

## Über die Konstitution des Cerberins.

Von Tamaki MATSUBARA.

(Eingegangen am 30. August 1937.)

Aus dem Samen der in Indien als giftig bekannten *Apocynaceae* *Cerbera Odollam* (Gaertner) stellte zuerst de Vrij im Jahre 1864, später dann Plugge,<sup>(1)</sup> kristallisiertes Glykosid mit dem Schmelzpunkt 190–192° dar und gab diesem die Formel  $C_{27}H_{40}O_8$ . Plugge, nachdem er Cerberin in einer alkoholischen Lösung mit einem Zusatz von Schwefelsäure längere Zeit kochte, gewann ein zitronengelbes amorphes Pulver, das bei 85.5° schmolz und für welches er die Formel  $C_{19}H_{26}O_4$  aufstellte.

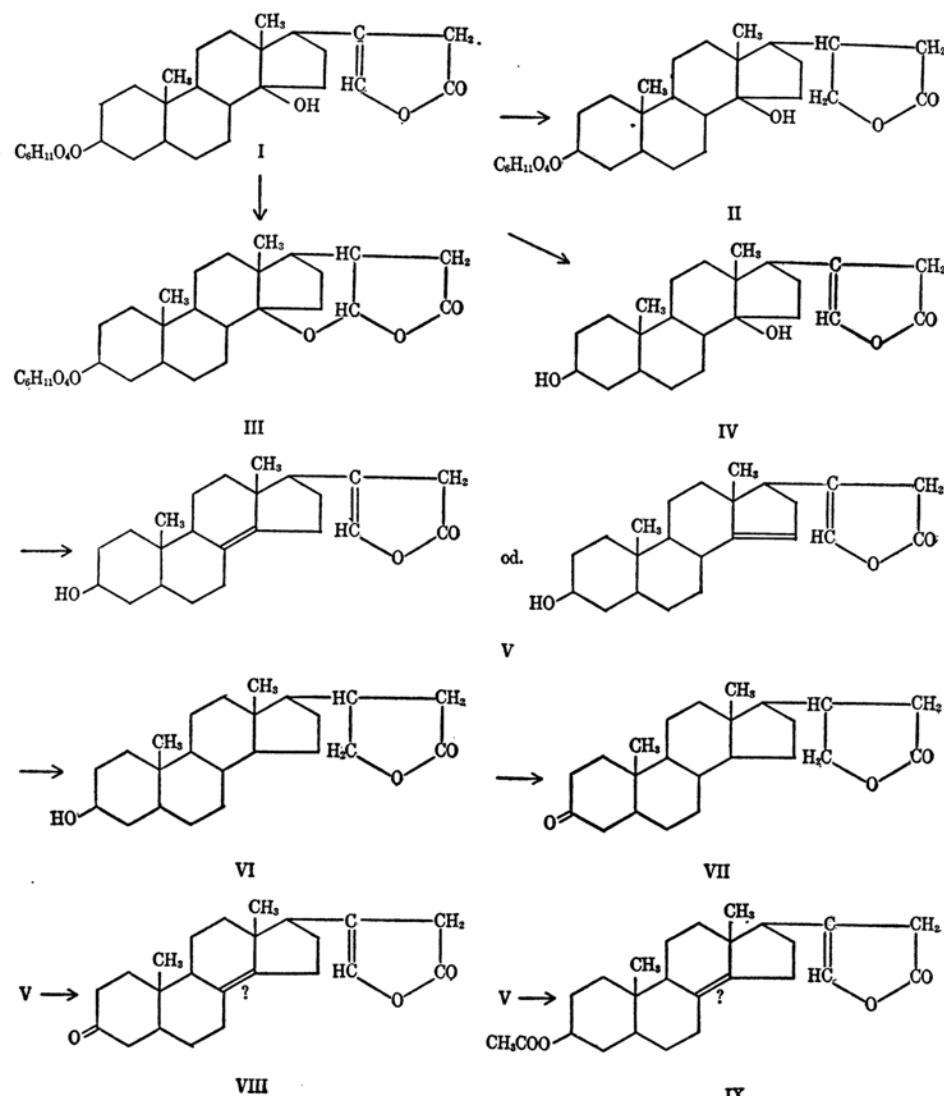
Seitdem hat man keine weiteren Forschungsberichte über Cerberin gefunden. Ich habe daher vor einigen Jahren ein paar Kilogramm Samenkerne von *Cerbera Odollam* (Gaertner) aus Okinawa (den Luchu Inseln im Süden Japans) bezogen und mich mit der Bearbeitung des Cerberins beschäftigt. Dieses Glykosid schiesst aus seiner 95-proz. alkoholischer Lösung in Prismen an, enthält weder Kristallwasser noch Asche und schmilzt bei 191–193°. Das Glykosid bildet aus verdünnter alkoholischer Lösung Nadeln von  $\frac{1}{2}$  Mol Kristallwasser (0.4227 g. Substanz, unter 110° und 30 mm. 6 Stunden getrocknet, ergab eine Gewichtsabnahme von 0.0075 g. Gefunden: Kristallwasser 1.77. Berechnet für  $C_{29}H_{44}O_8 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ : Kristallwasser 1.70%). Auf Grund seiner Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung darf man dem Cerberin mit Recht die Formel  $C_{29}H_{44}O_8$  geben,  $[\alpha]^{19.5^\circ}_D = -77.9^\circ$  (0.1315 g. Substanz in 13 c.c. Chloroform,  $l = 1.894$  dm.,  $\alpha^{19.5^\circ}_D = -1.48^\circ$ ) (Gefunden: C, 66.71, 66.41, 66.88, 66.71; H, 8.37, 8.23, 8.91, 8.47; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 527, 520. Berechnet für  $C_{29}H_{44}O_8$ : C, 66.87; H, 8.52%; Molekulargewicht, 520).

