

Rudolf Tschesche, Hans Gerd Berscheid, Hans-Wolfram Fehllhaber und Günther Snatzke

Digitanolykoside, XVIII<sup>1)</sup>

## Die Struktur des Digacetigenins<sup>2)</sup>

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 25. April 1967)

Das bisher als einheitlich angesehene Digacetigenin, Aglykon des aus portugiesischen Digitalis-Drogen gewonnenen Digacetinins, wurde als eine Mischung erkannt, in der etwa 25% des 5 $\alpha$ .6-Dihydro-Analogen vorliegen. Beide Komponenten ließen sich an mit Silbernitrat imprägniertem Kieselgel trennen. Die früheren Strukturvorschläge für das Digacetigenin (**1**, **2**) wurden widerlegt und — vor allem mittels NMR- und massenspektrometrischer Untersuchungen — eine neue Strukturformel abgeleitet. Digacetigenin stellt danach 3 $\beta$ .14-Dihydroxy-12 $\beta$ -acetoxy- $\Delta^5$ -14 $\beta$ -pregnendion-(15.20) (**3**) dar.

Aus einer portugiesischen Digitalis-Droge wurde 1957 ein als Digacetinin bezeichnetes Glykosid isoliert<sup>3)</sup>, dessen Aglykon, Digacetigenin, später auch aus technischen Digitoxin-Präparaten gewonnen werden konnte<sup>4)</sup>. Digacetigenin besitzt die Summenformel C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub> und ist ein mit Essigsäure verestertes C<sub>21</sub>-Steroid. Auf Grund seines chemischen Verhaltens wurde ihm damals die Struktur **1** zugeschrieben, die jedoch einige Jahre später von Shoppee und Lack<sup>5)</sup> revidiert wurde. Diese Autoren bestätigten das Vorliegen einer 3 $\beta$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -en-Gruppierung und eines 15-Ketons, veränderten aber die Positionen der zweiten Carbonylgruppe, des tertiären Hydroxyls und der Acetoxygruppe (**2**). Daß in der Position 20 eine Carbonylfunktion vorliegt, erkannten sie vor allem an dem für Methylketone typischen NMR-Signal bei  $\tau = 7.64$ . In Anlehnung an die zu jener Zeit für das Digiprogenin angenommene Strukturformel<sup>6)</sup> — besonders auf Grund der in beiden Fällen zu einem  $\Delta^{16}$ -En-15.20-dion führenden Dehydratisierung und der Analogie in den NMR-Spektren — wurde die tertiäre OH-Gruppe nach C-17 verlegt; inzwischen berichtigten Satoh und Mitarbb.<sup>7)</sup> allerdings die Formel des Digiprogenins; dieses besitzt danach keine 17-, sondern eine

1) XVII. Mitteil.: R. Tschesche und G. Marwede, Tetrahedron Letters [London] 1967, 1359.

2) Auszug aus der Dissertat. H. G. Berscheid, Univ. Bonn 1967.

3) R. Tschesche, W. Hammerschmidt und G. Grimmer, Liebigs Ann. Chem. 614, 136 (1958).

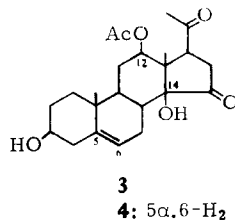
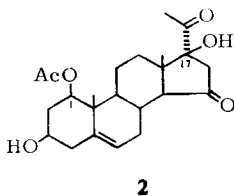
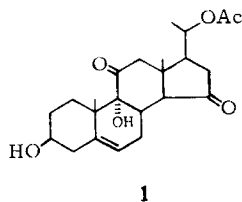
4) R. Tschesche, W. Hammerschmidt und G. Snatzke, Liebigs Ann. Chem. 642, 119 (1961).

5) C. W. Shoppee und R. E. Lack, J. chem. Soc. [London] 1964, 3611.

6) D. Satoh, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] 8, 270 (1960), C. A. 55, 9472 (1961); D. Satoh und M. Horie, ebenda 12, 979 (1964); C. W. Shoppee und R. E. Lack, J. chem. Soc. [London] 1964, 3619.

7) D. Satoh, S. Kobayashi und M. Horie, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] 14, 552 (1966), C. A. 65, 12262d (1966); D. Satoh und S. Kobayashi, ebenda 15, 248 (1967).

14-OH-Gruppe. Die Acetoxygruppe des Digacetigenins schließlich kann, wie *Shopee* und *Lack* aus den NMR-Spektren ableiteten, nur an C-1 oder C-12 haften. Sie entschieden sich für die 1-Stellung, da sie bei einem aus Desacetyl-digacetigenin erhaltenen Oxydationsprodukt nach Zusatz von Alkali eine bathochrome Verschiebung der UV-Absorption beobachteten, die auf eine  $\beta$ -Dicarbonylgruppierung zurückgeführt wurde. Das daraus zu folgender 1.3-Diol legten sie in Analogie zu dem Spirostendiol Ruscogenin<sup>8)</sup> in den Ring A<sup>9)</sup>.



Bei der Überprüfung der von früher<sup>3,4)</sup> noch vorhandenen Substanzreste mit modernen physikalischen Methoden kamen wir zu Widersprüchen bezüglich der Stellung der tertiären Hydroxyl- und der Acetoxygruppe in **2**. Außerdem stellte sich heraus, daß als Begleiter stets eine Dihydroverbindung vorhanden war. Zusätzliches, von *Reichstein* zur Verfügung gestelltes Digacetigenin<sup>10)</sup> versetzte uns in die Lage, diese Dihydro-Komponente abzutrennen und eine neue Untersuchung aufzunehmen. Gestützt vor allem auf die NMR- und Massenspektrometrie sowie durch eine Verknüpfung mit dem Digitonol Purprogenin (**5**)<sup>11)</sup> ergab sich für *Digacetigenin* die Formel eines  $\beta$ .14-Dihydroxy-12 $\beta$ -acetoxy- $\Delta^5$ -14 $\beta$ -pregnendions-(15.20) (**3**).

### Abtrennung des Dihydro-digacetigenins

Nach den Massenspektren des aus verschiedenen Quellen stammenden natürlichen Digacetigenins<sup>3,4,10)</sup> und aller daraus gewonnenen Derivate enthielten die Substanzen stets eine Beimengung mit einem um zwei Masseneinheiten größeren Molekulargewicht. Da diese auch in einem CrO<sub>3</sub>-Oxydationsprodukt (**9**) noch vorhanden war, schied eine vom Digacetigenin durch Ersatz einer Carbonylgruppe durch eine sekundäre Hydroxylgruppe sich ableitende Verbindung aus. Es war daher anzunehmen,

<sup>8)</sup> *D. Burn, B. Ellis* und *V. Petrow*, Proc. chem. Soc. [London] **1957**, 119, und J. chem. Soc. [London] **1958**, 795.

<sup>9)</sup> In einer kürzlich erschienenen Mitteilung von *C. W. Shoppee, R. E. Lack* und *B. C. Newman*, J. chem. Soc. [London] (C) **1967**, 339, wurden aufgrund vergleichender Untersuchungen am Ruscogenin jedoch Zweifel an der 1-Stellung der Acetoxygruppe des Digacetigenins geäußert, ohne daß ein neuer Strukturvorschlag erfolgte.

<sup>10)</sup> Herrn Prof. Dr. *T. Reichstein* sei auch an dieser Stelle sehr für die Überlassung von 1 g Rohdigacetigenin gedankt, aus dem sich 850 mg natürliches Digacetigenin gewinnen ließen. Nach seinem Begleitschreiben (vom 10. Juni 1964) handelt es sich dabei um das gleiche Material, das auch *Shopee* und *Lack*<sup>5)</sup> für ihre Untersuchungen benutzt haben.

<sup>11)</sup> *D. Satoh, H. Ishii* und *Y. Oyama*, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **8**, 657 (1960), C.A. **55**, 16594 d (1961); *D. Satoh*, Annu. Rep. Shionogi Res. Lab. [Osaka] **14**, 14 (1964), C. A. **62**, 3883 e (1965). Herrn Dr. *D. Satoh* danken wir sehr für eine Purprogenin-Probe.

daß es sich um ein 5.6-Dihydro-digacetenin handelte. Dies erklärte auch, warum natürliches Digacetenin nach den üblichen Methoden der Dünnschichtchromatographie einheitlich zu sein schien. Eine Trennung der beiden Komponenten gelang erst an mit Silbernitrat imprägniertem Kieselgel<sup>12)</sup>. Mit dieser Technik ließen sich dann auch durch Säulenchromatographie kleine Mengen reinen Digacetenins und der Dihydroverbindung gewinnen, mit denen die notwendigen spektroskopischen Untersuchungen durchgeführt werden konnten.

Die durch hochauflösende Massenspektrometrie ermittelten Summenformeln betragen  $C_{23}H_{32}O_6$  für das Digacetenin — dies entspricht dem früher bestimmten Wert<sup>3)</sup> — und  $C_{23}H_{34}O_6$  für das Dihydro-digacetenin. Die Massenspektren beider Verbindungen sind weitgehend analog, die  $\Delta^5$ -Doppelbindung des Digacetenins wirkt sich lediglich durch die gegenüber dem Dihydro-digacetenin erheblich größere Neigung zur Eliminierung der  $3\beta$ -OH-Gruppe aus (vgl. die Diskussion auf S. 3300).

Charakteristische Unterschiede treten in den NMR-Spektren auf: Das Signal für das Vinylproton im Digacetenin bei  $\tau = 4.55$  fehlt im Spektrum der Dihydroverbindung, und die Signale der angulären Methylgruppen erscheinen für Digacetenin bei  $\tau = 8.90$  und  $9.01$ , für Dihydro-digacetenin aber bei  $\tau = 8.93$  und  $9.22$ . Ordnet man nun jeweils den zuerst genannten Wert der  $CH_3$ -18-Gruppe, den zweiten der  $CH_3$ -19-Gruppe zu, so stimmen die sich ergebenden Verschiebungen von  $+0.03$  bzw.  $+0.21$  ppm völlig überein mit den Differenzen zwischen einem  $3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ -steroid und dem  $\Delta^5$ -En- $3\beta$ -ol, nämlich  $+0.02$  ppm für  $CH_3$ -18 und  $+0.21$  ppm für  $CH_3$ -19 (Zum Vergleich: zum entsprechenden  $5\beta$ -Steroid betragen die Differenzen  $+0.02$  und  $+0.06$  ppm)<sup>13)</sup>. Da alle übrigen Signale in beiden Fällen gleichartig sind, muß der gesättigte Begleiter des Digacetenins also ein  $5\alpha$ ,6-Dihydro-Analoges darstellen (4). — Die obige Zuordnung der Methylsignale bedeutet eine Vertauschung gegenüber der von *Shopee* und *Lack*<sup>5)</sup> für das Digacetenin angegebenen Deutung; sie wird aber durch den auf S. 3303/3304 beschriebenen Vergleich mit authentischen Modellsubstanzen bestätigt.

Der Anteil von 4 am natürlichen Digacetenin-Gemisch ließ sich aus dessen NMR-Spektrum durch Integration der Methylsignale zu ungefähr 20–25% abschätzen. Ein zuverlässigeres Ergebnis brachte ein Molekül-Massenspektrum<sup>14)</sup>, das im Dresdener Institut *Manfred von Ardenne* aufgenommen wurde<sup>15)</sup>: Danach beträgt der Anteil des Dihydro-digacetenins etwa 25%. — Daß in derselben Pflanze ein gesättigtes (N-freies) Pregnan-Derivat neben seinem  $\Delta^5$ -ungesättigten Analogon

<sup>12)</sup> L. J. Morris, Chem. and Ind. 1962, 1238; H. Wagner, J.-D. Goetschel und P. Lesch, Helv. chim. Acta 46, 2986 (1963).

<sup>13)</sup> R. F. Zürcher, Helv. chim. Acta 44, 1380 (1961), 46, 2054 (1963); K. Tori und K. Aono, Annu. Rep. Shionogi Res. Lab. [Osaka] 14, 136 (1964); N. S. Bhacca und D. H. Williams, Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry, Holden-Day, San Francisco 1964.

<sup>14)</sup> M. von Ardenne, K. Steinfelder, R. Tümmeler und K. Schreiber, Experientia [Basel] 19, 178 (1963); Anwendung auf hochsubstituierte Steroide: M. von Ardenne, R. Tümmeler, Ek. Weiss und T. Reichstein, Helv. chim. Acta 47, 1032 (1964).

<sup>15)</sup> Herrn Prof. Dr. K. Schreiber, Gatersleben, sei für die Vermittlung dieser Aufnahme bestens gedankt.

vorkommt, ist bisher anscheinend erst in einem Fall beobachtet worden<sup>16)</sup>: in *Xysmalobium undulatum* R. Br. konnte neben  $\Delta^5$ -Pregnenol-(3 $\beta$ )-on-(20) auch das 5 $\alpha$ -Pregnenol-(3 $\beta$ )-on-(20) nachgewiesen werden<sup>17)</sup>.

### Reaktionen des Digacetigenins

Die Strukturermittlung des Digacetigenins stützt sich vorwiegend auf spektroskopische Methoden. Die dazu benötigten Derivate und einige ihrer Reaktionen werden im folgenden kurz beschrieben.

Oxydation von natürlichem Digacetigenin nach Jones et al.<sup>18)</sup> mit anschließender Isomerisierung der Doppelbindung ergab das  $\Delta^4$ -En-3-on **9**, das mit methanolischer  $\text{KHCO}_3$ -Lösung zu **10** verseift wurde. Nach dem Strukturvorschlag **2**<sup>5)</sup> hätte sich in diesem Produkt die sekundäre OH-Gruppe zu einem  $\Delta^{1,4}$ -Dien-3-on abspalten lassen sollen<sup>8)</sup>. Nach Kochen mit methanolischer KOH konnte jedoch kein entsprechender Chromophor nachgewiesen werden (UV- und IR-Spektren).

Desacetyl-digacetigenin<sup>3)</sup> (**6**) lieferte durch  $\text{CrO}_3$ -Oxydation und anschließende kurzzeitige Behandlung mit methanolischer KOH das Tetraketon **8**. Dieses wies im UV-Spektrum die für  $\Delta^4$ -En-3-keto-steroiden typische Absorption bei 240  $\text{m}\mu$  auf, die durch Zugabe von Alkali nicht verändert wurde. Dies steht im Widerspruch zu den bereits eingangs erwähnten Angaben von Shoppee und Lack<sup>5)</sup>, die bei einem entsprechenden Oxydationsprodukt in alkalischer Lösung UV-Maxima bei 256 und 368  $\text{m}\mu$  gefunden hatten. Eine Deutung dieser UV-Absorptionen ist uns nicht möglich, denn auch unter energischeren Oxydationsbedingungen erhielten wir neben **8** lediglich größere Mengen an Nebenprodukten, darunter das  $\Delta^4$ -En-3,6-dion<sup>17)</sup> (massenspektrometrisch identifiziert) und durch Öffnung des Ringes D gebildete Lactone<sup>7, 19)</sup> ( $\nu_{\text{C=O}}$  um 1775/cm).

Durch katalytische Hydrierung des Digacetigenins und nachfolgende Oxydation entstand ein 3-Dehydro-dihydro-digacetigenin (**13**), das zu etwa gleichen Teilen aus dem 5 $\alpha$ - und 5 $\beta$ -Epimeren bestand (aus den Intensitäten der  $\text{CH}_3$ -19-Signale im NMR-Spektrum abgeschätzt). Verseifung mit  $\text{KHCO}_3$  führte zu **14**, das mit Chromsäure in das gesättigte Tetraketon **12** übergeführt wurde. — Auch aus **14** ließ sich die sekundäre OH-Gruppe nicht eliminieren, wie es gemäß Strukturvorschlag **2**<sup>5)</sup> zu erwarten gewesen wäre: Einwirkung von konzentrierter Salzsäure in Aceton<sup>20)</sup> lieferte neben unverändertem Ausgangsmaterial nur geringe Mengen unpolarer Nebenprodukte, unter denen sich nach dem UV-Spektrum keine  $\Delta^1$ -En-3-keto-Verbindung befand.

<sup>16)</sup> Vgl. die Übersicht von R. Tschesche, Pflanzliche Steroide mit 21 Kohlenstoffatomen, in L. Zechmeister (Herausg.), Fortschr. Chem. org. Naturstoffe, Bd. XXIV, S. 100, Springer-Verlag, Wien 1966.

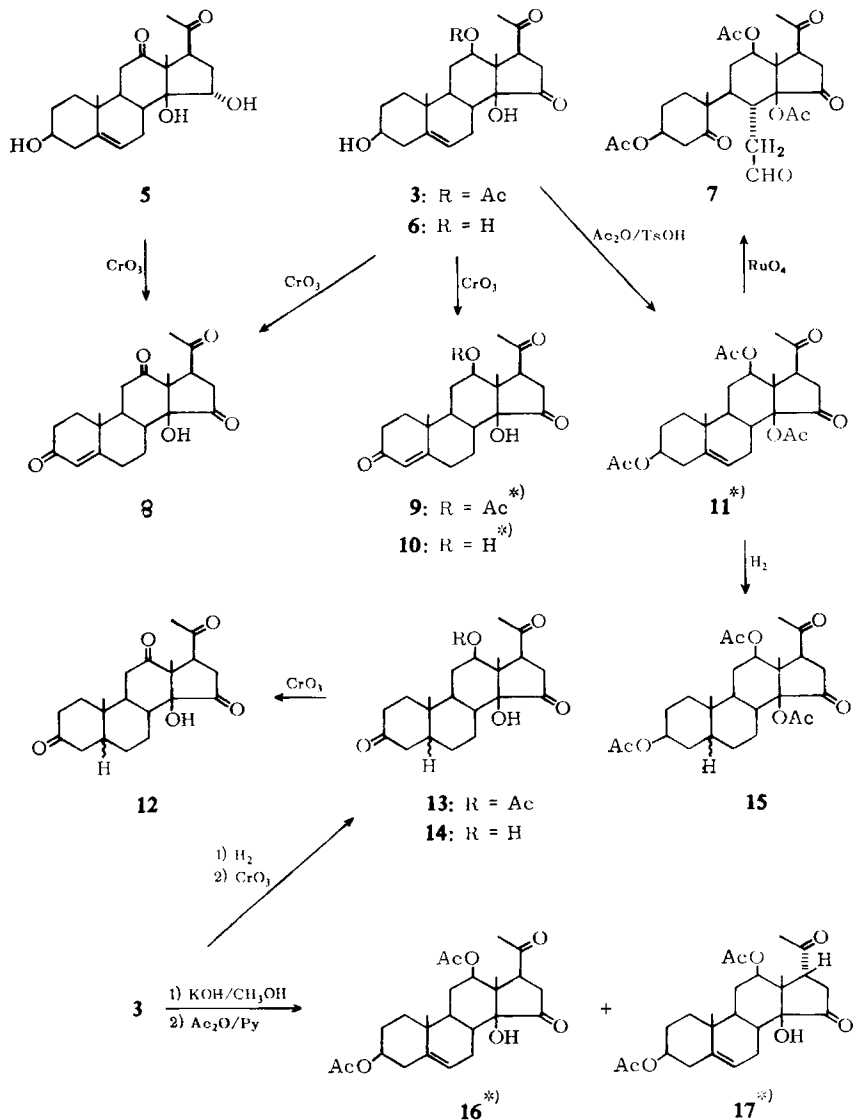
<sup>17)</sup> R. Tschesche und G. Snatzke, Liebigs Ann. Chem. **636**, 105 (1960).

<sup>18)</sup> K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones und B. C. L. Weedon, J. chem. Soc. [London] **1946**, 39.

<sup>19)</sup> H. Hasegawa, Y. Sato und K. Tsuda, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **9**, 409 (1961), C. A. **55**, 24827e (1961).

<sup>20)</sup> C. C. Bolt, W. J. Mijs, F. J. Zeelen und S. A. Szpilfogel, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **84**, 626 (1965).

Digacetigenin-diacetat (**11**) war früher<sup>4)</sup> durch Acetylierung mit  $\text{KHSO}_4$ /Acetanhydrid bei  $100^\circ$  dargestellt worden. Es läßt sich auch unter milderen Bedingungen — mit Acetanhydrid/*p*-Toluolsulfonsäure in Eisessig bei Raumtemperatur<sup>21)</sup> — gewinnen. Die katalytische Hydrierung der  $\Delta^5$ -Doppelbindung führte auch hier zu einem Stereoisomeren-Gemisch (**15**).



\*) Diese Derivate wurden aus dem natürlichen Digacetigenin-Gemisch gewonnen und enthalten daher als Nebenprodukt noch die entsprechende 5 $\alpha$ -H-Verbindung.

21) J. D. Cocker, H. B. Henbest, G. H. Phillipps, G. P. Slater und D. A. Thomas, J. chem. Soc. [London] 1965, 6.

Behandelt man Digacetigenin mehrere Stunden mit methanolischer KOH und acetyliert anschließend wieder, so erhält man ein Isodigacetigenin-3-acetat (17)<sup>4,5</sup>. Durch chromatographische Auftrennung konnten wir jetzt daneben noch das nicht umgelagerte Digacetigenin-3-acetat (16) fassen, das aus Digacetigenin auch mit Acetanhydrid in Pyridin entsteht<sup>3</sup>. Die Mengenverhältnisse betragen etwa 75% 17 $\beta$ -H-Isomeres 17 und 25% 17 $\alpha$ -H-Verbindung 16; dies entspricht den bei anderen 14 $\beta$ -Hydroxy-20-keto-steroiden aufgefundenen Werten<sup>22-24</sup> und bestätigt, daß auch hier die 17 $\beta$ -H-Form das thermodynamisch stabilere Isomere darstellt<sup>25</sup>.

Wie beschrieben, war das Verhalten der Verbindungen 8, 10 und 14 mit der von Shoppee und Lack<sup>5</sup> für das Digacetigenin angenommenen 1-Acetoxygruppe (2) unvereinbar. Zum gleichen Ergebnis führten die NMR-Spektren authentischer 1,3-disubstituierter Steroide, des Ruscogenin-diacetates<sup>8</sup> (1 $\beta$ ,3 $\beta$ -Diacetoxy- $\Delta^5$ -spirosten), des 1 $\beta$ ,3 $\beta$ -Diacetoxy- $\Delta^5$ -androstens-(17)<sup>8</sup> und des 3 $\beta$ -Hydroxy-1 $\beta$ -acetoxy- $\Delta^5$ -pregnenons-(20)<sup>26</sup>; sie ergaben nämlich deutliche Unterschiede zum NMR-Spektrum des Digacetigenins: Das CH<sub>3</sub>-19-Signal dieser Verbindungen liegt bei  $\tau = 8.82$  bis 8.86 (Digacetigenin:  $\tau = 9.01$ ), das Vinylproton an C-6 bei  $\tau = 4.3$ –4.4 als verbreitertes Dublett mit einer Aufspaltung von 5 Hz (Digacetigenin:  $\tau = 4.55$ , breites Singulett) und das 1 $\alpha$ -Proton bei  $\tau = 5.3$ –5.35<sup>27</sup> als Quartett mit einer Aufspaltung von 4.5 und 11.5 Hz (im Digacetigenin liegt das  $\text{>CH-OAc}$ -Signal bei  $\tau = 5.6$  als unscharfes Quartett mit etwa derselben Aufspaltung).

Der Beweis, daß im Ring A des Digacetigenins neben der Hydroxylgruppe an C-3 keine weitere Sauerstoff-Funktion vorhanden ist, gelang mit Hilfe der Massenspektrometrie. Dazu mußte ein Derivat hergestellt werden, mit dem eine gezielte Fragmentierung der Ringe A oder B des Steroidgerüsts zu erreichen war. Bei allen oben beschriebenen Verbindungen beschränkte sich der elektronenstoß-induzierte Zerfall nämlich — von der einfachen Eliminierung der Substituenten abgesehen — nur auf den Ring D; weder die  $\Delta^5$ -Doppelbindung<sup>28</sup> noch die  $\Delta^4$ -En-3-on-Gruppierung<sup>29</sup> (8, 9, 10) leitete eine charakteristische Fragmentierung ein. Da die Darstellung des für diesen Zweck besonders geeigneten 3-Monoäthylenketals<sup>31</sup> nicht gelang, entschieden wir uns für eine oxydative Aufspaltung der  $\Delta^5$ -Doppelbindung.

22) H. Mitsuhashi und T. Nomura, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] **11**, 1333 (1963), C. A. **60**, 5596a (1964).

23) R. Tschesche, G. Brüggemann und G. Snatzke, Tetrahedron Letters [London] **1964**, 473; R. Tschesche, P. Welzel und G. Snatzke, Tetrahedron [London] **21**, 1777 (1965).

24) D. Lenoir, Dissertat., Univ. Bonn 1967; eine Publikation der Ergebnisse ist in Vorbereitung.

25) A. Lardon, Helv. chim. Acta **32**, 1517 (1949).

26) Alle drei Verbindungen wurden uns von der British Drug Houses Ltd., London, zur Verfügung gestellt. Herrn Dr. D. Burn danken wir dafür auch an dieser Stelle.

27) In der unter Lit.<sup>9</sup>) zitierten Arbeit wurden die NMR-Spektren der ersten beiden Vergleichsverbindungen ebenfalls angeführt. Dabei ist für das 1 $\alpha$ -Proton ein Signal bei  $\tau = 5.6$  und 5.8 angegeben, Werte, bei denen unsere Spektren keinerlei Signale aufweisen.

28) Vgl. H. Budzikiewicz, J. I. Braumann und C. Djerassi, Tetrahedron [London] **21**, 1855 (1965).

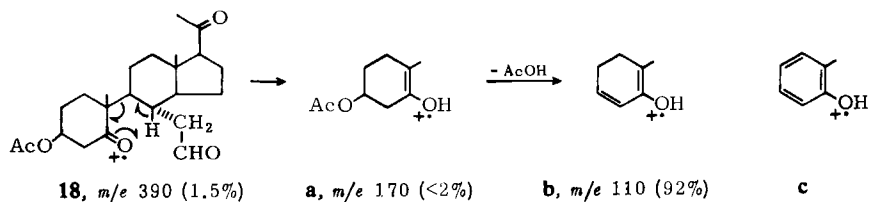
29) Zahlreiche von uns vermessene, in den Ringen C und D mehrfach substituierte  $\Delta^4$ -En-3-keto-sterioide weisen nicht die für einfache  $\Delta^4$ -En-3-ketone typischen Bruchstück-Ionen *m/e* 124 auf<sup>30</sup>).

30) R. H. Shapiro, J. M. Wilson und C. Djerassi, Steroids **1**, 1 (1963); R. H. Shapiro und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **86**, 2825 (1964); H. Audier, M. Fétizon und W. Vetter, Bull. Soc. chim. France **1964**, 415.

31) Z. Pelah, D. H. Williams, H. Budzikiewicz und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. **86**, 3722 (1964); H. Audier, J. Bottin, A. Diara, M. Fétizon, J. Yassi und R. Goutarel, Bull. Soc. chim. France **1964**, 2292.

In einem 5,6-Seco-5,6-dioxo-steroid wird der massenspektrometrische Zerfall des Kohlenstoffgerüsts erheblich erleichtert, da im Gegensatz zum intakten tetracyclischen Gerüst nur noch eine C—C-Bindung aufzubrechen ist. Dies wird zusätzlich dadurch gefördert, daß für die an C-5 eingeführte Carbonylgruppe die Voraussetzungen für eine „*McLafferty-Umlagerung*“<sup>32)</sup> gegeben sind. (Entsprechendes gilt auch für die meisten anderen Doppelbindungen in einem Steroid.) Das Verfahren ist bereits für Strukturermittlungen angewandt worden<sup>33,34)</sup>, wobei sich als Oxydationsmittel RuO<sub>4</sub><sup>35)</sup> besonders bewährte<sup>34)</sup>. Vorhandene Hydroxylgruppen schützt man zweckmäßig durch vorherige Acetylierung, da sie sonst zu Ketonen oxydiert werden<sup>36)</sup>.

Als Modellsubstanz zogen wir 3 $\beta$ -Acetoxy- $\Delta^5$ -pregnenon-(20) heran. Nach RuO<sub>4</sub>-Spaltung und Anreicherung der Seco-Verbindung **18** durch präparative Schichtchromatographie zeigte das Massenspektrum einen intensiven Peak bei *m/e* 110, dem nach Hochauflösung die Summenformel C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O zukam. Das primär zu erwartende Bruchstück *m/e* 170 (**a**) wurde also nicht registriert, es trat statt dessen das durch Verlust von Essigsäure entstandene konjugiert ungesättigte Ion **b** auf<sup>37)</sup>. — Umsetzung des Digacetigenin-diacetates (**11**) mit RuO<sub>4</sub> lieferte nach chromatographischer Abtrennung von unverändertem Dihydro-digacetigenin-diacetat (vgl.



Fußnote zum Formelschema auf S. 3293) und einem nicht identifizierten Nebenprodukt den 5,6-Seco-5-keto-6-aldehyd **7**. Dessen Massenspektrum wies den Molekül-Peak *m/e* 520 (6% rel. Intens.) auf und ebenfalls einen dem Ion **b** zuzuschreibenden Peak bei *m/e* 110 (62% rel. Intens.; nach Hochauflösung C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>O). Demnach trägt der Ring A des Digacetigenins außer der 3 $\beta$ -OH-Gruppe keinen weiteren Substituenten. Beim Vorliegen einer zusätzlichen Acetoxygruppe an C-1 hätte man nämlich anstelle des Ions *m/e* 110 eines mit *m/e* 108 (**c**), möglicherweise auch um 60 (AcOH) bzw. 120 (2 AcOH) Masseneinheiten schwerere Bruchstücke, finden müssen.

Auch die Formulierung des Ringes D in 2<sup>5)</sup> hielt einer Überprüfung nicht stand: Bei einer 17-Hydroxy-20-keto-Gruppierung sollte man durch Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> und nachfolgende Reaktion mit Perjodsäure die Abspaltung von Acetaldehyd (C-

32) F. W. McLafferty, Determination of Organic Structures by Physical Methods, Bd. 2, S. 129—149, Academic Press, New York 1962.

33) R. E. Corbett und S. G. Wyllie, J. chem. Soc. [London] (C) 1966, 1737.

34) W. R. Chan, D. R. Taylor, G. Snatzke und H.-W. Fehlhäber, Chem. Communications [London] 1967, 548.

35) G. Snatzke und H.-W. Fehlhäber, Liebigs Ann. Chem. 663, 123 (1963).

36) L. M. Berkowitz und P. N. Rylander, J. Amer. chem. Soc. 80, 6682 (1958).

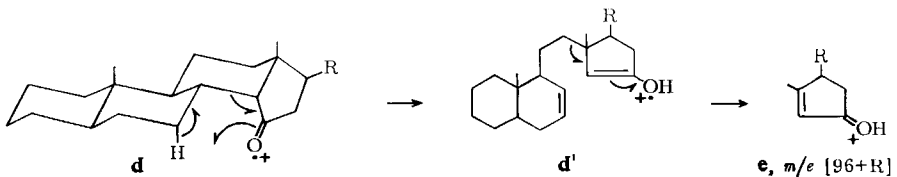
37) Die bei den Formeln in Klammern angegebenen Werte sind die relativen Intensitäten der entsprechenden Peaks, bezogen auf den *base peak*. Einem Vorschlag von H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds, S. XII, Holden-Day, San Francisco 1964, entsprechend, benutzen wir in den Fragmentierungsschemata, um die Verschiebung eines Elektronenpaares zu symbolisieren, einen vollen Pfeil, für ein einzelnes Elektron einen Halbpfeil.

Atome 20 und 21) erwarten<sup>38)</sup>. Während bei dem als Testverbindung eingesetzten 17 $\alpha$ -Hydroxy-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ -pregnanon-(20) Acetaldehyd als 2,4-Dinitro-phenylhydrazon abgefangen werden konnte, verlief ein unter gleichen Bedingungen mit dem Digacetigenin durchgeführter Versuch negativ. Da die Carbonylgruppe in 20 durch die NMR-Spektren der verschiedenen Derivate (Singulett um  $\tau = 7.65$  für das CH<sub>3</sub>-21) und die Massenspektren (Abspaltung von 43 Masseneinheiten für COCH<sub>3</sub>) gesichert war, mußte daher die Position 17 für die tertiäre Hydroxylgruppe bezweifelt werden.

Eine Klärung dieser Frage und auch der Stellung der Acetoxygruppe im Digacetigenin brachte eine eingehende Untersuchung der Massen- und NMR-Spektren, wozu wegen der Häufung der Substituenten im Ring D geeignete Modellverbindungen herangezogen werden mußten.

### Massenspektrometrische Untersuchungen

15-Keto-androstane und deren 17-Alkyl-Analoga sind nach den grundlegenden Arbeiten von *Djerassi* und Mitarbb.<sup>39–41)</sup> durch das Auftreten eines Fragment-Ions charakterisiert, das durch Spaltung der Bindungen C-12/C-13 und C-8/C-14 und Verschiebung eines H-Atoms auf den die positive Ladung tragenden Ring D entsteht (e). Durch die Synthese einer Reihe von deuterium-markierten Verbindungen konnten sie zeigen, daß die Wasserstoffverschiebung überwiegend aus der 7 $\alpha$ - oder der 9 $\alpha$ -Position — eine Unterscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten ließ sich nicht treffen — erfolgt<sup>41)</sup>. Auffallend ist, daß e bei den Verbindungen mit 14 $\beta$ -Konfiguration in erheblich größerer Intensität als bei den entsprechenden 14 $\alpha$ -Isomeren auftrat (22–27% gegenüber 4.5–7%  $\Sigma_{50}$ )<sup>41)</sup>. Dies scheint uns dafür zu sprechen, daß bei den 14 $\beta$ -Verbindungen eine „*McLafferty-Umlagerung*“<sup>42)</sup> abläuft (d  $\rightarrow$  d'); im Gegensatz zu den 14 $\alpha$ -Isomeren ist der Abstand zwischen dem 7 $\alpha$ -H und dem Carbonylsauerstoff hier mit 1.6–1.7 Å für eine derartige Reaktion optimal<sup>40,42)</sup>.



Gestützt wird diese Annahme durch die Massenspektren der 15.20-Diketo-steroiden **19**–**22**. Die beiden 14 $\beta$ -Verbindungen **19**<sup>24)</sup> und **20**<sup>43)</sup> liefern intensive Peaks für das dem Ion e entsprechende Bruchstück f; bei **20** verläuft der Zerfall allerdings

<sup>38)</sup> Vgl. z. B. *H. Mitsuhashi, T. Sato, T. Nomura* und *I. Takemori*, *Chem. pharmac. Bull.* [Tokyo] **13**, 267 (1965), *C. A.* **63**, 2120e (1965).

<sup>39)</sup> *H. Budzikiewicz* und *C. Djerassi*, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 1430 (1963).

<sup>40)</sup> *C. Djerassi, G. von Mutzenbecher, J. Fajkos, D. H. Williams* und *H. Budzikiewicz*, *J. Amer. chem. Soc.* **87**, 817 (1965).

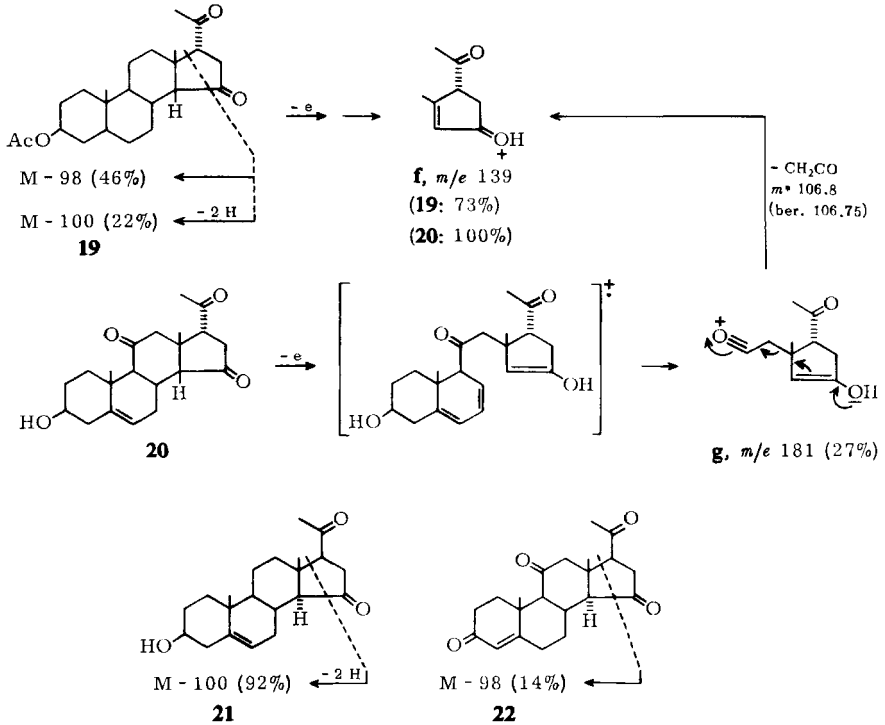
<sup>41)</sup> *A. R. van Horn* und *C. Djerassi*, *Steroids* **9**, 163 (1967).

<sup>42)</sup> *H. Budzikiewicz, C. Djerassi* und *D. H. Williams*, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry*, Bd. 2, S. 65 ff., Holden-Day, San Francisco 1964.

<sup>43)</sup> *D. Satoh*, *Chem. pharmac. Bull.* [Tokyo] **10**, 43 (1962), *C. A.* **58**, 4618a (1963); für die Überlassung einer Probe 3 $\beta$ -Hydroxy- $\Delta^5$ -14 $\beta$ -17 $\beta$ -H-pregnentriens-(11.15.20) (**20**) danken wir Herrn Dr. *D. Satoh*.



durch den Einfluß der zusätzlichen 11-Ketogruppe zumindest teilweise über das Ion **g**, wie ein metastabiles Ion anzeigt. Dagegen fehlen diese Peaks in den Spektren der 14 $\alpha$ -Verbindungen **21**<sup>44)</sup> und **22**<sup>45)</sup>. Als für den Ring D typische Fragmente findet man statt dessen nur die Abspaltung der C-Atome 15–21 ( $M - 98$  in **22**), bei **21** verbunden mit dem Verlust zweier zusätzlicher H-Atome ( $M - 100$ ); die Zuordnung dieses ungewöhnlichen Fragments wurde durch das 3 $\beta$ -OD-Derivat<sup>47)</sup> gestützt, in dem der Peak um eine Masseneinheit verschoben ist. Beides tritt interessanterweise in beträchtlichem Maße auch in dem 14 $\beta$ -Steroid **19** ein (die Zusammensetzung der Bruchstücke wurde hier durch hochauflösende Massenspektrometrie bestätigt<sup>37)</sup>).



Um die Fragmentierung von Verbindungen kennenzulernen, die der von *Shopee* und *Lack*<sup>5)</sup> für den Ring D des Digacetenins angenommenen Struktur entsprechen, haben wir die 17 $\alpha$ -Hydroxy-15.20-diketo-steroid **25**, **28** und **29** synthetisiert. 15 $\alpha$ -Hydroxy-progesteron<sup>46)</sup> wurde mittels 2,2-Dimethoxy-propan in den Dienoläther **23**

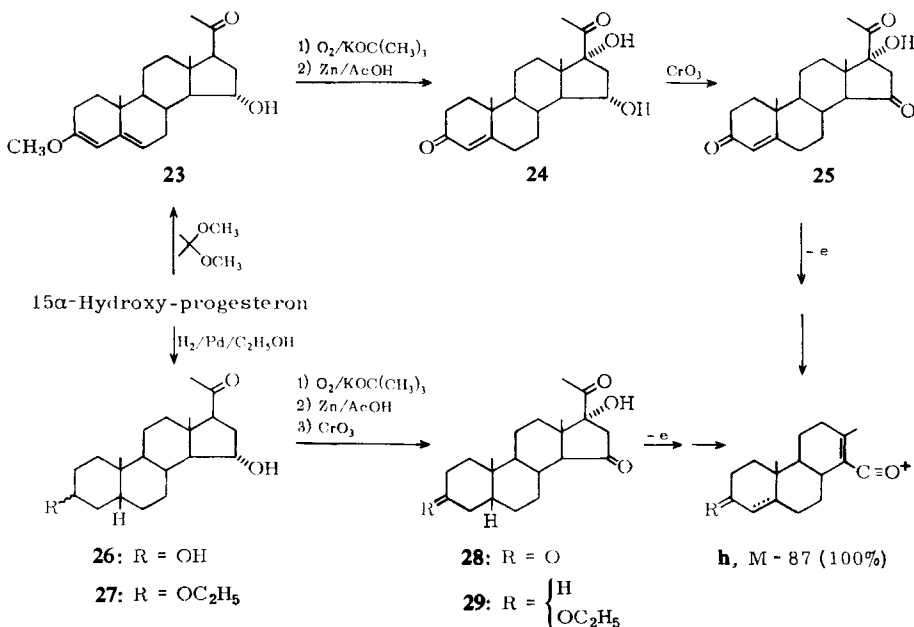
<sup>44)</sup> G. Snatzke, H. Pieper und R. Tschesche, Tetrahedron [London] **20**, 107 (1964).

<sup>45)</sup> Dargestellt aus 11-Keto-progesteron durch mikrobiologische Hydroxylierung an C-15<sup>46)</sup> und anschließende  $\text{CrO}_3$ -Oxydation. Ein ähnlicher Weg wurde von A. Schubert, G. Langbein und R. Siebert, Chem. Ber. **90**, 2576 (1957), beschrieben.

<sup>46)</sup> Wir danken der Firma E. Merck AG, Darmstadt, — insbesondere Herrn Dr. K. Brückner — für die Durchführung der mikrobiologischen Hydroxylierungen von 11-Keto-progesteron und Progesteron.

<sup>47)</sup> Die Deuterierung der OH-Gruppe erfolgte in der Ionenquelle des Massenspektrometers CH 4 mittels gasförmigem  $\text{D}_2\text{O}$  nach der von J. L. Courtney und J. S. Shannon, Tetrahedron Letters [London] **1963**, 13, angegebenen Methode.

übergeführt<sup>48)</sup> und dann nach Barton et al.<sup>49)</sup> mit Sauerstoff und Kalium-tert.-butylat in tert.-Butylalkohol in eine 17 $\alpha$ -Hydroperoxy-Verbindung umgewandelt. Anschließend Reduktion mit Zink in Eisessig führte unter gleichzeitiger Abspaltung der Schutzgruppe zum 15 $\alpha$ .17 $\alpha$ -Dihydroxy-progesteron (**24**), das mit Chromsäure in Aceton zu **25** oxydiert wurde. Anwendung der gleichen Hydroxylierungsmethode auf die gesättigte Verbindung **26** und die 3-Äthoxy-Verbindung **27** — beide waren bei längerer Hydrierung über Palladiumkohle in Äthanol entstanden<sup>50)</sup> — ergab nach chromatographischer Auftrennung und Oxydation die 17 $\alpha$ -Hydroxy-15.20-diketone **28** und **29**<sup>51)</sup>.



Alle drei 17 $\alpha$ -Hydroxy-15.20-diketo-steroiden lieferten im Massenspektrum als *base peak* ein Ion  $M - 87$ , das durch Verlust der C-Atome 16 und 17 einschließlich der Seitenkette und eines zusätzlichen Wasserstoffatoms entstand (bestätigt durch hochauflösende Massenspektrometrie). Wahrscheinlich entspricht es einem von

48) A. L. Nußbaum, E. Yuan, D. Dincer und E. P. Oliveto, J. org. Chemistry **26**, 3925 (1961).

49) E. J. Bailey, D. H. R. Barton, J. Elks und J. F. Templeton, J. chem. Soc. [London] **1962**, 1578.

50) Zur Bildung von Äthoxyverbindungen bei der Hydrierung ungesättigter Ketone vgl. z. B. J. C. Babcock und L. F. Fieser, J. Amer. chem. Soc. **74**, 5472 (1952), und M. Verzele, M. Acke und M. Anteunis, J. chem. Soc. [London] **1963**, 5598.

51) Die 5 $\beta$ -Konfiguration in diesen Verbindungen ließ sich aus den NMR-Spektren ableiten. Bei 3-OR-substituierten 5 $\alpha$ -Steroiden liegt das CH<sub>3</sub>-19-Signal um  $\tau = 9.18$ , bei 5 $\beta$ -Steroiden um  $\tau = 9.03$ <sup>13)</sup>; bei der 3 $\xi$ -Äthoxy-Verbindung **29** liegt es bei  $\tau = 9.05$  und bei der Vorstufe von **28**, dem 3 $\xi$ .15 $\alpha$ .17 $\alpha$ -Trihydroxy-5 $\beta$ -pregnanon-(20), bei  $\tau = 9.01$ . Über die Konfiguration an C-3 ließ sich dagegen wegen der im allgemeinen nur geringen Unterschiede zwischen den Beiträgen von 3 $\alpha$ - und 3 $\beta$ -Substituenten nichts aussagen.

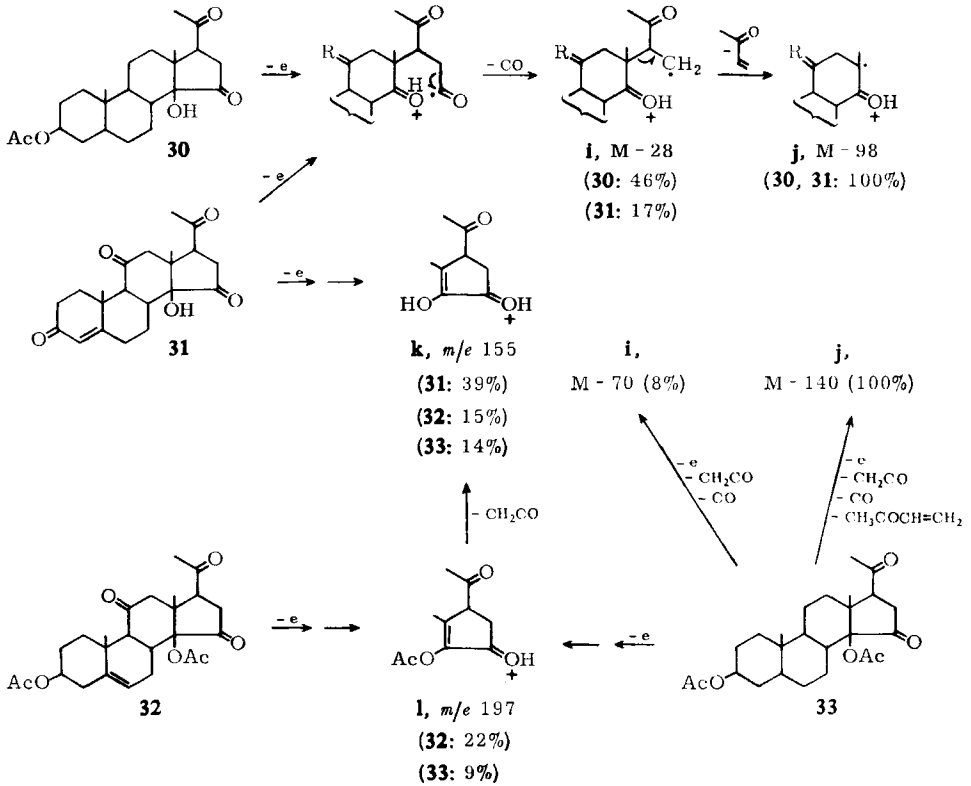
*Djerassi et al.*<sup>40)</sup> auch für 15-Oxo-androstan — allerdings in geringer Intensität — aufgefundenen Bruchstück, für das der Verlust der C-Atome 16 und 17 sowie des 14-ständigen Wasserstoffs durch Deuterium-Markierung bewiesen werden konnte (**h**). Fragmentierungen, wie wir sie für die 15.20-Diketo-steroiden **19–22** gefunden hatten, weisen die Verbindungen **25**, **28** und **29** nicht auf.

Obwohl Digacetenin nach dem Strukturvorschlag **2**<sup>5)</sup> an C-17 eine andere Konfiguration besitzt, sollte man auf Grund der großen Intensität der M — 87-Peaks bei den Modellsubstanzen erwarten, daß ebenfalls eine derartige Fragmentierung eintritt. Weder aus dem Molekül-Ion noch aus einem Tochter-Ion (z. B. M — H<sub>2</sub>O, M — AcOH etc.) des Digacetenins oder seiner Derivate wurde jedoch eine Abspaltung von 87 Masseneinheiten beobachtet. Auch dies sprach also gegen die Annahme einer 17-Hydroxygruppe. Wie bereits eingangs vermerkt, hatten sich *Shopee* und *Lack*<sup>5)</sup> bei der Aufstellung der Formel **2** an die damals für das Digiprogenin angenommene Struktur, ein 3 $\beta$ .17-Dihydroxy- $\Delta^5$ -pregnentrion-(11.15.20)<sup>6)</sup>, angelehnt. Inzwischen haben *Sato*h und Mitarbb.<sup>7)</sup> aber erkannt, daß es sich um ein 3 $\beta$ .14-Dihydroxy- $\Delta^5$ -14 $\beta$ -pregnentrion-(11.15.20) handelt. Wegen der Ähnlichkeit der NMR-Spektren und des chemischen Verhaltens lag es nahe, auch im Digacetenin die tertiäre OH-Gruppe an C-14 anzunehmen. Deshalb untersuchten wir die Fragmentierung einiger 14 $\beta$ -Hydroxy-15.20-diketo-steroiden: das als Modellsubstanz synthetisierte 14-Hydroxy-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ .14 $\beta$ -pregnandion-(15.20) (**30**) und dessen 14-Acetat **33**<sup>24)</sup> sowie 3-Dehydro- $\Delta^4$ -digiprogenin (**31**) und Digiprogenin-3.14-diacetat (**32**)<sup>52)</sup>.

Die Massenspektren der beiden 14 $\beta$ -Hydroxy-Verbindungen **30** und **31** weisen den *base peak* bei M — 98 auf sowie verhältnismäßig große M — 28-Peaks. Für **30** konnte durch Markierung mit Deuterium, hochauflösende Massenspektrometrie und mit Hilfe metastabiler Ionen bewiesen werden, daß die beiden Fragmente durch stufenweise Eliminierung der 15-Carbonylgruppe (**i**) und der C-Atome 15–21 entstehen (**j**)<sup>24,37)</sup>. Ein den Ionen **e** bzw. **f**, den für 14 $\beta$ -H-Verbindungen typischen Bruchstücken, entsprechendes Fragment **k** wurde bei **30** nicht gefunden, wohl aber bei **31**; anscheinend wirkt sich hier wieder die zusätzliche 11-Ketogruppe aus. Das gleiche Fragment-Ion findet sich auch — wenngleich mit geringer Intensität — bei den beiden 14 $\beta$ -Acetoxy-Verbindungen **32** und **33**. Es geht hier durch Abspaltung von Ketten aus dem primär gebildeten Ion **l** hervor (für beide Bruchstücke wurden bei **32** die Summenformeln durch Hochauflösung bestätigt). M — 98-Peaks fehlen dagegen in den Spektren beider 14-Acetate, jedoch wurden bei **33** wieder die Fragmente **i** und **j** (jetzt als M — 70 und M — 140) registriert, deren Bildung nur durch eine vorherige Kettenabspaltung aus der 14-Acetoxygruppe erklärt werden kann. — *Es ergibt sich somit, daß 14 $\beta$ -Hydroxy-15.20-diketo-steroiden durch einen intensiven M — 98-Peak (**j**) ausgezeichnet sind, während man bei ihren 14-Acetaten statt dessen Ionen der Massen 197 (**l**) und 155 (**k**) findet.*

Genau dies beobachtete man nun aber beim Digacetenin und seinen Derivaten, allerdings waren die Intensitäten dieser charakteristischen Peaks — offenbar durch

<sup>52)</sup> Herrn Dr. *D. Sato*h möchten wir auch an dieser Stelle bestens für eine Probe Digiprogenin<sup>7)</sup> und Digiprogenin-diacetat danken. **31** wurde aus dem Digiprogenin durch CrO<sub>3</sub>-Oxydation gewonnen.



den Einfluß der übrigen Substituenten — in der Regel wesentlich geringer als bei den Modellsubstanzen. Beim Digaceticin selbst und jenen Derivaten, die noch die  $\Delta^5$ -Doppelbindung aufweisen, machte sich außerdem die bevorzugte Eliminierung des  $3\beta$ -Substituenten sehr störend bemerkbar. Übersichtliche und verhältnismäßig einfache Fragmentierungsmuster erhielt man daher nur von den 5.6-Dihydro-Verbindungen.

So erkennt man im Massenspektrum des (natürlichen) Dihydro-digaceticin (Abbild. 1) die durch Abspaltung von CO und Methylvinylketon gebildeten Bruchstücke M — 28 und M — 98 (den Ionen i bzw. j entsprechend). Alle übrigen bedeutenden Fragment-Ionen entstanden daraus durch Sekundärzerfälle, wie durch metastabile Ionen angezeigt wird: aus dem M — 28-Ion durch Abspaltung von Essigsäure das den *base peak* ergebende Ion m/e 318, durch nachfolgende  $\text{H}_2\text{O}$ -Eliminierung m/e 300 und durch Abspaltung der  $\text{COCH}_3$ -Seitenkette m/e 275; aus dem M — 98-Ion durch Verlust von Essigsäure m/e 248. (Diese Zuordnungen wurden durch die mittels Hochauflösung bestimmten Summenformeln der Fragmente bewiesen; vgl. Tab. 3 im Versuchsteil.) Entsprechende Peaks finden sich in den Spektren der anderen Digaceticin-Derivate; die besonders charakteristischen Bruchstücke M — 28, M — 98 und M — 28/98 — AcOH (bzw.  $\text{H}_2\text{O}$  in den Desacetyl-Verbindungen) sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1. Charakteristische Peaks in den Massenspektren des Digacetigenins (3) und seiner Derivate. Die in Klammern angegebenen relativen Intensitäten sind Spektren entnommen, die unter gleichen Bedingungen mit dem Massenspektrometer CH 4 erhalten wurden

Ion	4	13	3*)	Verbindung 6**)	9	10
M <sup>+</sup>	406 (3%)	404 (12%)	404 (8%)	362 (8%)	402 (26%)	360 (14%)
M - 28	378 (16%)	376 (14%)	—	334 (7%)	374 (17%)	332 (6%)
M - 28 - H <sub>2</sub> O	—	—	—	316 (38%)	—	314 (100%)
M - 28 - AcOH	318 (100%)	316 (100%)	316 (46%)	—	314 (100%)	—
M - 98	308 (12%)	306 (34%)	306 (4%)	264 (6%)	304 (27%)	262 (21%)
M - 98 - H <sub>2</sub> O	—	—	288 (9%)	246 (14%)	—	—
M - 98 - AcOH	248 (27%)	246 (41%)	246 (12%)	—	244 (37%)	—

\*) base peak: M - H<sub>2</sub>O (*m/e* 386).

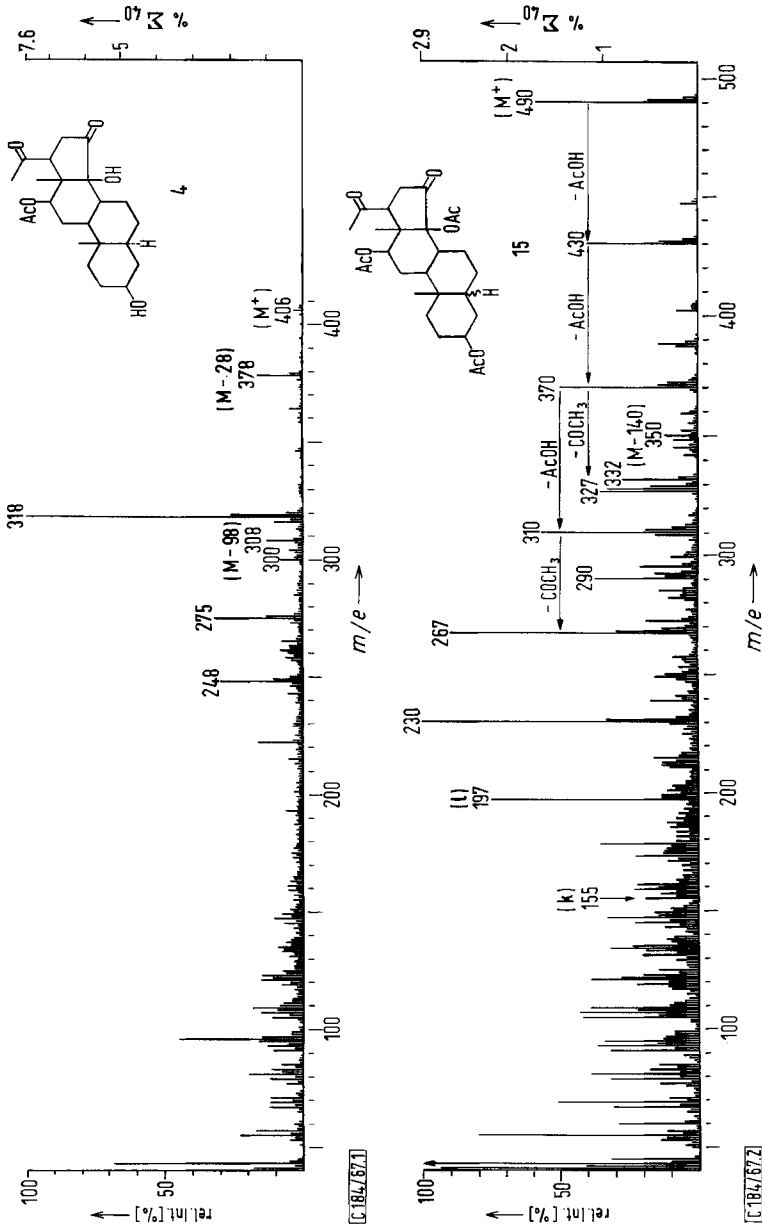
\*\*) base peak: M - H<sub>2</sub>O - COCH<sub>3</sub> (*m/e* 301).

Durch das Auftreten der M - 98-Peaks — die Abspaltung der C-Atome 15–21 — war zunächst nur geklärt, daß diese C-Atome außer den Carbonylgruppen in 15 und 20 keine weiteren Substituenten tragen. Den Beweis, daß die tertiäre OH-Gruppe tatsächlich an C-14 sitzt, erbrachte das Massenspektrum des Dihydro-digacetigenindiacetates (Abbild. 2). Es traten hier Bruchstücke mit den Massenzahlen 197 und 155 auf, die, wie durch Hochauflösung ermittelt wurde, vier bzw. drei Sauerstoffatome enthielten, also mit den bei den Modellverbindungen aufgefundenen Fragmenten I und k übereinstimmen. Daneben findet man auch das durch Verlust von Keten, CO und Methylvinylketon entstandene Bruchstück M - 140 (j entsprechend), dazu M - 140 - AcOH (*m/e* 290) und M - 140 - 2 AcOH (*m/e* 230) und auch M - 98 - AcOH (*m/e* 332); weitere Fragmente sind auf die stufenweise Abspaltung von Essigsäure und der COCH<sub>3</sub>-Seitenkette zurückzuführen (siehe Abbild. 2).

Wie eingangs dieses Abschnitts geschildert, übt die Konfiguration an C-14 einen entscheidenden Einfluß auf die Fragmentierung der 15-Keto- und 15.20-Diketo-steroiden aus. Wegen der engen Analogie zwischen den Massenspektren der Digacetigenin-Abkömmlinge und der 14 $\beta$ -Hydroxy-15.20-diketo-steroiden **30**–**33** darf man daher auch für das Digacetigenin die 14 $\beta$ -Konfiguration annehmen. Über die Stereochemie an C-17 läßt sich aus den Massenspektren dagegen nichts aussagen.

Eine interessante Abweichung von den Modellverbindungen weisen die Massenspektren der Tetraketone **8** und **12** auf. Neben dem zu erwartenden Peak M - 98 zeigen sie einen intensiven M - 97-Peak (vgl. Abbild. 3). Er entstand, wie durch Hochauflösung ermittelt wurde, durch den Verlust von C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>, d.h. der C-Atome 15–21 unter Übertragung eines H-Atoms auf den Molekülrest. Eine derartige Fragmentierung ist typisch für 12-Keto-steroiden<sup>39,53</sup>). Nach den von *Djerassi* und *Tökés*<sup>53</sup>) an deuterium-markierten 12-Keto-pregnanen durchgeführten Untersuchungen findet die Wasserstoffverschiebung hier überwiegend aus der 20-Stellung, in geringem Maße (ca. 10%) aber auch aus der 16-Stellung statt. Da in unseren Tetraketonen **8** und **12** an C-20 kein Wasserstoff zur Verfügung steht, bleibt hier nur die zweite Möglichkeit. Es ist anzunehmen, daß die Fragmentierung — wie bei der Bildung des Ions M - 98 (j; vgl. S. 3300) — durch eine Spaltung der Bindung C-14/C-15 eingeleitet wird, worauf sich eine „*McLafferty*-Umlagerung“ der Carbonylgruppe

<sup>53</sup>) C. *Djerassi* und L. *Tökés*, J. Amer. chem. Soc. **88**, 536 (1966).

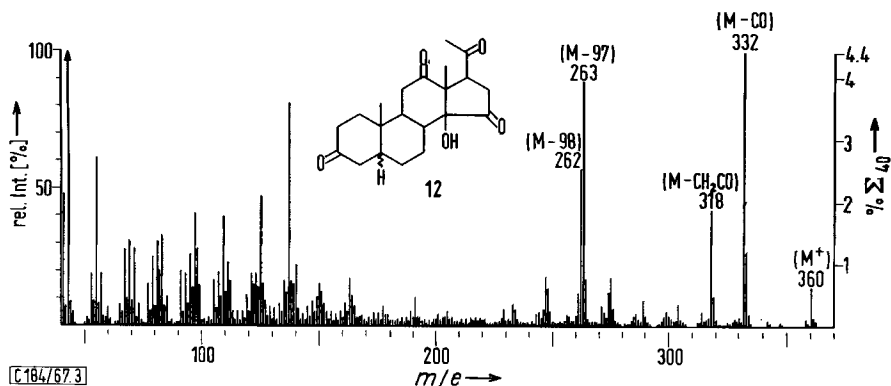


Abbild. 1. Massenspektrum des Dihydro-digacetigenins (4). Metastabile Ionen: 267.8 (Ber. 267.5 für 378 → 318), 283.2 (Ber. 283.0 für 318 → 300), 237.9 (Ber. 237.8 für 318 → 275), 200.0 (Ber. 199.7 für 308 → 248)

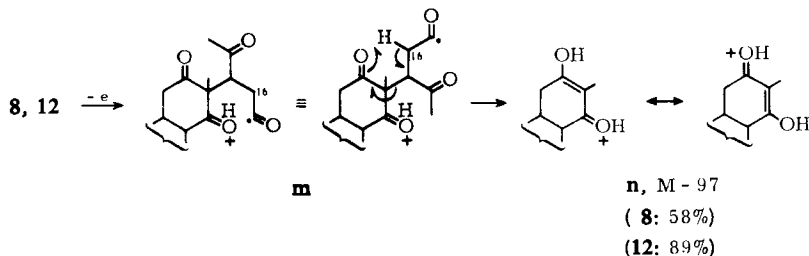
Abbild. 2. Massenspektrum des Dihydro-digacetigenin-diacetates (15). Metastabile Ionen: 377 (Ber. 377.3 für 490 → 430), 318.8 (Ber. 318.4 für 430 → 370), 260.0 (Ber. 259.7 für 370 → 310), 182.8 (Ber. 182.4 für 290 → 230)

in 12 anschließt ( $m \rightarrow n$ ). Analog verhält sich auch Purprogenin (5)<sup>11</sup>, dessen Massenspektrum einen intensiven Peak  $M - 99$  (infolge der 15-OH-Gruppe Verlust von 99 statt 97 Masseneinheiten) zeigt<sup>54</sup>).

<sup>54</sup>) Vgl. auch die Fig. 15 in der Arbeit von U. Eppenberger, W. Vetter und T. Reichstein, *Helv. chim. Acta* 49, 1505 (1966).



Abbild. 3. Massenspektrum des Desacetyl-dihydro-digaceticenin-Oxydationsproduktes 12. Metastabiles Ion: 192.3 (Ber. 192.1 für 360  $\rightarrow$  263)



Damit war ein wichtiger Hinweis für das Vorliegen einer Sauerstoff-Funktion an C-12 gegeben. Aus den massenspektrometrischen Untersuchungen ließ sich also folgern, daß Digaceticenin ein 14 $\beta$ -Hydroxy-12-acetoxy-15.20-diketo-steroid sein muß. Die Konfiguration an den C-Atomen 12 und 17 blieb dabei offen.

### NMR-Spektren und Circular dichroismus

Das NMR-Spektrum des (natürlichen) 5 $\alpha$ .6-Dihydro-digaceticenins (4) ähnelt außerordentlich stark dem des 14-Hydroxy-3 $\beta$ -acetoxy-5 $\alpha$ .14 $\beta$ -pregnandions-(15.20) (30)<sup>24</sup>). Die Lage der Methylsignale ist in beiden Fällen nahezu gleich (vgl. Tab. 2 unter 3. und 4.), die geringfügigen Abweichungen von 0.02–0.03 ppm können auf den Einfluß des zusätzlichen Substituenten an C-12 im Dihydro-digaceticenin zurückgeführt werden; nach den bisher bekannten Daten ist sowohl bei  $\alpha$ - als auch bei  $\beta$ -ständiger 12-Acetoxygruppe nur mit kleinen Verschiebungen der Signale für die angulären Methylgruppen zu rechnen<sup>13</sup>). Beim Digaceticenin und seinem 3-Acetat sind die Singulets für CH<sub>3</sub>-18 und CH<sub>3</sub>-21 nur wenig, dasjenige für CH<sub>3</sub>-19 aber um etwa –0.2 ppm gegenüber 4 verschoben. Dies entspricht dem schon erwähnten Beitrag einer  $\Delta^5$ -Doppelbindung gegenüber einem 5 $\alpha$ -Steroid<sup>13</sup>).

Durch die Acetylierung der 14 $\beta$ -OH-Gruppe oder die Isomerisierung an C-17 tritt gegenüber dem Digaceticenin-3-acetat (16) eine charakteristische Verschiebung der Methylsignale für CH<sub>3</sub>-18 und CH<sub>3</sub>-21 ein. Beide Reaktionen bewirken auf das

Tab. 2. Methylsignale in den NMR-Spektren: Einfluß der Epimerisierung an C-17 (a) und der Acetylierung der 14 $\beta$ -OH-Gruppe (b) im Digacetigenin und zwei Vergleichssubstanzen. Die Genauigkeit der angegebenen  $\tau$ -Werte und ihrer relativen Änderungen ist besser als  $\pm 0.02$  ppm

Verbindung	CH <sub>3</sub> -19	CH <sub>3</sub> -18	CH <sub>3</sub> -21
1. Digacetigenin (3)	$\tau = 9.01$	$\tau = 8.90$	$\tau = 7.64$
2. Digacetigenin-3-acetat (16)	$\tau = 9.00$	$\tau = 8.91$	$\tau = 7.64$
a: 17 $\beta$ -H-Isomeres (17)	+0.01 ppm	-0.41 ppm	+0.04 ppm
b: 3.14-Diacetat (11)	$\pm 0$	-0.19 ppm	+0.13 ppm
3. 5 $\alpha$ .6-Dihydro-digacetigenin (4)	$\tau = 9.22$	$\tau = 8.93$	$\tau = 7.68$
4. 3 $\beta$ .14-Dihydroxy-5 $\alpha$ .14 $\beta$ -pregnan- dion-(15.20)-3-acetat (30) <sup>24)</sup>	$\tau = 9.20$	$\tau = 8.95$	$\tau = 7.65$
a: 17 $\beta$ -H-Isomeres <sup>24)</sup>	$\pm 0$	-0.29 ppm	+0.12 ppm
b: 3.14-Diacetat (33) <sup>24)</sup>	+0.01 ppm	-0.20 ppm	+0.12 ppm
5. Digiprogenin-3-acetat <sup>*)</sup>	$\tau = 8.87$	$\tau = 8.87$	$\tau = 7.68$
a: 17 $\beta$ -H-Isomeres <sup>*)**)</sup>	-0.04 ppm	-0.21 ppm	+0.07 ppm
b: 3.14-Diacetat (32)	-0.05 ppm	-0.11 ppm	+0.04 ppm

<sup>\*)</sup> Diese NMR-Spektren stellte uns Herr Dr. D. Satoh zur Verfügung, wofür ihm auch an dieser Stelle gedankt sei.

<sup>\*\*)</sup> D. Satoh und Mitarbb.<sup>6)</sup> unterschieden, bevor die Strukturen endgültig geklärt waren, das Digiprogenin von seinem 17 $\beta$ -H-Isomeren durch Voranstellen von „ $\gamma$ “ bzw. „ $\alpha$ “.

CH<sub>3</sub>-21-Signal eine schwache diamagnetische, auf das CH<sub>3</sub>-18-Signal eine beträchtliche paramagnetische Verschiebung. Ebenso verhalten sich die in Tab. 2 aufgeführten Vergleichssubstanzen, 3 $\beta$ .14-Dihydroxy-5 $\alpha$ .14 $\beta$ -pregnandion-(15.20)-3-acetat (30) und Digiprogenin-3-acetat (die Absolutwerte der Methylsignale sind hier durch die 11-Ketogruppe etwas verändert). Auffallend ist jedoch die mit -0.41 ppm gegenüber den Vergleichssubstanzen besonders starke Verschiebung des CH<sub>3</sub>-18-Signals im 17 $\beta$ -H-Isomeren 17 des Digacetigenin-3-acetates. Hier macht sich der Einfluß der 12-Acetoxygruppe bemerkbar, die in der Isoverbindung in Wechselwirkung mit der Seitenkette tritt und dadurch deren Konformation ändern dürfte; dies führt dann zu einer anderen diamagnetischen Abschirmung der 18-Methylgruppe.

Das Signal für das Proton an C-17 erscheint bei den Vergleichsverbindungen als Quartett (X-Teil eines ABX-Spektrums) mit Aufspaltungen von etwa 4.5 und 8 Hz, zentriert bei  $\tau = 7.0$  (30) bzw. 6.9 (Digiprogenin-3-acetat). Beim Digacetigenin (3) und beim Dihydro-digacetigenin (4) liegt es um  $\tau = 6.8$ , die Aufspaltung ist mit 4.5 und 9 Hz etwa gleich groß. Die geringfügige paramagnetische Verschiebung wird wieder durch den Substituenten an C-12 verursacht, ähnlich wie man es bei Cardenolid-Derivaten beobachtet hat<sup>55)</sup>.

Eine weitere Übereinstimmung zeigt sich beim Circular dichroismus. Digacetigenin-3-acetat (16) weist ein  $\Delta\epsilon_{\max}$  von +1.7 (289 m $\mu$ ), sein 17 $\beta$ -H-Isomeres (17) von -2.9 (290 m $\mu$ ) auf, und die Vergleichssubstanz 30 ein  $\Delta\epsilon_{\max}$  von +1.3 (294 m $\mu$ ), deren 17 $\beta$ -H-Isomeres von -2.9 (300 m $\mu$ ). Von zahlreichen weiteren Beispielen weiß man, daß der Übergang von einer  $\beta$ -ständigen zur  $\alpha$ -ständigen COCH<sub>3</sub>-Seitenkette (= 17 $\alpha$ -H  $\rightarrow$  17 $\beta$ -H) eine Änderung des  $\Delta\epsilon_{\max}$ -Wertes um etwa -3 bis -6 Einheiten verursacht, und zwar unabhängig von der Konfiguration an C-14 und unabhängig von der Gegenwart einer OH-Gruppe an C-12, C-14 und C-15 oder einer

<sup>55)</sup> K. Tori und K. Aono, Annu. Rep. Shionogi Res. Lab. [Osaka] 15, 130 (1965), C. A. 65, 8220 d (1966).



Carbonylgruppe an C-15<sup>23,24,44</sup>). Daraus folgt, daß Digacetigenin die 17 $\alpha$ -H-Konfiguration und das Isomerisierungsprodukt **17** die 17 $\beta$ -H-Konfiguration besitzen müssen.

Nach den IR-Spektren besteht zwischen der tertiären Hydroxylgruppe und der Carbonylgruppe an C-20 eine starke Wasserstoffbrückenbindung: Beim Digacetigenin (**3**) und dem 3-Acetat **16** findet man auch in stark verdünnter CCl<sub>4</sub>-Lösung eine breite OH-Bande um 3350/cm, deren Lage mit den für 14 $\beta$ -Hydroxy-20-keto-17 $\alpha$ -H-sterioide bekannten Werten<sup>23,24</sup> übereinstimmt, und die  $\nu_{C=O}$ -Schwingung des 20-Ketons liegt um 1700/cm (CCl<sub>4</sub>); sie erscheint nach Aufhebung der Wasserstoffbrücke im 3.14-Diacetat **11** bei dem üblichen Wert von 1710/cm. Dies bedeutet, daß die tertiäre OH-Gruppe *cis*-ständig zur Seitenkette, also ebenfalls  $\beta$ -ständig angeordnet sein muß.

Die Konfiguration der genuinen Acetoxygruppe im Digacetigenin ließ sich aus dem NMR-Spektrum bestimmen. Das Signal der  $\text{>CH-OAc}$ -Gruppe um  $\tau = 5.6$  ist aufgespalten zu einem Quartett mit den Kopplungskonstanten 5 und 11 Hz. Es kann sich also nur um ein axiales Wasserstoffatom (neben nur einer Methylengruppe) handeln, denn das entsprechende äquatoriale würde als Triplett auftreten<sup>56</sup>. Damit kommt der Acetoxygruppe also die 12 $\beta$ -Position zu, wie es auch *Shoppee* und *Lack*<sup>5)</sup> bereits diskutiert haben.

Zur weiteren Stützung der Struktur **3** für das Digacetigenin wurde es mit dem Purprogenin (**5**)<sup>11</sup> verknüpft. *Jones-Oxydation*<sup>18)</sup> von **5** lieferte das schon aus Desacetyl-digacetigenin (**6**) erhaltene Tetraketon **8**. Die Dünnschichtchromatogramme beider Oxydationsprodukte erwiesen sich in drei Systemen als identisch, und die Massenspektren der beiden chromatographisch gereinigten Reaktionsprodukte stimmten überein. Wegen der geringen zur Verfügung stehenden Substanzmengen ließ sich allerdings das in beiden Fällen als Nebenprodukt entstandene  $\Delta^4$ -En-3.6-dion nicht vollständig abtrennen und auch keine Kristallisation erreichen.

Einer der Befunde, die *Shoppee* und *Lack*<sup>5)</sup> zur Annahme der Position 17 für die tertiäre Hydroxylgruppe geführt hatten, war die zu einem  $\Delta^{16}$ -En-15.20-diketon führende Dehydratisierung des Digacetigenins. Diese Reaktion stellt indessen keinen Widerspruch zur Struktur **3** dar, denn sie ist auch bei 14 $\beta$ -Hydroxy-15.20-diketo-steroiden möglich, wie *Satoh* et al.<sup>7)</sup> am Digiprogenin und am 15-Dehydro-purpnigenin gezeigt haben. Eine analoge transannuläre Wasserabspaltung aus einem  $\alpha$ -Hydroxy-keton wurde an einem Sesquiterpen ebenfalls beobachtet<sup>57)</sup>.

Die für Digacetigenin abgeleitete Strukturformel, 3 $\beta$ .14-Dihydroxy-12 $\beta$ -acetoxy- $\Delta^5$ -14 $\beta$ -pregnendion-(15.20) (**3**), ordnet sich zwanglos in die Reihe der bisher bekannten Digitanole ein. Sie besitzen damit alle eine *cis*-Verknüpfung der Ringe C und D und bis auf Digifologenin und Diginigenin eine 14 $\beta$ -OH-Gruppe<sup>16,58)</sup>.

*Anm. b. d. Korr. (12. August 1967)*: Unmittelbar nach der Übersendung unseres Manuskripts an Herrn Prof. C. W. *Shoppee*, Sydney, teilte uns dieser mit, daß auch seine Arbeitsgruppe inzwischen zu der Strukturformel **3** für das Digacetigenin ge-

<sup>56)</sup> K. *Tori* und E. *Kondo*, *Steroids* **4**, 713 (1964).

<sup>57)</sup> O. *Lindwall*, F. *Sandberg*, R. *Morsén* und T. *Norin*, *Tetrahedron Letters* [London] **1965**, 4203.

<sup>58)</sup> Vgl. die Übersicht von T. *Reichstein*, *Naturwissenschaften* **54**, 53 (1967).

langte, und zwar im wesentlichen auf Grund einer neuen Interpretation der früheren<sup>5,9)</sup> Ergebnisse und weiterer NMR-Daten. Diese Arbeit ist nun erschienen (Eingangsdatum des Manuskripts: 23. Mai 1967)<sup>58a)</sup>.

Herrn Dr. *D. Satoh*, Shionogi & Co., Ltd., Osaka, sind wir nicht nur, wie bereits mehrfach erwähnt, für die Überlassung einer ganzen Reihe von Vergleichssubstanzen, sondern auch für die Mitteilung von Forschungsergebnissen vor deren Publikation zu großem Dank verpflichtet. Der *Stiftung Volkswagenwerk* danken wir für die zur Anschaffung der Massenspektrometer zur Verfügung gestellten Mittel, den Damen *G. Gerusel*, *U. Schröter* und *L. Winterfeld* und den Herren *H. Lander* und *E. Kirmayr* für die Aufnahme der Spektren.

## Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Mikroskop-Heiztisch nach Weygand, die optischen Drehungen mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. Die IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer-Spektrophotometer, Modell 221 (mit Gitter-Prismen-Austauscheinheit), die UV-Spektren am Cary 14 (in Methanol) und der Circular dichroismus (= CD) mit dem Dichrograph Roussel-Jouan (in Dioxan) vermessen. Zur Aufnahme der NMR-Spektren diente der Varian A-60, teilweise unter Benutzung des Speichergerätes TADC-1024 (soweit nicht anders angegeben, wurde  $\text{CDCl}_3$  verwendet mit Tetramethylsilan als internem Standard). Die Massenspektren wurden mit den Geräten CH 4 (Atlas Meß- und Analysetechnik GmbH) und MS 9 (A. E. I.) bei einer Elektronenenergie von 70 eV aufgenommen; die Substanzen wurden über eine Vakuumschleuse direkt in die Ionenquelle eingeführt und dort bei Temperaturen von ca. 70° (CH 4) bzw. 200° (MS 9) verdampft. Die analytische Dünnschichtchromatographie (= DC) wurde ausgeführt, wie früher beschrieben<sup>59)</sup>; zur Anfärbung von Kosteroiden erwies sich häufig die Verwendung von Chromschwefelsäure oder Jod-Dampf als günstig gegenüber Chlorsulfonsäure/Eisessig<sup>59)</sup>. Zur präparativen Schichtchromatographie<sup>60)</sup> dienten Kieselgel H (mit Anthracen als Fluoreszenzindikator) oder Kieselgel  $\text{HF}_{254+366}$  (E. Merck AG). Zur Säulenchromatographie wurde Kieselgel (Gebr. Hermann, Köln) verwendet, das durch Sieben auf einheitliche Korngröße gebracht wurde.

„Wie üblich aufgearbeitet“ bedeutet, daß die Reaktionsansätze in Eiswasser gegossen und mit Chloroform erschöpfend extrahiert wurden; die organische Phase wusch man je nach Reaktionsmedium mit 2-proz. wäbr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung oder 0.1 *n*  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und Wasser neutral, trocknete sie über wasserfreiem  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und dampfte i. Vak. bei 40–45° zur Trockne ein.

### Natürliches Digacetenin

a) Das von *Reichstein* zur Verfügung gestellte, aus den Mutterlaugen der Cardenolidgewinnung aus *Digitalis purpurea* stammende Rohdigacetenin<sup>10)</sup> (1.0 g) wurde durch Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform/Äthanol (30:1) gereinigt. Man erhielt so 850 mg natürliches Digacetenin, das aus Cyclohexan/Aceton in feinen Nadeln vom Schmp. 171 bis 174° kristallisierte.  $[\alpha]_D^{25}$ : +47° (*c* = 0.3, Methanol) (Lit.<sup>3)</sup>; Schmp. 164–170°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +57°). CD:  $\Delta\epsilon_{\text{max}}$  = +1.71 (290 m $\mu$ ) und –0.07 (347 m $\mu$ ).

IR: OH-Banden bei 3621 und 3340/cm (*c* = 0.003 *m* in  $\text{CCl}_4$ ).

Das natürliche Digacetenin wies bei der Dünnschichtchromatographie (Kieselgel G) in den verschiedensten Laufmittelsystemen, auch unter Anwendung der Keilstreifentechnik und

<sup>58a)</sup> *C. W. Shoppee*, *N. W. Hughes*, *R. E. Lack* und *B. C. Newman*, Tetrahedron Letters [London] 1967, 3171.

<sup>59)</sup> *R. Tschesche*, *W. Freytag* und *G. Snatzke*, Chem. Ber. 92, 3053 (1959).

<sup>60)</sup> *H. Halpaap*, Chemie-Ing.-Technik 35, 488 (1963).

Mehrfachentwicklung, stets nur einen Fleck auf. Auf Kieselgel G mit 5-proz. Silbernitrat<sup>12)</sup> (Herstellung durch AufschlÄmmen von je 1 g Kieselgel in 4 ccm 1.25-proz. AgNO<sub>3</sub>-Lösung für eine 8 × 12 cm große Platte, anschließendes Trocknen und Aktivieren bei 120°) erhielt man im System Chloroform/Äthanol (20 : 1) zwei Flecke mit den R<sub>F</sub>-Werten 0.23 (Digacetigenin, 3) und 0.31 (Dihydro-digacetigenin, 4).

b) Aus einem hochangereicherten Digacetigenin-glykosid-Gemisch aus einer Gitalinfraktion einer portugiesischen *Digitalis*-Droge von der Fa. Boehringer<sup>61)</sup> (1.8 g) wurde durch präparative Schichtchromatographie (zweimalige Entwicklung mit Chloroform/Methanol 10 : 1) ein Digacetigenin-glykosid (0.5 g) isoliert, das nach Hydrolyse mit Salzsäure entsprechend l. c.<sup>3)</sup> 0.26 g einer Genin-Mischung lieferte. Daraus wurden durch erneute präparative Schichtchromatographie mit Chloroform/Isopropylalkohol (20 : 1) 98 mg natürliches Digacetigenin abgetrennt. Es erwies sich in allen Eigenschaften als identisch mit dem oben beschriebenen.

*Abtrennung des Dihydro-digacetigenins (4):* 145 mg natürliches Digacetigenin wurden an 62 g Kieselgel/10% AgNO<sub>3</sub><sup>12)</sup> chromatographiert. Man eluierte zunächst mit 750 ccm Chloroform, dann mit 800 ccm Chloroform/Äthanol (50 : 1) und fing Fraktionen von je 8 ccm auf. So wurden erhalten:

a) 69 mg stark angereichertes Dihydro-digacetigenin, das bei erneuter Chromatographie an 26 g Kieselgel/10% AgNO<sub>3</sub> mit Chloroform und Chloroform/Äthanol-Gemischen (1%, dann 1.5% Äthanol) 20 mg reines, amorphes Dihydro-digacetigenin (4) lieferte, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.  $[\alpha]_D^{25}$ : +31° (*c* = 0.4, Methanol).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3605 und 3330 (OH), 1740 (Acetat und 15-Keton), 1697 (20-Keton) und 1230/cm (Acetat).

NMR:  $\tau$  = 9.22 (s, CH<sub>3</sub>-19), 8.93 (s, CH<sub>3</sub>-18), 7.88 (s, 12 $\beta$ -Acetat), 7.68 (s, CH<sub>3</sub>-21), 6.85 (q, *J* = 4.5 und 9 Hz, 17 $\alpha$ -H) und 5.65 (q, *J* = 5 und 11 Hz, 12 $\alpha$ -H).

CD:  $\epsilon_{\max}$  = +1.0 (288 m $\mu$ ) und -0.05 (343 m $\mu$ ).

Die Summenformel wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie zu C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>O<sub>6</sub> bestimmt (s. Tab. 3).

b) 51 mg reines Digacetigenin (3), das aus Cyclohexan/Aceton/Chloroform in feinen Nadeln vom Schmp. 170–173° kristallisierte.  $[\alpha]_D^{25}$ : +37° (*c* = 0.2, Methanol).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 und 3330 (OH), 1742 (Acetat und 15-Keton), 1697 (20-Keton) und 1230/cm (Acetat).

NMR:  $\tau$  = 9.01 (s, CH<sub>3</sub>-19), 8.90 (s, CH<sub>3</sub>-18), 7.84 (s, 12 $\beta$ -Acetat), 7.64 (s, CH<sub>3</sub>-21), 6.82 (q, *J* = 4.5 und 9 Hz, 17 $\alpha$ -H), 5.6 (q, *J* = 5 und 11 Hz, 12 $\alpha$ -H) und 4.55 (s, Vinylproton).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max}$  = +1.4 (289 m $\mu$ ) und -0.06 (344 m $\mu$ ).

Die Summenformel wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie zu C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub> bestimmt (s. Tab. 3).

*Desacetyl-digacetigenin (6):* 15 mg reines 3 wurden in einer Mischung von 6 ccm Methanol, 1 ccm Chloroform und 1 ccm 0.2 *n* KHCO<sub>3</sub>-Lösung 27 Std. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach üblicher Aufarbeitung und Umkristallisieren aus Cyclohexan/Aceton konnten 8 mg 6 als farblose Kristalle vom Schmp. 270° gewonnen werden.  $[\alpha]_D^{25}$ : +64° (*c* = 0.1, Methanol).

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> (362.2) Mol.-Gew. gef. 362 (Massenspektrum)

*Oxydation des Desacetyl-digacetigenins zu 8:* Das obige Desacetyl-digacetigenin wurde in 8 ccm Aceton unter Eiskühlung durch tropfenweise Zugabe von Chromsäure-Standardlösung

<sup>61)</sup> Herrn Dr. F. Kaiser von der C. F. Boehringer & Söhne GmbH, Mannheim-Waldhof, danken wir bestens für die Überlassung dieses Materials.

Tab. 3. Durch hochauflösende Massenspektrometrie bestimmte Summenformeln von Molekular- und Bruchstück-Ionen. Die Messungen erfolgten mit dem Massenspektrometer MS 9 bei einem Auflösungsvermögen von 12000 bis 15000 (10%-Tal-Definition) mit Perfluor-tributylamin als Referenzsubstanz

Ver- bindung	Ion	Summenformel	Ber. Masse	Gef. Masse	Abweichung in mmu
3	M <sup>+</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>	404.2199	404.2199	—
	M — CO — AcOH	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	316.2038	316.2041	+0.3
	M — 98 — H <sub>2</sub> O	C <sub>18</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>	288.1725	288.1725	—
4	M <sup>+</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>	406.2355	406.2349	—0.6
	M — CO	C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>5</sub>	378.2406	378.2407	+0.1
	M — CO — AcOH	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub>	318.2195	318.2192	—0.3
	M — CO — AcOH — H <sub>2</sub> O	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	300.2089	300.2091	+0.2
	M — CO — AcOH — COCH <sub>3</sub>	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> O <sub>2</sub>	275.2011	275.2010	—0.1
	M — 98	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	308.1987	308.1987	—
	M — 98 — AcOH	C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	248.1776	248.1777	+0.1
7	b	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	110.0732	110.0735	+0.3
8	M <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	358.1780	358.1784	+0.4
	M — CO	C <sub>20</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	330.1831	330.1839	+0.8
	M — 97	C <sub>16</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub>	261.1491	261.1481	—1.0
	M — 98	C <sub>16</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	260.1412	260.1409	—0.3
15	M — 98 — AcOH	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	332.1987	332.1987	—
	M — 140	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub>	350.2093	350.2092	—0.1
	M — 140 — AcOH	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	290.1882	290.1879	—0.3
	M — 140 — 2 AcOH	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O	230.1671	230.1669	—0.2
	l	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> O <sub>4</sub>	197.0814	197.0814	—
	k	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub>	155.0708	155.0710*)	+0.2
18	b	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	110.0732	110.0731	—0.1
19	M <sup>+</sup>	C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	374.2457	374.2457	—
	M — 98	C <sub>18</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	276.2089	276.2086	—0.3
	M — 100	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	274.1933	274.1928	—0.5
	f	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub>	139.0759	139.0759	—
25	M <sup>+</sup>	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub>	344.1987	344.1979	—0.8
	M — 87	C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub>	257.1541	257.1543	+0.2
29	M — 87	C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> O <sub>2</sub>	289.2167	289.2163	—0.4
32	l	C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> O <sub>4</sub>	197.0814	197.0820	+0.6
	k	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> O <sub>3</sub>	155.0708	155.0709**)	+0.1

\*) Das Bruchstück macht nur etwa 60% der Intensität des Peaks *m/e* 155 aus; der Rest wird durch ein Ion C<sub>12</sub>H<sub>11</sub> hervorgerufen.

\*\*\*) Das Bruchstück macht etwa 80% der Intensität des Peaks *m/e* 155 aus; der Rest wird durch ein Ion C<sub>12</sub>H<sub>11</sub> hervorgerufen.

oxydiert. Nach üblicher Aufarbeitung resultierten 4 mg amorphes Material, das laut DC aus einer Hauptkomponente (ca. 90%) und mindestens zwei Nebenprodukten bestand. Davon ist eines nach dem Massenspektrum durch Überoxydation entstandenes  $\Delta^4$ -En-3.6-dion (Molekül-Peak *m/e* 372 und der für  $\Delta^4$ -En-3.6-diketo-steroiden typische Peak bei *m/e* 137<sup>62)</sup>).

UV:  $\lambda_{\max}$  240 m $\mu$ , nach Zugabe von NaOH keine Verschiebung.

Die Summenformel wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie zu C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub> bestimmt (s. Tab. 3).

*Oxydation des Digacetenins zu 9*: 100 mg natürliches Digacetenin-Gemisch oxydierte man in 15 ccm Aceton unter Eiskühlung mit 0.18 ccm Chromsäure-Standardlösung, versetzte dann mit Eiswasser und extrahierte mit Chloroform. Die organische Phase wurde i. Vak. zur

<sup>62)</sup> C. Djerassi, J. Karliner und R. T. Aplin, Steroids 6, 1 (1965).

Trockne eingedampft und der Rückstand an 20 g Kieselgel mit Chloroform/1% Methanol chromatographiert. Aus Cyclohexan/Aceton erhielt man 36 mg leicht gelbliche Kristalle vom Schmp. 177–180°. Das Produkt enthielt laut DC etwa 25% der 4.5-Dihydro-Verbindung.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 1740 (Acetat und 15-Keton), 1695 (20-Keton), 1665 und 1610 ( $\Delta^4$ -En-3-keton) und 1230/cm (Acetat).

UV:  $\lambda_{\max}$  238.5 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 3.94).

C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> (402.2) Mol.-Gew. gef. 402 und 404 (Massenspektrum)

Das aus **9** (7 mg) durch Entacetylierung mit KHCO<sub>3</sub> (2 ccm 0.2*n* wäbr. KHCO<sub>3</sub>-Lösung und 12 ccm Methanol) gewonnene amorphe **10** war laut DC identisch mit einem früher<sup>4)</sup> durch Oppenauer-Oxydation von Desacetyl-digaceticenin erhaltenen Produkt. Es wurde in 6 ccm 0.1*n* methanol. KOH in Stickstoffatmosphäre 1 Stde. unter Rückfluß gekocht und dann wie üblich aufgearbeitet. Das Reaktionsgemisch bestand laut DC aus mehreren unpolaren Zersetzungsprodukten, sein UV-Spektrum wies oberhalb 220 m $\mu$  keine selektive Absorption auf.

*Digaceticenin-diacetat* (**11**): 40 mg natürliches *Digaceticenin* ließ man mit 40 mg *p*-Toluolsulfonsäure in einer Mischung von 2 ccm Eisessig und 0.5 ccm *Acetanhydrid* 13 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Dann wurde mit 50 ccm Eiswasser versetzt, der Niederschlag abfiltriert und über KOH getrocknet. Umkristallisieren aus Benzol/Cyclohexan lieferte 35 mg Kristalle vom Schmp. 228–234° (Lit.<sup>4)</sup>: 218–223°). Da vom natürlichen *Digaceticenin* ausgegangen wurde, enthielt die Substanz noch etwa 25% Dihydroprodukt; eine dünnschichtchromatographische Auftrennung, selbst mit AgNO<sub>3</sub>-imprägniertem Kieselgel G, gelang aber nicht.

IR (CCl<sub>4</sub>): 1750–1740 (Acetate und 15-Keton), 1710 (20-Keton) und 1230/cm (Acetate).

NMR:  $\tau$  = 9.00 (s, CH<sub>3</sub>-19), 8.72 (s, CH<sub>3</sub>-18), 7.97 (s, 3 $\beta$ -Acetat), 7.93 (s, 14 $\beta$ -Acetat), 7.83 (s, 12 $\beta$ -Acetat), 7.77 (s, CH<sub>3</sub>-21) und 4.57 (Vinylproton).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max}$  = +0.55 (276 m $\mu$ ) und -1.02 (311 m $\mu$ ).

C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>8</sub> (488.2) Mol.-Gew. gef. 488 und 490 (Massenspektrum)

*Hydrierung des Digaceticenin-diacetates zu 15*: 20 mg **11** wurden über 65 mg vorhydriertem PtO<sub>2</sub> in 20 ccm Eisessig bei Raumtemperatur und Normaldruck hydriert. Nach 5 Stdn. war die *Wasserstoff*-Aufnahme beendet, es wurde vom Katalysator abfiltriert und die Lösung i. Vak. zur Trockne gebracht. Nach Reinigung durch präparative Schichtchromatographie (Benzol/Aceton 3 : 1 auf Kieselgel H) erhielt man 12 mg Kristalle, die aus Chloroform/Cyclohexan Nadelbüschel vom Schmp. 206° (mit Umwandlungspunkt bei etwa 185°) lieferten.

IR (CCl<sub>4</sub>): 1750 und 1735 (Acetate und 15-Keton), 1710 (20-Keton) und 1220/cm (Acetate).

C<sub>27</sub>H<sub>38</sub>O<sub>8</sub> (490.3) Mol.-Gew. gef. 490 (Massenspektrum)

*Hydrierung des Digaceticenins und nachfolgende Oxydation zu 13*: 90 mg natürliches *Digaceticenin* wurden über 100 mg vorhydriertem PtO<sub>2</sub> in 12 ccm Eisessig bei Raumtemperatur unter Normaldruck 70 Stdn. hydriert. Das nach Entfernen des Katalysators und Eindampfen erhaltene Reaktionsgemisch wurde in 60 ccm Aceton suspendiert und unter Eiskühlung und Rühren mit 0.6 ccm *Chromsäure*-Standardlösung oxydiert. Man arbeitete wie üblich auf und erhielt 85 mg amorphes Material, das sich im DC ebenso verhielt wie das bei der Darstellung von **9** gebildete, aus dem natürlichen Dihydro-digaceticenin stammende Nebenprodukt (s. oben).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3320 (14 $\beta$ -OH), 1745 (Acetate und 15-Keton), 1705 (3- und 20-Keton) und 1240/cm (Acetate).

NMR (CDCl<sub>3</sub>):  $\tau$  = 9.00 (s, CH<sub>3</sub>-19; das Signal wird in Benzol-Lösung aufgespalten zu zwei etwa gleich intensiven Signalen bei  $\tau$  = 9.47 und 9.37, was für das Vorliegen eines

Stereoisomeren-Gemisches an C-5 spricht), 8.90 (s, CH<sub>3</sub>-18), 7.84 (s, 12 $\beta$ -Acetat), 7.64 (s, CH<sub>3</sub>-21) und 5.6 (q,  $J = 5$  und 11 Hz, 12 $\alpha$ -H).

C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub> (404.2) Mol.-Gew. gef. 404 (Massenspektrum)

*Verseifung zu 14:* 30 mg **13** ließ man in einer Mischung von 30 ccm Methanol, 2 ccm Chloroform und 5 ccm 0.2 *n* KHCO<sub>3</sub>-Lösung bei Raumtemperatur 16 Stdn. stehen. Übliches Aufarbeiten ergab 27 mg amorphes Material.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 (12 $\beta$ -OH), 3300 (14 $\beta$ -OH), 1740 (15-Keton) und 1700/cm (3- und 20-Keton).

24 mg **14** kochte man in 10 ccm Aceton mit 0.6 ccm konz. Salzsäure in Stickstoffatmosphäre 20 Min. unter Rückfluß, neutralisierte die Lösung mit NaHCO<sub>3</sub> und arbeitete wie üblich auf Neutralteile auf. Das Reaktionsprodukt bestand nach DC (Chloroform/Äthanol 20 : 1) zu über 90% aus unverändertem Ausgangsmaterial, daneben ließen sich zwei unpolare Verbindungen erkennen. Das UV-Spektrum wies im Bereich von 210 bis 280  $\mu$  kein Absorptionsmaximum auf.

*Oxydation zu 12:* 20 mg **14** wurden in 20 ccm Aceton mit 0.05 ccm Jones-Reagens 40 Min. im Eisbad, anschließend weitere 30 Min. bei Raumtemperatur oxydiert. Nach Aufarbeiten resultierten 20 mg farbloses, amorphes Produkt, das laut DC (Chloroform/Methanol 60 : 1) aus zwei Verbindungen bestand; die polare Substanz stellte offensichtlich durch Überoxydation entstandenes Lacton<sup>19</sup> dar, wie die Lactonbande bei 1780/cm im IR-Spektrum der Mischung anzeigt. Die unpolare Substanz wurde durch präparative Schichtchromatographie (Chloroform/Methanol 60 : 1 auf Kieselgel HF, zweimaliges Entwickeln) abgetrennt; man erhielt so 11 mg amorphes **12**.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3300 (14 $\beta$ -OH), 1745 (15-Keton), 1712 (3- und 12-Keton) und 1698/cm (20-Keton). C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>5</sub> (360.2) Mol.-Gew. gef. 360 (Massenspektrum)

*Alkalische Isomerisierung des Digacetigenins:* 50 mg natürliches Digacetigenin-Gemisch wurden in 10 ccm 0.05 *n* methanol. KOH in Stickstoffatmosphäre 12 Stdn. gerührt. Dann neutralisierte man mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, versetzte mit 10 ccm Wasser und extrahierte mit Äther. Nach dem Trocknen der Ätherphase und Abdampfen des Lösungsmittels erhielt man 45 mg Isomerengemisch, das aus Aceton/Cyclohexan 26 mg Kristalle vom Schmp. 245–247° (Lit.<sup>4</sup>): 245–251°) lieferte. 20 mg davon wurden mit 1 ccm Acetanhydrid und 1.5 ccm Pyridin acetyliert (14 Stdn. bei Raumtemperatur). Nach Aufarbeiten konnte durch präparative Schichtchromatographie (Chloroform/Äthanol 20 : 1) in zwei Komponenten aufgetrennt werden:

a) 5 mg amorphes Digacetigenin-3-acetat (**16**, unpolare Komponente), das mit dem aus Digacetigenin durch Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin erhaltenen Produkt<sup>3</sup>) identisch war (IR- und NMR-Spektren und DC).

IR (CCl<sub>4</sub>): 3340 (14 $\beta$ -OH; in 0.003 *m* CCl<sub>4</sub>-Lösung bei 3365), 1740 (Acetate und 15-Keton), 1700 (20-Keton) und 1230/cm (Acetate).

NMR:  $\tau = 9.00$  (s, CH<sub>3</sub>-19), 8.91 (s, CH<sub>3</sub>-18), 7.98 (s, 3 $\beta$ -Acetat), 7.85 (s, 12 $\beta$ -Acetat), 7.64 (s, CH<sub>3</sub>-21), 5.6 (q,  $J = 5$  und 11 Hz, 12 $\alpha$ -H) und 4.55 (Vinylproton).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max} = +1.7$  (289  $m\mu$ ) und  $-0.04$  (345  $m\mu$ ).

b) 16 mg Isodigacetigenin-3-acetat (**17**), das aus Chloroform/Petroläther 11 mg Kristalle vom Schmp. 242–243° ergab (Lit.<sup>4</sup>): 235–240°).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3580 (14 $\beta$ -OH; in 0.003 *m* CCl<sub>4</sub>-Lösung bei 3593), 1740–1700 (Acetate und Ketone) und 1230–1195/cm (Acetate).

NMR:  $\tau = 9.01$  (s, CH<sub>3</sub>-19), 8.50 (s, CH<sub>3</sub>-18), 8.07 (s, 12 $\beta$ -Acetat), 7.98 (s, 3 $\beta$ -Acetat), 7.68 (s, CH<sub>3</sub>-21) und 4.5 (Vinylproton).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max} = -2.96$  (290  $m\mu$ ),  $-2.67$  (309  $m\mu$ ) und  $-2.25$  (319  $m\mu$ , Schulter).

Die  $RuO_4$ -Spaltungen wurden nach einem modifizierten Verfahren mit katalytischen Mengen  $RuO_4$  und überschüss.  $NaJO_4$  vorgenommen<sup>63)</sup>: Dazu wurde eine zweiphasige Mischung von etwa 10 mg  $RuO_4$  in 5 ccm  $CCl_4$  und 5 ccm 5-proz. wäßr.  $NaJO_4$ -Lösung bis zur eintretenden Gelbfärbung intensiv gerührt und dann eine Lösung von 50 mg Substanz in 5 ccm  $CCl_4$  langsam zugetropft. Nach etwa 1 Stde. weiteren sehr intensiven Rührens hatte sich die zunächst schwarzbraune Mischung wieder gelb gefärbt, man extrahierte sie dann mit Chloroform und brachte die organische Phase i. Vak. zur Trockne. Der dunkelbraune Eindampf-rückstand wurde wie folgt chromatographisch gereinigt:

a) Das aus dem  $3\beta$ -Acetoxy- $\Delta^5$ -pregnenon-(20) gebildete **18** wurde durch präparative Schichtchromatographie mit Chloroform/Äthanol (20 : 1) und zweimaliges Entwickeln angereichert.

b) Das aus dem *Digacetenin-diacetat* erhaltene Reaktionsgemisch wurde durch Chromatographie an 10 g Kieselgel (Elution mit Chloroform/Äthanol-Gemischen) vorgereinigt und dann durch präparative Schichtchromatographie (Chloroform/Isopropylalkohol 30 : 1, zweimalige Entwicklung) aufgetrennt. Man erhielt so 3 mg *Dihydro-digacetenin-diacetat* (unpolarste Zone), das aus dem eingesetzten Diacetat-Gemisch zurückgeblieben war (vgl. S. 3309), 2 mg eines nicht näher identifizierten Nebenproduktes (mittlere Zone) sowie 4 mg *Seco-Verbindung 7* (polare Zone). **7** und **18** wurden durch ihre Massenspektren identifiziert (vgl. S. 3295).

#### Perjodat-Spaltungen

a) 50 mg  $17\alpha$ -Hydroxy- $3\beta$ -acetoxy- $5\alpha$ -pregnanon-(20) reduzierte man in einer Mischung aus 5 ccm Dimethylformamid und 5 ccm Wasser mit 30 mg  $NaBH_4$ <sup>64)</sup> und arbeitete wie üblich auf. Das Reaktionsprodukt wurde in 6 ccm wäßr. Methanol (1 : 1) gelöst, mit 150 mg  $NaJO_4$  versetzt und 30 Min. auf 40° und anschließend 1 Stde. auf 55° erwärmt; dabei leitete man Stickstoff durch die Reaktionslösung in eine eisgekühlte Vorlage mit salzsaurer 2,4-Dinitro-phenylhydrazin-Lösung. Der darin entstandene feinkristalline Niederschlag von *Acetaldehyd*-[2,4-dinitro-phenylhydrazon] wurde durch DC (zweimalige Entwicklung mit Benzol/Petroläther 3 : 1) mit authent. Material identifiziert<sup>65)</sup>.

b) 20 mg natürliches *Digacetenin* wurden in 1,5 ccm Dioxan/Wasser (4 : 1) mit 10 mg  $NaBH_4$  reduziert und, wie oben beschrieben, mit  $NaJO_4$  umgesetzt. Es konnte hierbei kein 2,4-Dinitro-phenylhydrazon gefaßt werden.

*17\alpha*-Hydroxy-15-oxo-progesteron (**25**): Eine Lösung von 600 mg *15\alpha*-Hydroxy-progesteron<sup>66)</sup> und 16 mg *p*-Toluolsulfonsäure in einer Mischung von 5 ccm Dimethylformamid, 5 ccm 2,2-Dimethoxy-propan und 0,2 ccm Methanol wurde  $3\frac{1}{2}$  Stdn. unter Rückfluß gekocht. Dann neutralisierte man mit  $NaHCO_3$ , goß in 250 ccm Eiswasser und rührte diese Mischung  $1\frac{1}{2}$  Stdn. Der Niederschlag (588 mg) wurde scharf getrocknet (**23**; Dienoläther-Banden im IR-Spektrum bei 1650 und 1626/cm,  $CH_3O$ -Signal im NMR-Spektrum bei  $\tau = 6.43$ ).

Zu einer mit Sauerstoff gesättigten Lösung von 0,6 g Kalium in 25 ccm trockenem *tert*-Butylalkohol gab man 500 mg *Dienoläther 23* und schüttelte diese Lösung dann auf der Maschine in einer Sauerstoffatmosphäre von etwa 10 Torr Überdruck<sup>49)</sup>. Nach 45 Min. waren 40 ccm Sauerstoff aufgenommen worden (ber. 32 ccm). Die entstandene rotbraune Lösung wurde in 35 ccm 30-proz. Essigsäure eingerührt, diese Mischung dann bei 50° i. Vak. weitgehend eingeeengt und nach dem Abkühlen in 50 ccm Eiswasser gegossen. Der gebildete farblose Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat nach Sättigen mit Natriumchlorid mit Essigester ausgezogen. Niederschlag und organische Phase wurden vereinigt und i. Vak. zur Trockne

<sup>63)</sup> G. Snatzke und W. Nising, unveröffentlichte Versuche.

<sup>64)</sup> D. Taub, R. D. Hoffsommer und N. L. Wendler, J. Amer. chem. Soc. **81**, 3291 (1959).

<sup>65)</sup> Vgl. E. Stahl, Dünnschichtchromatographie, S. 198, Springer-Verlag, Berlin 1962.

gebracht. Der Rückstand wurde mit 2 g aktiviertem *Zinkstaub* in 75 ccm Eisessig 27 Stdn. geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren von überschüss. Zink engte man i. Vak. ein, schlammte in 25 ccm Methanol auf und rührte in 150 ccm Eiswasser ein. Dann wurde erschöpfend mit Chloroform/Methanol (1:1) extrahiert und wie üblich auf Neutralteile aufgearbeitet. Das rohe Reaktionsprodukt (485 mg) wurde an 50 g Kieselgel mit Chloroform/Äthanol (20:1) chromatographiert. Nach 200 mg unpolaren Nebenprodukten wurden 220 mg *15 $\alpha$ .17 $\alpha$ -Dihydroxy-progesteron* (**24**) eluiert. Es lieferte aus Petroläther/Aceton Kristalle vom Schmp. 192–196°.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 und 3450 (OH), 1706 (20-Keton), 1660 und 1615/cm ( $\Delta^4$ -En-3-on).

UV:  $\lambda_{\max}$  241 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 4.0).

NMR:  $\tau$  = 9.28 (s, CH<sub>3</sub>-18), 8.81 (s, CH<sub>3</sub>-19), 7.77 (s, CH<sub>3</sub>-21) und 4.23 (Vinylproton).

54 mg **24** wurden in 40 ccm Aceton mit 0.2 ccm *Chromsäure*-Standardlösung unter Eiskühlung oxydiert. Nach Aufarbeiten resultierten 53 mg *17 $\alpha$ -Hydroxy-15-oxo-progesteron* (**25**), aus Cyclohexan/Aceton rhomboederförmige Kristalle vom Schmp. 238–247°.  $[\alpha]_D^{25}$ : +104° (*c* = 0.25, Chlf.) (Lit.<sup>66</sup>): Schmp. 267–268°,  $[\alpha]_D^{25}$ : +98°.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 und 3480 (17 $\alpha$ -OH), 1736 (15-Keton), 1703 (20-Keton), 1660 und 1610/cm ( $\Delta^4$ -En-3-on).

UV:  $\lambda_{\max}$  240 m $\mu$  (log  $\epsilon$  = 4.2).

NMR:  $\tau$  = 9.18 (s, CH<sub>3</sub>-18), 8.81 (s, CH<sub>3</sub>-19), 7.66 (s, CH<sub>3</sub>-21) und 4.22 (Vinylproton).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max}$  = +5.37 (299 m $\mu$ ), -1.16 (332 m $\mu$ ), -0.99 (344 m $\mu$ ) und -0.33 (359 m $\mu$ ).

Die Summenformel wurde durch hochauflösende Massenspektrometrie zu C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> bestimmt (s. Tab. 3).

*17 $\alpha$ -Hydroxy-15.20-diketone* **28** und **29**: 850 mg *15 $\alpha$ -Hydroxy-progesteron* wurden in 120 ccm Äthanol gelöst und über 2 g 5-proz. Palladiumkohle bei Normaldruck und Raumtemperatur hydriert, bis keine *Wasserstoff*-Aufnahme mehr erfolgte (18 Stdn.). Das nach dem üblichen Aufarbeiten erhaltene Reaktionsgemisch (**26** + **27**) wurde, wie für **23** beschrieben, hydroxyliert und dann an 200 g Kieselgel chromatographisch aufgetrennt:

a) Durch Elution mit Chloroform/Aceton (6:1) erhielt man 430 mg *15 $\alpha$ .17 $\alpha$ -Dihydroxy-3 $\xi$ -äthoxy-5 $\beta$ -pregnanon-(20)*. 215 mg davon wurden in 65 ccm Aceton mit 0.3 ccm *Chromsäure*-Standardlösung oxydiert. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man 193 mg *17 $\alpha$ -Hydroxy-3 $\xi$ -äthoxy-5 $\beta$ -pregnandion-(15.20)* (**29**), das aus Petroläther/Essigester Kristalle vom Schmp. 128–135° lieferte.  $[\alpha]_D^{25}$ : +14° (*c* = 0.4, Chlf.).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 und 3500 (17 $\alpha$ -OH), 1738 (15-Keton) und 1706/cm (20-Keton).

NMR:  $\tau$  = 9.23 (s, CH<sub>3</sub>-18), 9.05 (s, CH<sub>3</sub>-19), 7.68 (s, CH<sub>3</sub>-21) und 8.81 und 6.56 (t bzw. q, *J* = 7 Hz, 3-Äthoxygruppe).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max}$  = +4.38 (300 m $\mu$ ).

C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub> (376.2) Mol.-Gew. gef. 376 (Massenspektrum)

b) Chloroform/Aceton (4:1) eluierte 95 mg *3 $\xi$ .15 $\alpha$ .17 $\alpha$ -Trihydroxy-5 $\beta$ -pregnanon-(20)*, von dem 40 mg in 10 ccm Aceton mit 0.1 ccm *Chromsäure*-Standardlösung oxydiert wurden. Das Reaktionsprodukt lieferte durch Umkristallisieren aus Petroläther/Chloroform 15 mg *17 $\alpha$ -Hydroxy-5 $\beta$ -pregnantrion-(3.15.20)* (**28**) vom Schmp. 196°.  $[\alpha]_D^{25}$ : +28° (*c* = 0.5, Chlf.).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3600 und 3500 (17 $\alpha$ -OH), 1740 (15-Keton) und 1705/cm (3- und 20-Keton).

NMR:  $\tau$  = 9.21 (s, CH<sub>3</sub>-18), 8.96 (s, CH<sub>3</sub>-19) und 7.67 (s, CH<sub>3</sub>-21).

CD:  $\Delta\epsilon_{\max}$  = +4.9 (301 m $\mu$ ).

C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (346.2) Mol.-Gew. gef. 346 (Massenspektrum)

<sup>66</sup>) O. El-Tayeb, S. G. Knight und C. J. Sih, *Biochim. biophysica Acta* [Amsterdam] **93**, 411 (1964).



*Oxydation des Digiprogenins zu 31*: 20 mg *Digiprogenin* wurden in 10 ccm Aceton mit 0.1 ccm *Chromsäure*-Standardlösung unter Eiskühlung oxydiert. Das nach dem Aufarbeiten resultierende Gemisch wurde durch präparative Schichtchromatographie (zweimaliges Entwickeln mit Chloroform/Isopropylalkohol 20 : 1) in zwei Komponenten aufgetrennt; man erhielt so:

a) 6 mg amorphes **31** (unpolare Zone).

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3300 (14β-OH), 1745 (15-Keton), 1710 (11-Keton), 1695 (20-Keton) und 1665 und 1613/cm (Δ<sup>4</sup>-En-3-on).

UV: λ<sub>max</sub> 237 mμ (log ε = 3.9).

C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub> (358.2) Mol.-Gew. gef. 358 (Massenspektrum)

b) 3 mg amorphes, durch Überoxydation entstandenes *14-Hydroxy-Δ<sup>4</sup>-pregnenpentaon* (3.6.11.15.20) (polare Zone), das auf Grund des für Δ<sup>4</sup>-En-3.6-diketo-steroiden typischen Peaks *m/e* 137 (63% rel. Intens.) im Massenspektrum<sup>62</sup>) identifiziert wurde.

IR (CHCl<sub>3</sub>): 3300 (14β-OH), 1745 (15-Keton), 1715 (11-Keton) und 1690/cm (20-Keton) und Δ<sup>4</sup>-En-3.6-dion).

UV: λ<sub>max</sub> 242 mμ (log ε = 3.85).

C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>O<sub>6</sub> (372.2) Mol.-Gew. gef. 372 (Massenspektrum)

*Oxydation des Purprogenins zu 8*: 6.5 mg **5** wurden in 6 ccm Aceton mit 0.1 ccm *Chromsäure*-Standardlösung unter Eiskühlung etwa 5 Min. oxydiert. Da das nach dem Aufarbeiten erhaltene Produkt laut Massenspektrum im wesentlichen aus nur an C-3 oxydiertem Material bestand (M<sup>+</sup> = 360; der durch Abspaltung der C-Atome 15—21 gebildete Peak lag wie beim Purprogenin bei M — 99), wurde es weitere 10 Min. unter den gleichen Bedingungen nachoxydiert. In dem so erhaltenen Oxydationsprodukt war die Hauptkomponente laut DC mit dem aus *Desacetyl-digacetigenin* dargestellten **8** identisch (Fließmittelsysteme: Chloroform/Isopropylalkohol (20 : 1), Cyclohexan/Dioxan (2 : 1) und Benzol/Aceton (6 : 1); in den ersten beiden Systemen wurde zweimal, im letzten einmal entwickelt). Durch präparative Schichtchromatographie mit Chloroform/Isopropylalkohol wurde sie angereichert. Im Massenspektrometer zeigte sich, daß neben **8** noch das durch Allyloxydation entstandene Δ<sup>4</sup>-En-3.6-dion vorhanden war (vgl. auch S. 3308). Durch fraktionierte Verdampfung in der Ionenquelle gelang es, Massenspektren aufzunehmen, die den fast reinen Verbindungen entsprechen und die identisch mit denen der aus *Desacetyl-digacetigenin* gewonnenen Oxydationsprodukte sind.

[184/67]