

Wolfgang Eberlein, Josef Nickl, Joachim Heider, Gerhard Dahms und Hans Machleidt

Steroidische Cardiotonica, I

## Einführung von Substituenten in den Butenolid-Ring von Herzglykosiden

Aus den Forschungslaboratorien der Dr. Karl Thomae GmbH, D-795 Biberach

(Eingegangen am 6. Juni 1972)

Die Einführung von Halogen-, Alkyl- und Alkoxy-Substituenten in den Lactonring von Cardenolidglykosiden gelingt durch intramolekulare PO-aktivierte Cyclisierung an 14 $\beta$ -Hydroxy-C/D-*cis*-steroid-Aglykonen und -Glykosiden vom Typ Digoxin, Digitoxin, Ouabain, Evomonosid und Convallatoxol. Die Struktur der C-22-substituierten Glykoside (**7**, **8**, **10**, **13**) wurde mittels spektroskopischer Methoden gesichert.

### Steroidal Cardiotonics, I

#### Introduction of Substituents into the Butenolide Ring of Heart Glycosides

The introduction of halogen, alkyl, and alkoxy substituents into the lactone ring of cardenolide glycosides has been achieved *via* intramolecular PO-activated cyclization with 14 $\beta$ -hydroxy-C/D-*cis*-steroid aglycones and glycosides deriving from heart glycosides like digoxin, digitoxin, ouabain, evomonosid, and convallatoxol. The structure of the C-22 substituted glycosides (**7**, **8**, **10**, **13**) was identified by spectroscopic methods.

Die Bedeutung der Herzglykoside als Arzneimittel zur Behandlung der Herzmuskelinsuffizienz hat in den letzten Jahren durch die Einführung von Reinglykosiden in die Therapie weiter zugenommen.

Die Beziehungen zwischen biologischer Wirkung und chemischer Struktur der Herzglykoside sind bekannt. Eine Differenzierung von positiv inotroper Grundwirkung und Cardiotoxizität durch eine unterschiedliche Substitution des Steroidgerüsts gelang bisher nicht<sup>1-4</sup>).

Eine Differenzierung könnte durch Einführung geeigneter Substituenten in den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Lactonring (Teilformel **1** und **2**) erreicht werden, da dieses System für die positiv inotrope Wirkung essentiell ist. Substituierte Herzglykoside von diesem

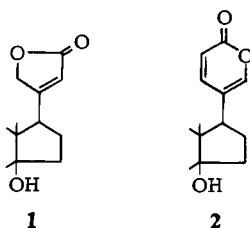
1) L. F. Fieser und M. Fieser, Steroids, Reinhold Publishing Corporation, New York 1959.

2) G. Baumgarten, Die herzwirksamen Glykoside, Edition Leipzig 1963.

3) K. Greef, Probleme der klinischen Prüfung herzwirksamer Glykoside, Dr. D. Steinkopff Verlag, Darmstadt 1968.

4) G. G. Belz, Die herzwirksamen Glykoside, J. F. Lehmanns Verlag, München 1971.

Typ sind bisher noch nicht bekannt geworden. Die vorliegende Arbeit beschreibt die Einführung von Substituenten in 22-Stellung des Lactonringes von Butenolidglykosiden.



Seit Erscheinen der zusammenfassenden Darstellung über Butenolid-Synthesen durch *Sondheimer*<sup>5)</sup> sind in den letzten Jahren einige weitere elegante Verfahren zum Aufbau des unsubstituierten Butenolid-Ringes bekannt geworden<sup>6-9)</sup>. Die präparativ interessanteren Verfahren beruhen auf einer intramolekularen Kondensation entsprechender  $\alpha$ -Ketolacylester nach *Knoevenagel*<sup>7)</sup> oder durch PO-Aktivierung nach *Wittig-Horner*<sup>8)</sup>, wobei allerdings mit diesen Methoden noch keine Butenolid-Synthese an Steroiden mit intakter 14 $\beta$ -OH-Gruppe beschrieben worden ist. Der Grund darf wohl in der leichten Abspaltbarkeit der 14 $\beta$ -Hydroxygruppe unter den vergleichsweise harten Reaktionsbedingungen der Versuchsführung zu suchen sein.

Das von uns verwendete Verfahren<sup>10)</sup> basiert auf dem Prinzip der intramolekularen Cyclisierung durch PO-aktivierte Olefinierung, das auch von *Lehmann et al.*<sup>8)</sup> zur Synthese von 14 $\alpha$ -Carda-4.20(22)-dienoliden herangezogen wurde. Es erlaubt jedoch die Herstellung von substituierten oder <sup>14</sup>C-markierten Butenolid-Ringen an Steroiden der C/D-*cis*-Reihe mit intakter 14 $\beta$ -Hydroxygruppe.

Als Modellschubstanz für die Ringschlußreaktionen an den steroidischen Glykosiden verwendeten wir 3 $\beta$ .12 $\beta$ -Diacetoxy-14 $\beta$ .21-dihydroxy-5 $\beta$ -pregnanon-(20) (3).

3 ist nach *Reichstein* und Mitarb.<sup>11)</sup> leicht zugänglich durch Ozonbehandlung von Digoxigenin-3.12-diacetat in Essigester bei  $-70^\circ$ , Reduktion des gebildeten Ozonids mit Zink/Eisessig oder Dimethylsulfid<sup>12)</sup> und nachfolgende Hydrolyse des zunächst entstehenden Glyoxylsäureesters.

Durch Veresterung von 2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure (4) mit der Hydroxygruppe am C-21 des  $\alpha$ -Ketols 3 in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid entsteht quantitativ der Phosphonoessigsäureester 5.

5) *F. Sondheimer*, Chem. in Britain **1**, 454 (1965).

6) *G. R. Pettit* und *J. P. Yardley*, Chem. and Ind. **1966**, 553.

7) *W. Fritsch*, *U. Stache*, *W. Haede*, *K. Radscheit* und *A. Ruschig*, Liebigs Ann. Chem. **721**, 168 (1969), und dort zit. Lit.

8) *H.-G. Lehmann* und *R. Wiechert*, Angew. Chem. **80**, 317 (1968); Angew. Chem. internat. Edit. **7**, 300 (1968).

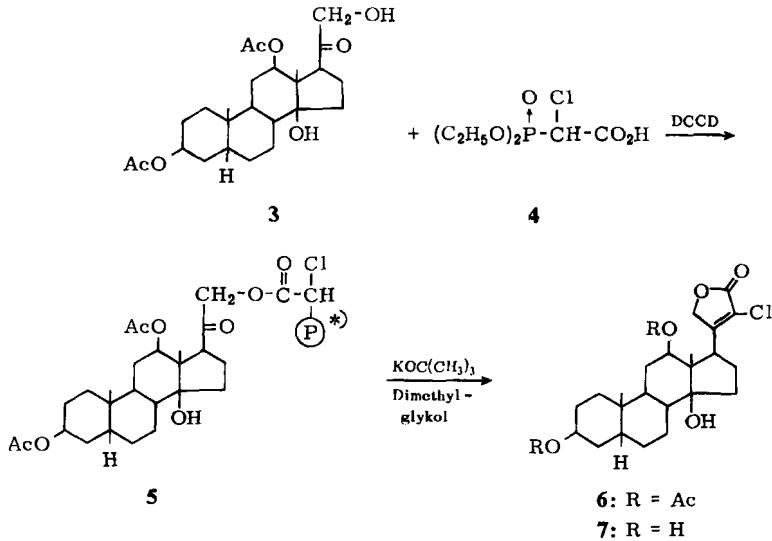
9) *W. Fritsch*, *U. Stache* und *H. Ruschig*, Liebigs Ann. Chem. **699**, 195 (1966).

10) Dieses Verfahren ist Gegenstand verschiedener Patentanmeldungen.

11) *K. Meyer* und *T. Reichstein*, Helv. chim. Acta **30**, 1508 (1947).

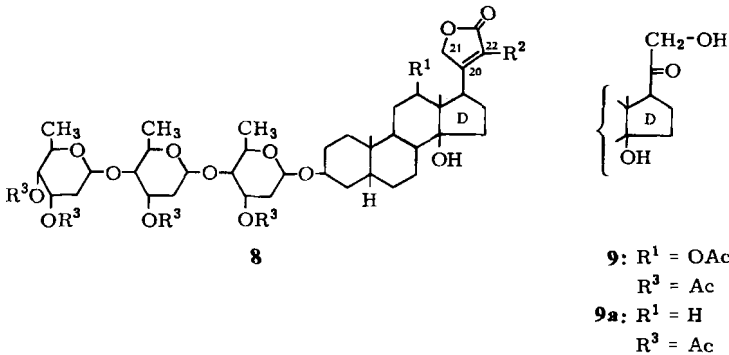
12) *I. J. Pappas*, *W. P. Keareney*, *E. Gaucher* und *M. Berger*, Tetrahedron Letters [London] **1966**, 4273.

Als basisches Kondensationsmittel für die intramolekulare PO-aktivierte Olefinierung von **5** wird Kalium-tert.-butylat verwendet. Die Reaktion verläuft bei Raumtemperatur und erbringt 40% 22-Chlor-butenolid **6**.



\*) Abkürzung für die Dialkylphosphono-Gruppierung  $(C_2H_5O)_2P-O$

Bereits an der Verbindung **6** zeigt sich der beträchtliche Einfluß der 22-Substitution auf die chemische Reaktivität des Butenolid-Ringes. Während normalerweise die



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	
<b>8a</b>	OH	F	H	22-Fluor-digoxin
<b>b</b>	OAc	Cl	Ac	22-Chlor-digoxin-3',3'',3''',4''',12-pentaacetat
<b>c</b>	OH	CH <sub>3</sub>	H	22-Methyl-digoxin
<b>d</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	22-Methoxy-digoxin
<b>e</b>	H	F	H	22-Fluor-digitoxin
<b>f</b>	H	OCH <sub>3</sub>	H	22-Methoxy-digitoxin

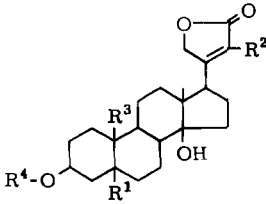
alkalische Hydrolyse des 3 $\beta$ -Acetoxyrestes von Glykosid-*geninen* keine Schwierigkeiten bereitet, war hier die Verseifung zum freien *Genin* nur unter sauren Bedingungen möglich.

In der Reihe der *genuinen* Herzglykoside haben wir die nachstehend beschriebenen 22-substituierten herzaktiven Glykoside vom Typ 8 analog hergestellt.

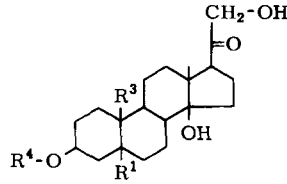
A) 22-Substituierte Derivate 8 von Digoxin und Digitoxin, ausgehend von 9 und 9a.

B) 22-Substituierte Derivate 10 von Evomonosid und Convallatoxin, ausgehend von 11 und 12.

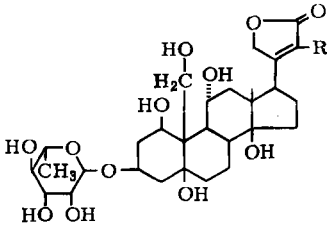
C) 22-Substituierte Abkömmlinge 13 von *g*-Strophanthin = Ouabain, ausgehend von 14.



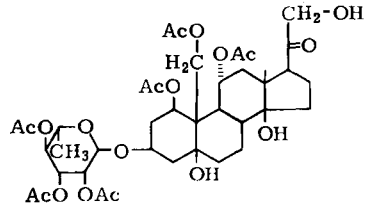
10

11: R<sup>1</sup> = H, R<sup>3</sup> = CH<sub>3</sub>R<sup>4</sup> = Rhamnosyltriacetat12: R<sup>1</sup> = OH, R<sup>3</sup> = CH<sub>2</sub>-OAcR<sup>4</sup> = Rhamnosyltriacetat

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	
10a	H	F	CH <sub>3</sub>	Rhamnosyl	22-Fluor-evomonosid
b	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	Rhamnosyl	22-Methyl-evomonosid
c	OH	F	CH <sub>2</sub> OH	Rhamnosyl	22-Fluor-convallatoxol



13



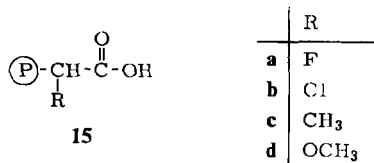
14

	R	
13a	CH <sub>3</sub>	22-Methyl-ouabain
b	OCH <sub>3</sub>	22-Methoxy-ouabain
c	F	22-Fluor-ouabain-1.2',3',4',11.19-hexaacetat <sup>13)</sup>
(OAc statt OH wie in 14)		

<sup>13)</sup> Die Darstellung von 22-Fluor-ouabain durch Verseifung des Hexaacetats ist uns bisher nicht gelungen.

Ebenso wie das  $\alpha$ -Ketol-Aglykon **3** werden die glykosidischen 21-Hydroxy-20-ketosteroide durch Ozonolyse der peracetylierten Herzglykoside erhalten<sup>14)</sup>.

Für die Cyclisierungsreaktionen wurden Phosphonosäuren vom allgemeinen Typ **15** eingesetzt. Die Säuren lassen sich aus den entsprechenden Phosphonoessigsäureestern<sup>15-18)</sup> durch milde alkalische Hydrolyse in wäßrigem Äthanol mit guter Ausbeute herstellen.



Die Kondensation mit den  $\alpha$ -substituierten Phosphonoessigsäuren erfolgt analog **5** mit Dicyclohexylcarbodiimid bei Raumtemperatur. Als Lösungsmittel wird vorteilhaft Benzol verwendet, weil damit der gebildete Dicyclohexylharnstoff am besten abgetrennt werden kann. Eine Reinigung der 3-O-Glykosyl- $\alpha$ -ketol-phosphonoessigsäureester, die als Zwischenprodukt isoliert werden, ist auf Grund der Selektivität der Reaktion nicht notwendig. Es sind zähviskose Öle, die bei längerem Aufbewahren meistens glasartig erstarren. Bei der chromatographischen Reinigung an Kieselgel zersetzen sie sich weitgehend.

Die Ausbeuten der nachfolgenden intramolekularen Olefinierungsreaktion sind vom Lösungsmittel abhängig. Die besten Ergebnisse wurden im allgemeinen in Dimethylglykol erzielt.

Die Einführung von elektronegativen Substituenten am C-22 des Butenolid-Rings führt zu einer Aktivierung der Lacton-Gruppierung gegenüber nucleophilen Reaktionspartnern. So darf die Abspaltung der Acetylreste von Pentaacetyl-22-fluor-digoxin nur noch unter milden Bedingungen durch Hydrolyse mit Ammoniak/Methanol durchgeführt werden. Noch empfindlicher gegenüber Alkalien reagiert das Pentaacetyl-22-chlor-digoxin, dessen Hydrolyse nicht das gewünschte 22-Chlor-digoxin ergibt.

Alkyl- bzw. Alkoxygruppen in der 22-Position des Cardenolid-Rings stabilisieren die Lacton-Gruppierung gegenüber basischen Reagenzien. So ist es beispielsweise möglich, das 22-Methyl-ouabain-hexaacetat mit Natriummethylat in Methanol unter Rückfluß zu verseifen.

Die Strukturen der neuen 22-substituierten Cardenolidglykoside konnten mit spektroskopischen und elementaranalytischen Daten bestätigt werden.

Die charakteristische Hauptbande der Carbonyl-Valenzschwingung liegt für Hydroxycrotonsäure-lactone im Bereich von 1745—1765/cm. Erwartungsgemäß bewirkt die Einführung von Halogen in  $\alpha$ -Stellung zur Carbonylfunktion eine Frequenz-

14) Belgisches Patent 717554 (I. C. I. Limited, 3. 7. 68).

15) W. Grell und H. Machleidt, Liebigs Ann. Chem. **693**, 134 (1966).

16) Die Herstellung von 2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure-methylester ist im experimentellen Teil dieser Arbeit beschrieben.

17) G. Ackermann, J. Amer. chem. Soc. **79**, 6524 (1957).

18) W. Grell und H. Machleidt, Liebigs Ann. Chem. **699**, 53 (1966).

verschiebung um 20–30/cm nach höheren Wellenzahlen. Die Einführung eines Alkyl- oder Alkoxyrestes bleibt ohne größeren Einfluß auf die Carbonylabsorption. Dagegen wird die Schwingungsfrequenz von 1625/cm der C=C-Bindung des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Lactonringes durch alle Substituenten um 20–75/cm nach höheren Frequenzen verschoben. Die Valenzschwingung der fluor-substituierten C=C-Lacton-Bindung liegt um 1670–1700/cm; die der methyl-substituierten Derivate tritt bei etwa 1650–1665/cm auf.

Für 22-Methoxy-digitoxin (**8f**) wurde zusätzlich der Circular dichroismus im Bereich der R-Bande ( $n \rightarrow \pi^*$ -Übergang) des Butenolid-Rings bestimmt. Der unsubstituierte  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Lactonring von Digitoxin zeigt im Bereich zwischen 270 und 225 nm einen positiven Cotton-Effekt mit einem Maximum bei 239 nm ( $\Delta\epsilon_{\max} = +3.19$ ). Durch die Einführung der Methoxygruppe wird das Vorzeichen des CD nicht beeinflusst. Dagegen erfolgt eine merkliche Rotverschiebung um  $\lambda = 11$  nm, so daß das korrespondierende CD-Maximum bei 250 nm ( $\Delta\epsilon_{\max} = +4.70$ ) lokalisiert ist<sup>19</sup>).

Die biologischen Untersuchungen<sup>20</sup> dieser Substanzklasse am isolierten Meerschweinchen-Vorhof lassen eine recht interessante Abstufung in ihrer myocardialen Wirkung erkennen. Mit der Einführung von Fluor in den Cardenolid-Ring von Digoxin geht eine Erhöhung der kontraktionsfördernden Wirkung einher. Dagegen wird die positiv inotrope Aktivität durch eine Methoxygruppe an C-22 erheblich abgeschwächt.

Herrn Dr. A. Reuter sind wir zu Dank verpflichtet für wertvolle Hinweise bei der Diskussion der Spektren.

Herrn Dr. K. Daneck danken wir für die Durchführung der Fluorbestimmungen.

## Beschreibung der Versuche

Schmelzpunkte: Apparat nach „Tottoli“ (unkorrigiert). IR-Spektren: in KBr oder Methylchlorid mit dem Gerät Perkin-Elmer 237. UV-Spektren: in Äthanol mit einem Spektrophotometer Perkin-Elmer 137 UV. NMR-Spektren: in Deuteriochloroform und Dimethylsulfoxid im Varian A 60 mit Tetramethylsilan als internem Standard. Die spezifischen Drehwerte wurden bei 20° in methanolischer Lösung aufgenommen. Zur Dünnschichtchromatographie (DC) wurde Kieselgel PF<sub>254+366</sub> (Merck), zur Säulenchromatographie Kieselgel (0.2–0.5 mm Merck) verwendet.

22-Chlor-3 $\beta$ .12 $\beta$ .14 $\beta$ -trihydroxy-card-20-enolid = 22-Chlor-digoxigenin (**7**): Eine Lösung von 5.0 g (11.1 mMol) 3 $\beta$ .12 $\beta$ -Diacetoxy-14 $\beta$ .21-dihydroxy-5 $\beta$ -pregnanon-(20) (**3**) und 3.1 g (13.3 mMol) 2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure (**4**) in 100 ccm absol. Benzol wird unter Eiskühlung und unter Rühren tropfenweise mit einer Lösung von 2.7 g (13.3 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid in 10 ccm Benzol versetzt. Anschließend rührt man 5–8 Std. bei Raumtemp. weiter und saugt dann vom ausgefallenen *N,N'*-Dicyclohexylharnstoff ab. Man erhält nach Einengen i. Vak. das 3 $\beta$ .12 $\beta$ -Diacetoxy-21-[2-chlor-2-diäthylphosphono-acetoxy]-14 $\beta$ -hydroxy-5 $\beta$ -pregnanon-(20) (**5**) als öligen Schaum.  $R_F$  0.55 (Methyläthylketon/Xylol 5:2).

Ohne weitere Reinigung wird der rohe  $\alpha$ -Ketol-phosphonoessigester in 60 ccm Dimethylglykol unter Eiskühlung mit 1.4 g (12.2 mMol) Kalium-tert.-butylat versetzt. Anschließend

<sup>19</sup> Herrn Prof. Dr. G. Snatzke, Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn, danken wir bestens für die Aufnahme der CD-Spektren.

<sup>20</sup> Wir danken den Herren Dr. W. Kobinger und Dr. W. Diederer für die Durchführung der Untersuchungen. Über die Ergebnisse wird an anderer Stelle berichtet.

wird die Kühlung entfernt und noch 2 Stdn. bei Raumtemp. weitergerührt. Dann wird in 200 ccm verdünnte Salzsäure gegossen und mit Chloroform mehrmals extrahiert. Die vereinigten Auszüge werden mit Wasser gewaschen, getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingengt. Man erhält 2.3 g (40%) 22-Chlor-digoxigenin-3.12-diacetat (**6**) vom Schmp. 222 bis 223° (aus Essigester/Äther).

Eine Lösung von 770 mg (1.5 mMol) 22-Chlor-digoxigenin-3.12-diacetat (**6**) in 77 ccm Methanol und 3.8 ccm konz. Salzsäure wird 2.5 Tage bei Raumtemp. gerührt. Anschließend entfernt man bei 40° das Lösungsmittel i. Vak., versetzt den Rückstand mit Wasser und saugt den ausgefallenen Niederschlag ab. Die erhaltenen Kristalle werden an Kieselgel (Chloroform/Aceton 1:1) chromatographiert. Nach einem kleinen Vorlauf wird 22-Chlor-digoxigenin (**7**) erhalten. Ausb. 180 mg (42%); Schmp. 224–227° (Äther). — IR (KBr): 1780 (Schulter), 1760, 1630/cm.

$C_{23}H_{33}ClO_5$  (425.0) Ber. C 65.0 H 7.83 Cl 8.34 Gef. C 65.1 H 7.86 Cl 8.14

**22-Fluor-digoxin (8a)**: Analog der Herstellung von **7** durch Kondensation von 11.7 g (12.1 mMol) **9** mit 3.4 g (15.8 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure in Gegenwart von 3.4 g (16.7 mMol) Dicyclohexylcarbodiimid. Man erhält 12.0 g (85%) des  $\alpha$ -Ketol-phosphonoessigesters,  $R_F$  0.20 (Essigester/Benzol 1:1).

Durch Behandlung des erhaltenen Produktes mit 1.8 g (16 mMol) Kalium-tert.-butylat in 100 ccm Dimethylglykol erhält man 3.5 g (29%) 22-Fluor-digoxin-pentaacetat. 3.0 g (3.0 mMol) davon ergeben mit 50 ccm  $NH_3/MeOH$  (halbgesättigt) 1.5 g (63%) 22-Fluor-digoxin. Reinigung durch Chromatographie an Kieselgel (Essigester/Benzol 6:1). — IR (KBr): 1760, 1700/cm (Butenolid-Ring).  $[\alpha]_D^{20}$ : +23° ( $c = 0.4$ , MeOH),  $R_F$  0.55 (Essigester/Äthanol 87:13).

$C_{41}H_{63}FO_{14}$  (799.0) Ber. C 61.64 H 7.95 F 2.38 Gef. C 61.40 H 8.03 F 2.11

**22-Chlor-digoxin-3'.3'''.3'''.4'''.12-pentaacetat (8b)**: Herstellung analog **8a** aus 11.4 g (11.8 mMol) **9** und 4.0 g (17.3 mMol) 2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure. Ausb. 3.0 g (23%). Reinigung durch Chromatographie an Kieselgel (Benzol/Essigester 2:1). — IR (KBr): 1780 (Schulter), 1740/cm (Butenolid-Ring).  $[\alpha]_D^{20}$ : +53° ( $c = 1.0$ , MeOH),  $R_F$  0.30 (Essigester/Benzol 1:1).

$C_{51}H_{73}ClO_{19}$  (1025.6) Ber. C 59.73 H 7.17 Cl 3.46 Gef. C 60.45 H 7.31 Cl 3.36

**22-Methyl-digoxin (8c)**: Analog der Herstellung von **8a** aus 9.7 g (10 mMol) **9** und 2.7 g (13.0 mMol) 2-Diäthylphosphono-propionsäure. Aus 1.0 g (1.0 mMol) Pentaacetat erhält man durch Verseifung mit 1.0 g (5.7 mMol) Kaliumcarbonat in 100 ccm wäbr. Methanol 500 mg (63%) 22-Methyl-digoxin. Säulenchromatographie an Kieselgel (Essigester/Äthanol 25:1). — IR (KBr): 1735 (Schulter), 1655/cm (Butenolid-Ring). — NMR ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  1.85 ppm (s,  $CH_3$  an C-22).  $[\alpha]_D^{20}$ : +10° ( $c = 0.4$ , MeOH),  $R_F$  0.6 (Essigester/Äthanol 87:13). Schmp. 268–271°.

$C_{42}H_{66}O_{14}$  (795.0) Ber. C 63.46 H 8.37 Gef. C 61.33 H 8.60

**22-Methoxy-digoxin (8d)**: Entsprechend der Herstellung von **8a** durch Kondensation von 10.0 g (10.3 mMol) **9** mit 5.4 g (24.0 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-methoxy-essigsäure. Aus 1.0 g (1.0 mMol) Pentaacetat erhält man durch Verseifung mit 600 mg (3.4 mMol) Kaliumcarbonat in 100 ccm wäbr. Methanol 680 mg (75%) 22-Methoxy-digoxin. Reinigung an Kieselgel (Essigester/Äthanol 4:1). — IR (KBr): 1740, 1660/cm (Lacton-Ring). — NMR ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  3.88 ppm (s,  $CH_3O$ ).  $[\alpha]_D^{20}$ : +17° ( $c = 0.7$ , MeOH),  $R_F$  0.55 (Essigester/Äthanol 87:13).

**22-Fluor-digitoxin (8e):** Aus 11.0 g (12.1 mMol) **9a** erhält man analog der Herstellung von **8a** durch Umsetzung mit 3.4 g (15.8 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure 5.1 g (42%) 22-Fluor-digitoxin-tetraacetat. Die Verseifung von 3.5 g Tetraacetat mit 50 ccm CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> (halbgesättigt) ergibt 1.2 g (42%) 22-Fluor-digitoxin. Reinigung an Kieselgel (Essigester/Benzol 4:1). Schmp. 237–239°. — IR (KBr): 1780, 1700/cm als Schulter (Lacton-Ring).  $[\alpha]_D^{25}$ : +18° (*c* = 0.4, MeOH), *R<sub>F</sub>* 0.60 (Essigester/Äthanol 87:13).

C<sub>41</sub>H<sub>63</sub>FO<sub>13</sub> (783.0) Ber. C 62.90 H 8.11 Gef. C 63.20 H 8.36

**22-Methoxy-digitoxin (8f):** Entsprechend der Herstellung von **8a** durch Kondensation von 10.0 g (11.0 mMol) **9a** mit 5.4 g (24.0 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-methoxy-essigsäure. Aus 1.5 g (1.6 mMol) Tetraacetat erhält man durch Verseifung mit 1.3 g (7.4 mMol) Kaliumcarbonat in 145 ccm wäbr. Methanol 1.0 g (81%) 22-Methoxy-digitoxin. Reinigung an Kieselgel (Essigester/Äthanol 20:1). — IR (KBr): 1765, 1670/cm (Lacton-Ring). — NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ 3.86 ppm (s, CH<sub>3</sub>O).  $[\alpha]_D^{25}$ : +9.8° (*c* = 0.7, MeOH), *R<sub>F</sub>* 0.65 (Essigester/Äthanol 87:13).

C<sub>42</sub>H<sub>66</sub>O<sub>14</sub> (795.0) Ber. C 63.46 H 8.37 Gef. C 63.20 H 8.50

**22-Fluor-evomonosid (10a):** Durch Kondensation von 4.8 g (7.8 mMol) **11** mit 4.0 g (16.8 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure erhält man analog der Herstellung von **8a** 2.0 g (39%) 22-Fluor-evomonosid-diacetat. Verseifung mit 100 ccm CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> (halbgesättigt) ergibt nach Umkristallisation aus Aceton/n-Hexan 1.2 g (70%) 22-Fluor-evomonosid vom Schmp. 227–230°. *R<sub>F</sub>* 0.4 (Methyläthylketon/Xylol = 5:2). — IR (KBr): 1780, 1700/cm (Lacton-Ring).

C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>FO<sub>8</sub> (538.7) Ber. C 64.67 H 8.05 Gef. C 64.60 H 8.30

**22-Methyl-evomonosid (10b):** Gemäß der Herstellung von **8a** ergibt die Kondensation von 3.0 g (5.3 mMol) **11** mit 3.0 g (14.0 mMol) 2-Diäthylphosphono-propionsäure 2.8 g 22-Methyl-evomonosid-diacetat als Rohprodukt. Nach Verseifung mit CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> erhält man 500 mg (18%) 22-Methyl-evomonosid vom Schmp. 215–220°. *R<sub>F</sub>* 0.2 (Methyläthylketon/Xylol 5:2). — IR (KBr): 1760, 1740, 1665/cm (Lacton-Ring). — NMR (CDCl<sub>3</sub>/CD<sub>3</sub>OD 1:1): δ 1.80 ppm (s, CH<sub>3</sub> an C-22).

C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>8</sub> (534.7) Ber. C 67.43 H 8.67 Gef. C 67.47 H 8.80

**22-Fluor-convallatoxol (10c):** Hergestellt analog **8a** durch Kondensation von 0.7 g (1.0 mMol) **12** mit 0.43 g (2.0 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure. Das rohe Tetraacetat wird mit CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> (halbgesättigt) verseift. Ausb. an 22-Fluor-convallatoxol 70%, Schmp. 90–95° (nicht kristallin). *R<sub>F</sub>* 0.5 (Methyläthylketon, wassergesättigt). — IR (KBr): 1775, 1670/cm (Lacton-Ring).

C<sub>29</sub>H<sub>43</sub>FO<sub>10</sub> (570.7) Ber. C 61.03 H 7.59 Gef. C 59.65 H 8.08

**22-Methyl-ouabain (13a):** Aus 15.0 g (18.45 mMol) **14** und 8.52 g (40.5 mMol) 2-Diäthylphosphono-propionsäure erhält man 4.2 g 22-Methyl-ouabain-hexaacetat. 3.45 g davon werden in einer Natriummethylat-Lösung aus 560 mg Natrium in 150 ccm absol. Methanol 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die klare Lösung wird über eine Säule mit dem Ionenaustauscher IRC 50 (H<sup>⊖</sup>-Form) filtriert, das Filtrat eingedampft und an Kieselgel gereinigt. Umkristallisation aus Äthanol/Äther ergibt 22-Methyl-ouabain als Monohydrat vom Schmp. 250–260° (Zers.).  $[\alpha]_D^{25}$ : −46.5° (*c* = 0.5, MeOH). — IR (KBr): 1725, 1650/cm (Lacton-Ring). — NMR (D<sub>2</sub>O): δ 1.75 ppm (s, CH<sub>3</sub> an C-22). *R<sub>F</sub>* 0.58 (CHCl<sub>3</sub>/Methanol 2:1).

C<sub>30</sub>H<sub>46</sub>O<sub>12</sub>·H<sub>2</sub>O (616.7) Ber. C 58.42 H 7.85 Gef. C 58.10 H 8.16

**22-Methoxy-ouabain (13b):** 15.0 g (18.5 mMol) **14** und 9.2 g (40.7 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-methoxy-essigsäure ergeben analog der Herstellung von **8a** nach Chromatographie



an Kieselgel (Essigester) 7.2 g 22-Methoxy-ouabain-hexaacetat. Daraus erhält man durch Behandlung mit Natriummethylat (737 mg Natrium in 150 ccm Methanol) 2.0 g 22-Methoxy-ouabain vom Schmp. 195–215° (Zers.).  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-26.8^\circ$  ( $c = 0.5$ , MeOH).