Cerberin nimmt, nicht in Kälte, sondern in Wärme Alkali auf, zeigt die Legalsche<sup>(2)</sup> und Baljetsche<sup>(3)</sup> Reaktion; durch die katalytische Hydrierung ergibt es Dihydro-cerberin (II) (Gefunden: C, 65.52, 65.41; H, 8.32, 8.26. Berechnet für  $C_{29}H_{46}O_8 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ : C, 65.30; H, 8.92%); das (II) aus Äther Nadeln vom Schmelzpunkt 185–186° bildet und dessen Legalsche und Baljetsche Reaktion sich als negativ erweist. Cerberin ist infolgedessen  $\beta, \gamma$ -ungesättigtes Oxylacton. Wie andere Herzgifte liefert

(1) *Arch. Pharm.*, **231** (1896), 10.

(2) *J. Biol. Chem.*, **67** (1926), 333.

(3) *Schweiz. Apoth.-Ztg.*, **56** (1918), 84.



das Cerberin auch Iso-cerberin (III), aus Alkohol, in kleinen Prismen vom Schmelzpunkt 252–253°,  $[\alpha]_D^{20} = -73.8^\circ$  (0.1349 g. Substanz in 13 c.c. Chloroform,  $l = 1.894$  dm.,  $\alpha_D^{20} = -1.45^\circ$ ) (Gefunden: C, 66.98, 66.86; H, 8.34, 8.33; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 515, 529. Berechnet für C<sub>29</sub>H<sub>44</sub>O<sub>8</sub>: C, 66.87; H, 8.52%; Molekulargewicht, 520). Daraus erklärt sich das Vorhandensein einer Hydroxylgruppe an C<sub>14</sub> in Cerberin,

