

RUDOLF TSCHESCHE und GERNOT GRIMMER

Über pflanzliche Herzgifte, XL¹⁾

Zur Konstitution des Gitoxigenons

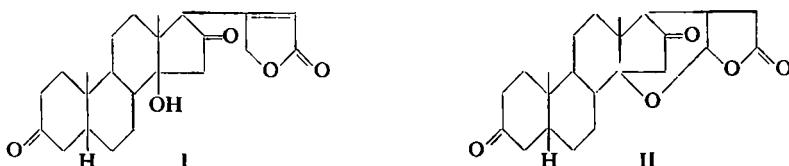
Aus der Biochemischen Abteilung des Organisch-Chemischen Institutes
der Universität Hamburg

(Eingegangen am 2. März 1960)

Herrn Prof. Dr. phil., Dr. rer. nat. h. c. Fritz Arndt zum 75. Geburtstag gewidmet

Gitoxigenon ist im Gegensatz zu bisherigen Annahmen ein wahres 3,16-Diketocardenolid und kein Isoderivat. Das Ausbleiben der Farbreaktionen nach LEGAL und KEDDE wird erklärt.

W. A. JACOBS und E. L. GUSTUS²⁾ hatten bei der Oxydation des Gitoxigenins zum entsprechenden Diketon (I) beobachtet, daß die Reaktion nach LEGAL negativ wird, und diesen Befund so gedeutet, daß sich dabei ein Derivat der Iso-Reihe (II) unter Beteiligung der Hydroxylgruppe an C-14 bildet. Auch L. F. FIESER und M. FIESER^{3a)} behalten diese Formulierung bei, während C. W. SHOPPEE⁴⁾ in seinem Buch erwähnt, daß Gitoxigenon auf Grund des IR-Spektrums, aufgenommen durch H. M. E. CARDWELL und F. B. STRAUSS, die Konstitution I haben soll. Uns interessierte das Problem nicht allein vom chemischen Standpunkt aus, sondern auch deswegen, weil bei der Isolierung von Cardenolidglykosiden 16-Ketoderivate sich dem Nachweis entziehen könnten, wenn die Farbreaktionen nach LEGAL und KEDDE ausblieben. Da wir in der Bufadienolidreihe (welche die genannten Farbreaktionen nicht gibt) im Bovorubosid eine 16-Ketoverbindung nachgewiesen haben⁵⁾, ist es nicht ausgeschlossen, daß 16-Ketocardenolide auch in der Natur auftreten, aber bisher übersehen wurden.



Gitoxigenon gab bei der Reduktion mit Natriumborhydrid wieder eine Verbindung, welche die genannten Farbreaktionen zeigte und nicht mit Gitoxigenin identisch war, sondern sich als 3-Epi-16-epi-gitoxigenin erwies. Nach Wasserabspaltung mit Salzsäure entstand 3-Epi-dianhydro-gitoxigenin, dessen Natur sich aus der Dehydratisierung von 3-Epi-gitoxigenin (OH an 16 β) ergibt, die zur gleichen Verbindung führt.

¹⁾ XXXIX. Mitteil.: R. TSCHESCHE, W. FREYTAG und G. SNATZKE, Chem. Ber. **92**, 3053 [1959].

²⁾ J. biol. Chemistry **79**, 553 [1928]; **88**, 531 [1930].

³⁾ a) Steroids, Reinhold Publishing Corp., New York 1959, S. 757. b) ebenda S. 179.

⁴⁾ Chemistry of Steroids, Butterworths Publications Ltd, London 1958, S. 245.

⁵⁾ R. TSCHESCHE und U. DÖLBERG, Chem. Ber. **91**, 2512 [1958].

