

Iritierte Verbindungen. I

### Cymarol-(19-<sup>3</sup>H)<sup>1)</sup>

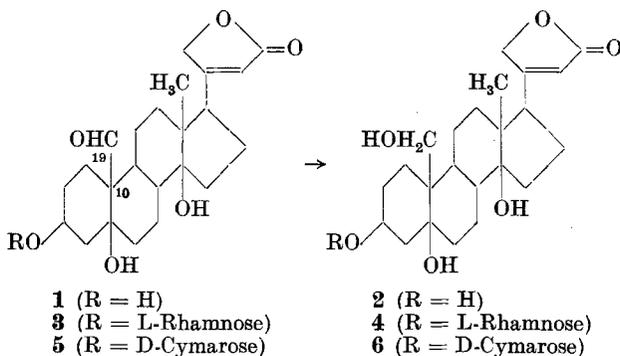
### (3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 14 $\beta$ , 19-Tetraoxy-cardenol- (19-<sup>3</sup>H)-D-cymarosid)

Von K.-H. SEGEL

#### Inhaltsübersicht

Es wird die Reduktion von Cymarin mit Natriumborhydrid-(<sup>3</sup>H) zu radioaktivem Cymarol beschrieben. Nach Entfernen des labilen Tritiums durch mehrfaches Umkristallisieren entsteht hieraus Cymarol-(19-<sup>3</sup>H).

Herzglykoside sind pharmakologisch wichtige Steroide mit Wirkung auf das Herz. Die nativen Herzgifte bestehen aus einem Aglykon, das mit Zucker verknüpft ist. Eine Reihe Herzglykone tragen am C-10 eine anguläre Methanalgruppe; z. B. Strophanthidin (1). Für Strukturauflösungen wurde diese Gruppe wiederholt reduziert.



Erstmals gelang dies RABALD und KRAUS<sup>2)</sup>, die Strophanthidin (1) mit Aluminiumamalgam oder mit Aluminiumisopropylat nach MEERWEIN-PONNDORF zu Strophanthidol (2) reduzierten, ohne dabei den Butenolidring ( $\alpha, \beta$ -ungesättigtes  $\gamma$ -Lakton) am C-17 anzugreifen. Dieser Weg schlug aber bei einigen Herzgiften, z. B. bei Convallatoxin (3) und

<sup>1)</sup> Siehe auch K.-H. SEGEL, Naturwiss. **47**, 279 (1960).

<sup>2)</sup> E. RABALD u. J. KRAUS, Hoppe-Seylers- Z. physiol. Ch. **265**, 39 (1940).

Gofrusid<sup>3)</sup>, fehl<sup>4)</sup><sup>5)</sup>. Erst als HUNGER und REICHSTEIN<sup>5)</sup> Natriumborhydrid als Reduktionsmittel einführten, gelang auch die Reduktion träger Aldehydgruppen. So wurden Convallatoxin (3) in Convallatoxol (4)<sup>6)</sup> und Gofrusid in Frugosid<sup>4)</sup> übergeführt.

Beim Vergleich der pharmakologischen Wirkung (HATCHER-Test an der Katze) der reduzierten Substanzen zu ihren Ausgangsprodukten stellt man bestenfalls einen geringfügigen Anstieg fest (s. Tab. 1). Nur das Aglykon (Strophanthidin (1)) bildet eine Ausnahme und fällt bei der Wirkung auf über die Hälfte ab. Vergleicht man hierzu die weitere Reduktion bis zur Methylgruppe am C-10, dann sinkt die pharmakologische Aktivität deutlich. Strophanthidinsäure (Oxydation zur Carboxylgruppe) ist völlig inaktiv (s. Tab. 2). Zur spezifischen Markierung mit Tritium

Tabelle 1

Vergleich der pharmakologischen Wirkung von Herzgiften mit Methanalgruppe am C-10 zu ihren an dieser Stelle zur Methanolgruppe reduzierten Verbindungen