welches bei der Säure-Einwirkung als Wasser herausgenommen wird.<sup>(4)</sup> Bei längerem Kochen in 5-proz. alkoholischer Schwefelsäure spaltet sich das Cerberin ab unter Bildung von Cerberose (eines neuen Zuckers) und einer zitronengelben amorphen Substanz. Wenn man diese Substanz in Äther löst und dann einige Tage liegen lässt, verwandelt sich ein Teil derselben in Nadeln und wenn diese Nadeln aus Alkohol umkristallisiert werden, gewinnt man farblose, längere Nadeln vom Schmelzpunkt 220–222°, die nach ihrer Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung als Anhydro-cerberigenin festgestellt werden,  $[\alpha]_D^{20} = +46.8^\circ$  (0.1319 g. Substanz in 13 c.c. Chloroform,  $l = 1.894$  dm.,  $\alpha_D^{20} = +0.9^\circ$ ) (Gefunden: C, 77.43, 77.43, 77.49, 77.50; H, 9.11, 8.93, 9.09, 9.25; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 348, 354. Berechnet für  $C_{23}H_{32}O_3$ : C, 77.47; H, 9.05%; Molekulargewicht, 356). Dieses Anhydro-Genin wird mit Digitonin gefällt (0.0396 g. dieses Anhydro-Genins ergaben 0.1764 g. Digitonid). Die Verseifungszahl des Anhydro-cerberigenins lässt einen Lactonring erkennen (0.1703 g. bzw. 0.1506 g. dieser Substanz verbrauchten 4.7 c.c. bzw. 4.1 c.c. N/10 Kalilauge. Gefunden: Verseifungszahl: 154, 153. Berechnet für  $C_{23}H_{32}O_3$  (per 1 Mol Kalilauge): Verseifungszahl, 158); dasselbe liefert bei katalytischer Hydrierung Tetrahydro-anhydro-cerberigenin (VI), aus Alkohol, in Nadeln vom Schmelzpunkt 155–156° (Gefunden: C, 76.61, 76.34, 76.56; H, 9.71, 9.81, 9.94. Berechnet für  $C_{23}H_{36}O_3$ : C, 76.61; H, 10.07%). Durch die Oxydation dieser Verbindung mit Chromsäureanhydrid gewinnt man Tetrahydro-anhydro-cerberigenon (VII), welches aus Alkohol Nadeln vom Schmelzpunkt 181–182° bildet (Gefunden: C, 77.19, 77.39; H, 8.96, 9.23; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 349. Berechnet für  $C_{23}H_{34}O_3$ : C, 77.04; H, 9.56%; Molekulargewicht, 358). Wenn man auf das Tetrahydro-anhydro-cerberigenon Hydroxylamin einwirken lässt, ergibt es Tetrahydro-anhydro-cerberigenon-oxim, welches aus Alkohol feine Nadeln vom Schmelzpunkt 210–212° bildet (Gefunden: C, 74.63, 74.83; H, 8.76, 8.68. Berechnet für  $C_{23}H_{35}O_3N$ : C, 74.94; H, 9.45%).

Wird Anhydro-cerberigenin mit Chromsäureanhydrid oxydiert, erhält man Anhydro-cerberigenon (VIII), welches aus Alkohol Nadeln vom Schmelzpunkt 195–196° bildet,  $[\alpha]_D^{20} = +74.4^\circ$  (0.1295 g. Substanz in 13 c.c. Chloroform,  $l = 1.894$  dm.,  $\alpha_D^{20} = +1.4^\circ$ ) (Gefunden: C, 77.64; H, 8.95. Berechnet für  $C_{23}H_{30}O_3$ : C, 77.92; H, 8.54%). Bei Behandlung dieses Ketons mit Hydroxylamin erhält man Anhydro-cerberigenon-oxim, aus Alkohol, in Nadeln vom Schmelzpunkt 221–223° (Gefunden: C, 74.79, 74.81; H, 8.32, 8.48. Berechnet für  $C_{23}H_{31}O_3N$ : C, 74.75; H, 8.46%).

(4) *J. Biol. Chem.*, **102** (1933), 237.

