO₂ - CH₂O; 308 = 164; 305 = 165; 291 = 167; 288 = C₁₇H₃₀O₄? plus C₁₆H₁₆O₅; 165 - HO; 275 = 169; 273 = 168; 270 = C₁₇H₁₈O₃ (288 - H₂O) plus C₁₆H₁₄O₄ (165 - HO - H₂O); 269 = C₁₇H₁₇O₃ (270 - H) plus C₁₆H₁₅O₄ (165 - HO - CO₂) plus C₁₇H₁₅O₃; 263 = 185; 261 = C₁₄H₁₃O₅ (186) plus C₁₉H₁₇O₂; 258 = 169 - HO; 257 = 170; 245 = 190; 244 = C₁₈H₁₅O₃ (165 - HO - CO₂) plus C₁₄H₁₆O₄ (168 - CO₂); 243 = 187; 242 = 165 - HO - H₂O - CO; 241 = 165 - 2H₂O - CO; 229 = 168 - CO₂ oder 189; 219 = 174; 217 = 190 - CO oder 167 - CH₂O - CO₂ oder 174 - 2H; 209 = 171; 208 = 112 + H; 207 = 112; 203 = C₁₃H₁₅O₂ (175 + 2H) plus C₁₂H₁₁O₃; 201 = 175; 200 = C₁₄H₁₆O oder C₁₀H₁₆O₄; 191 = C₁₂H₁₅O₂ (172) plus C₁₁H₁₁O₃ (208 - HO); 189 = C₁₂H₁₃O₂ (176) plus C₁₁H₉O₃ (112 - H₂O); 180 = 113 + H; 179 = 113; 178 = 113 - H; 175 = C₁₃H₁₅O (180) plus C₁₀H₁₀O₂ (113 - HO); 167 = C₁₁H₁₃O (181) plus C₁₀H₉O₂ (113 - H₂O); 159 = C₁₁H₁₁O (181 - 2H) plus C₁₀H₁₁O₂ (112 - CO₂); 162 = C₁₁H₁₄O (180) plus C₉H₁₀O₂ (113 - HO); 157 = C₁₁H₉O (evtl. Hydroxyderivat von 183) plus C₁₂H₁₃; 155 = C₁₂H₁₃; 155 = C₁₀H₁₅ plus C₉H₁₁O (191) plus C₈H₇O₂ (analog 74); 133 = C₁₆H₁₃ plus C₉H₉O (191 - 2H); 142 = 177; 141 = C₁₁H₁₄ (183) oder C₇H₉O₃ (177 - H); 135 = C₁₀H₁₅ plus C₉H₁₁O (191) plus C₈H₇O₂ (analog 74); 133 = C₁₆H₁₃ plus C₉H₉O (191 - 2H); 129 = 19; 128 = 20; 124 = C₈H₁₂O (192) plus C₇H₈O₃ (178) plus C₆H₁₀; 123 = C₈H₁₁O (192 - H) plus C₄H₇O₂ (177 - H - H₂O) plus C₉H₁₅; 122 = 193; 121 = C₈H₁₀O (193 - H) plus C₉H₁₃; 120 = C₈H₁₂O (192) plus C₈H₈O (178) plus C₆H₁₀; 119 = C₈H₁₀O (evtl. 3,4-Dimethylphenol); 119 = C₈H₇O plus C₉H₁₂; 117 = 105 + H₂O (177 - CH₂O - CO) plus C₆H₁₂; 83 = 177 - CH₂O - CO; 69 = C₄H₆O (CH₃ - CH = CH - CO⁺ aus Zucker) plus C₅H₈; 57 = C₃H₅O (CH₃ - CH₂ - CO⁺) plus C₄H₇ (23 - H).

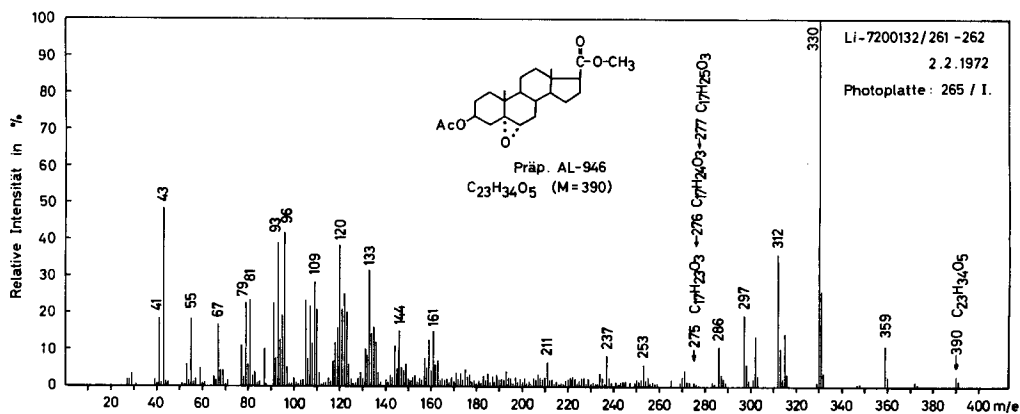


Fig. 12. Massenspektrum von 3β-Acetoxy-5,6α-epoxy-ätiansäure-methylester (194), Präp. AL-946, Smp. 162–165°; Temp. der Ionenquelle 206–210°⁶⁾

Versuchswise Zuordnung: 390 = M; 372 = M – H₂O; 359 = M – CH₃O; 348 = M – C₂H₂O (Keten); 330 = M – AcOH; 315 = M – AcOH – CH₃; 312 = M – AcOH – H₂O; 302 = M – AcOH – CO; 297 = M – AcOH – H₂O – CH₃; 286 = M – AcOH – CO₂; 277 = 195 + H (sehr schwach); 276 = 195 (schwach); 275 = 195 – H; 271 = M – AcOH – COOCH₃; 253 = M – AcOH – COOCH₃ – H₂O