3-Epi-gitoxigenin wurde durch Oxydation nach OPPENAUER und anschließende Reduktion mit NaBH_4 hergestellt^{6,7)}. Da 3-Epi-gitoxigenin nicht mit dem Reduktionsprodukt des Gitoxigenons mit NaBH_4 identisch war, muß die OH-Gruppe an C-16 in letzterem α -ständig sein, was auch aus sterischen Gründen zu erwarten ist. Wäre Gitoxigenon ein Derivat der Isoreihe (II), so wäre eine so leichte Rückverwandlung in die Normalreihe nicht zu verstehen. Eine Formulierung nach II würde auch kaum erklären, warum Gitoxigenon (als α -Form bezeichnet) bei Einwirkung von Säuren oder Alkali zu einer β -Form isomerisiert wird²⁾, während I nach SHOPPEE⁴⁾ unter diesen Bedingungen sehr leicht in eine 17-Allo-Verbindung übergehen kann.

Es bleibt noch auszuschließen, daß unter den schwach alkalischen Bedingungen der NaBH_4 -Reduktion nicht eine solche Isomerisierung am C-Atom 17 erfolgt. Wir haben dazu den Vergleich der Melrotationen herangezogen, der eindeutig zeigt, daß dies nicht der Fall sein kann.

Substanz	Konfiguration der sek. OH-Gruppen	$[M]_D$	ΔM
Gitoxigenin	$3\beta, 16\beta$	+129°	
3-Epi-gitoxigenin	$3\alpha, 16\beta$	+172°	$\Delta M (3\beta - 3\alpha) = +43^\circ$
3-Epi-16-epi-gitoxigenin	$3\alpha, 16\alpha$	+61°	$\Delta M (3\beta - 3\alpha) + \Delta M (16\beta - 16\alpha) = -68^\circ$

Daraus ergibt sich $\Delta M (16\beta \rightarrow 16\alpha)$ zu -111° .

Von L. F. FIESER und M. FIESER^{3b)} wird dafür ein Wert von -97° angegeben, der mit dem gefundenen sehr gut übereinstimmt, während sich bei einer Epimerisierung an C-17 -225° ergeben würde⁸⁾.

Es bleibt der negative Ausfall bei den Farbreaktionen nach LEGAL und nach KEDDE zu erklären. Nach dem nachfolgenden Schema IIIa-c ist in schwach alkalischer Lösung bei den Cardenoliden zunächst ein Carbeniation an C-21 zu erwarten, das durch die Mesomerie $b \leftrightarrow c$ stabilisiert wird und Anlaß gibt zu den erwähnten Farbreaktionen. Im Falle der Kedde-Reaktion tritt dieses Ion mit dem Dinitrobenzoat-Ion zu einem komplexen Farbsalz zusammen, während bei der Reaktion nach Legal die Bildung desselben Ions Voraussetzung ist für die Kondensation (an C-21) mit dem NO aus dem Nitroprussiatrest zu einer Isonitrosoverbindung, die im komplexen eisen(II)-haltigen Anion verbleibt⁹⁾. In ähnlicher Weise läßt sich auch der positive Ausfall der beiden Farbreaktionen bei reinen Fünfring-Ketonen interpretieren. Befindet sich nun in der Stellung 16 eine Ketogruppe, so tritt die negative Ladung bevorzugt am aufgerichteten Ketosauerstoff auf und nicht mehr am Kohlenstoff 21, womit wegen des Fehlens eines Carbeniat-Ions die Fähigkeit zur Ausbildung farbiger Salze nicht mehr gegeben ist (IV a-c). Die Entfernung der Ketogruppe läßt erwartungsgemäß die Fähigkeit zur Farbsalzbildung wieder auftreten.

Bufadienolide zeigen die beiden Farbreaktionen nicht, da am Pentadienolidring keine Möglichkeit für ein analoges Carbeniat-Ion vorhanden ist. Im Bovorubosid, das

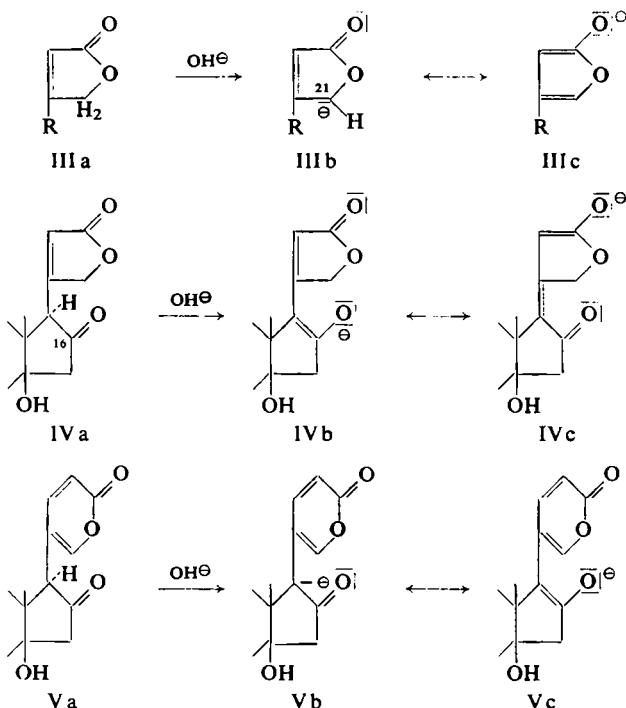
6) CH. TAMM, Helv. chim. Acta 41, 1762 [1958].

7) N. OKADA und A. YAMADA, Pharm. Bull. (Japan) 4, 420 [1956].

8) J. H. RUSSEL, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta 43, 167 [1960].

9) Vgl. z. B. F. FEIGL, Spot Tests in Organic Analysis, Elsevier Publishing Comp., Amsterdam 1956, S. 223.

eine Ketogruppe an C-16 trägt, wird die Kedde-Reaktion aber gegeben, da zwischen dem entsprechenden dafür erforderlichen Anion Vb \leftrightarrow c im Ring D und dem Penta-



dienolidring nur schwache Wechselwirkungen auftreten können. Die Legal-Reaktion ist beim Bovorubosid dagegen negativ, weil dafür eine aktivierte Methylengruppe nötig ist, was eine Enolisierung nach der viel weniger wahrscheinlichen Stellung 15 zur Voraussetzung hätte^{9a, *).}

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

a-Gitoxigenon (3,16-Diketo-14 β -hydroxy-cardenolid) (I): 1 g *Gitoxigenin* (Schmp. 215 bis 222°) wurde in 100 ccm Eisessig und 1 ccm Wasser mit 400 mg Chromsäure 2 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Lösung wurde bei 40° i. Vak. weitgehend eingeeignet und der Rückstand mit 30 ccm Wasser versetzt. Nach 3 maligem Ausschütteln mit je 60 ccm Chloroform verblieben nach dem Abdampfen des Lösungsmittels 980 mg, die aus Methanol/Wasser 700 mg Kristalle vom Schmp. 187–195° ergaben. Papierchromatographisch war das Produkt einheitlich und zeigte auf formamid-imprägniertem Papier¹⁰⁾ mit Toluol/Methyläthylketon 1:1 einen R_f-Wert von 0.76 (*Gitoxigenin* 0.50).

C₂₃H₃₀O₅ (386.5) Ber. C 71.48 H 7.82 Gef. C 71.29 H 7.90

^{9a)} Vgl. dazu J. FISHMAN, Abstr. Meeting Amer. chem. Soc., April 1960, 84-O.

^{*)} Wir danken Herrn Dr. G. SNATZKE an unserem Institut für seinen Beitrag zur Erklärung des Ausbleibens der Farbreaktionen.

¹⁰⁾ F. KAISER, Chem. Ber. 88, 556 [1955].

3a.14β.16a-Trihydroxy-cardenolid: Eine Lösung von 500 mg des oben erhaltenen Diketons in 40 ccm Dioxan wurde mit 10 ccm Wasser und unter Rühren mit 500 mg NaBH_4 versetzt. Nach 45 Min. wurde die Mischung mit 5-proz. Essigsäure angesäuert, wobei die gelbe Lösung farblos wurde (pH 6.5). Zu der Lösung wurden 30 ccm Wasser und 100 ccm Chloroform hinzugefügt und nach dem Durchschütteln und Abtrennen die Chloroformphase eingedampft. Sie ergab 510 mg Trockenrückstand. Eine zweite Chloroformausschüttelung lieferte noch 8 mg. Die Chromatographie an Aluminiumoxyd (15 g gesiebtes Aluminiumoxyd der Maschenzahl 4900 pro cm^2), in der üblichen Weise vorgenommen und mit einem Benzol/Chloroform-Gemisch begonnen, ergab 175 mg kristallisiertes Produkt vom Doppel-Schmp. 165°/222—227° (aus Aceton/Wasser). $[\alpha]_D^{20}$: + 16° (in Methanol).

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (390.5) Ber. C 70.74 H 8.78 Gef. C 70.74 H 8.54

Die Verbindung zeigte eine positive Reaktion mit Dinitrobenzoësäure/Alkali (Reakt. nach Kedde) und einen positiven Legal-Test, der in Intensität und Farbe nicht von dem des Gitoxigenins verschieden war.

3-Dehydro-gitoxigenin: 140° heiße Lösungen von 554 mg *Gitoxigenin* in 20 ccm Cyclohexanon und von 2 g Aluminiumisopropylat in 20 ccm wasserfreiem Xylol wurden vereinigt. Nach etwa 3 Min. wurde das Alkoholat mit 5 ccm Wasser zersetzt und die Mischung 5 Min. auf 110° gehalten. Nach dem Erkalten ließ sich der Niederschlag durch Filtrieren entfernen; er wurde mit 100 ccm Methanol gewaschen. Die Lösung und das Waschmethanol wurden vereinigt und 2 mal mit 200 ccm Petroläther ausgeschüttelt. Der Rückstand der Methanolphase (1.1 g) wurde in der üblichen Weise an 30 g Aluminiumoxyd chromatographiert. Die mit Chloroform/Äther-Gemisch (1:1, 150 ccm) eluierten Anteile (410 mg) enthielten kein Cardenolid. Aus den mit 200 ccm Chloroform von der Säule gelösten Fraktionen (insgesamt 490 mg) ließen sich aus Aceton/Äther 310 mg Kristalle des *3-Dehydro-gitoxigenins* erhalten. Ausb. 57% d. Th. Doppel-Schmp. 198—200°/226°. $[\alpha]_D^{20}$: + 44° (in Methanol).

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_5$ (388.5) Ber. C 71.10 H 8.30 Gef. C 70.85, 70.77 H 8.62, 8.57

Die Reduktion von *3-Dehydro-gitoxigenin* wurde mit Natriumborhydrid in Dioxan/Wasser, wie oben beschrieben, durchgeführt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde *3α-Epi-gitoxigenin* vom Schmp. 238—239° und einem $[\alpha]_D$: + 43° (in Methanol) erhalten.

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (390.5) Ber. C 70.74 H 8.78 Gef. C 70.85 H 8.62

3-Epi-dianhydro-gitoxigenin: Die Lösung von 100 mg *3-Epi-gitoxigenin* vom Schmp. 238—239° in 20 ccm Methanol wurde mit 5 ccm 4 n HCl 1 Stde. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die übliche Aufarbeitung erbrachte 80 mg Kristalle vom Schmp. 214—219°, $[\alpha]_D^{20}$ + 596° (in Methanol).

$\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_3$ (354.5) Ber. C 77.93 H 8.53 Gef. C 77.80 H 8.72

R_F -Wert im System Formamid/Xylol-Methyläthylketon 0.48; R_F -Wert des Dianhydro-gitoxigenins 0.67.

Aus *3-Epi-16-epi-gitoxigenin* (*3α.14β.16α-Trihydroxy-cardenolid*) vom Schmp. 165°/222 bis 227° entstand das gleiche *3α-Dianhydro-gitoxigenin*, wenn es in derselben Weise mit Salzsäure in der Siedehitze behandelt wurde. Beide Verbindungen stimmten in Schmelzpunkt, Drehung und R_F -Wert überein.