Das aus Anhydro-cerberigenin, Essigsäureanhydrid und trockenem Natriumacetat hergestellte Anhydro-cerberigenin-acetat (IX) lieferte aus Alkohol farblose hexagonale Platten vom Schmelzpunkt 175–176°,  $[\alpha]_D^{20} = +58^\circ$  (0.1124 g. Substanz in 13 c.c. Chloroform,  $l = 1.894$  dm.,  $\alpha_D^{20} = +0.95^\circ$ ) (Gefunden: C, 75.26, 75.54; H, 8.83, 8.59; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 393, 399. Berechnet für  $C_{25}H_{34}O_4$ : C, 75.33; H, 8.59%. Molekulargewicht, 398). Die oben angeführten Tatsachen bestätigen, dass Anhydro-cerberigenin ein  $\beta,\gamma$ -ungesättigtes Oxylacton ist und zwei Doppelbindungen hat und da es Digitonid bildet, erkennt man, dass eine sekundäre Hydroxylgruppe an  $C_3$  steht.<sup>(5)</sup> Das Anhydro-cerberigenin hat die Konstitutionsformel V. Aus der Elementaranalyse und Molekulargewichtsbestimmung desjenigen Anteils (Schmelzpunkt 92–94°) von zitronengelben Genin, der aus seiner Ätherlösung keinen Kristall bildet, ergibt sich im Durchschnitt C, 75.67; H, 9.21% und das Molekulargewicht beträgt 367 (Gefunden: C, 75.64, 75.72; H, 9.02, 9.39; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 367. Berechnet für  $C_{23}H_{32}O_3$ : C, 77.47; H, 9.05%; Molekulargewicht, 356;  $C_{23}H_{34}O_4$ : C, 73.74; H, 9.16%; Molekulargewicht, 374), was also dem Durchschnittswert von C und H bei  $C_{23}H_{32}O_3$  und  $C_{23}H_{34}O_4$  nahekommt. Aus den Tatsachen, dass dieses zitronengelbe Genin Digitonid liefert und dass ein Teil des ersteren durch nochmalige Hydrolyse in Anhydro-cerberigenin  $C_{23}H_{32}O_3$  in nadelkristalliner Form verwandelt werden kann, konnte man zum Schluss kommen, dass derjenige Teil, der sich aus der Ätherlösung von Aglykon nicht kristallisiert, ein Gemisch von  $C_{23}H_{32}O_3$  und  $C_{23}H_{34}O_4$  war, und da Cerberin Iso-cerberin (III) ergibt, muss auch im Genin selbstverständlich eine tertiäre Hydroxylgruppe an  $C_{14}$  stehen.<sup>(4)</sup> Das primäre Genin  $C_{23}H_{34}O_4$  konnte unter den angewandten Spaltungsbedingungen nicht isoliert werden, sondern es war ganz unverkennbar, dass es sich unter der Einwirkung der alkoholischen Schwefelsäure allmählich in Anhydro-cerberigenin  $C_{23}H_{32}O_3$  verwandelte. Dieser Vorgang verhält sich ganz ähnlich wie bei der Hydrolyse von Oleandrin,<sup>(6)</sup> Digitalinum verum<sup>(7)</sup> und Thevetin.<sup>(8)</sup> Es ist mir nicht gelungen, Cerberigenin als primäres Genin zu isolieren, welches durch die Hydrolyse von Cerberin hervorkommen sollte. Ich konnte aber, die obenerwähnten Tatsachen zusammengekommen, auf das Vorhandensein von Cerberigenin folgern, das wahr-

(5) Fernholz, *Z. physiol. Chem.*, **232** (1935), 97; R. Tschesche, *Ber.*, **68** (1935), 2247.

(6) K. Westphal, *Chem. Zentr.*, **97** (1926), I, 1814.

(7) Kiliani, *Arch. Pharm.*, **230** (1892), 250.

(8) R. Tschesche, *Ber.*, **69** (1936), 2368.

scheinlich die Konstitutionsformel IV haben müsste. Das Cerberigenin ist ein Isomeres von Uzarigenin,<sup>(9)</sup> Thevetigenin<sup>(8)</sup> und Digitoxigenin.<sup>(10)</sup>

Da Anhydro-cerberigenin Digitonid ergibt, ist es unverkennbar, dass auch Cerberigenin Digitonid liefert; und Cerberigenin, Uzarigenin und Thevetigenin enthalten folglich nach der Ansicht von R. Tschesche<sup>(11)</sup> eine Hydroxylgruppe an C<sub>3</sub> in cis-Stellung zur Methylgruppe an C<sub>10</sub> und Digitoxigenin bildet eine trans-Stellung.

Da Cerberin bei physiologischen Versuchen sich als ein ziemlich starkes Herzgift bewährt, wäre es möglich, diese Herzwirksamkeit des Cerberins der cis-Verknüpfung von Ring A und B zuzuschreiben. Wenn das der Fall ist, kann sich die Konstitution des Cerberigenins mit der des Thevetigenins identifizieren; nämlich: Cerberigenin: OH an C<sub>3</sub> cis, Ring A und B cis; Thevetigenin: OH an C<sub>3</sub> cis, Ring A und B cis. Die Schmelzpunkte der Derivate von Genin, die ich aus Cerberin gewann und die Schmelzpunkte der Derivate von Genin, welche R. Tschesche aus Thevetin gewann, zeigen beträchtliche Abweichungen; es wäre also verfrüht, darauf zu folgern, dass sich Thevetigenin mit Cerberigenin identifiziert, was ich in Zukunft durch die Mischprobe der Derivate, welche R. Tschesche und ich hergestellt haben, festzustellen beabsichtige. Nachstehende Aufstellung gibt eine klare Übersicht hinsichtlich der Stoffe, deren Schmelzpunkte (A) annähernd gleich sind und (B) (C) beträchtliche Abweichungen zeigen: (A) Anhydro-cerberigenin C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>, Nadeln aus Äthanol, Schmp. 220–222°,  $[\alpha]_D^{20} = +46.8^\circ$ . Anhydro-thevetigenin C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>, Polyeder aus Methanol, Schmp. 218–220°,  $[\alpha]_D^{20} = +40^\circ$ . (B) Anhydro-cerberigenon C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>, Nadeln aus Alkohol, Schmp. 195–196°,  $[\alpha]_D^{20} = +74.4^\circ$ . Anhydro-thevetigenon (Anhydro-digitoxigenon<sup>(12)</sup>) C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>3</sub>, Schmp. 265–270°. (C) Tetrahydro-anhydro-cerberigenon C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>, Nadeln aus Alkohol, Schmp. 181–182°. Tetrahydro-anhydro-thevetigenon (Tetrahydro-anhydro-digitoxigenon<sup>(10)</sup>) C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>3</sub>, glänzende Blätter aus Essigester, Schmp. 245–248°.