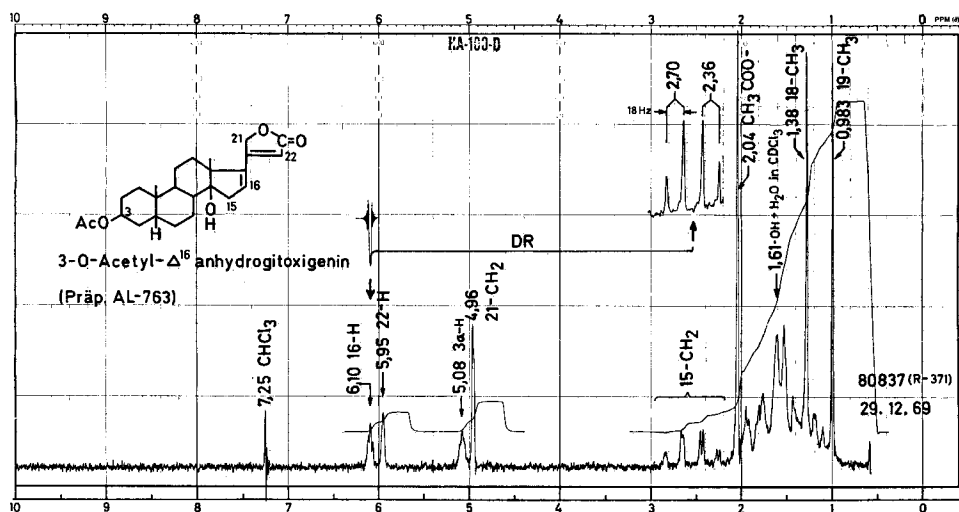


Fig. 13. Protonenresonanzspektrum von 3-O-Acetyl-Δ¹⁶-anhydrogitoxigenin (114), Präp. AL-763, Smp. 201–203°, in CDCl₃¹³⁾

Die Signale der zwei Protonen an C(15) erscheinen als AB-Spektrum bei 2,70 und 2,36 ppm mit $J = 18\text{ Hz}$, wobei das Proton bei 2,70 ppm eine nochmalige Aufspaltung von ca. 1,8 Hz und das Proton bei 2,36 ppm eine solche von 3 Hz durch das benachbarte olefinische Proton an C(16) erfährt, wie durch einen Doppelresonanzversuch bestätigt wurde. Die Zuordnung der anderen Signale ergab sich aus dem Vergleich mit bekannten Steroiden [18]

¹³⁾ Wir danken Herrn Dr. H. Fuhrer und A. Borer, Physikalischen Laboratorien der CIBA-GEIGY AG, Basel, auch hier bestens für diese Aufnahme und ihre Hilfe bei der Interpretation. Zur Messung diente ein Varian-Spektrograph HA-100.

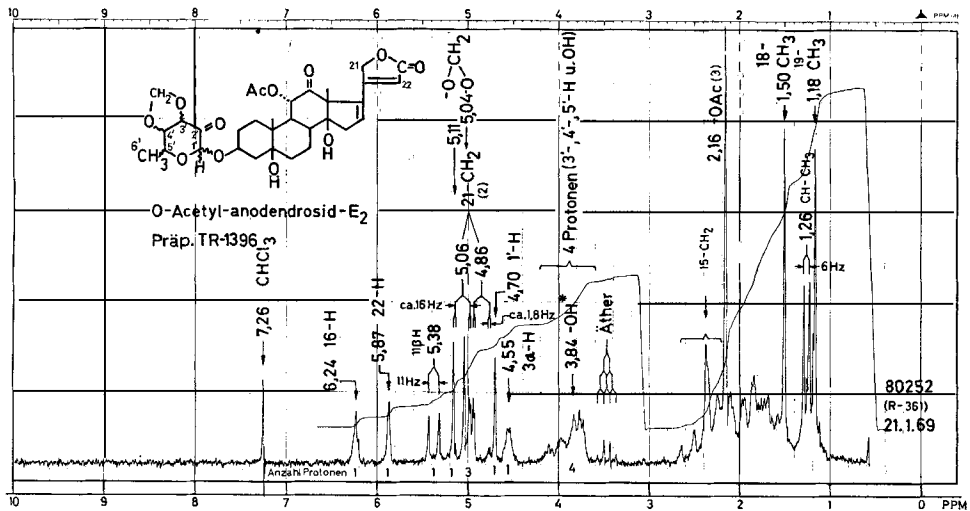


Fig. 14. Protonenresonanzspektrum von *O*-Acetyl-anodendrosid- E_2 (85), Pröp. TR-1396, Smp. 314–316°, in $CDCl_3^{13}$

Die Signale des 16-H ($\delta = 6,24$ ppm) und der $CH_2(15)$ -Gruppe (*AB*-Spektrum, teilweise verdeckt zwischen ca. 2 und 2,7 ppm) haben wir in Analogie zum 3-*O*-Acetyl- A^{16} -anhydro-gitoxigenin (Fig. 13) zugeordnet. Über die Zuordnung der Signale des 11 β -H sowie der Methylendioxy-Gruppe vgl. Text; die Zuordnung der übrigen Signale geschah in Analogie zu anderen bekannten Cardenoliden [18]. Ausserdem wurde durch Doppelresonanzversuche bewiesen, dass eines der drei Protonen des Zuckeranteils (zentriert bei ca. 3,95 ppm) die Aufspaltung des Signals der 6'-Methylgruppe (bei 1,26 ppm) zu einem Dublett ($J = 6$ Hz) bewirkt und dass die kleine Kopplung (ca. 1,8 Hz) im Signal der $CH_2(21)$ -Gruppe (*AB*-Spektrum, 4,86 und 5,06 ppm) als allylische Kopplung mit dem 22-H gedeutet werden muss [vgl. 17 b]

beobachtet, was genau den beim *O*-Acetyl-sarverogenin gefundenen Werten [25] entspricht. Mit Formel 155 lassen sich auch die im Massenspektrum des Anodendrosids-A beobachteten Ionen 165–176 sowie 185 und ihre Folgeprodukte gut deuten, vgl. Fig. 11 und Legende.

