

- [18] *J. K. Kochi & P. J. Krusic*, J. Amer. chem. Soc. *90*, 7157 (1968); vgl. auch *C. Walling & W. Thaler*, *ibid.* *83*, 3877 (1961); *H.-J. Hansen, H. R. Waespe & H. Schmid*, IV. IUPAC – Symposium on Photochemistry, Baden-Baden 1972; Contributed papers, p. 83.
- [19] *A. Padwa & S. C. Clough*, J. Amer. chem. Soc. *92*, 5803 (1970); *A. Padwa, L. Brodsky & S. C. Clough*, Chem. Commun. *1971*, 417; *idem*, J. Amer. chem. Soc. *94*, 6767 (1972).
- [20] *W. G. Dauben*, IV. IUPAC – Symposium on Photochemistry, Baden-Baden 1972.
- [21] *M. P. Cava & A. A. Deana*, J. Amer. chem. Soc. *81*, 4266 (1959); vgl. auch *J. D. Roberts, A. Streitwieser & C. M. Regan*, *ibid.* *74*, 4579 (1952).
- [22] *J. Meinwald & D. A. Seeley*, Tetrahedron Letters *1970*, 3739, 3743.
- [23] *K. Grob*, Helv. *48*, 1362 (1965); *51*, 718 (1968).
- [24] *P. Cerutti & H. Schmid*, Helv. *45*, 1992 (1962).
- [25] *L. M. Jackman & J. W. Lown*, J. chem. Soc. *1962*, 3776; vgl. auch *J. v. Braun*, Liebigs Ann. Chem. *451*, 46 (1927).
- [26] *W. Foerst*, «Neuere Methoden der präparativen Organischen Chemie I», 3. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1949, S. 129.
- [27] *H. R. Snyder & F. X. Werber*, J. Amer. chem. Soc. *72*, 2965 (1950); Org. Syntheses, Coll. Vol. *3*, 798 (1955); *M. S. Newman & S. Seshadri*, J. org. Chemistry *27*, 76 (1962).
- [28] *J. Demaecker & R. H. Martin*, Nature *173*, 1266 (1954); Bull. Soc. chim. Belge *68*, 365 (1959).
- [29] *J. P. Quillet & J. Dreux*, Bull. Soc. chim. France *1966*, 645.
- [30] *E. A. Braude, L. M. Jackman, R. P. Linstead & G. Lowe*, J. chem. Soc. *1960*, 3133.

305. Bemerkungen zur Überführung von Resibufogenin in Bufalin¹⁾ 2)

Über Krötengifte, 41. Mitteilung

von **Emil Hauser, Hort H. A. Linde** und **Sigrid Spengel**

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

(12. X. 72)

Zusammenfassung. Bei der Reduktion von Resibufogenin **1** mit LiAlH_4 bei tiefer Temperatur entsteht nicht wie von *Kondo* [11], *Pettit* [7], [8] und *Sondheimer* [5] beschrieben Bufalin **2**, sondern das Hemiactal **7**.

Schon bevor die Struktur der herzwirksamen Steroide vom Bufo-Scilla-Typ ganz erarbeitet war, wurden Teilsynthesen des ungesättigten Rings (α -Pyrone) der Seitenkette versucht. So existiert ein Patent von *Leopold Ruzicka* aus dem Jahre 1944 [2], das aber mit den Arbeiten *Elderfields* [3] aus der gleichen Zeit unvereinbar ist. Im Jahre 1962 berichteten *Bertin et al.* [4] über eine Bufadienolidsynthese, die allerdings ohne die alle natürlich vorkommenden Bufadienolide charakterisierende 14β -Sauerstofffunktion ausgeführt wurde. Einige Jahre später beschrieben dann gleich drei Arbeitsgruppen [5–8] erfolgreich durchgeführte Synthesen. Von diesen interessierten uns die von *Pettit* [7–8] sowie die von *Sondheimer* [5] deshalb besonders, weil beide das Epoxid in Resibufogenin **1** mit LiAlH_4 in Äther bei etwa -60° zum 14β -Alkohol (= Bufalin (**2**)) reduziert haben wollen, eine Reaktion, die wir schon des öfteren ergebnislos versucht hatten. – In einer früheren Arbeit war die Reduktion von Marinobufagin **3** zu Telocinobufagin **4** mit NaBH_4 resp. BH_3 beschrieben worden [9]. Heute

¹⁾ 40. Mitteilung, siehe [1].

²⁾ Teilweise vorgetragen im Pharm. Institut der Freien Universität Berlin am 17. 5. 1971.

wissen wir, dass diese Reduktion nicht eintritt und dass damals vielmehr das isolierte Telocinobufagin **4** schon im Ausgangsmaterial als Verunreinigung vorhanden war³⁾. Vor kurzem hat *Kamano* diese Reduktion eines 14 β ,15 β -Epoxy-bufadienolids wieder aufgegriffen und gefunden [10], dass sich bei längerer Einwirkung von NaBH₄ auf Resibufogenin **1** die Substanz **5** bildet.

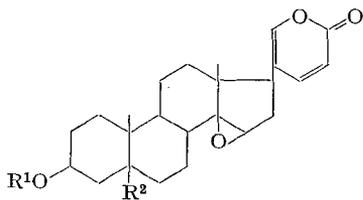
Die Reduktionsversuche von *Sondheimer* [5] und *Pettit* [7–8] gehen auf ein japanisches Patent zurück [11], in dem unter analogen Bedingungen die Reduktion von Resibufogenin **1** zu Bufalin **2** in 67proz. Ausbeute beschrieben wurde. Interessant ist die Feststellung anderer Autoren, dass ein 14 β ,15 β -Steroid-epoxid mit LiAlH₄ schwierig vollständig zu reduzieren ist [12–14], und dass *Pettit* neuerdings zur Reduktion des 14 β ,15 β -Epoxids **6** drei Stunden in Tetrahydrofuran rückfliessend erhitzt [15], während er für die Reduktion von **1** zu **2** lediglich 1,5 Stunden bei –60° benötigte [8].

Wir haben die Reduktion von Resibufogenin unter allen beschriebenen Bedingungen [5] [8] [11] mehrmals wiederholt, z. T. sogar mit Original *Pettit*'schem LiAlH₄⁴⁾. Immer stellten wir fest, dass kein Bufalin **2** gebildet wird. Es entsteht eine im beschriebenen DC.-System [8] etwa gleichweit wie Bufalin **2** wandernde, aber mit Schwefelsäure zunächst anders anfärbende Substanz, und zwar als *erste* und Hauptsubstanz. Sie wurde durch Chromatographie isoliert. Aufgrund der folgenden Ergebnisse formulieren wir sie als Hemiacetal **7**, wobei an C(24) ein Gemisch des α - und β -Hemiacetals entsteht, was aus dem NMR.-Spektrum von **7** mit zwei ineinander verschachtelten Tripletten bei $\sim 4,93$ ppm (Aufspaltung ~ 6 Hz) und 5,0 ppm (Aufspaltung $\sim 4,5$ Hz) ersichtlich ist. Das MS.-Spektrum ergibt die Summenformel C₂₄H₃₄O₄ (das Ausgangsmaterial hat also in der Reaktion 4 Wasserstoffatome aufgenommen). Im IR.-Spektrum fehlt jegliche Carbonylabsorption. Reichlich vorhanden dagegen sind Banden, die man H–O-Streckschwingungen zusprechen muss. Das UV.-Spektrum zeigt lediglich Endabsorption. Daraus muss man schliessen, dass ausschliesslich das Pyron angegriffen, und dass sein Carbonyl wie auch eine der beiden Doppelbindungen reduziert wurden. Diese Folgerung fand ihre Bestätigung durch das NMR.-Spektrum, das das typische schmale C(15)–H-Signal des Epoxids bei $\sim 3,38$ ppm (Breite bei halber Höhe ~ 3 Hz) noch enthält, ebenso ein Vinylproton bei $\sim 5,42$ ppm, während die 12 Pyronsignale fehlen. Versuche, einheitliche Acetyl-derivate oder Acetale herzustellen, schlugen mehrfach fehl (im exp. Teil erwähnt). Es entstand immer ein entmutigendes Substanzgemisch. Dafür gelang aber, diese Substanz mit dem vorhin erwähnten NaBH₄-Reduktionsprodukt des Resibufogenins von *Kamano et al.* zu verknüpfen, für das die Japaner die Struktur **5** bewiesen hatten. Es ist naheliegend, **5** und **7** durch Ozonisierung in die gleiche Substanz **8** zu überführen; dabei erhält man in beiden Fällen nach verschiedenen DC.-Systemen das gleiche Substanzgemisch, aus dem, in beiden Fällen, die Hauptsubstanz **8** bzw. die Acetylverbindung **9**, chromatographisch isoliert werden konnte. Damit dürfte die Struktur **7** der bei der LiAlH₄-Reduktion entstehenden Substanz gesichert sein. Die *Sondheimer*'sche [5] und *Pettit*'sche [7] [8] Bufadienolidsynthese endet demnach auf