Herzgift mit Methanalgruppe am C-10	Mittl. letale Dosis (Katze) mg/kg <sup>6)</sup>	Herzgift mit Methanolgruppe am C-10	Mittl. letale Dosis (Katze) mg/kg <sup>6)</sup>
Strophanthidin (1)	0,325	Strophanthidol (2)	0,699
Convallatoxin (3)	0,079	Convallatoxol (4)	0,087
Cymarin (5)	0,110	Cymarol (6)	0,099
Gofrusid <sup>2)</sup>	0,190	Frugosid	0,161

Tabelle 2

Herzgifte mit verschiedenen Oxydationsstufen am C-19.

Glykosid	Mittl. letale Dosis (Katze) mg/kg <sup>6)</sup>	Aglykon	Mittl. letale Dosis (Katze) mg/kg <sup>6)</sup>
Cymarin	0,110	Strophanthidinsäure	inaktiv
Cymarol	0,099	Strophanthidin	0,325
Periplocymarin	0,154	Strophanthidol	0,699
		Periplogenin	0,719

<sup>3)</sup> Corotoxinigenin-D-allo-methylosid (3 $\beta$ , 14 $\beta$ -Dioxy-19-oxo-5-allocardenol-D-allo-methylosid).

<sup>4)</sup> (Gofrusid) A. HUNGER u. T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **35**, 1073 (1952).

<sup>5)</sup> A. HUNGER u. T. REICHSTEIN, *Chem. Ber.* **85**, 635 (1952).

<sup>6)</sup> H. LETTRÉ, H. H. INHOFFEN u. R. TSCHESCHE, „Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe“, 1. Bd.; R. TSCHESCHE, „Die Herzgifte“, E. Enke Verlag, Stuttgart (1954).

unter Beibehaltung der pharmakologischen Wirkung ist es daher angezeigt, mit Natriumborhydrid-( $^3\text{H}_4$ ) am C-19 zu reduzieren. Ein Vergleich der biologischen Aktivität des markierten mit dem inaktiven Cymarol zeigte Übereinstimmung.

HUNGER und REICHSTEIN<sup>5)</sup> reduzierten die Glykoside Convallatoxin (3) und Desgluco-hellebrin<sup>7)</sup>, die beide Rhamnose als Zuckerkomponente enthalten. Bekanntlich hydrolisieren solche Glykoside mit „normalen“ Zuckern nur unter stärker saureren Bedingungen, wie sie MANNICH und SIEVERT<sup>8)</sup> für Ouabain<sup>9)</sup> mit Aceton und Salzsäure beschrieben haben. Deshalb stößt die Zerlegung des bei der Natriumborhydrid-Reduktion entstandenen Borsäureesters durch kurzzeitiges Kochen mit 0,1 n  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf keine Schwierigkeiten. Liegt dagegen wie beim Cymarin (5) ein 2-Desoxyzucker (Cymarose) vor, so ist zu erwarten, daß er sich unter diesen Bedingungen abspaltet<sup>10)</sup> und man als Endprodukt das reduzierte Aglykon faßt. Dies wurde durch einen Versuch tatsächlich nachgewiesen. Die von TSCHESCHE gemachte Bemerkung<sup>11)</sup>, daß . . . „bei der Reduktion von Cymarin . . . mit Natriumborhydrid nach HUNGER und REICHSTEIN<sup>5)</sup> Cymarol leicht erhalten werden kann“ . . . , beruht sicher auf einem Irrtum.

Wir vermieden daher nach dem Umsatz mit Natriumborhydrid eine saure Reaktion. Das Lösungsgemisch wurde lediglich neutralisiert und extrahiert. Da sich im Rohprodukt kein Bor nachweisen ließ, hatte sich hier offenbar überhaupt kein Borsäureester gebildet.

Beim radioaktiven Umsatz wandert ein Tritium an das C-19 und eins an den Carbonyl-Sauerstoff, der sich zur Hydroxylgruppe wandelt. Das letztere ist labil und wird durch mehrfaches Umkristallisieren abgetrennt.

Unseres Wissens ist dies die erste gezielte Markierung eines Herzglykosids mit Tritium. WILZBACH<sup>12)</sup> erhielt durch Gasaustausch lediglich durchgängig markiertes Digitoxin-(u- $^3\text{H}$ ).

### Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Boëtius-Heiztisch bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber etwa  $\pm 3^\circ$ : Bei der Papierchromatographie

<sup>7)</sup> Hellebrigenin-L-rhamnosid (3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 14 $\beta$ -Trioxy-19-oxo-bufodienol-L-rhamnosid).

<sup>8)</sup> C. MANNICH u. G. SIEWERT, Chem. Ber. **75**, 737 (1942).

<sup>9)</sup> Ouabagenin-L-rhamnosid (1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 11 $\alpha$ , 14 $\beta$ , 19-Hexaoxy-cardenol-L-rhamnosid).

<sup>10)</sup> CH. TAMM, Fortschr. d. Chem. org. Naturstoffe **13**, 148 (1956).

<sup>11)</sup> Siehe <sup>9)</sup> S. 321.

<sup>12)</sup> K. E. WILZBACH, Chem. Engne. News **1956**, 4616; Amer. chem. Soc. **79**, 1013 (1957).

ist im Durchlaufverfahren (etwa 10 Stunden) absteigend mit dem System n-Butanol-Methanol-Wasser 5:1:5 (Vol.), obere Schicht, ohne flüssige stationäre Phase, gearbeitet worden. Papier: Whatman No. 1; Entwicklung mit „Kedde-Reagenz“<sup>13)</sup>. Für die Messung der Radioaktivität wurde ein 27-Methan-Durchflußzähler und ein Gaszählrohr benutzt; das Radiochromatogramm ist in einem nach BÖHLER<sup>14)</sup> abgewandelten Radiopapierchromatographen von der Fa. Frieseke und Hoepfner GmbH ausgewertet worden.

### Strophanthidol (2): (Reduktion von Cymarin nach HUNGER und REICHSTEIN)

100 mg Cymarin (Fp.: 174–179°)<sup>15)</sup> wurden in 6 ml 80proz. Dioxan gelöst und innerhalb von 15 Minuten tropfenweise mit 18 mg Natriumborhydrid, das in 2 ml 80proz. Dioxan gelöst war, versetzt. Die Mischung blieb 5 Stunden bei Raumtemperatur stehen. Dann säuerte man mit 2 n Schwefelsäure (knapp kongosauer) an, wobei eine geringe Wasserstoffentwicklung beobachtet werden konnte. Nun kamen 5 ml Wasser hinzu und anschließend dampfte man Dioxan im Vakuum auf dem Wasserbad bei 30–40° ab. Die wäßrige Lösung wurde viermal mit je 25 ml Chloroform ausgeschüttelt, jede Fraktion mit je 1 ml Wasser, 1 ml 2 n Natriumcarbonat-Lösung und 1 ml Wasser gewaschen; dann über Natriumsulfat getrocknet und das Chloroform im Vakuum abgedampft (Ausbeute: 70 mg Rohprodukt). Der farblose Schaum läßt sich aus Aceton/Äther gut kristallisieren. Fp.: 182–213°. Bor konnte in dieser Verbindung nicht nachgewiesen werden. Das Papierchromatogramm zeigte neben Cymarol nur wenig Strophanthidol.

80 mg des Rohproduktes wurden in 5 ml Methanol gelöst, mit 500 mg D-Mannit und 5 ml 0,1 n Schwefelsäure versetzt und 30 Minuten unter Rückfluß gekocht. Man entfernte im Vakuum auf dem Wasserbad das Methanol und schüttelte viermal mit je 25 ml Chloroform aus. Die Auszüge wurden wie oben gewaschen, getrocknet und eingedampft. Ausbeute 70 mg. Aus Aceton/Äther kristallisierten Spieße Fp.: 136–140°. Der Vergleich im Papierchromatogramm zeigte eindeutig Strophanthidol.