Schliesslich haben wir noch das Massenspektrum des 3 β -Acetoxy-5,6 α -epoxy-ätiansäure-methylesters (194) aufgenommen (vgl. Fig. 12), um zu prüfen, ob die 5,6 α -ständige Epoxygruppe auch die Retro-*Diels-Alder*-Spaltung (Schema h)) begünstigt. Das ist offensichtlich nicht der Fall, das Ion mit m/e 276 entspr. Formel 195 ist nur sehr schwach. – Das Experiment zeigt, dass aus der Tatsache, dass die Spaltung nach Schema h) im Anodendrosid-A nur in recht bescheidenem Masse eintritt, sehr wenig über die Stellung des Epoxidringes ausgesagt werden kann.

Nachweis der Ketolgruppe. – Es mag noch erwähnt werden, dass wir auch versucht haben, die in den Anodendrosiden postulierte Ketolgruppierung (11 α -Hydroxy-12-oxo-Gruppe) durch Farbreaktionen nachzuweisen. Eine solche Gruppierung mit zusätzlicher 14 β -Hydroxygruppe ist z. B. im Sinogenin [27] und Sarverogenin [25] vorhanden. Beide Stoffe geben mit Natriumperjodat-Benzidin [28] auf SiO_2 [3c, bes. p. 2299] eine positive Reaktion. Gleich verhielten sich die Anodendroside- E_1 , - E_2 und -G, während die Reaktion bei -F recht schwach und beim Anodendrosid-A ganz nega-

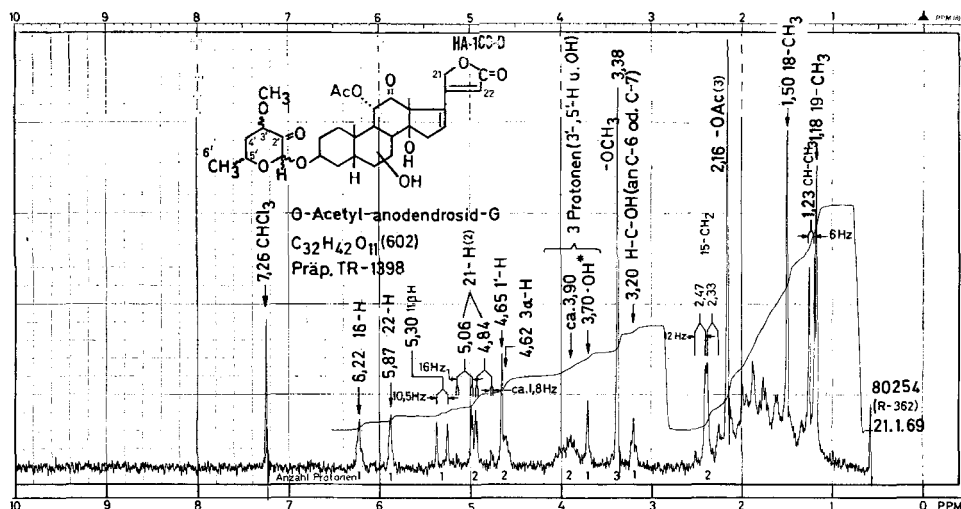


Fig. 15. Protonenresonanzspektrum von *O*-Acetyl-anodendrosid-G (116), Pröp. TR-1398, Smp. 245–246°, in CDCl_3^{13}

Die Zuordnung der Signale $11\beta\text{-H}$ ($\delta = 5,30$ ppm), der $\text{CH}_2(15)$ -Gruppe (*AB*-Spektrum $\delta = 2,33$ und $4,47$ ppm), des 16-H ($\delta = 6,22$ ppm), der $\text{CH}_2(21)$ -Gruppe (*AB*-Spektrum, $\delta = 4,84$ und $5,06$ ppm) und des 22-H ($\delta = 5,87$ ppm) geschah wie bei Fig. 14. Zum Signal bei $\delta = 3,20$ ppm (Tripletts entspr. 1 Proton) vgl. Text. Die Zuordnung der weiteren Signale des Steroidanteils geschah wie üblich [18]. – Das breite Signal bei $3,90$ ppm (entspr. 2 Protonen) haben wir den Protonen an C(3') und C(5') im Zuckeranteil zugeordnet. Wie beim Anodendrosid- E_2 (Fig. 14) bewiesen, dürfte das eine davon (an C(5')) auch hier für die Aufspaltung des Signals der 6'-Methylgruppe bei $\delta = 1,23$ ppm ($J = 6$ Hz) verantwortlich sein. Das zweite Proton (an C(3')), das an demselben C-Atom wie die Methoxygruppe gebunden sein muss, haben wir wegen seiner grossen paramagnetischen Verschiebung ($0,76$ ppm gegenüber dem $3\alpha\text{-H}$ bei $\delta = 3,14$ ppm im 3β -Methoxypregnan (eigene Messung, R-3, unpubliziert)) in α -Stellung zur Carbonylgruppe gesetzt. Eine gewisse Stütze für diese Annahme ist der Befund von House & Thompson [26] [vgl. 18 d, p. 241], die für das $2\beta\text{-H}$ in 2α -Methoxy-*trans*-1-decalon (mit äquatorialer Methoxygruppe) den Wert von $3,58$ ppm fanden

tiv war. Das letztgenannte Glykosid zeigt auch im NMR.-Spektrum gewisse Anomalien (siehe Text bei Fig. 16), die darauf deuten, dass seine 11ständige HO-Gruppe (möglicherweise wegen Konformationsunterschieden) eine axiale Lage einnimmt. Dies könnte für das Ausbleiben der Farbreaktion verantwortlich sein, denn die Reaktion mit HJO_4 ist bei Ketolen mit sekundärer HO-Gruppe stark vom räumlichen Bau abhängig.

Experimenteller Teil

Ausführung der Natriumperjodat-Benzidin-Reaktion auf SiO_2 . Gegenüber der früheren Vorschrift [3c, bes. p. 2299] kann die Ausführung etwas vereinfacht werden. Substanz (ca. $0,05$ – $0,1$ mg) in Methanol gelöst wird auf die SiO_2 -Platte aufgetropft und trocknen gelassen. Dann wird mit 1 proz. NaJO_4 in Wasser/Methanol $1:2$ leicht gesprüht und 30 Min. offen bei 20° liegengelassen. Anschliessend wird mit $0,3$ proz. Benzidin in Wasser/Methanol $1:9$ gesprüht. Als positiver Befund gilt ein weisser Fleck auf blauem Grund, der aber nur 5 – 10 Min. haltbar ist. Die Reaktion war bei Digitoxigenin und Di-*O*-acetyl-sarverogenin erwartungsgemäss völlig negativ, bei Sinogenin und Sarverogenin eindrucksvoll positiv.

Nachweis von Formaldehyd im Anodendrosid- E_2 (84). – a) Kolorimetrische quantitative Bestimmung⁹⁾. $2,09$ mg Anodendrosid- E_2 wurden mit $0,5$ ml Kiliani-Mischung [22] in einem kleinen Bom-

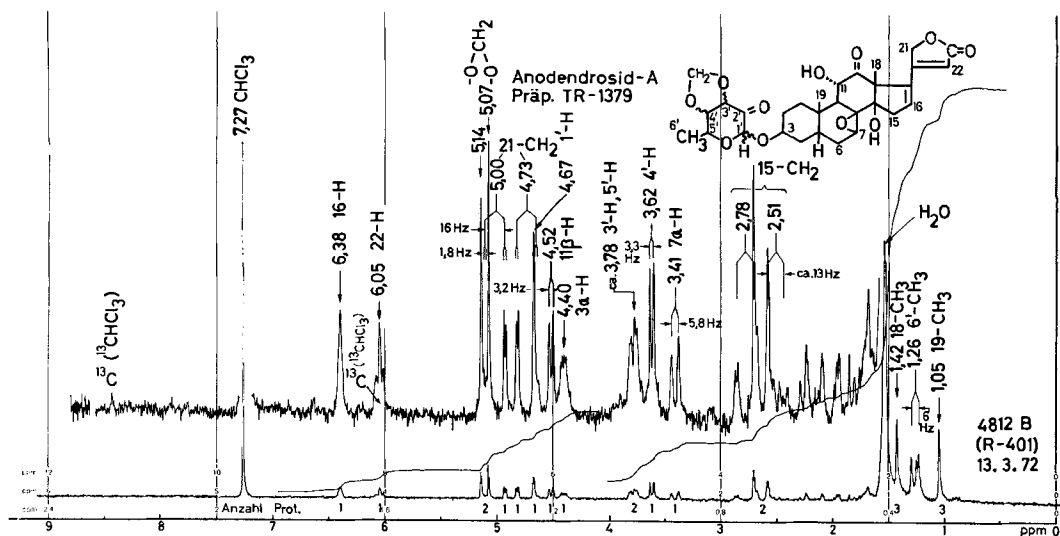


Fig. 16. Protonenresonanzspektrum von Anodendrosid-A (**155**), Pröp. TR-1379, Smp. 275–280°, in CDCl_3 ¹³)¹⁴

Die Signale bei 1,26 ppm (Dublett mit $J = 6$ Hz, sekundäre 6'-Methylgruppe), 4,67 ppm (Singulett, 1'-H) und die beiden Singulette bei 5,07 und 5,14 ppm (2 Protonen einer Methylendioxygruppe in einem 5gliedrigen Ring [21]) bestätigen, dass Anodendrosid-A denselben Zucker wie Anodendrosid-E₂ enthält (vgl. Fig. 14).

Falls die von uns vorgeschlagene Formel **155** richtig ist, so fällt auf, dass das Signal des 11 β -H (Dublett bei 4,52 ppm, $J = 3,2$ Hz) im Vergleich zu E₂ (Fig. 14) und G (Fig. 15) eine sehr kleine Kopplung mit dem 9 α -H aufweist, was auf eine Verkleinerung des Raumwinkels zwischen zwei Protonen hinweist. Die grosse Kopplung ($J = \text{ca. } 11$ Hz), wie sie bei E₂ und G, aber auch beim Sarverogenin [25] beobachtet wird, entspricht der diaxialen Anordnung (Raumwinkel ca. 180°) dieser zwei Protonen. Eine solche ergibt sich nach Modell für normale 11 α -Hydroxysteroiden mit C-Ring in Sesselform. Die kleine Kopplung ($J = 3,2$ Hz) würde einer 11 β -Hydroxygruppe mit äquatorialem 11 α -H entsprechen. Das Modell zeigt aber auch, dass sich bei einem 11 α -Hydroxyderivat der Raumwinkel der CH-Bindungen der zwei Protonen (9 α -H und 11 β -H) auf ca. 120° verkleinert, wenn der C-Ring die Wannenform annimmt; die kleine Kopplung wäre dann ebenfalls in Einklang mit der Karplus-Gleichung [18c, p. 49]. Auf Grund des NMR.-Spektrums ist Anodendrosid-A daher entweder ein 11 β -Hydroxyderivat mit normalem C-Ring in Sesselform oder ein 11 α -Hydroxyderivat mit C-Ring als Wanne. Phytochemische Überlegungen sprechen eher für die letztere Annahme, entspr. **155**. Falls diese richtig ist, unterscheidet sich Anodendrogenin-A (**161**) von Sarverogenin lediglich durch die zusätzliche Doppelbindung an C(16). Es scheint auf den ersten Blick wenig verständlich, dass durch diese Doppelbindung der C-Ring, der im Sarverogenin noch Sesselform haben muss, in die Wannenform gebracht wird. Das Modell zeigt aber, dass bei 11 α -Hydroxy-12-oxo-steroiden durch den zusätzlichen Oxiranring in 7,8 β -Stellung der Spannungsunterschied zwischen Sessel und Wanne im C-Ring sehr gering sein dürfte. Es scheint uns daher durchaus möglich, dass die zusätzliche 16ständige Doppelbindung den kleinen zusätzlichen Beitrag liefert, der nötig ist, um die Wannenform zu begünstigen.

benrohr eingeschmolzen und 2 Std. auf 115° erhitzt. Dann wurde der Inhalt mit BaCO_3 neutralisiert, mit wenig Wasser in eine Wiesenberger-Apparatur [29] übergeführt und fast zur Trockne eingedampft. Nach Zugabe von 2 ml Wasser wurde wieder destilliert und dies mehrmals wiederholt, bis total 25 ml Destillat vorlagen (Versuche mit 50 ml Destillat gaben identische Werte). Von die-

¹⁴) Aufgenommen mit ca. 0,15 mg Substanz auf einem Fourier-transform-90-MHz-Protonenresonanz-Spektrometer Bruker HX-90/15 mit Nicolet-1083-Computer.

sem Destillat kamen aliquote Teile zur Formaldehydbestimmung, die mit Chromotropsäure-Schwefelsäure [23] durchgeführt wurde. Als Vergleichslösung wurde eine konz. Formaldehydlösung, deren Gehalt mit der Hydrogensulfatmethode bestimmt wurde, auf die Messkonzentration verdünnt.

Als Testsubstanz diente ferner krist. Triformalmanit ($C_9H_{14}O_6$) [30a], den wir nach *Ness et al.* [30b] bereitet haben. Drei separate Bestimmungen gaben 35,9, 35,5 und 35,6%, im Mittel 35,7% oder 2,6 (statt 3) Mol, also 86,4% des theoretischen Wertes von 41,3%.

Mit total 2,09 mg Anodendrosid-E₂ wurden zwei Messungen ausgeführt. Gef. 4,28% und 4,42% HCHO, im Mittel 4,35% entspr. 0,84 Mol (theoretischer Wert 5,2%). Wird Triformalmanit als Bezugswert genommen (statt der wässrigen Formaldehydlösung), so errechnet sich für Anodendrosid-E₂ ein Formaldehydwert von 0,97 Mol.

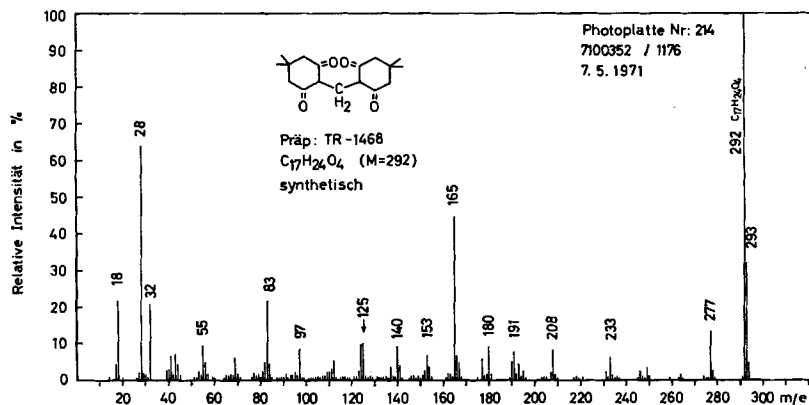
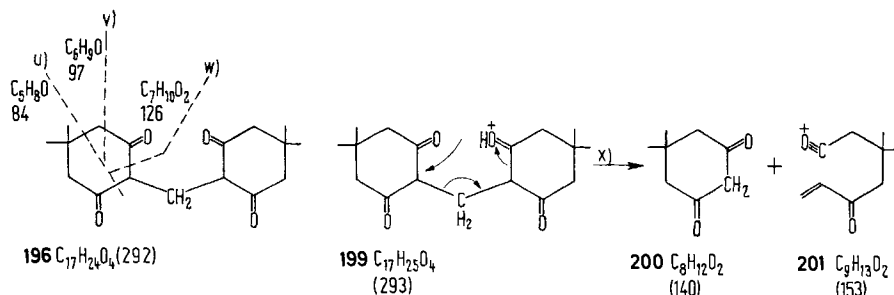


Fig. 17. Massenspektrum von authentischem Formaldimedon (**196**), Präp. TR-1468, Smp. 191–192°, bereitet aus käuflichem Formaldehyd; Temp. der Ionenquelle 70°⁶⁾

Wir glauben, die wichtigsten Ionen durch die Spaltungs-Schemata ^{u)} ^{v)} ^{w)} ^{x)} und wie folgt deuten zu können, wobei die Bildung der Ionen **200** und **201** sich am einfachsten aus der protonierten Form **199** erklären lässt oder aus dem Enol von **196** (analog den zweikernigen Phloroglucinderivaten [31]). – Versuchsweise Zuordnung: 292 = M; 277 = M – CH₃; 274 = M – H₂O; 264 = M – CO; 259 = M – H₂O – CH₃; 249 = M – CH₃ – CO; 246 = M – CO – H₂O; 236 = M – 2CO; 233 = M – CO – CH₃O; 231 = M – CH₃ – CO – H₂O; 221 = M – CH₃ – 2CO; 218 = M – 2CO – H₂O; 208 = M – C₅H₈O^{u)}; 195 = M – C₆H₈O^{v)}; 193 = 208 – CH₃; 191 = 208 – HO; 180 = 208 – CO; 177 = 195 – H₂O; 165 = M – C₇H₁₀O₂^{w)} – H; 153 = **201**; 140 = **200**; 125 = C₇H₁₀O₂^{w)} – H; 112 = **200** – CO; 97 = C₆H₈O^{v)}; 83 = C₅H₈O^{u)} – H (= (CH₃)₂C=CH–CO⁺). Das Spektrum zeigt auch eine Anzahl doppelt geladener Ionen z. B. bei *m/e* 138,5 = 277⁺⁺; 132,5 = 265⁺⁺; 131,5 = 263⁺⁺; 128,5 = 257⁺⁺; 125,5 = 251⁺⁺; 124,5 = 249⁺⁺; 123,5 = 247⁺⁺; 111,5 = 223⁺⁺; 110,5 = 211⁺⁺; 97,5 = 195⁺⁺; 96,5 = 193⁺⁺ u. a.



⁶⁾ «Gemisch» = Mischung gleicher Volumenteile Äthylacetat, Chloroform und Methanol.

b) *Präparative Isolierung als Dimedonverbindung.* 6 mg Anodendrosid-E₂ vom Smp. 323–330° wurden mit 0,5 ml *Kilian-Mischung* [22] in kleinem Bombenrohr im Vakuum eingeschmolzen und 3 Std. auf 120° erhitzt. Dann wurde mit 0,5 ml Wasser in kleinen Destillierkolben gespült, mit 100 mg Na-Acetat-trihydrat versetzt und langsam bis zur Trockne destilliert. Der Rückstand wurde mit 0,4 ml Wasser versetzt und nochmals destilliert, und dies noch einmal wiederholt. Die in einem kleinen Destillierkolben aufgefangenen Destillate wurden zur Entfernung überspritzter Rückstandspuren nochmals bis zur Trockne destilliert. Das farblose essigsäure Destillat (ca. 1,8 ml) wurde mit 6 mg reinem Dimedon 2 Std. auf 100° erhitzt, wobei sich Kristalle ausschieden. Nach Erkalten wurde abgenutscht. Erhalten wurden 1,7 mg Rohprodukt, Smp. 137–155° (Gemisch).

In einem zweiten Versuch wurden 9 mg Anodendrosid-E₂ gleich wie oben behandelt. Die zuletzt erhaltenen wässrigen Mutterlaugen der rohen Dimedonverbindung wurden im Vakuum noch ein wenig eingengt, wobei noch eine Spur rohes Kristallgemisch resultierte; total wurden 6 mg rohe Kristalle erhalten. Ausschütteln der verbliebenen wässrigen Mutterlaugen mit Chloroform/Äther gab noch 6 mg Dimedon, Smp. 143–146°.

Zur Trennung wurden die 6 mg rohes Kristallgemisch an 300 mg Al₂O₃ (*Woelm*, neutral, Akt. II) nach der Durchlaufmethode chromatographiert.

Die mit Benzol/Äther und reinem Äther eluierten Anteile (0,5 mg, Fraktionen 1–3) gaben aus Pentan 0,2 mg Präp. TR-1469 in farblosen, rhombisch begrenzten Kristallen, Smp. 150–152°, Massenspektrum vgl. Fig. 18.

Die Fraktionen 4–6 (eluiert mit Äther sowie Äther + 1–2% «Gemisch»¹⁵⁾) gaben keinen wägbareren Rückstand.

Die Fraktionen 6–13 (0,5 mg, eluiert mit Äther + 4–60% «Gemisch» sowie reinem «Gemisch») gaben aus Äther/Pentan 0,4 mg krist. Präp. TR-1467 vom Smp. 189–191°. Die Mischprobe mit authentischem Formaldimedon, Smp. 191–192°, schmolz gleich. Massenspektrum vgl. Fig. 17.

Die Fraktionen 14–18 (4,5 mg, eluiert mit reinem «Gemisch») gaben aus Äther 4 mg krist. Dimedon, Smp. 143–146°. Reines Dimedon zeigte Smp. 146–147°, Misch-Smp. 144–146°.

Das Spektrum des Präparats TR-1467 (Formaldimedon aus Anodendrosid-E₂) vom Smp. 191–192° zeigte bei *m/e* 306 noch eine schwache Spitze, die dem Homologen **197** (aus Acetaldehyd) entsprechen dürfte. Alle weiteren Spitzen waren praktisch gleich wie in Fig. 17.

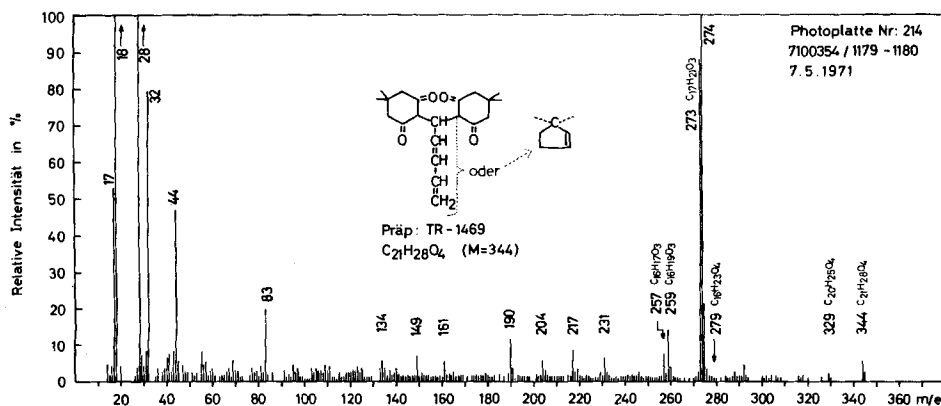


Fig. 18. Massenspektrum von Präp. TR-1469 aus Anodendrosid-E₂ vom Smp. 150–152°; Temp. der Ionenquelle 70°⁶⁾

Versuchsweise Zuordnung: 344 = *M* (= **198** ?); 329 = *M* - CH₃; 292 = *M* - 54 (C₄H₆O ?); 279 = *M* - C₅H₅; 274 = *M* - C₄H₆O ?; 273 = *M* - C₄H₇O; 259 = *M* - C₅H₈O^{w)} - H; 257 = *M* - C₅H₁₁O ?; 217 = *M* - C₇H₁₀O₂^{w)} - H. Wir hatten daran gedacht, dass die Spitze bei *m/e* 274 (C₁₇H₂₂O₃) dem Anhydroformaldimedon [32] zukommen könnte; die Spitzen höherer Masse wären dann Verunreinigungen oder Rekombinationen. Nach *Vorländer* [32] zeigt aber Anhydroformaldimedon einen Smp. von 171°, sodass die genannte Annahme unwahrscheinlich ist

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *A. Saner, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 55, 1221 (1972).
- [2] *J. Polonia, Herb. Jäger., J. von Euw & T. Reichstein*, *Helv.* 53, 1253 (1970).
- [3] a) *A. Lardon, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 1941 (1969); b) *F. Brüscheweiler, W. Stöcklin, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 2086 (1969); c) *F. Brüscheweiler, K. Stöckel & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 2276 (1969).
- [4] *T. R. Watson & S. E. Wright*, *Chemistry & Ind.* 1954, 1178; *Austral. J. Chemistry* 9, 497 (1956); c) *idem*, *ibid.* 10, 79 (1957); *R. G. Coombe & T. R. Watson*, *ibid.* 17, 573 (1964).
- [5] *G. Hesse, F. Reicheneder & H. Eysenbacht*, *Liebigs Ann. Chem.* 536, 67 (1938) bes. p. 74 und 86.
- [6] *L. Fieser & M. Fieser*, «Steroide», übersetzt von *H. Grünewald*, Verlag Chemie, Weinheim 1961.
- [7] *G. Spiteller*, *Z. analyt. Chem.* 197, 1 (1963); *G. Spiteller*, «Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen» (Verlag Chemie GmbH., Weinheim 1966); *M. Spiteller-Friedmann & G. Spiteller*, «Massenspektren von Steroiden», in *Fortschr. chem. Forsch.* 12 (3), 440–537, bes. p. 485 und 491–493 (Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1969).
- [8] *L. Meister, H. Kaufmann, W. Stöcklin & T. Reichstein*, *Helv.* 53, 1659 (1970), Fig. 15.
- [9] *H. Heusser, Nelly Frick, E. V. Jensen & Pl. A. Plattner*, *Helv.* 32, 1334 (1949).
- [10] *Pl. A. Plattner, L. Ruzicka, H. Heusser & E. Angliker*, *Helv.* 30, 1073 (1947); *Pl. A. Plattner, A. Serge & O. Ernst*, *Helv.* 30, 1432 (1947); *P. Speiser & T. Reichstein*, *Experientia* 3, 323 (1947); *Helv.* 30, 2143 (1947); 31, 623 (1948).
- [11] a) *P. Brown, Y. Kamano & G. R. Pettit*, *Org. Mass Spectrometry* 6, 47 (1972); b) *P. Brown, F. Brüscheweiler & G. R. Pettit*, *Helv.* 55, 531 (1972); c) *Y. Kamano, G. R. Pettit & P. Brown*, *J. org. Chemistry*, in press.
- [12] *H. Schröter, R. Rees & K. Meyer*, *Helv.* 42, 1385 (1959).
- [13] *B. M. Kapur, H. Allgeier & T. Reichstein*, *Helv.* 50, 2147 (1967); vgl. auch [1].
- [14] *T. Reichstein*, «Cardenolid- und Pregnanglykoside», *Naturwiss.* 54, 53–67 (1967); vgl. auch *Evonogenin (1 β , 3 β , 5 β , 14 β -Tetrahydroxy-cardenolid)*: *S. G. Kislichenko, I. F. Makarevich & D. G. Kolesnikov*, *Khim. Prir. Soedin* 5 (3), 193 (1969) [*Chem. Abstr.* 71, 105160w (1969)]; *S. G. Kislichenko, I. F. Makarevich, I. D. Kovalev & D. G. Kolesnikov*, *ibid.* 5 (5), 386 (1969) [*Chem. Abstr.* 72, 79305w (1970)].
- [15] *H. Budzikiewica, C. Djerassi & D. H. Williams*, «Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectroscopy», Vol. II (Holden-Day Inc., San Francisco, London, Amsterdam 1964), und frühere Lit. daselbst; *idem*, «Mass Spectroscopy of Organic Compounds» (*ibid.* 1967).
- [16] a) *P. Brown, F. R. Brüscheweiler, G. R. Pettit & T. Reichstein*, *J. Amer. chem. Soc.* 92, 4470 (1970); b) *idem*, *Org. Mass Spectrometry* 5, 573 (1971).
- [17] a) *K. Meyer*, *Helv.* 29, 718 (1946); b) *A. Hunger & T. Reichstein*, *Helv.* 33, 76 (1950); c) *H. M. E. Cardwell & Sydney Smith*, *J. chem. Soc.* 1954, 2012.
- [18] a) *R. F. Zürcher*, *Helv.* 44, 1380, 1755 (1961); 46, 2054 (1963); b) *K. Tori & K. Aono*, «NMR. Studies on Steroids. X. $\Delta^{20(22)}$ -Cardenolides», *Ann. Rep. Shionogi Res. Lab. (Osaka)* 15, 130 (1965); c) *N. S. Bhacca & D. H. Williams*, «Application of NMR. Spectroscopy in Organic Chemistry», Holden-Day Inc., San Francisco 1966; d) *L. M. Jackmann & S. Sternhell*, «Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry», 2. ed. Pergamon Press, Oxford u. a. 1969.
- [19] *H. H. Sauer, Ek. Weiss & T. Reichstein* *Helv.* 49, 1634 (1966).
- [20] *K. Huber, Horst Linde & K. Meyer*, *Helv.* 50, 1944 (1967).
- [21] *T. A. Crabb & R. C. Cookson*, *Tetrahedron Letters* Nr. 12, 679 (1964).
- [22] *H. Kiliani*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 63, 2866 (1930).
- [23] *C. E. Brückner & H. R. Johnson*, *Ind. Engng. Chem., analyt. Ed.* 17, 400 (1945); *N. D. Cheronis & T. S. Ma*, «Organic Functional Group Analysis by Micro and Semimicro Methods», Interscience, New York 1962; *M. J. Houle, D. E. Long & D. Smette*, *Analytical Letters*, 3 (8), 401 (1970).
- [24] *E. Flury, Ek. Weiss & T. Reichstein*, *Helv.* 48, 1113 (1965).
- [25] *H. Fuhrer, R. F. Zürcher & T. Reichstein*, *Helv.* 52, 616 (1969).
- [26] *H. O. House & H. W. Thompson*, *J. org. Chemistry* 28, 164 (1963).
- [27] *O. Renkonen, O. Schindler & T. Reichstein*, *Croatica chem. Acta* 29, 239 (1957); *Helv.* 42, 160, 182 (1959).

- [28] J. A. Cifonelli & F. Smith, *Analyt. Chemistry* 26, 1132 (1954); H. J. Gordon, W. Thornberg & L. N. Weran, *ibid.* 28, 849 (1956); D. F. Mowery, *ibid.* 29, 1560 (1957).
- [29] E. Wiesenberger, *Mikrochem.* 33, 51 (1947).
- [30] a) M. Schulz & B. Tollens, *Liebig. Ann. Chem.* 289, 20 (1896); b) A. T. Ness, R. M. Hann & C. S. Hudson, *J. Amer. chem. Soc.* 65, 2215 (1943).
- [31] M. Lounasmaa, A. Karjalainen, C.-J. Widén & A. Huhtikangas, *Acta chem. scand.* 26, 89 (1972); vgl. M. Lounasmaa, C.-J. Widén & T. Reichstein, *Helv.* 54, 2850 (1971).
- [32] D. Vorländer, *Z. analyt. Chem.* 77, 241 (1929); G. Klein & H. Linser, *Mikrochemie Pregl Festschr.* 1929, 204; *Chem. Zentralbl.* 1930, I. 2085; F. C. Horning & M. G. Horning, *J. Org. Chemistry* 11, 95 (1946).

163. The Epimerization of Trimethylsilyl Ethers During Their Gas Chromatographic Analysis

by Jacques Kagan and David A. Harrison

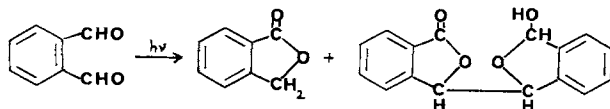
Chemistry Department, University of Illinois at Chicago Circle,
Chicago, Illinois 60607

(9. V. 72)

We are grateful to the donors of the *Petroleum Research Fund*, administered by the *American Chemical Society*, to the *National Science Foundation* and to the *Research Board* of the University of Illinois for support of this research, to Dr. B. Willhalm for useful comments and to the Department of Organic Chemistry, University of Geneva, for its hospitality (1971/72).

Trimethylsilylation is the most powerful method presently available for increasing the volatility of sugars and other hydroxylated molecules, and making them suitable for gas chromatographic analysis [1]. Its major characteristics are ease of formation of the derivative, stereochemical reliability and thermal stability. Thus, anomeric sugars such as α - and β -glucose were reported to give different trimethylsilyl (TMS) ethers, which had different retention times [1]. In contrast, we now wish to present evidences for a thermal isomerization of TMS ethers occurring during their glc analysis.

The photolysis of *o*-phthalaldehyde (OPT) gives phthalide and dimers [2], the product composition being solvent and concentration dependent [2] [3] [4].



The dimer structure has three chiral centers. Oxidation of the hemiacetal removes one of them, and Cohen, Pinkey & Smith [5] reported that they obtained an oxidized dimer which was exclusively *meso*, corresponding to an *erythro* structure for their original dimer. By a combination of glc and nmr analyses, we found that the oxidized dimers were, in fact, a mixture of *d,l* and *meso* in a ratio depending on the nature of the solvent used in the photolysis [3] [4]. While the dimers obtained in heptane or chloroform were almost exclusively *erythro*, photolysis in dimethylformamide yielded a dimer containing ca. 40% of *threo* products.