**Über Zucker.** Der Zucker, der durch Hydrolyse des Cerberins mit 5-proz. Schwefelsäure gewonnen wird, reduziert die Fehlingsche Lösung. Seine Rosenthalersche Reaktion stellt sich als eine positive heraus und zeigt dauernde Rotfärbung. Die Flüssigkeit, die man gewinnt, nachdem man die sirupartige Substanz, welche Zucker enthält, unter Hinzufügung von 12-proz. Salzsäure erhitzt und dann abdestilliert hat, zeigt bei der

(9) *Ber.*, **68** (1935), 2252.

(10) *Ber.*, **61** (1928), 2436.

(11) *Ber.*, **69** (1936), 2443.

(12) *Ber.*, **53** (1920), 247.

Reaktion auf Anilinacetatpapier Gelbfärbung und aus diesen oben angegebenen Proben erkennt man das Vorhandensein von Methylpentose. Indem man diese Zuckerlösung mit Phenylhydrazin behandelt, gewinnt man Osazon, das in kaltem Aceton löslich ist und wenn man dasselbe aus 50-proz. Alkohol umkristallisiert, werden gelbe, dünne, viereckige Blättchen vom Schmelzpunkt 121–122° gewonnen. Werden diese Blättchen bei 100° und 30 mm. getrocknet, dann haben dieselben den Schmelzpunkt 141–142°.  $[\alpha]_D^{25} = +62.5^\circ$  (0.1349 g. Osazon in 13 c.c. Chloroform,  $l = 1.894$  dm.,  $\alpha_D^{25} = +1.23^\circ$ ) (Gefunden: C, 63.26, 63.15; H, 6.74, 6.91; N, 15.72, 15.70; Molekulargewicht nach Rastscher Methode, 341, 343. Berechnet für  $C_{18}H_{22}O_3N_4$ : C, 63.13; H, 6.41; N, 16.34%; Molekulargewicht, 342). Folglich wäre dieser Zucker  $C_6H_{12}O_5$ , nach dem Schmelzpunkt von Osazon und dessen Kristallform zu urteilen, eine neue Art Methylpentose, welche ein Isomeres von Rhamnose bildet. Ich habe diesem Zucker den Namen Cerberose gegeben.

**Die Konstitution des Cerberins.** Aus den Tatsachen, dass Cerberin Dihydro-cerberin ergibt und dass seine Legalsche und Baljetsche Reaktion sich als eine positive herausstellt, erkennt man, dass Cerberin  $\beta,\gamma$ -ungeättigtes Oxy lacton ist; und dass Cerberin Iso-cerberin liefert, gibt das Vorhandensein einer tertiären Hydroxylgruppe an  $C_{14}$  bei Sterinskelett zu erkennen.<sup>(4)</sup> Aus den Tatsachen, dass Anhydro-cerberigenin Digitonid, Keton und Acetat liefert, erkennt man das Vorhandensein einer sekundären Hydroxylgruppe an  $C_3$ . Daraus kann man schliessen, dass das Zuckermolekül in Cerberin an  $C_3$  steht. Nach der Tatsache, dass sich Cerberose  $C_6H_{12}O_5$  durch Hydrolyse von Cerberin abspaltet, zu urteilen, hat Cerberin die Konstitutionsformel I.

Unter Zusammenfassung der bisher erwähnten Experimentsergebnisse führte mich die hydrolytische Spaltung des Cerberins zu den nachstehenden Gleichungen:

