

CCA - 77

547.918:582.937

Die Konstitution von Sinogenin. Glykoside und Aglykone. 181. Mitteilung^a

O. Renkonen, O. Schindler und T. Reichstein

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

Eingegangen am 4. Juni 1957.

Durch Abbau von Sinogenin zu 3 β , 11 α -Diacetoxy-12-keto-ätiansäure-methylester (X) wurde die Konstitution dieses Genins als 3 β , 11 α , 14-Trihydroxy-12-keto-carden-(20:22)-olid bewiesen.

Aus den Samen von *Strophanthus divaricatus* (Lour.) Hook et Arn. aus Hong-Kong wurden, nach Fermentierung, als Hauptglykoside früher Divaricosid und Caudosid isoliert¹, deren Konstitution aufgeklärt ist^{2, 3, 4}. Die Samen enthielten noch weitere Glykoside, doch wurden sie nicht rein erhalten. Inzwischen konnte eine grössere Menge neuer Samen derselben Provenienz mit Hilfe der Verteilungschromatographie untersucht werden⁵. Dabei gelang es unter anderem 6 krist. Glykoside zu isolieren, die in 3 Paare gruppiert werden können. Die Vertreter jedes Paares enthielten dasselbe Genin und unterschieden sich nur im Zuckeranteil. Aus den zwei neuen Glykosiden Sinosid und Sinostrosid wurde bei der Hydrolyse ein neues Genin C₂₃H₃₂O₆ erhalten und als Sinogenin bezeichnet^b. Es ist bereits früher gezeigt worden⁵, dass Sinogenin bei der Dehydrierung mit CrO₃ das bekannte Sarmutogenon (VII)⁶ liefert, das auf gleichem Wege früher aus Sarmutogenin (III)⁶ und aus Caudogenin (IV)² erhalten wurde. Damit war das C-Gerüst und die Stellung der O-Atome eindeutig bewiesen. Sinogenin konnte sich von den zwei letztgenannten Geninen somit nur durch Raumisomerie an C-3 sowie durch Raum- oder Stellungs-Isomerie im Ring C unterscheiden. Hier wird der Beweis erbracht, dass letzteres zutrifft und dass dem Sinogenin die Formel I zukommt.

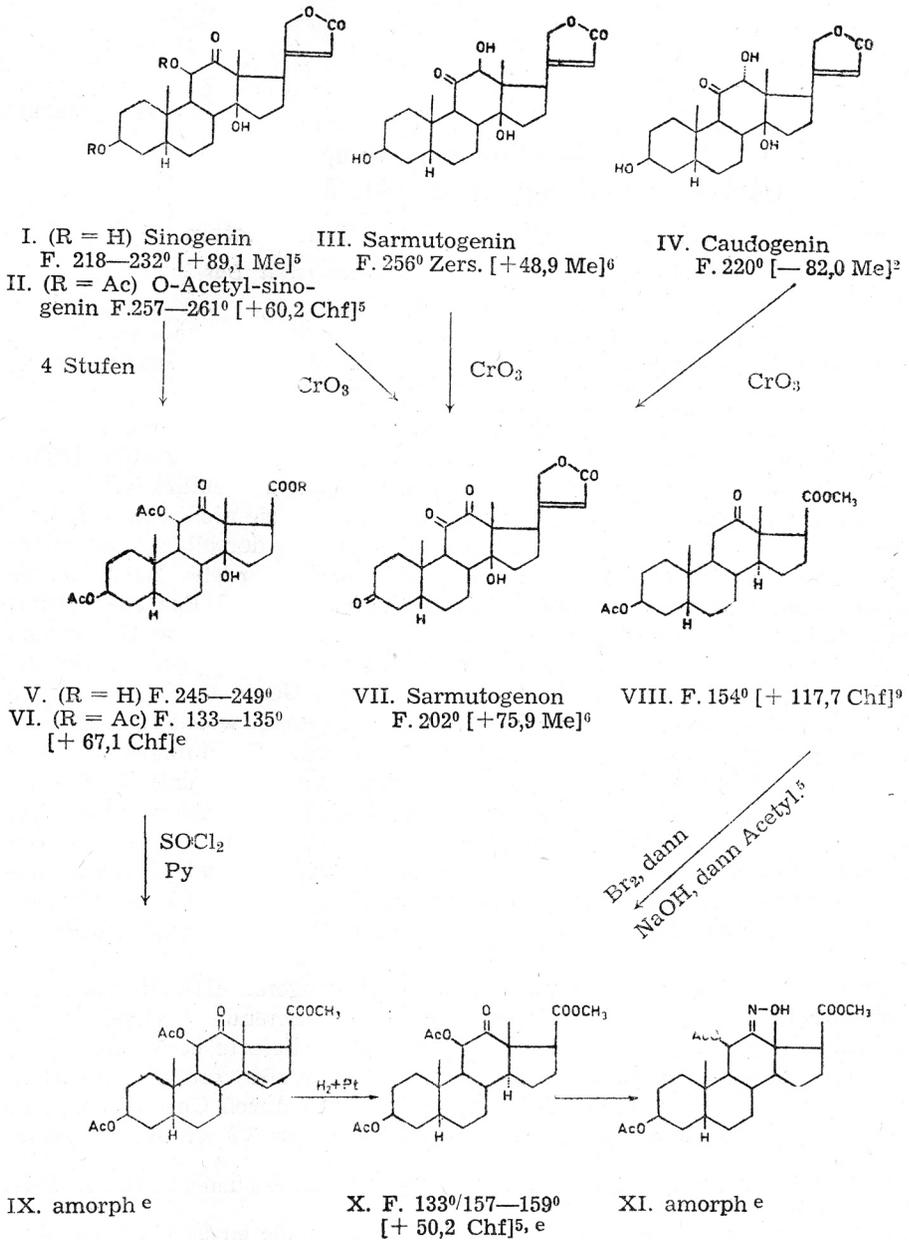
Für den Strukturbeweis wurde Di-O-acetyl-sinogenin (II) mit Ozon bei -80° abgebaut⁷. Das als Zwischenprodukt dabei auftretende 21-Hydroxy-20-keton wurde nur in amorphem Zustand erhalten. Es lieferte beim Abbau mit NaJO₄^c die krist. Ätiosäure V. Die rohe Säure wurde direkt mit CH₂N₂ methyliert und der so erhaltene krist. Methylester VI durch Chromatographie völlig gereinigt. Die molekulare Drehung dieses Esters VI ist um 18° höher

a) 180. Mitteilung: Ch. Tamm, G. Volpp und G. Baumgartner, *Helv. Chim. Acta* 40 (1957) 1469.

b) *Strophanthus divaricatus* ist, soweit uns bekannt, die einzige *Strophanthus*-Art, die in China wächst.

c) Ausgeführt wie bei S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* 37 (1954) 1200.

d) Lediglich O-Acetyl-desarogenin zeigte in Chf eine um ca. 273° niedrigere Drehung als der entsprechende Ätiansäure-ester. Die Drehungen wurden inzwischen in Aceton bestimmt, wobei sich die Differenz auf 85° (molekular) erniedrigte. Vergl. spätere Publ. von A. Lardon.



Ac = CH₃CO-, Py = Pyridin. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: Chf = Chloroform, Me = Methanol.

e) Exp. Teil dieser Arbeit.

analogen Fällen beobachteten Werten (im Mittel ca. 30°) entspricht. Die UV.- (Fig. 1) und IR.-Absorptionsspektren sind mit der vorgeschlagenen Struktur gut vereinbar. Ersteres zeigt nur die schwache R-Bande der Ketogruppe bei 283 m μ . Im IR. deutet die Lage der HO-Bande (bei 2,95 μ) und der Ester-Carbonyl-gruppe (bei 5,80 μ) auf das Vorliegen einer Wasserstoffbrücke^{3, 8} hin. Behandlung des