³⁾ Unveröffentlichte Versuche.

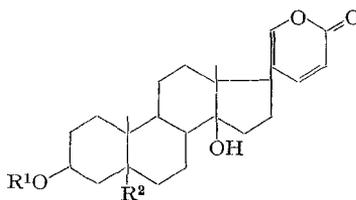
⁴⁾ Wir danken Herrn Prof. G. R. *Pettit* für dieses LiAlH₄, sowie Herrn Dr. W. G. *Salmond* für eine detaillierte Reduktionsvorschrift.

der Stufe des Resibufogenins **1**, weil beide Arbeitskreise sich auf nicht reproduzierbare Patentangaben [11] verliessen.



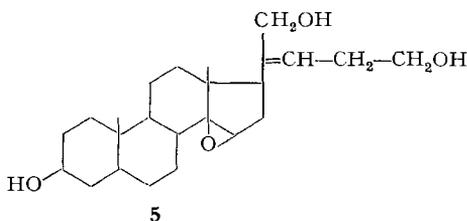
1 R¹ = H ; R² = H
Resibufogenin

3 R¹ = H ; R² = OH
Marinobufagin

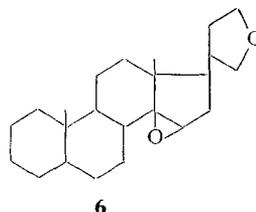


2 R¹ = H ; R² = H
Bufalin

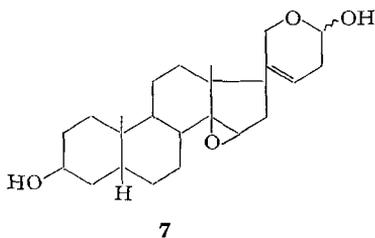
4 R¹ = H ; R² = OH
Telocinobufagin



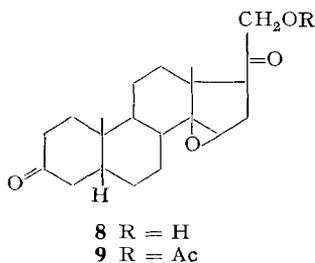
5



6



7



8 R = H

9 R = Ac

Herrn Prof. Dr. *Kuno Meyer* sei für die wohlwollende Förderung dieser Untersuchung gedankt, den Herren Drs. *W. Arnold*, *G. Englert* und *W. Vetter* sowie *P. Casagrande*, *W. Grunauer*, *B. Meier* und *W. Meister* von der *Hoffmann-La Roche & Co. AG.*, Basel und Herrn Dr. *C. Pascual*, *Physikalisch-Chemisches Institut* der Universität Basel für die Aufnahme und Mithilfe bei der Interpretation der MS.- und einiger NMR.-Spektren. Die Arbeiten wurden ausserdem vom *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* unterstützt.

Experimenteller Teil

Allgemeines, siehe [16].

Reduktion von 1 zu 7. 1.0 g **1** vom Smp. 160–170° wurde in Chloroform/Benzol gelöst und die Lösung im Vakuum eingengt, diese Operation mehrmals wiederholt, der Rückstand 1 Std. am Vakuum getrocknet, in 200 ml abs. Äther aufgenommen (Äther zunächst über Natrium getrocknet, dann frisch über LiAlH₄ destilliert), die Lösung auf –80° abgekühlt und mit 2,7 g LiAlH₄ in 200 ml abs. Äther unter Rühren innerhalb 20 Min. tropfenweise versetzt. Das Reaktionsgemisch blieb insgesamt 1¾ Std. auf –80°. Danach wurde unter Rühren bei –80° vorsichtig mit verd. Essigsäure angesäuert, auf 20° gebracht, mit Wasser verdünnt und mit Äther/Chloroform 4:1 ausgeschüttelt, neutral gewaschen, getrocknet und eingengt. 965 mg Reduktionsprodukt, DC. (Chloroform/Methanol 95:5): kein **2**, dafür noch unverändertes **1** neben einer wenig unpolaren und drei polaren Substanzen; das Hauptprodukt hatte einen etwas kleineren Rf-Wert als **2**.

Die Reaktion wurde laufend im DC. verfolgt, **2** konnte aber nie nachgewiesen werden. Mischt man **2** mit dem Reduktionsprodukt, so erhält man im DC. (System siehe oben) den zusätzlichen Fleck von **2**, der sich zwar nur geringfügig aber deutlich vom Hauptprodukt der Reduktion unterscheidet. **2** verändert sich in Gegenwart von LiAlH_4 nur wenig, d. h. es wird nicht reduziert: 15 mg **2** in 5 ml abs. Äther gelöst, auf -80° abgekühlt und innerhalb von 10 Min. mit 40 mg LiAlH_4 in 3 ml abs. Äther versetzt, das Gemisch insgesamt 2 Std. bei -80° gehalten und in üblicher Weise aufgearbeitet. DC. (Chloroform/Methanol 95:5): hauptsächlich **2**, daneben ein Fleck mit etwas höherem und einer mit geringerem Rf-Wert. Der Versuch wurde in gleicher Weise wiederholt, jedoch mit einer Reaktionsdauer von 4 Std.; DC. (Chloroform/Methanol 95:5): **2** und drei unpolare Substanzen.

Die obigen 965 mg Reduktionsprodukt an 500 g SiO_2 chromatographiert (in Fraktionen von je 20 ml mit Chloroform/Methanol 95:5 als Elutionsmittel) ergaben: in Frakt. 39–41 255 mg **1**, verunreinigt mit einer unpolaren und einer polaren Substanz, in Frakt. 42 65 mg **7** neben einer unpolaren Substanz und Spuren von **1**, in Frakt. 43–44 348 mg **7** mit Spuren einer polaren Substanz als Verunreinigung, in Frakt. 45–54 192 mg **7**, in Frakt. 55–70 68 mg **7** verunreinigt mit Spuren einer polaren Substanz, in Frakt. 71–88 18 mg polare Substanzen. Aus den Fraktionen 45–54 kristallisierten aus Methanol nacheinander 100 mg. Kristalle vom Smp. $220\text{--}225^\circ$ und 47 mg Kristalle vom Smp. $221\text{--}225^\circ$. Die Umkristallisation aus Methanol/Äther ergab nacheinander 60 mg. Kristalle vom Smp. $226\text{--}231^\circ$ (Nadeln) und 40 mg Kristalle vom Smp. $224\text{--}230^\circ$; DC. (Chloroform/Methanol 95:5): einheitlich MS.: $M^+ = 388$ ($\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_4$). UV. (Äthanol): keine Absorption. IR. (CHCl_3): ~ 3600 cm^{-1} , ~ 3425 cm^{-1} , keine Carbonyl- und Doppelbindungsabsorption im Bereich $1800\text{--}1500$ cm^{-1} . NMR. ($\text{CDCl}_3/\text{d}_6\text{-DMSO}$ 5:3): $\sim 5,42$ ppm (C(22)—H, schmales *m*, Breite bei halber Höhe ~ 9 Hz), $\sim 5,00$ ppm (C(24)—H, *t*, Aufspaltung $\sim 4,5$ Hz), $\sim 4,93$ ppm (C(24)—H, *t*, Aufspaltung ~ 6 Hz), $\sim 4,1$ ppm (C(3)— α H, sowie C(21)—2H, *m* mit ~ 13 Hz Breite bei halber Höhe), $\sim 0,97$ und $0,94$ ppm (C(19)—3H, *s* und C(18)—3H, *s*).

Herstellung der Substanzen 8 und 9. a) *Durch Ozonolyse von 7:* 100 mg **7**, Smp. $220\text{--}225^\circ$ in 20 ml Essigester gelöst, 20 Min. bei -70° ozonisiert. Die Lösung anschliessend 20 Min. bei -70° und 10 Min. bei Raumtemperatur gehalten und danach bei 35° im Vakuum eingengt. Rückstand in 1 ml Essigsäure gelöst, mit Zinkstaub versetzt und geschüttelt bis KI-Papier nicht mehr gefärbt wurde, Zink abfiltriert, mit Chloroform nachgewaschen, bei 35° im Vakuum eingengt, durch mehrmaliges Einengen mit Benzol im Vakuum die Essigsäure entfernt. Rückstand wie üblich aufgearbeitet: 51 mg, DC. (Chloroform/Methanol 9:1): 1 Hauptfleck, der sich beim Besprühen mit Tetrazolblaulösung blauviolett färbt und damit das Vorhandensein eines Ketols anzeigt. Keine Kristallisation. NMR. (CDCl_3): identisch mit **8** aus b).

51 mg nicht ganz einheitliches **8** in 0,5 ml Pyridin und 0,3 ml Essigsäureanhydrid 16 Std. bei 37° acetyliert. Die übliche Aufarbeitung ergab 54 mg rohes **9**. «Trockensäulenchromatographie»⁵⁾ an 2,5 g SiO_2 mit Chloroform/Methanol 95:5 ergab 39 mg **9**, das nach DC. (Chloroform/Methanol 95:5) noch eine polare Verunreinigung enthielt. Die weitere Reinigung erfolgte durch präp. DC. mit Petroläther/Aceton 65:35 als Fließmittel und ergab 19 mg nach DC. (Petroläther/Aceton 65:35) fast einheitliches **9**. Aus Methylenchlorid/Petroläther kristallisierten 12 mg Plättchen vom Smp. $165\text{--}170^\circ$. DC. (Petroläther/Aceton 7:3, Chloroform/Methanol 98:2) einheitlich. MS.: $M^+ = 388$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$). IR. (CHCl_3): keine HO-Banden, ~ 1745 cm^{-1} (Schulter) und ~ 1709 cm^{-1} . NMR. (CDCl_3): $\sim 4,86$ ppm (C(21)—2H, *s*), $\sim 3,57$ ppm (C(15)— α H, «s»), Breite bei halber Höhe 3 Hz), $\sim 1,06$ ppm (C(18)—3H und C(19)—3H, *s*).

b) *Durch Ozonolyse von 5:* 34 mg **5**, Smp. $181\text{--}185^\circ$ (erhalten durch NaBH_4 -Reduktion von **1**, wie bei Kamano [10] beschrieben) wurden wie unter a) ozonisiert. Die Reinigung des so erhaltenen Materials durch präp. DC. im System Petroläther/Aceton 7:3 lieferte 13 mg nach DC. (Petroläther/Aceton 7:3) einheitliches **8** und 5 mg unreines Produkt. Blauviolette Färbung beim Besprühen des DC. mit Tetrazolblaulösung. Keine Kristallisation. NMR. (CDCl_3): identisch mit **8** aus a).

13 mg **8** wurden in 0,7 ml Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid $3\frac{1}{2}$ Std. bei 37° acetyliert. Die übliche Aufarbeitung ergab 16 mg rohes **9**, das nach präp. DC. mit Petroläther/Aceton 65:35 als Fließmittel 6 mg eines nach DC. (Petroläther/Aceton 7:3) nur ganz schwach verunreinigten Produktes lieferte. Aus Methylenchlorid/Petroläther kristallisierten 3 mg Plättchen vom Smp. $164\text{--}170^\circ$, die nach DC. (Petroläther/Aceton 7:3, Chloroform/Methanol 98:2) einheitlich waren.

⁵⁾ Durchlaufmethode mit «Silica Gel Woelm for Dry-Column Chromatography»

MS.: M^+ = 388 ($C_{23}H_{32}O_5$). IR. ($CHCl_3$): keine HO-Banden, $\sim 1745\text{ cm}^{-1}$ (Schulter) und $\sim 1709\text{ cm}^{-1}$. NMR. ($CDCl_3$): $\sim 4,86\text{ ppm}$ (C(21)–2H, s), $\sim 3,57\text{ ppm}$ (C(15)– α H, «s»), Breite bei halber Höhe 3 Hz), etwa $1,06\text{ ppm}$ (C(18)–3H und C(19)–3H, s).

Die IR.- (in $CHCl_3$), NMR.- (in $CDCl_3$) und Massen-Spektren von **9** aus Versuchen a) und b) waren identisch; Misch-Smp. $164\text{--}169^\circ$. Das DC. und Misch-DC (Petroläther/Aceton 7:3, Chloroform/Methanol 98:2) der aus a) und b) bereiteten Verbindungen **8** bzw. **9** waren ebenfalls identisch.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Hauser, H. H. A. Linde & D. Živanov, *Helv.* **55**, 2625 (1972).
- [2] L. Ruzicka, US Patent 2362408 vom 7. 11. 1944.
- [3] J. Friedl & R. C. Elderfield, *J. org. Chemistry* **6**, 566 (1941).
- [4] D. Bertin, L. Nédélec & J. Mathieu, C. r. hebdom. Séances Acad. Sci. **253**, 1219 (1961). D. Bertin & L. Nédélec, *Fr. Pat.* 1369962 vom 21. 8. 1964.
- [5] F. Sondheimer, W. McCrae & W. G. Salmond, *J. Amer. chem. Soc.* **91**, 1228 (1969).
- [6] U. Stache, K. Radscheit, W. Fritsch, H. Kohl, W. Haede & H. Ruschig, *Tetrahedron Letters* **1969**, 3033.
- [7] G. R. Pettit, L. E. Houghton, J. C. Knight & F. Bruschweiler, *Chem. Commun.* **1970**, 93.
- [8] G. R. Pettit, L. E. Houghton, J. C. Knight & F. Bruschweiler, *J. org. Chemistry* **35**, 2895 (1970).
- [9] M. Bharucha, H. Jäger, K. Meyer, T. Reichstein & O. Schindler, *Helv.* **42**, 1395 (1959).
- [10] Y. Kamano, H. Yamamoto & M. Komatsu, *Chem. pharmaceut. Bull.* **17**, 1246 (1969).
- [11] H. Kondo & S. Ohno, US Patent 3134772 vom 26. 5. 1964. Siehe auch *Chem. Abstr.* **61**, 5736 (1964).
- [12] R. Deghengi, A. Philipp & R. Gaudry, *Tetrahedron Letters* **1963**, 2045.
- [13] H. Lehmann & G. Zoellner, *Ger. Off.* 1807585, s. auch *Chem. Abstr.* **73**, 25765 y (1970).
- [14] H. Linde & K. Meyer, *Helv.* **42**, 807 (1959).
- [15] F. W. Villacusa & G. R. Pettit, *J. org. Chemistry* **37**, 569 (1972).
- [16] H. F. G. Linde, O. Isaac, H. H. A. Linde & D. Živanov, *Helv.* **54**, 1703 (1971).

306. Vier neue Metabolite von *Gibberella zeae*: 5-Formyl-zearalenon, 7'-Dehydrozearalenon, 8'-Hydroxy- und 8'-*epi*-Hydroxy-zearalenon

von G. Bolliger und Ch. Tamm

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(18. IX. 72)

Summary. From cultures of *Gibberella zeae* ergosterol, zearalenone (**1**) and hitherto unknown minor metabolites, *i.e.* 5-formyl-zearalenone (**6**), 7'-dehydrozearalenone (**8**), 8'-hydroxyzearalenone (**9**) and 8'-*epi*-hydroxyzearalenone (**11**) were isolated. The production of zearalenone and its congeners proved to be very strongly dependent on the conditions of culture.

5-Formyl-zearalenone (**6**) as well as 3-formylzearalenone (**4**) were synthesized from zearalenone (**1**) and characterized by the di-O-methyl derivatives **7** and **5** respectively. The structure of 7'-dehydrozearalenone (**8**) was deduced from spectral data. The di-O-methyl derivatives **10** and **12** respectively of the two corresponding epimeric 8'-hydroxy derivatives **9** and **11** yielded the same β -diketone **13**. The keto-enol equilibrium of **13** was studied.

1. Einleitung. – Aus Kulturen von *Gibberella zeae* (Gordon) (Schw.) Petch. (*Fusarium graminearum* Schwabe) (*Fungi imperfecti*) sind bisher Zearalenon (**1**) [1] sowie die Pigmente Rubrofusarin [2] [3] und Aurofusarin [2] [4] isoliert worden. In der Literatur finden sich Hinweise, dass der Mikroorganismus auch Ergosterol zu synthe-