### Cymarol-(19-<sup>3</sup>H) (4)

221 mg Cymarin (Fp.: 174–179°)<sup>15)</sup> wurden in 11 ml 80proz. Dioxan gelöst und portionsweise im Laufe von 15 Minuten mit 38,1 mg Natriumborhydrid-(<sup>3</sup>H<sub>4</sub>)<sup>16)</sup>, spez. Aktivität 50 mc/mMol ( $\cong$  1,31 mc/mg), gelöst in 4 ml 80proz. Dioxan, versetzt. Das Reaktionsgemisch blieb dann 5 Stunden bei Raumtemperatur stehen und wurde danach mit 2 n Schwefelsäure neutralisiert. 5 ml Wasser kamen hinzu und man entfernte das Dioxan im Vakuum auf einem Wasserbad. Die wäßrige Lösung wurde wie oben, allerdings mit der doppelten Menge Chloroform, aufgearbeitet.

Ausbeute: 180 mg Cymarol-(19-<sup>3</sup>H)-(19-O<sup>3</sup>H).

Zur Entfernung des labilen Tritiums an der Hydroxylgruppe löste man das Rohprodukt dreimal in je 100 ml Methanol und destillierte das Methanol im Vakuum ab; einmal blieb die Substanz eine Nacht über Methanol stehen. Hieran wurde zweimal aus Methanol/Äther umkristallisiert und schließlich zweimal aus Aceton/Äther.

3. Kristallisation: 15,2  $\mu$ c/mg.

4. Kristallisation: 14,6  $\mu$ c/mg.

<sup>13)</sup> D. L. KEDDE, Pharm. Tijdskr. 1947, 169.

<sup>14)</sup> G. BÖHLER, Kernenergie 2, 409 (1959).

<sup>15)</sup> Wir danken der Firma C. F. Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim-Waldhof, herzlich für die Überlassung der Substanz. Sie enthielt nach dem Papierchromatogramm eine kleine Menge Strophanthidin.

<sup>16)</sup> The Radiochemical Center, Amersham (England) TRA 45 NaBH<sub>4</sub>-T.

Schließlich kristallisierte man aus Aceton/Äther. Farblose Kristalle Fp.: 220–237° (Lit. Fp.: 235–239°<sup>17)</sup>; keine Depression beim Mischschmelzpunkt mit authentischem Cymarol). Spez. Aktivität: 14,6 mc/mg (8,04 mc/mMol). Papier- und Radiochromatogramm zeigten übereinstimmend nur einen Fleck von Cymarol.

Die Herzwirksamkeit wurde mit dem Froschtest nach STRAUB (mit *Rana esculenta*)<sup>18)</sup> bestimmt<sup>19)</sup>. (Abnahme der Hubhöhe des Herzens, Hebung des Fußpunktes bis zum Stillstand in Systole.) Als Lösungsvermittler diente Tetrahydrofuran (Endkonz. 0,6%). LD: 33 µg (übereinstimmend mit inaktivem Cymarol).

Für wertvolle Mitarbeit sei Fr. A. HENNIG herzlich gedankt; den Herren Prof. Dr. A. WOLLENBERGER für die Anregung zu dieser Arbeit und Dr. G. VORMUM für wohlwollende Förderung.

---

<sup>17)</sup> R. ZELNIK u. O. SCHINDLER, *Helv. chim. Acta* **40**, 2110 (1957).

<sup>18)</sup> W. STRAUB, *Biochem. Z.* **28**, 392 (1910).

<sup>19)</sup> Wir danken Herrn E. TAPP, Dtsch. Akad. der Wiss. zu Berlin, Kreislaufforschung, Berlin-Buch, vielmals für die Ausführung dieser Teste.

*Berlin-Buch, Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin,  
Institut für Medizin und Biologie, Arbeitsbereich für Angewandte Isotopen-  
forschung und Arbeitsstelle für Kreislaufforschung.*

Bei der Redaktion eingegangen am 14. Oktober 1960.