22-Fluor-ouabain-1.2'.3'.4'.11.19-hexaacetat (**13c**): Aus 10.0 g (12.3 mMol) **14** und 5.78 g (27.0 mMol) 2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure erhält man 6.5 g 22-Fluor-ouabain-hexaacetat, das aus Methanol in farblosen Kristallen vom Schmp. 275–277° anfällt,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-47.3^\circ$  ( $c = 0.5$ , MeOH).

$C_{41}H_{55}FO_{18}$  (854.9) Ber. C 57.60 H 6.49 Gef. C 57.60 H 6.78

2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure (**15b**)

a) 2.2-Dichlor-2-diäthylphosphono-essigsäure-äthylester: In eine Mischung von 112.1 g (0.5 Mol) Diäthylphosphonoessigsäure-äthylester und 81 ccm Wasser wird nach Zugabe von 50 g gefälltem Calciumcarbonat bei 0–5° solange Chlor eingeleitet, bis das vorhandene  $CaCO_3$  vollständig aufgelöst ist. Man trennt die organische Phase ab und extrahiert die wäßr. Phase mehrmals mit Chloroform. Die vereinigten organischen Phasen wäscht man nacheinander mit Natriumhydrogensulfit, Natriumhydrogencarbonat und mit Wasser aus, trocknet über  $Na_2SO_4$  und engt zur Trockne ein. Der Rückstand wird i. Ölpumpenvak. destilliert. Ausb. 129.4 g (88.5%), Sdp.<sub>0.1</sub> 97–102°.

$C_8H_{15}Cl_2O_5P$  (293.1) Ber. Cl 24.17 Gef. Cl 24.50

b) 2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure-äthylester: Zur Suspension von 40.7 g (1.7 Mol) NaH in 900 ccm absol. Benzol werden im Verlaufe von 30 Min. unter Rühren 345 g (1.54 Mol) Diäthylphosphonoessigsäure-äthylester und dann unter Rühren bei Raumtemp. 451.9 g (1.54 Mol) 2.2-Dichlor-2-diäthylphosphono-essigsäure-äthylester getropft. Man rührt noch 4 Stdn. bei 20° und neutralisiert dann vorsichtig mit 150 ccm konz. Salzsäure. Nach Abtrennen und Auswaschen der organischen Phase mit Wasser wird i. Vak. destilliert. Ausb. 128.4 g (33.6%), Sdp.<sub>0.22</sub> 109–110°.

$C_8H_{16}ClO_5P$  (258.7) Ber. C 37.15 H 6.23 Cl 13.71 Gef. C 37.05 H 6.34 Cl 14.47

c) **15b**: 51.7 g (0.2 Mol) 2-Chlor-2-diäthylphosphono-essigsäure-äthylester werden in 200 ccm Äthanol mit 8 g (0.2 Mol) NaOH in 60 ccm Wasser versetzt und 3 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Man dampft i. Vak. ein, versetzt den Rückstand mit verd. Salzsäure und extrahiert mehrmals mit Chloroform. Nach Abdampfen des Lösungsmittels erhält man die Säure als langsam kristallisierendes Öl. Ausb. 40.8 g (88%).

2-Diäthylphosphono-2-methoxy-essigsäure (**15d**): Herstellung analog **15b** unter c) durch Hydrolyse von 24 g (0.1 Mol) 2-Diäthylphosphono-2-methoxy-essigsäure-methylester in 100 ccm Äthanol mit 4 g NaOH (0.1 Mol) in 8 ccm Wasser. Zähviskoses Öl. Ausb. 12 g (54%). — NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.55 ppm (s,  $OCH_3$ ).

2-Diäthylphosphono-propionsäure (**15e**): Analog **15b** unter c) werden 47.6 g (0.2 Mol) 2-Diäthylphosphono-propionsäure-äthylester in 200 ccm Äthanol mit 8.0 g (0.2 Mol) NaOH in 16 ccm Wasser verseift. Glasiges Öl. Ausb. 43.2 g (95%). — NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  3.05 ppm (dq,  $\text{>CHP}$ ,  $J_{H,P} = 22$ ,  $J_{H,CH_3} = 7$  Hz).

2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure (**15a**): Analog **15b** unter c) werden 67.9 g (0.28 Mol) 2-Diäthylphosphono-2-fluor-essigsäure-äthylester in 400 ccm Äthanol mit 11.2 g (0.28 Mol) NaOH in 26.5 ccm Wasser verseift. Ausb. 52.5 g (88%), Schmp. 81–83° (aus Äther). — NMR ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  5.3 ppm (dd,  $CHFP$ ,  $J_{H,P} = 13$ ,  $J_{H,F} = 46$  Hz).