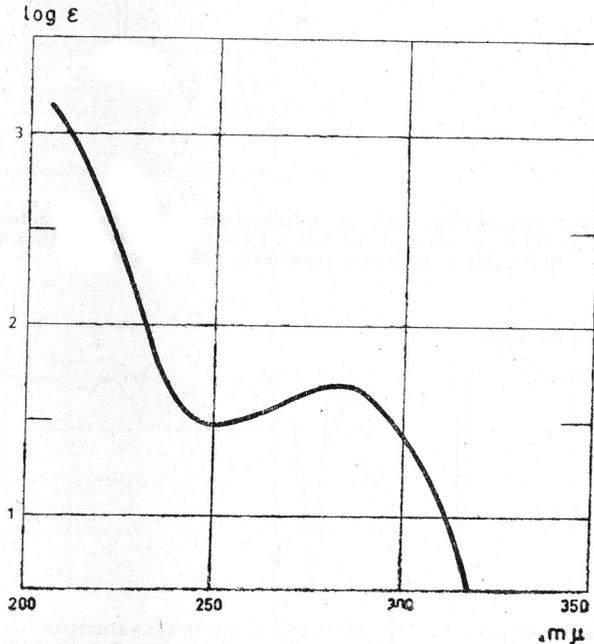


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektrum von 3 β ,11 α -Diacetoxy-14-hydroxy-21-keto-14 β -ätiansäure-methylester (VI) in Alkohol*. Maximum bei 283 m μ , log ϵ = 1,69, ber. auf C₂₅H₃₆O₈ = 464,54.

Esters VI mit SOCl₂ und Pyridin bei 0° gab den ungesättigten Ester IX, der nur als farbloses Glas erhalten und daher nicht weiter untersucht wurde. Die Hydrierung mit Pt in Eisessig gab einen krist. gesättigten Ester X, der nach Smp., Mischprobe, Drehung und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 3) mit einem früher⁴ synthetisch bereiteten Präparat von 3 β ,11 α Diacetoxy-12-keto-ätiansäure-methylester (IX) identisch war. Letzterer entstand als Nebenprodukt aus dem 3 β -Acetoxy-12-keto-ätiansäure-methylester (VIII) durch Bromierung, kurzfristigen Umsatz des amorphen Bromierungsproduktes mit NaOH bei 23°^f und anschließende Acetylierung. Als Hauptprodukt entstand bei dieser Reaktion der 3 β ,11 β -Diacetoxy-12-keto-ätiansäure-ester⁴, vermutlich aus dem als Hauptprodukt bei der Bromierung gebildeten 11 α -Bromester unter Konfigurationsumkehr (in normaler SN2-Reaktion). Die Bildung des 11 α -Hydroxyesters könnte entweder analog aus dem 11 β -Bromester erfolgen (der in kleinerer Menge im rohen Bromierungsprodukt enthalten sein dürfte) oder auch aus dem 11 α -Bromester unter Erhaltung der Konfiguration über ein Carboniumion) oder endlich durch

* Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Unicam SP 500 Spectrophotometer mit Photomultiplier 1 P 28 als Detektor.

f) Methodik von T. F. Gallagher, *J. Biol. Chem.* **165** (1946) 211.

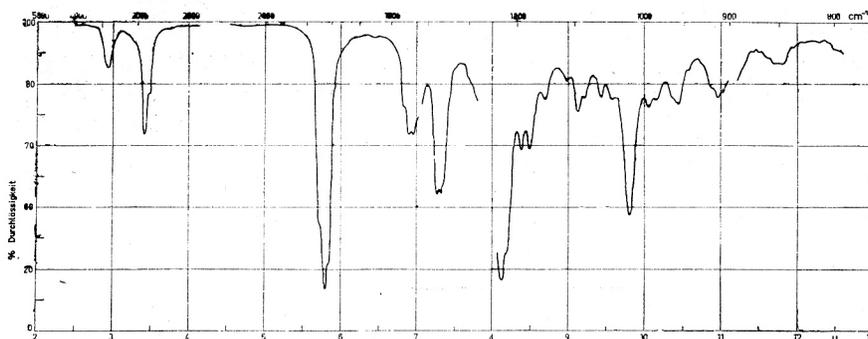


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von $3\beta,11\alpha$ -Diacetoxy-14-hydroxy-12-keto-14 β -ätiansäure-methylester (VI) in CH_2Cl_2 **. Banden bei 2,95 μ (HO-Gruppe assoziiert), 5,72 μ (Acetoxy), 5,80 μ (Ester-carbonyl assoziiert), 8,10 μ (Acetoxy).

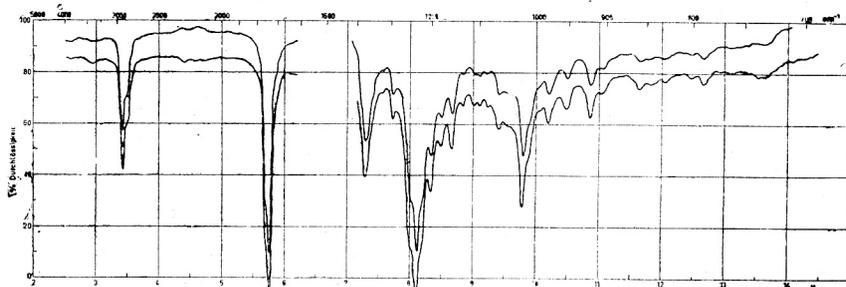


Fig. 3. IR.-Absorptionsspektren von $3\beta,11\alpha$ -Diacetoxy-12-keto-ätiansäure-methylester (X) in CH_2Cl_2 **. Kurve 1 = Präparat aus Sinogenine, Kurve 2 (um 10% T nach unten verschoben) = synthetisches Präparat⁴. Banden bei 5,70 μ (11 α -Acetoxy), 5,75 μ (β -Acetoxy), 5,75 μ (β -Acetoxy; -12-keto;-17-Carbomethoxy-Gruppe) 8, 11 μ , 8, 35 μ , 8, 50 μ (Acetoxy).

nachträgliche Isomerisierung. Die Struktur und Konfiguration des C-Ringes im Ester X lässt sich eindeutig aus der molekularen Drehung und der Lage der schwachen Keto-bande im UV.-Absorptionsspektrum ableiten. Da in der Cholansäure-Reihe alle vier theoretisch möglichen Isomeren bekannt und auf eindeutigem Weg synthetisiert wurden¹⁰, lässt sich die ungefähre molekulare Drehung der Ätiansäurederivate berechnen. Die für den Ester X gefundene molekulare Drehung ist nur mit der angegebenen Konstitution, sowie mit der 12 β -Acetoxy-11-keto-Gruppierung vereinbar⁴. Letztere würde aber ein um etwa 10 $m\mu$ langwelligeres Absorptionsmaximum aufweisen. Ausserdem ist der $3\beta,12\beta$ -Diacetoxy-11-keto-ätiansäure-methylester bekannt⁴ und eindeutig von X verschieden. In Übereinstimmung mit der vorgeschlagenen Konstitution reagiert X auch mit Hydroxylamin; das Umsetzungsprodukt war zwar nicht kristallisiert, zeigte aber nach chromatographischer Reinigung den für ein Monoxim XI passenden N-Gehalt^e. Durch die beschriebene Identifizierung wird somit die Formel des Sinogenins bewiesen.

** Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Perkin-Elmer Double Beam Spectrophotometer Modell 21. Die Kurven in Fig. 2 und Fig. 3 sind in den Zonen von Lösungsmittelauslöschung unterbrochen.

Auf eine scheinbare Unstimmigkeit der molekularen Drehungen muss aber hier hingewiesen werden. Aus *Strophanthus intermedius* und anderen *Strophanthus*-Arten sind unter anderem die drei isomeren Genine Sarverogenin, Inertogenin und Leptogenin isoliert worden, denen die Formel $C_{23}H_{30}O_7$ zukommt, und die sich ebenfalls lediglich durch Isomerie im Ring C voneinander unterscheiden. Wie früher ausgeführt¹¹, spricht vieles dafür, dass Inertogenin und Leptogenin gleich gebaut sind wie Caudogenin und Sarmutogenin, und dass sie lediglich ein zusätzliches, ätherartig gebundenes O-Atom enthalten. Sinogenin ist somit das bisher noch fehlende dritte Isomere der $C_{23}H_{32}O_6$ -Reihe, das dem Sarverogenin entspricht. In Tab. I sind die molekularen Drehungen dieser 6 Stoffe zusammengestellt. Wie ersichtlich, ist die Drehungsdifferenz der beiden ersten Paare von ähnlicher Grössenordnung; bei Sarverogenin und Sinogenin ist sie jedoch sehr stark abweichend und zeigt umgekehrtes Vorzeichen. Der Drehungsbeitrag des Oxydringes scheint sich somit im letzten Fall völlig anders auszuwirken. Wir glauben, dass dieser Unterschied durch die relative Nähe der anderen O-Funktionen hervorgerufen wird und können ihn daher nicht als Gegenbeweis gegen die vorgeschlagene Struktur der erwähnten Genine ansehen.

TABELLE 1
Vergleich der molekularen Drehungen in Methanol

O ₇ -Serie	Leptogenin + 339,3 ⁰ ± 9 ⁰	Inertogenin − 237,2 ⁰ ± 9 ⁰	Sarverogenin + 198,9 ⁰ ± 9 ⁰
O ₆ -Serie	Sarmutogenin + 197,8 ⁰ ± 8 ⁰	Caudogenin − 331,8 ⁰ ± 12 ⁰	Sinogenin + 360,5 ⁰ ± 12 ⁰
Differenz	+ 141,5 ⁰ ± 17 ⁰	+ 94,6 ⁰ ± 21 ⁰	− 161,0 ⁰ ± 21 ⁰

Der eine von uns (O. Re.) dankt dem Suomen Kulttuurirahasto-Fonds (Helsinki) sowie der Ciba-Aktiengesellschaft (Basel) für Stipendien, die ihm die Teilnahme an dieser Untersuchung ermöglichten. Ferner danken wir Herrn R. Bloch für seine gewissenhafte Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

EXPERIMENTELLER TEIL

Alle Smp. sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze in benützter Ausführungsform bis 200⁰ etwa ± 2⁰, darüber etwa ± 3⁰. Substanzproben zur Drehung wurden 45 Min. bei 60⁰ und 0,1 Torr getrocknet, zur Analyse 5 Std. bei 100⁰ und 0,01 Torr über P₂O₅ mit Einwage im Schweinchen. Die Chromatographien wurden nach dem Durchlaufverfahren¹² an alkalifreiem Al₂O₃¹³ ausgeführt, das bei 180⁰ reaktiviert wurde, oder an SiO₂ (»für Chromatographie« Korngrösse 0,15—0,3 mm). Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf-Ae-(1:3) oder Chf, Waschen mit W, 2-N HCl, 2-N Sodalösung und W. Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum. Für die Lösungsmittel gelten die folgenden Abkürzungen: Ae = Äther, Al = 95-proz. Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, Pe = Petroläther (Sdp. 40—55⁰), Pn = Pentan, Py = Pyridin, W = Wasser.

3β,11α-Di-O-acetyl-12-keto-14-hydroxy-14β-ätiansäure-methylester (VI)

aus 3,11-Di-O-acetyl-sinogenin (II)

370 mg 3,11-Di-O-acetyl-sinogenin (II) vom Smp. 255—260⁰ in 200 cm³ Essigester wurden auf −80⁰ abgekühlt und 30 min. ein langsamer Strom von trockenem

ozonisiertem Sauerstoff (mit ca. 4% O₃) durchgeleitet. Dann wurde die blaue Lösung auf 20° erwärmt und im Vakuum auf ca. 50 cm³ eingengt. Es wurde mit 2 cm³ Eisessig und 2 g Zn-Staub versetzt und 2½ Std. auf der Maschine geschüttelt. Hierauf wurden weitere 2 g Zn-Staub zugegeben und noch 4 Std. geschüttelt. Dann wurde durch ein mit Kieselgur (Hyflo-Super-Cel) gedichtetes Filter abgenutscht und gut mit Essigester nachgewaschen. Die klaren Filtrate wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chf-Ae aufgenommen und wie üblich mit W, 2-N Sodalösung und W gewaschen. Nach Eindampfen wurde das neutrale Rohprodukt in 32 cm³ Me gelöst, mit der Lösung von 450 mg KHCO₃ in 11 cm³ W versetzt und 16 Std. bei 20° stehen gelassen. Dann wurde mit 20 cm³ W versetzt, dass Me im Vakuum bei 20° abdestilliert, die wässrige Phase mit verd. H₂SO₄ bis zur kongosauren Reaktion versetzt und 4 mal mit Chf ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Chf-Lösungen gaben beim Eindampfen 330 mg rohes Ketol als farbloses Glas, das alkalische Silberdiammin-Lösung bei 20° rasch und stark reduzierte.

Das rohe Ketol wurde in 50 cm³ Me gelöst, mit 370 mg NaJO₄ in 50 cm³ W (mit ca. 0,5 cm³ 2-N H₂SO₄ neutralisiert) versetzt und 4½ Std. bei 20° stehen gelassen. Dann wurde das Me im Vakuum abdestilliert, die wässrige Lösung mit H₂SO₄ bis zur knapp kongosauren Reaktion versetzt und 3 mal mit je 100 cm³ Chf-Ae ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden der Reihe nach mit je 15 cm³ W (2 mal), 10-proz. KHCO₃-Lösung (5 mal) und W (2 mal) gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der neutrale Rückstand wog nur 52 mg und wurde nicht untersucht. Die vereinigten KHCO₃-Lösungen sowie die zweiten Waschwässer wurden mit H₂SO₄ bis zur kongosauren Reaktion versetzt und 5 mal mit je 80 cm³ Chf ausgeschüttelt. Die mit W gewaschenen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge gaben beim Eindampfen 261 mg Rückstand. Aus An-Ae kristallisierte die Säure (V) in kleinen, zu Drusen vereinigten Blättchen (98 mg), Smp. 245—249° (Sintern ab 235°). Auf eine völlige Reinigung wurde verzichtet.

Die rohe Säure (250 mg), Kristalle und Mutterlaugen wurden in Chf gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt und 15 Min. bei 20° stehen gelassen. Nach Eindampfen wurde in 2 cm³ abs. Py und 1,2 cm³ Acetanhydrid gelöst und 24 Std. bei 20° stehen gelassen. Die Aufarbeitung gab 257 mg Rohprodukt. Aus Ae-Pn total 157 mg krist. Ester VI in farblosen Blättchen, beste Teile Smp. 133—135°. Die Mutterlauge (79 mg) wurde an 3 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Be eluierbaren Anteile (57 mg) gaben aus Ae-Pn noch 49 mg krist. Ester VI. Aus den Mutterlaugen sowie aus den mit Be-Ae-(8:2) eluierbaren Anteilen (11 mg) liessen sich noch 2 mg Kristalle vom Smp. 116—118° isolieren (nicht untersucht). Zur Analyse wurde der Ester VI nochmals aus Ae-Pn umkristallisiert, farblose Blättchen, Smp. 132—135°, $[\alpha]_{578}^D = +67,10 \pm 1,0$ (c = 1,762 in Chf).



Die UV.- und IR-Spektren sind im theoret. Teil widergegeben.

3β,11α-Diacetoxy-12-keto-ätien-(14)-säure-methylester (IX)

82 mg 3β,11α-Diacetoxy-12-keto-14-hydroxy-14β-ätiansäure-methylester (VI) vom Smp. 130—132° wurden in 1 cm³ abs. Pyridin gelöst, bei 0° mit 0,1 cm³ reinstem SOCl₂ versetzt, in eine Ampulle eingeschmolzen und 2 Stunden bei 0° stehen gelassen, wobei die Lösung sich gelbbraun färbte. Dann wurde mit wenig Eis zerlegt und mit Chf-Ae ausgeschüttelt. Die wie üblich gewaschene und getrocknete Lösung gab beim Eindampfen im Vakuum 76 mg Rückstand. Zur Reinigung wurde in Be gelöst, durch wenig Al₂O₃ filtriert und mit Be nachgewaschen. Die eingedampften Filtrate gaben 51 mg farbloses Glas, das bisher nicht kristallisierte; es gab mit Tetranitromethan eine merkliche Gelbfärbung. Ae eluierte noch 2 mg Material, das mit der Hauptmenge vereint wurde.

3β,11α-Diacetoxy-12-keto-ätiansäure-methylester (X) aus (IX)

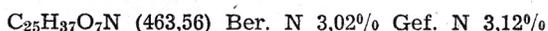
Die 53 mg amorpher Ester IX wurden mit 25 mg PtO₂+H₂O in 10 cm³ reinstem Eisessig bei 20° und 730 Torr hydriert. Nach Aufnahme von 9,8 cm³ kam die Hydrierung zum Stillstand. Es wurde filtriert und das Filtrat mit 0,2 cm³ 2-proz. CrO₃-

Eisessig-Lösung versetzt und 7 Std. bei 20° stehen gelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 54 mg Neutralprodukt, das an 2,5 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die ersten drei mit Pe-Be-(20:80) eluierten Fraktionen gaben nur 12 mg amorphes Material.

Die mit Be sowie mit Be-Ae eluierbaren Anteile (34 mg) gaben aus Ae-Pn 22 mg farblose Blättchen, Smp. 156—159°. Umkristallisieren aus Ae-Pn gab farblose Stäbchen. Smp. 157—159°, $[\alpha]_D^{23} = +48,80 \pm 30$ ($c = 0,6946$ in Chf).

Das synthetische Material⁴ und die Mischprobe schmolzen gleich, auch die IR.-Spektren waren gleich (vgl. Fig. 3).

Oxim XI. 11 mg krist. Ester X vom Smp. 155—158° in 0,5 cm³ Al wurden mit 25 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 50 mg Na-acetat-trihydrat versetzt und 5 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft, in Essigester aufgenommen und 4 mal mit je 1 cm³ W gewaschen. Die wässrigen Lösungen wurden jeweils noch mit 5 cm³ Essigester nachextrahiert. Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum gab 10 mg Rückstand. Er wurde an 0,3 g. SiO₂ chromatographiert. Die mit Be-Ae-(80:20) und -(60:40) eluierten Anteile (8,5 mg) stellten ein farbloses Glas dar, das bisher nicht kristallisierte.



Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. Thommen im Mikrolabor unseres Instituts ausgeführt.

LITERATUR

1. O. Schindler und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **36** (1953) 1007.
2. O. Schindler und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **37** (1954) 667.
3. H. Kündig-Hegedüs und O. Schindler, *Helv. Chim. Acta* **39** (1956) 904.
4. O. Schindler, *Helv. Chim. Acta* **39** (1956) 1698.
5. vgl. O. Renkonen, Dissertation, Helsinki 1957.
6. R. Richter, O. Schindler und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **37** (1954) 76.
7. K. Meyer und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **30** (1947) 1508.
8. W. Schlegel und Ch. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **40** (1957) 160.
9. S. Pataki, K. Meyer und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **36** (1953) 1295.
10. G. Baumgartner und Ch. Tamm, *Helv. Chim. Acta* **38** (1955) 441 und frühere Lit. daselbst.
11. H. Hegedüs, Ch. Tamm und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **38** (1955) 98.
12. T. Reichstein und C. W. Shoppee, *Discussions Faraday Soc.* **7** (1949) 305.
13. J. v. Euw, A. Lardon und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **27** (1944) 1292, Fussnote 2.

IZVOD

Konstitucija sinogenina. Glikozidi i aglikoni, 181. priopćenje

O. Renkonen, O. Schindler i T. Reichstein

Razgradnjom sinogenina u metilni ester 3β,11α-diacetoksi-12-ketoetianske kiseline (X) dokazano je, da je sinogenin 3β,11α,14-trioksi-12-ketokarden-(20:22)-olid.

ORGANISCH-CHEMISCHE ANSTALT
UNIVERSITÄT BASEL

Priljeno 4. lipnja 1957.

g) Aus einer Fraktion wurde zuerst die tiefschmelzende Form vom Smp. 133—135°⁴⁾ erhalten, die sich durch Umkristallisieren leicht in die hochschmelzende Form umwandeln liess.