

steigert, greife in erster Linie an den primären und übergeordneten Zentren der Motorik und der Sinneseindrücke an.

Interessant erscheint die Beobachtung, dass die spezifischen Aktivitäten beim Wirkungseintritt, d. h. nach etwa 15 Min., für das Gross- und Stammhirn etwa fünfmal, für das Rückenmark aber rund achtmal grösser sind als beim ersichtlichen Wirkungsmaximum des Pharmakons, d. h. nach 30 bis 60 Min.

α -Phenyl- α -piperidyl-essigsäure-methylester wird im Organismus sehr rasch verseift, d. h. in die unwirksame Säure übergeführt, die einem weiteren Abbau nicht mehr zugänglich ist und als leicht wasserlösliche Verbindung zur Ausscheidung gelangt. Unverändertes Ausgangsmaterial war im Harn nicht enthalten, der indessen einen weiteren, offenbar in gepaarter Form auftretenden Metaboliten enthielt. Er dürfte sich aber von der Säure nur geringfügig unterscheiden und stellt vielleicht eine hydroxylierte Verbindung dar, deren Paarung z. B. mit Glucuronsäure verständlich wäre.

Zusammenfassung

α -Phenyl- α -piperidyl-(2)-essigsäure-methylester oder Ritalin wird nach Gaben an Ratten hydrolytisch gespalten und grösstenteils als Phenyl-piperidyl-essigsäure im Harn ausgeschieden. Es liess sich eine Halbwertszeit von 6–7 Std. berechnen. Schon nach 15 Std. sind in den Organen und im Carcass nur noch sehr geringfügige Aktivitäten nachweisbar.

Kurzfristige Versuche (15, 30 und 60 Min.) ergaben Auskunft über die Verteilung der Verbindung in der Leber, im Blute und in den einzelnen Gehirnabschnitten. Die spezifischen Aktivitäten sind im Gross- und Stammhirn stets höher als im Kleinhirn, der *Medulla oblongata* und im Rückenmark.

Physiologisch-Chemische Anstalt der Universität, Basel

89. Konstitution des Resibufogenins¹⁾

Über Krötengifte, 17. Mitteilung²⁾³⁾

von Horst Linde und Kuno Meyer

Herrn Prof. Dr. PAUL KARRER zum 70. Geburtstag gewidmet

(13. III. 59)

Bei der chromatographischen Aufteilung von Chloroformextrakten aus der chinesischen Krötengiftdroge Ch'an Su waren jeweils gleich zu Beginn reichliche Mengen eines «Harzes» isoliert worden, aus dem erst nach Acetylierung Kristalle gewonnen werden konnten⁴⁾. Das dieser kristallisierten Acetylverbindung zugrunde-

¹⁾ Verschiedene Ergebnisse der hier mitgeteilten Untersuchungen waren Gegenstand einer kurzen Mitteilung: H. LINDE & K. MEYER, *Experientia* **14**, 238 (1958).

²⁾ 2. Teil der Dissertation H. LINDE, die demnächst erscheint.

³⁾ 15. Mitt.: J. P. RUCKSTUHL & K. MEYER, *Helv.* **41**, 2121 (1958); siehe auch⁵⁾.

⁴⁾ Nähere Einzelheiten und Zusammenstellung der einschlägigen Literatur siehe K. MEYER, *Helv.* **35**, 2444 (1952).

liegende Bufadienolid liess sich über ein kristallisiertes «Hydrochlorid» weiter reinigen, blieb aber zunächst amorph, weshalb wir ihm den Namen Resibufogenin gaben⁴⁾. Kürzlich glückte es, dieses Bufogenin selbst zu kristallisieren⁵⁾.

Beim Kochen von Resibufogenin in Aceton war früher⁴⁾ rein zufällig eine leicht kristallisierende, mit Resibufogenin isomere Verbindung gebildet worden, die wir als Artebufogenin bezeichnet hatten. Die direkte Umwandlung von Resibufogenin in Artebufogenin liess sich damals aber nicht mehr reproduzieren.

Acetylierung von Artebufogenin in Acetanhydrid-Pyridin und chromatographische Reinigung des rohen Esters gab zwei Produkte: «Artebufogenin-acetat A» und «Artebufogenin-acetat B». Da von der Verbindung B nur sehr wenig erhalten werden konnte, war es nur möglich, Abbauprobe mit dem «Acetat A» durchzuführen. Dabei wurde ein Ester erhalten, der zum Unterschied zum Abbauester aus Acetylresibufogenin eine Keto-Gruppe aufwies. Es war auf Grund der Ergebnisse dieser vorläufigen Abbauprobe naheliegend anzunehmen, dass das Sauerstoffatom dieser Keto-Gruppe aus dem Oxydring stammt, den wir schon vor längerer Zeit für Resibufogenin postuliert hatten⁴⁾⁶⁾.

Artebufogenin bzw. der früher aus seinem «Acetat A» gewonnene Ketoester schien uns zunächst für weitere Versuche zur Ermittlung der Konstitution des Resibufogenins besonders geeignet zu sein. Wir haben deshalb nochmals versucht, den Übergang von Resibufogenin in Artebufogenin zu reproduzieren⁷⁾. Dabei fanden wir, dass sich diese Umwandlung am besten durch Kochen in wasserfreiem Aceton, das katalytische Mengen Perchlorsäure enthält, bewerkstelligen lässt. Das so gewonnene Umlagerungsprodukt war nach Smp., Misch-Smp. und den Laufstrecken im Papierchromatogramm völlig identisch mit dem früher erhaltenen Artebufogenin. Die Ausbeuten an diesem Artefact machten allerdings nie mehr als 50–60% aus, da immer noch eine Reihe anderer Stoffe gebildet werden, die wir zwar nicht präparativ herausarbeiteten, die aber auf papierchromatographischem Wege nachgewiesen werden konnten (siehe Exp. Teil dieser Arbeit).

Die erneut durchgeführte Acetylierung von Artebufogenin mit Acetanhydrid-Pyridin gab ein Produkt, das nach direkter Kristallisation, also ohne vorangehende chromatographische Aufteilung an Al_2O_3 , wie dies früher geschehen war, bei 218–223° schmolz. Es erwies sich auf Grund des papierchromatographischen Verhaltens als völlig einheitlich und war identisch mit dem früher⁴⁾ nur in kleiner Menge erhaltenen «Artebufogenin-acetat B». Das früher als Hauptprodukt erhaltene «Artebufogenin-acetat A» wurde nicht aufgefunden. – Bei eingehender Überprüfung der Veresterung von Artebufogenin und der Aufarbeitung des gebildeten Acetylierungsproduktes zeigte sich nun folgendes: das kristallisierte Artebufogenin (III) gibt bei der Acetylierung wirklich *nur eine* Acetylverbindung (= IV) und nicht, wie früher angenommen, zwei. IV war bei der Chromatographie an Al_2O_3 grösstenteils umgelagert worden⁴⁾, wo-

⁵⁾ 16. Mitt.: H. LINDE & K. MEYER, *Pharmac. Acta Helv.* **33**, 327 (1958).

⁶⁾ Vgl. hierzu auch W. E. THIESSEN, *Chemistry & Ind.* **1958**, 440.

⁷⁾ Artebufogenin ist erstmals von KOTAKE⁸⁾ beschrieben und von diesem Autor aus Acetylresibufogenin beim Behandeln mit konz. HCl erhalten worden; vgl. auch ⁴⁾. Die Übertragung dieser Methode auf Resibufogenin gab aber sehr schlechte Ausbeuten an Artebufogenin.

⁸⁾ M. KOTAKE, *Scient. Pap. Inst. Physic. and Chem. Research (Tokyo)* **24**, 39 (1934), besonders S. 44; *Chem. Zbl.* **134**, 11, 459.

durch die Acetylverbindung VI entstanden war⁹⁾. Während diese Umlagerung der Acetylverbindung IV relativ leicht erfolgt, wird Artebufogenin selbst aber, soweit wir feststellen konnten, bei der Chromatographie an Al_2O_3 nach dem Durchlaufverfahren nicht verändert. Es gelingt hingegen, Artebufogenin in Benzol durch Kochen mit Al_2O_3 zum Bufadienolid V umzulagern. Dieses konnte bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden, gab aber bei der Acetylierung eine einheitliche Acetylverbindung (= VI), die identisch mit dem früher beschriebenen «Artebufogenin-acetat A» ist. Auf Grund der spezifischen Drehungen von IV und VI war früher⁴⁾ schon gefolgert worden, dass VI durch Umlagerung entstanden ist und IV in seinem Bau dem freien Artebufogenin entsprechen muss.

Nachdem nun, wie im folgenden noch ausgeführt werden soll, die Konstitution von III und V (und damit auch diejenige ihrer Acetylverbindungen IV und VI) feststeht, möchten wir die früher benützten Trivialnamen¹⁰⁾ nun *endgültig* durch folgende Bezeichnungen ersetzen: Artebufogenin = 14α -Artebufogenin (III), sein Isomeres = 14β -Artebufogenin (V), Artebufogenin-acetat A⁴⁾ = Acetyl- 14β -artebufogenin (VI) und Artebufogenin-acetat B⁴⁾ = Acetyl- 14α -artebufogenin (IV).

Abbau von Resibufogenin

Beim Abbau von Acetylresibufogenin (II) mit $KMnO_4$ in Aceton war früher der Ester IX erhalten worden, mit welchem eine Reihe von Umsetzungen durchgeführt wurden, die aber keine entscheidenden Anhaltspunkte zur Klärung seiner Konstitution zu liefern vermochten. Da auch im Ester IX weder auf chemischem noch spektrographischem Wege eine HO-Gruppe nachweisbar war, war anzunehmen, dass der Ester IX wie Resibufogenin gebaut, d. h. die diesem früher⁴⁾ zugeschriebene Oxidogruppe enthält.

Nach HENBEST und Mitarbeitern¹²⁾ zeigen Äthylenoxyde mit einer CH-Gruppe im IR. meistens eine schwache, aber charakteristische Bande bei etwa $3,315 \mu$, die allerdings nicht immer aufgefunden werden kann. Vor kurzem haben REICHSTEIN und Mitarbeiter¹³⁾ gezeigt, dass diese Bande unter geeigneten Bedingungen auch bei 14, 15-Epoxy-Steroiden deutlich sichtbar ist. Bei Bufadienoliden ist manchmal eine vorherige Hydrierung des Cumalinringes vorteilhaft, da dessen CH-Gruppen in der Region von $3,25$ – $3,30 \mu$ Absorption zeigen, wodurch die der CH-Schwingung des Äthylenoxyds zukommende Bande etwas weniger deutlich sichtbar wird. – Wir haben nun auch von Acetylresibufogenin und seinem Abbauester IX IR.-Spektren aufnehmen lassen. Diese zeigten nun bei genügender Konzentration ebenfalls in der Gegend von $3,315 \mu$ eine sehr deutliche Bande (siehe Fig. 1).

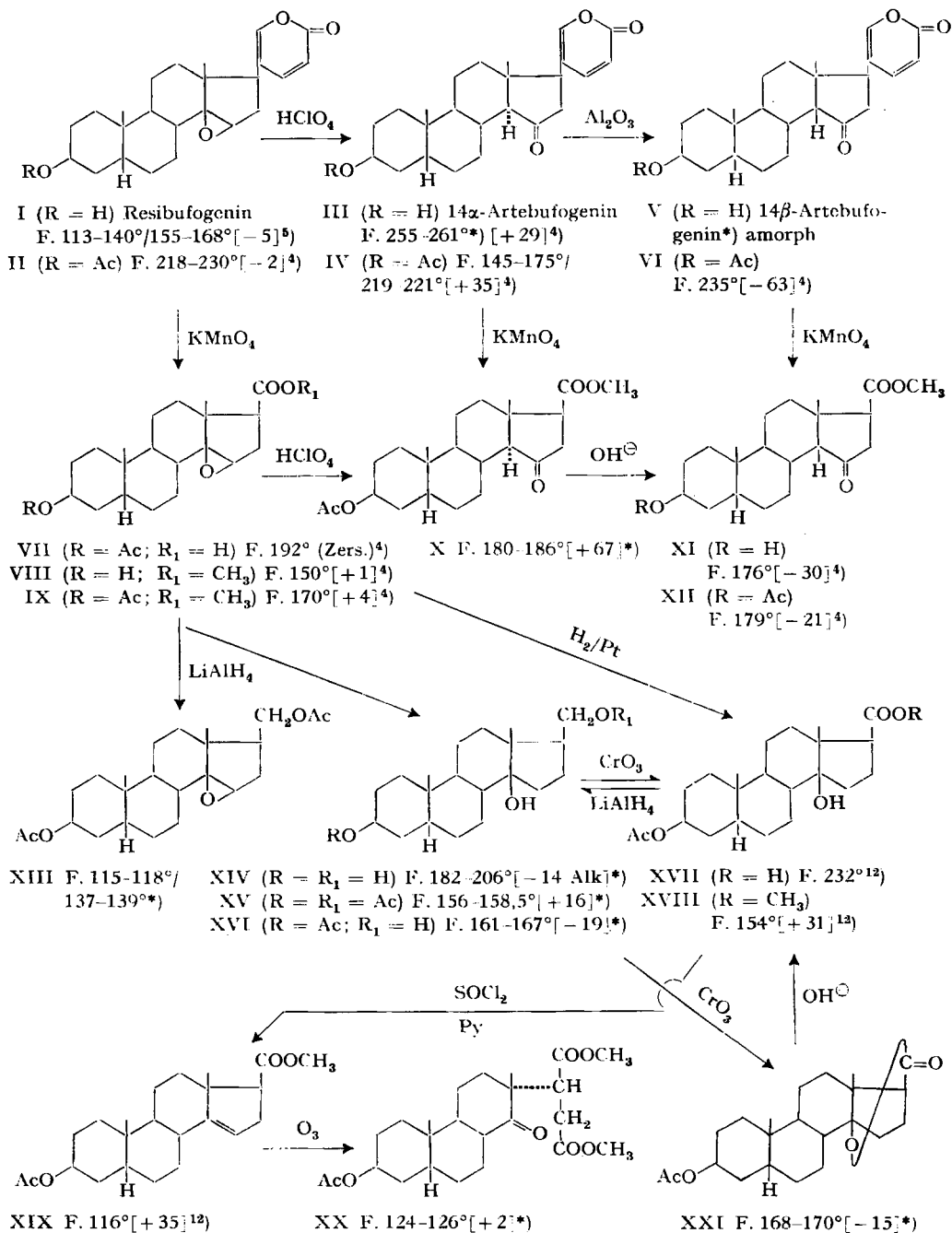
⁹⁾ Dies war die Ursache, dass früher⁴⁾ zwei Acetylverbindungen aus Artebufogenin erhalten worden sind.

¹⁰⁾ In einer kurzen Mitteilung¹⁾ haben wir bereits gewisse Änderungen für die zuerst⁴⁾ verwendeten Bezeichnungen vorgeschlagen, die uns aus der Perspektive des Laboratoriums heraus als einfacher und klarer erschienen, die sich dann aber als unzweckmässig herausstellten, da sie mit den Nomenklaturregeln der IUPAC nicht in Einklang stehen¹¹⁾.

¹¹⁾ Wir möchten Herrn Prof. T. REICHSTEIN auch an dieser Stelle bestens danken, dass er uns auf diese Unstimmigkeiten aufmerksam gemacht hat, und sind ihm darüber hinaus für eine Reihe von sehr wertvollen Anregungen und Ratschlägen, die die Niederschrift dieser Arbeit betreffen, zu Dank verpflichtet.

¹²⁾ H. HENBEST, G. D. MEAKINS, D. NICHOLLS & K. J. TAYLOR, J. chem. Soc. **1957**, 1459.

¹³⁾ H. SCHRÖTER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **41**, 720 (1958).



*) Siehe Exp. Teil dieser Arbeit.

Ac = CH₃CO-; die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Zahlen auf- oder abgerundete spezifische Drehung in Chloroform an.

Der Ester IX hatte sich früher⁴⁾ bei der Mikrohydrierung zur Ermittlung der Doppelbindungszahl als indifferent erwiesen. Wir haben deshalb diesen Ester IX zunächst der Reduktion mit LiAlH_4 unterworfen und das in einem Vorversuch erhaltene rohe Reduktionsprodukt nach Acetylierung in Acetanhydrid-Pyridin an Al_2O_3 chromatographisch aufgeteilt, wobei zwei einheitliche Substanzen gewonnen werden konnten. Die erste (in recht geringer Menge erhalten) zeigte im IR. noch eine deutliche Bande bei $3,315 \mu$ (Epoxyd-Gruppe), aber *keine* HO-Bande. Demgegenüber wies die später eluierte zweite Substanz eine deutliche HO-Bande in der Region von $2,80$ – $2,85 \mu$ auf. Im Verein mit den weiter unten mitgeteilten Befunden muss der

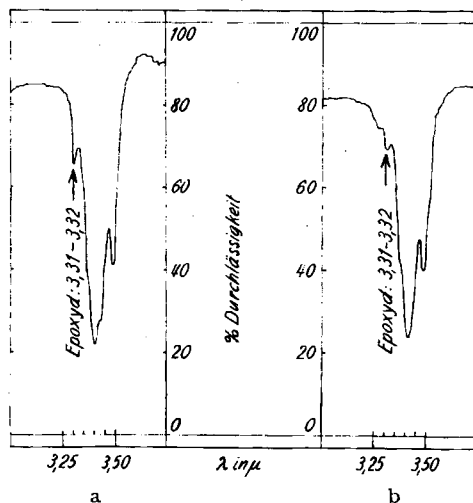


Fig. 1. IR.-Absorptionsspektren, aufgenommen in KBr mit einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Modell 21 (CaF_2 -Prisma) von Herrn cand. phil. G. ROTZLER (Organ.-chemische Anstalt der Universität Basel)

Fig. 1 a = 3β -Acetoxy- $14\beta, 15\beta$ -oxido-ätiansäure-methylester (IX)

Fig. 1 b = Acetylresibufogenin (II)

ersten Substanz (Nebenprodukt) die Formel XIII und der zweiten Substanz (Hauptprodukt der Reduktion) die Formel XV zukommen, d. h. durch LiAlH_4 wurde die Oxidogruppe im Ester IX grösstenteils reaktiv zur HO-Gruppe geöffnet. Bei weiteren Ansätzen haben wir das LiAlH_4 jeweils länger auf den Ester IX einwirken lassen und nach Acetylierung des rohen Reduktionsproduktes nur XV erhalten¹⁴⁾.

XV lässt sich mit KHCO_3 in wässrigem Methanol partiell zur Monoacetylverbindung XVI verseifen, die bei der nachfolgenden Oxydation mit CrO_3 in Eisessig eine Säure und einen Neutralstoff lieferte. Die Säure erwies sich als identisch mit der bekannten 3β -Acetoxy- 14β -hydroxy-ätiansäure (XVII) und gab bei der Methylier-

¹⁴⁾ Während LiAlH_4 bei genügend langer Einwirkung den Oxydring im Ester IX recht leicht und vollständig zur Hydroxy-Gruppe aufzuspalten vermag, scheint nach unseren bisherigen Befunden NaBH_4 oder LiBH_4 ohne Wirkung zu sein. Mit diesen beiden Reagentien konnten wir wenigstens beim Resibufogenin (I) und seinem Acetylprodukt II (auch bei papierchromatographischer Kontrolle der aus verschiedenen Ansätzen gewonnenen Reduktionsprodukte) kein Bufalin ($3\beta, 14\beta$ -Dihydroxy-bufadien-(20;22)-olid) erhalten.

rung den ebenfalls schon früher beschriebenen Ester XVIII¹⁵⁾. Das Triol XIV haben wir auch aus Ester XVIII, den wir aus Acetyldigitoxigenin nach der Ozon-Methode¹⁶⁾ bereiteten, durch Reduktion mit LiAlH_4 gewonnen. Es gibt bei der Acetylierung ebenfalls die Diacetylverbindung XV.

Damit ist erstmals eindeutig bewiesen worden, dass Resibufogenin ein Bufadienolid ist, das aber zum Unterschied von den bisher in ihrer Konstitution aufgeklärten Bufogeninen an C-14 keine HO-Gruppe, sondern eine vom C-Atom 14 ausgehende β -ständige Oxidogruppe aufweist. Auf Grund des IR.-Spektrums (siehe oben) kann es sich dabei nur um eine Äthylenoxydgruppe handeln. Ein chemischer Beweis für die zweite Haftstelle des Sauerstoffs wird weiter unten erbracht.

Bei der Oxydation von XVI mit CrO_3 war neben der Säure XVII etwa zu gleichen Teilen ein Neutralstoff gebildet worden, dessen IR.-Spektrum erkennen liess (siehe Fig. 2), dass ein Lacton vorlag. Die Analysenwerte passten gut auf die Bruttoformel $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$ [= $\text{C}_{22}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (XVII) - H_2O]. Dass es sich dabei aber um ein Lacton entsprechend XXI handeln könnte, schien uns zunächst höchst unwahrscheinlich, da bisher noch nie 20 \rightarrow 14-Lactone in der Ätiansäurereihe beobachtet worden sind.

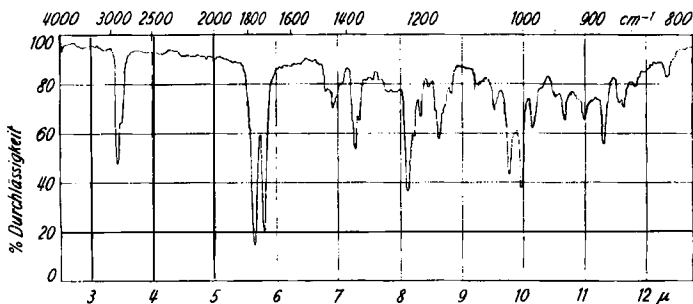


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von 3 β -Acetoxy-14-hydroxy-ätiansäure-lacton-(20 \rightarrow 14) (XXI) in CH_2Cl_2 (c = 0,0616 Mol/l; d = 0,2 mm) aufgenommen mit einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prisma, von Herrn cand. phil. G. ROTZLER (Organ.-chemische Anstalt der Universität Basel)

Nach Verseifung mit KOH in wässrigem Methanol und üblicher Aufarbeitung wurde eine Säure erhalten, die nach Methylierung und Acetylierung den Ester XVIII gab. Somit kommt dem aus XVI durch CrO_3 gebildeten Neutralprodukt tatsächlich die Konstitution des 3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-lactons-(20 \rightarrow 14) (XXI) zu¹⁷⁾. Dieses kann sowohl als γ - wie als δ -Lacton aufgefasst werden. Im oben bereits erwähnten Spektrum von XXI (Fig. 2) ist neben der CO-Schwingung der Acetoxygruppe bei 5,80 μ nur noch eine solche bei 5,63–5,65 μ sichtbar. Dies entspricht weit eher einem γ -Lacton (5,62–5,63 μ) als einem δ -Lacton (5,75 μ).

Obwohl, wie oben erwähnt, bei der Mikrohydrierung von IX kein Wasserstoffverbrauch festgestellt worden war⁴⁾, haben wir eine Hydrierung von IX nochmals auf präparativem Weg mit einem grossen Überschuss an $\text{PtO}_2, \text{H}_2\text{O}$ (in Eisessig)

¹⁵⁾ F. HUNZIKER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **28**, 1472 (1945).

¹⁶⁾ K. MEYER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **30**, 1508 (1947).

¹⁷⁾ Man könnte sich vorstellen, dass die ungewöhnliche Lactonbildung dadurch zustandekommt, dass XVI zunächst durch CrO_3 zum 20-Aldehyd oxydiert wird, der z. T. als Halbacetal vorliegt und in dieser Form durch CrO_3 eine Dehydrierung zum Lacton XXI erfährt.

versucht. Das rohe Hydrierungsprodukt wurde an Silicagel chromatographisch gereinigt und gab als einziges kristallisiertes Produkt 3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII) in einer Ausbeute von knapp 30%. Die später eluierten polareren Produkte blieben alle amorph und konnten auch nach Acetylierung nicht in Kristallen erhalten werden. Es ist somit möglich, den Oxydring (wenigstens im Fall von IX) auch durch katalytische Hydrierung zu öffnen.

In unserer ersten Mitteilung über Resibufogenin⁴⁾ haben wir schon von der bemerkenswerten Beobachtung berichtet, dass der Abbauester IX – aber nicht die ihm zugrundeliegende freie Säure VII – bei der alkalischen Verseifung zu rund 50% eine Umlagerung erfährt, die wir auf Grund der für das Umwandlungsprodukt gefundenen Analysenwerte für C und H als Isomerisierung deuteten. Der Beweis für die Richtigkeit dieser Annahme konnte jetzt erbracht werden, und es liess sich auch einwandfrei zeigen, worin diese Isomerisierung besteht.

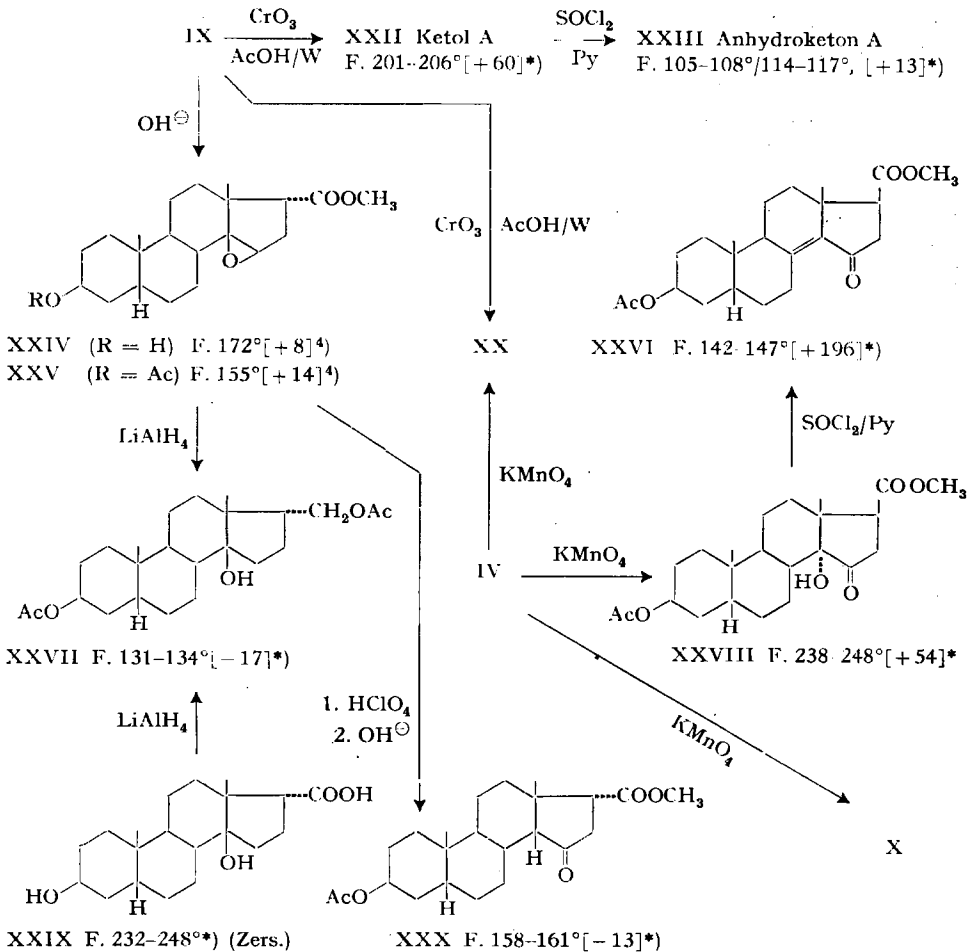
Das IR.-Spektrum des Esters XXV wies, wie dasjenige seiner mit ihm isomeren Muttersubstanz IX (vgl. Fig. 1a), keine HO-, dagegen eine deutliche Epoxyd-Bande auf. Wir haben deshalb auch die dem Ester XXV entsprechende 3-Hydroxy-Verbindung XXIV der Reduktion mit LiAlH₄ unterworfen. Nach Acetylierung des rohen Reduktionsproduktes und chromatographischer Aufteilung an Al₂O₃ erhielten wir eine Substanz, die sich nach Smp., Misch-Smp. und auf Grund der IR.-Spektren als identisch erwies mit dem aus 3 β ,14 β -Dihydroxy-17 α -ätiansäure (XXIX)¹⁸⁾ durch Reduktion mit LiAlH₄ und anschliessende Acetylierung erhaltenen 3 β ,20-Diacetoxy-14 β -hydroxy-21-nor-5 β ,17 α -pregnan (XXVII). Daraus folgt, dass die durch Alkali bewirkte Isomerisierung von IX einzig in einer Umkehrung an C-17 besteht¹⁹⁾.

In diesem Zusammenhang schien es uns wünschenswert, aus XXV auch die den beiden Estern X und XII entsprechenden 17 α -Verbindungen zu bereiten. Wir haben deshalb den Ester XXV in analoger Weise, wie dies bei der Umlagerung von Resibufogenin in 14 α -Artebufogenin geschehen war, mit HClO₄ erhitzt. Das so gewonnene Reaktionsprodukt wurde chromatographisch aufgeteilt, wobei sich zwei kristallisierte Stoffe fassen liessen. Der erste erwies sich als Ausgangsmaterial XXV, während der zweite einen Ketoester (UV.-Spektrum) darstellte. Die Tatsache, dass letzterer durch Erhitzen mit Alkali nicht umgelagert werden konnte, was auf Grund der weiter unten diskutierten Stabilitätsverhältnisse von 15-Keto-14 α -steroiden und 15-Keto-14 β -steroiden beim Vorliegen eines 15-Keto-14 α -ätiansäureesters hätte der Fall sein müssen, lässt nur den Schluss zu, dass diesem Ketoester die Konstitution des 3 β -Acetoxy-15-keto-14 β ,17 α -ätiansäure-methylesters (XXX) zukommen muss. Es scheint also, dass der durch Einwirkung von HClO₄ auf XXV primär gebildete 3 β -Acetoxy-15-keto-14 α ,17 α -ätiansäure-methylester unter den von uns zu seiner

¹⁸⁾ K. MEYER, Helv. 30, 1976 (1947).

¹⁹⁾ Wenn THIESSEN⁶⁾ dem Ester XXV 17 α -Konfiguration zuschreibt, so muss dazu gesagt werden, dass diese Annahme nur zufällig richtig war. Sie beruht auf der irrigen Vorstellung, dass 14 β ,17 β -Ätiansäureester durch Alkali leicht in 14 β ,17 α -Ester epimerisiert werden. 14 β ,17 β -Ätiansäureester erfahren aber unter den genau gleichen Bedingungen, die beim Ester IX zu einer weitgehenden Epimerisierung an C-17 führen, gar keine nachweisbare Umlagerung. (Eine Ausnahme scheinen einzig solche Ätiansäureester zu bilden, die an C-16 eine HO- oder Acetoxy-Gruppe tragen; siehe die Mitteilung von M. ZINGG & K. MEYER über die Ozonolyse von Diacetylgitoxigenin, die demnächst hier erscheint.)

Bereitung und Isolierung benutzten Bedingungen nicht beständig genug ist und sich gleich zum stabilen Ester XXX umlagert.



*) Siehe Exp. Teil dieser Arbeit.

Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$; die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Zahlen auf- oder abgerundete spezifische Drehung in Chloroform an.

In der ersten Mitteilung über Resibufogenin⁴⁾ war auch über die Dehydrierung des Hydroxyesters VIII mit CrO_3 in Eisessig berichtet worden, die neben dem erwarteten 3-Keto-14 β ,15 β -oxido-ätiansäure-methylester ($\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_4$) noch ein Oxydationsprodukt der vermutlichen Formel $\text{C}_{21}\text{H}_{28-30}\text{O}_5$ vom Smp. 153° ($[\alpha]_D = +88^\circ$) gegeben hatte. Auf Grund unserer heutigen gesicherten Kenntnisse über die Konstitution des Resibufogenins lässt sich vermuten, dass diesem sauerstoffreicheren Ester die Formel eines Hydroxy-keto-ätiansäure-methylesters zukommen könnte, der bei der Wasserabspaltung ein α,β -ungesättigtes Keton geben müsste. Wir haben deshalb

hier, um das Produkt der Wasserabspaltung darauf hin untersuchen zu können, diese Oxydation nochmals wiederholt, wobei wir aber den 3β -Acetoxyester IX und nicht wie früher den 3β -Hydroxyester VIII der Einwirkung von CrO_3 unterwarfen. Ausserdem haben wir eine CrO_3 -Eisessig-Lösung verwendet, die wesentlich mehr Wasser als früher enthielt. Aus dem Oxydationsansatz konnten zu ungefähr $\frac{3}{4}$ saure und $\frac{1}{4}$ neutrale Anteile isoliert werden. Die sauren Anteile gaben nach der Methylierung einen einheitlichen kristallisierten Ester, der im UV. ein Absorptionsmaximum bei 288–291 $m\mu$ und $\log \epsilon = 1,6$ zeigte. Die Grösse des Extinktionskoeffizienten deutete darauf hin, dass die Ketogruppe dieses Oxydationsproduktes in einem 6gliedrigen Ring enthalten ist. Die Methoxylbestimmung ergab, dass zwei Methoxygruppen vorliegen. Diese Befunde legten die Vermutung nahe, dass Ring D zwischen C-14 und C-15 eine Aufspaltung erfahren hat unter Bildung eines Bernsteinsäurederivates entsprechend Formel XX. Diese Annahme stand auch in guter Übereinstimmung mit den für diesen Ester gefundenen Analysenwerten, die auf die für XX berechnete Formel $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_7$ passten, und liess sich, wie folgt, auf teilsynthetischem Wege noch exakt beweisen.

Der aus Acetyldigitoxigenin leicht zugängliche¹⁵⁾ 3β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII) wurde durch Wasserabspaltung in den bekannten 3β -Acetoxy-ätien-(14)-säure-methylester (XIX) übergeführt, der durch Ozonolyse, anschliessende oxydative Spaltung des Ozonids und Methylierung der gebildeten Säure den 1-Keto-2 β ,4 β -dimethyl-7 β -acetoxy-4 α -8 α β ,10 α β -perhydro-phenanthren-2 α -bernsteinsäure-dimethylester (XX) gab, der sich mit dem oben erwähnten Oxydationsprodukt aus XI als identisch erwies.

Aus dem Neutralteil der Oxydation von XI liessen sich ebenfalls Kristalle isolieren, die als Ketol A (XXII) bezeichnet werden. Dieses zeigte im IR. neben einer Carbonylfunktion eine recht stark assoziierte Hydroxylbande, was für das Vorliegen einer Ketolgruppe spricht. Auf Grund der Analyse kommt XXII die Formel $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_6$ zu. Substanzmangel gestattete es nicht, dieses Ketol etwas näher zu untersuchen. Wir haben deshalb hier nur den Versuch der Wasserabspaltung durchführen können. Behandlung mit Thionylchlorid in Pyridin gab ein kristallisiertes Produkt, das als Anhydroketon A (XXIII) bezeichnet wird. Es zeigte im UV. selektive Absorption bei 232–234 $m\mu$ ($\log \epsilon = 4,04$) (in Alkohol), was zwar auf das Vorliegen eines α,β -ungesättigten Ketons hindeutet, aber ein normales $\Delta^{8,14}$ -15-Ketosteroid ausschliesst²⁰⁾. Das IR.-Spektrum zeigte folgende Banden: 5,76 μ (Estercarbonyl), 5,81–5,83 μ (Keton, verschoben?), 6,13 μ (Doppelbindung). Die Konstitution der Substanzen XXII und XXIII ist somit noch völlig dunkel.

Abbau von 14 α -Artebufogenin (III)

Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) wurde in analoger Weise wie Acetylresibufogenin (II)⁴⁾ mit KMnO_4 in Aceton oxydiert. Die dabei erhaltenen sauren Anteile wurden methyliert und chromatographisch an Silicagel²¹⁾ aufgeteilt. Dabei wurden 3 Substanzen erhalten.

²⁰⁾ $\Delta^{8,14}$ -15-Ketosteroide zeigen nach L. DORFMAN, Chem. Reviews **53**, 47 (1953), siehe besonders S. 64 und 117, ein Maximum bei 258 $m\mu$.

²¹⁾ Al_2O_3 als Absorptionsmittel dürfte eine analoge Umlagerung wie beim Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) verursachen, wodurch aus X der Ester XII gebildet würde.

1. Die *erste* Substanz (= X), die das Hauptprodukt darstellte, schmolz bei 180–186° und zeigte im UV. selektive Absorption bei 292–293 m μ und $\log \epsilon = 1,43$, was für das Vorliegen eines Ketoesters spricht. Dass diesem die Konstitution eines 15-Keto-ätiansäureesters zukommt, ergibt sich aus folgenden Fakten.

Resibufogenin (I) bildet (in Aceton oder Chloroform gelöst) mit HCl-Gas leicht ein Chlorhydrin, das bei der Chromatographie an Al₂O₃ unter Abspaltung von HCl wieder unverändertes Resibufogenin (I) gibt⁴⁾. Diese sehr leicht verlaufende Reaktionsfolge ist nur erklärbar unter der Annahme, dass der in Resibufogenin enthaltene Ringsauerstoff in einer Epoxygruppe vorliegt. Da, wie oben bereits ausgeführt, die eine Haftstelle des Oxydringes mit absoluter Sicherheit an C-14 lokalisiert werden konnte, wäre Resibufogenin somit als 8,14- oder 14,15-Oxido-Verbindung zu formulieren. Dass die zweite Möglichkeit allein in Frage kommt, lässt sich bereits aus den oben erwähnten (siehe Fig. Nr. 1) IR.-Spektren von Acetylresibufogenin (II) und seinem Abbauester IX, welche letztere noch die intakte Oxidogruppe enthalten, ableiten: die oben erwähnte Bande bei 3,315 μ ist bedingt durch eine CH-Schwingung, die bei einem C-8/C-14-Epoxyd (wegen des Fehlens einer CH-Gruppe) gar nicht auftreten könnte. Dass wirklich eine 14,15-Oxido-Verbindung in I vorliegt, wird ausserdem noch durch folgendes Resultat erhärtet: Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) besitzt, was weiter unten noch dargelegt werden soll, eine Ketogruppe wie der oben erwähnte Ester X vom Smp. 180–186°. Daraus folgt, dass der leichte Übergang von Resibufogenin in 14 α -Artebufogenin darin bestehen muss, dass die Epoxydgruppe des Resibufogenins in eine Ketogruppe umgelagert wird²²⁾. Letztere kann nur dann aus einem Epoxyd entstehen, wenn dieses sekundär-tertiär, d. h. an C-14/C-15 gebunden ist.

Zusammenfassend ergibt sich somit, dass die C–O-Bindungen des Oxydringes sich gesondert aufspalten lassen: während LiAlH₄ oder katalytische Hydrierung, wie oben ausgeführt, die von C-15 ausgehende Bindung löst, wodurch 14 β -Hydroxy-Verbindungen entstehen, wird unter dem Einfluss katalytischer Mengen HClO₄ andererseits die Bindung zwischen dem Oxydsauerstoff und C-14 aufgehoben, wobei die entsprechende 15-Keto-Verbindung gebildet wird²⁷⁾. Damit ist auch die Haftstelle des O-Ringes an C-15 festgelegt. Die Konfiguration am zuletzt genannten Asymmetriezentrum ergibt sich aus folgendem: nachdem für C-14 die β -Konfiguration bewiesen wurde, muss die von C-15 ausgehende Bindung aus sterischen Gründen zwangsläufig ebenfalls β -ständig orientiert sein. (Dass dem Abbauester aus Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) die mit Formel X wiedergegebene Konstitution (*trans*-Verknüpfung der Ringe C/D) zukommt, wird weiter unten bewiesen.)

2. Die *zweite* beim KMnO₄-Abbau von Acetyl-14 α -artebufogenin erhaltene Substanz zeigte im UV. selektive Absorption bei 288–291 m μ und erwies sich als identisch mit dem unten beschriebenen Bernsteinsäurederivat XX.

3. Die *dritte* beim KMnO₄-Abbau von Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) erhaltene Substanz XXVIII zeigte im UV. ebenfalls selektive Absorption bei 304 m μ ($\log \epsilon = 1,55$) (in Alkohol). Sie muss demnach eine Ketogruppe enthalten. Das IR.-Spektrum weist eine HO-Bande (bei 2,9 μ) auf. Wir vermuteten, dass eine 14-Hydroxy-

²²⁾ Vgl. die Zusammenstellung solcher Umlagerungen bei S. WINSTEIN & R. B. HENDERSON in R. C. ELDERFIELD's Heterocyclic Compounds, Vol. I, S. 47, J. Wiley & Sons Inc., New York 1950.

15-keto-Verbindung vorliegen könnte. Durch Wasserabspaltung müsste dann das entsprechende $\Delta^{8,14}$ -15-Keton entstehen. Aus dem mit SOCl_2 in Pyridin erhaltenen Reaktionsprodukt liessen sich Kristalle von XXVI isolieren, die im UV. selektive Absorption bei 258–260 $m\mu$ und $\log \epsilon = 4,11$ (in Alkohol) zeigten. Diese Daten sind in bester Übereinstimmung mit den in der Literatur angegebenen Werten²⁰⁾ für $\Delta^{8,14}$ -15-Ketosteroide, weshalb wir dem aus XXVIII durch Wasserabspaltung erhaltenen Produkt die Formel XXVI zuordnen²³⁾.

Abbau von 14 β -Artebufogenin und Konfiguration an C-14 in 14 α -Artebufogenin und 14 β -Artebufogenin

Bei der Oxydation von Acetyl-14 β -artebufogenin (VI) (dem früheren «Artebufogenin-acetat A») war der Methylester XII erhalten und schon damals als Keto-Verbindung erkannt worden⁴⁾. Wie oben schon ausgeführt, ging Acetyl-14 α -artebufogenin allein schon bei der Chromatographie an Al_2O_3 grösstenteils in Acetyl-14 β -artebufogenin über⁴⁾. Die Umwandlung des freien Bufadienolids III in V dagegen lässt sich erst beim Kochen in Benzol in Gegenwart von Al_2O_3 erzielen.

Um den Kreis auch bei den beiden Abbauestern aus 14 α -Artebufogenin und 14 β -Artebufogenin zu schliessen, haben wir den Ester X mit etwa 4-prozentigem methanolischem KOH gekocht. Aus dem rohen Verseifungsprodukt konnte nach Methylierung, Acetylierung und chromatographischer Aufteilung an Al_2O_3 eine Substanz erhalten werden, die sich als identisch mit dem aus Acetyl-14 β -artebufogenin (VI) erhaltenen Ester XII erwies.

Es stellt sich nun die Frage, worin sich die beiden Artebufogenine III und V, bzw. die aus ihren Acetylverbindungen IV und VI erhaltenen Abbauester X und XII, voneinander unterscheiden. Da diese, wie oben ausgeführt, zum Unterschied zum Abbauester IX aus Acetylresibufogenin (II) als charakteristisches Merkmal eine Ketogruppe enthalten, ist es naheliegend, zu folgern, dass diese schon in den Muttersubstanzen III und V der beiden Ester X und XII enthalten waren²⁴⁾. Als wichtigsten Beweis dafür kann die Tatsache angesehen werden, dass die Isomerisierung des *Oxido*-bufadienolids I zum Artebufogenin (III), welches auf Grund des IR.-Spektrums keine Epoxydgruppe mehr enthält, sich in genau gleicher Weise durchführen lässt wie diejenige vom *Oxido*-Ester IX in den *Keto*-Ester X. – Auch die weitere Umlagerung von Artebufogenin (III) in Artebufogenin (V) ist – wie weiter unten noch näher ausgeführt wird – nur verständlich, wenn angenommen wird, dass die in den Estern X und XII vorhandene Ketogruppe schon in III und V enthalten war.

Auf Grund der oben mitgeteilten Befunde ist die durch Aufspaltung des Oxydringes entstandene Ketogruppe an C-15 zu plazieren. Dies macht es nun verständlich, dass sowohl Artebufogenin (III) und seine Acetylverbindung IV als auch der Ester X leicht eine Umlagerung erfahren, die in einer Epimerisierung an dem der Ketogruppe benachbarten Asymmetriezentrum bestehen muss, wofür einzig C-14 in Betracht kommt. Daraus folgt, dass Artebufogenin (III) und V sich nur durch die Art der Verknüpfung der Ringe C und D voneinander unterscheiden.

²³⁾ Vgl. IR.-Spektrum Nr. 455 in *Infrared Absorption Spectra of Steroids* von G. ROBERTS *et al.*, Vol. II, Interscience Publishers Inc., New York 1958.

²⁴⁾ Wegen des störenden Einflusses des Hexadienolid-Ringes lässt sich in III und V weder im kurzwelligen Bereich des UV. noch im IR. eine Ketogruppe eindeutig nachweisen.

Wenn wir nun dem Artebufogenin III und seinem Abbauester X *trans*-Konfiguration und dem Artebufogenin V und seinem Abbauester XII *cis*-Konfiguration der Ringe C/D zuerteilen, so geschieht dies auf Grund folgender Befunde: die im Resibufogenin (I) an C-14/C-15 haftende Oxidogruppe ist, wie oben gezeigt wurde, β -ständig angeordnet. Wird durch HClO_4 die C-14-O-Bindung gelöst, wodurch ein 15-Ketosteroid entsteht, so muss das α -ständige H-Atom an C-15 nach C-14 wandern. Die Hydridwanderung erfolgt hier nur linear, ist also eine *cis*-Wanderung²⁵⁾. Dadurch weist der neue Substituent an C-14 (d. h. das H-Atom) die entgegengesetzte Konfiguration des von C-14 abgelösten Substituenten (β -Oxidogruppe) auf²⁶⁾. Im Endeffekt kommt es also zu einer WALDEN'schen Umkehrung an C-14, und *das primär gebildete Keton muss demnach 14 α -Konfiguration (trans-Verknüpfung der Ringe C/D) besitzen.*

Die 14 α -15-Keto-Verbindungen III, IV und X erfahren durch Al_2O_3 bzw. Alkali leicht eine Isomerisierung, die (wie oben schon ausgeführt) nur das Asymmetriezentrum an C-14 betreffen kann. *Somit muss den stabileren Umlagerungsprodukten V, VI und XII 14 β -Konfiguration (cis-Verknüpfung der Ringe C/D) zukommen.*

Die an den hier erwähnten 15-Ketosteroiden des *Koprostan*-Typs beobachteten Stabilitätsverhältnisse sind in bester Übereinstimmung mit den Befunden, die bei stereoisomeren Hydrindan- und Hydrindanon-Verbindungen gemacht wurden: es zeigte sich dort nämlich, dass die 8-Methylhydrindanone mit *cis*-Verknüpfung der Ringe zum Unterschied zu den *cis*-Hydrindanen die stabileren Verbindungen darstellen²⁹⁾³⁰⁾. Das gleiche gilt auch für *cis*- und *trans*-Pyrolithobiliansäure³³⁾.

Auf Grund der Arbeiten von DJERASSI³²⁾ lassen sich die sterischen Verhältnisse an C-14 bei 15-Ketosteroiden auch auf Grund ihres optischen Verhaltens abklären: der Übergang von *trans*- in *cis*-Ketone ist von einer Linksverschiebung der spezifischen Drehung begleitet (vgl. die Drehungen von IV und X mit denjenigen von VI und XII).

²⁵⁾ Darauf hat schon THIESSEN⁶⁾ hingewiesen.

²⁶⁾ In der letzten Zeit ist an einer Reihe von Beispielen auch in der Steroidreihe gezeigt worden, dass substituierte Äthylenoxyde durch Säuren und andere elektrophile Reagenzien wie vor allem Bortrifluorid eine Pinacolumlagerung erfahren, wobei Ketone entstehen. Bei allen Äthylenoxyden, deren Oxidogruppe an einem Asymmetriezentrum haftet, erfolgt nun die oben erwähnte Hydridwanderung ebenfalls streng stereospezifisch²⁷⁾ unter Inversion am Wanderungsterminus²⁸⁾.

²⁷⁾ R. C. COOKSON & J. HUDEC, *Proceedings chem. Soc.* **1957**, 24; H. B. HENBEST & T. I. WRIGLEY, *J. chem. Soc.* **1957**, 4596; C. W. SHOPPEE, M. E. H. HOWDEN, R. W. KILLICK & G. H. R. SUMMERS, *J. chem. Soc.* **1959**, 630.

²⁸⁾ C. K. INGOLD, *The Structure and Mechanism in Organic Chemistry*, G. Bell & Sons Ltd., London 1953, S. 504.

²⁹⁾ Vgl. die zusammenfassende Darstellung bei G. QUINKERT, *Experientia* **13**, 381 (1957).

³⁰⁾ Demgegenüber scheint nach BARTON und Mitarbeitern³¹⁾, wenigstens am Beispiel des 3 β -Hydroxy-ergosten-(22)-on-(15), die 14 α -Verbindung (*trans*) die stabilere zu sein. Ob dies ganz allgemein für alle 15-Ketosteroide vom Cholestantyp gilt, ist sehr fraglich. Vgl. hierzu die Diskussion und die Befunde von DJERASSI und Mitarbeitern³²⁾.

³¹⁾ C. S. BARNES, D. H. R. BARTON & G. F. LAWS, *Chemistry & Ind.* **1953**, 616; D. H. R. BARTON & G. F. LAWS, *J. chem. Soc.* **1954**, 52.

³²⁾ C. DJERASSI, T. T. GROSSNICKLE & L. B. HIGH, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 3166 (1956); C. DJERASSI, R. RINKER & B. RINKER, *ibid.* **78**, 6362 (1956).

³³⁾ A. WINDAUS, *Liebigs Ann. Chem.* **447**, 293 (1926).

REICHSTEIN und Mitarbeiter haben in jüngster Zeit auf teilsynthetischem Wege die Verbindungen X und XII erhalten und erteilen diesen auf Grund ihrer Befunde ebenfalls die durch die obigen Formelbilder zum Ausdruck gebrachte Konfiguration³⁴⁾.

Der CIBA AG., Basel, danken wir bestens für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze bis $200^{\circ} \pm 2^{\circ}$, darüber etwa $\pm 3^{\circ}$. Es werden folgende Abkürzungen benützt: Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$, AcOH = Eisessig, Ac_2O = Acetanhydrid, Ä = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Pc = Petroläther, Pgl = Propylenglykol, Pn = Pentan, Py = Pyridin, W = Wasser. Die Sichtbarmachung der Bufogenine im Papierchromatogramm erfolgte im gefilterten UV.-Licht³⁵⁾.

14 α -Artebufogenin (III) aus Resibufogenin (I)

1. *Mit konz. Salzsäure nach KOTAKE*⁸⁾. 500 mg Resibufogenin (I) vom Smp. 113–140°/155–168° wurden in 24 ml Alk gelöst, mit einer Mischung aus 1,8 ml konz. HCl und 4,5 ml W versetzt und 4 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Die leicht gelbe Lösung gab nach Einengen im Vakuum bis zum Sirup, Aufnehmen in Chf, Neutralwaschen mit verd. Sodalösung und W, Trocknen über Sulfat und Eindampfen 495 mg Rohprodukt. Aus An-Ä Kristalle vom Smp. 251–259°, nach dem Umlösen aus An-Ä 255–261°. Misch-Smp. mit authentischem Artebufogenin⁴⁾ vom Smp. 251–264°³⁶⁾: 250–259° (Sintern ab 246°). Die Substanz erwies sich im Papierchromatogramm (System Fmd/Pe-Bz (4:6)) als einheitlich und identisch mit dem früher⁴⁾ beschriebenen Artebufogenin. Ausbeute: 79 mg.

2. *Mit katalytischen Mengen Perchlorsäure*. Die im folgenden kurz beschriebenen Vorversuche wurden so durchgeführt, dass jeweils 50 mg I in dem angegebenen Lösungsmittel mit 0,1 ml einer Mischung von 0,05 ml 60-proz. HClO_4 in 1 ml Aceton versetzt wurden. Die Aufarbeitung geschah wie oben beschrieben. Das rohe Reaktionsprodukt wurde papierchromatographisch untersucht [Systeme Pgl-W (4:1)/Pc-Bz (4:6) und Fmd/Pe-Bz (4:6), Laufzeit 3 Std.].

a) Lösungsmittel: 3 ml An, 7 Min. auf Dampfbad: viel 14 α -Artebufogenin, vier weitere polarere Substanzen, kein Ausgangsmaterial.

b) Lösungsmittel: 1,5 ml An und 1,5 ml W, 7 Min. auf Dampfbad: viel Ausgangsmaterial I, drei polarere Substanzen, kein 14 α -Artebufogenin.

c) Lösungsmittel: 3 ml Chf, 7 Min. auf Dampfbad: viel 14 α -Artebufogenin, vier weitere polarere Substanzen, kein Ausgangsmaterial.

d) Wie unter c), aber 3 Std. bei 6°: Ausgangsmaterial neben Spuren 14 α -Artebufogenin.

e) Lösungsmittel: 3 ml mit W gesättigter Ä, 7 Min. auf Dampfbad: Ausgangsmaterial, 14 α -Artebufogenin und 4 weitere polarere Substanzen wie unter a) und c).

f) Lösungsmittel: 1,8 ml Me und 1,2 ml W, 7 Min. auf Dampfbad: nur Ausgangsmaterial.

Präparative Ansätze nach a) gaben aus 500 mg, 480 mg, 480 mg und 3,44 g Resibufogenin: 310 mg, 275 mg, 275 mg und 1760 mg 14 α -Artebufogenin vom durchschnittlichen Smp. 250–258°. Nach dem Umlösen aus An wurden total 2,10 g 14 α -Artebufogenin vom Smp. 255–261° erhalten; $[\alpha]_D^{25} = +27,4^{\circ} \pm 3^{\circ}$ ($c = 0,911$ in Chf).

Acetyl-14 α -artebufogenin (IV)

265 mg 14 α -Artebufogenin (III) vom Smp. 255–261° wurden in 2,5 ml trockenem Py gelöst, mit 2,2 ml Ac_2O versetzt und 15 Std. bei 40° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Ä-Chf (4:1), Neutralwaschen mit verd. HCl, verd. Sodalösung und W, Trocknen über Sulfat, Filtrieren und Eindampfen wurden 330 mg Schaum erhalten. (Papierchromatogra-

³⁴⁾ Noch unveröffentlichte Versuche. Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. T. REICHSTEIN für die uns freundlichst gewährte Möglichkeit des direkten Vergleichs dieser Substanzen herzlich danken.

³⁵⁾ H. R. URSCHELER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 883 (1955); R. BERNASCONI, H. P. SIGG & T. REICHSTEIN, *Helv.* **38**, 1767 (1955).

³⁶⁾ Der früher⁴⁾ angegebene Smp. 275–283° ist viel zu hoch.

phische Untersuchung im System Fmd/Pe-Bz (4:1) ergab völlige Einheitlichkeit.) Aus An-Ä Kristalle vom Smp. 214–221°. Nach zweimaligem Umlösen aus An-Ä 210 mg Kristalle vom Smp. 216–222°, die sich als identisch mit „Artebufogenin-acetat B''⁴⁾ erwiesen. $[\alpha]_D^{20} = +35,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,016$ in Chf). – Eine analog durchgeführte Acetylierung von 1030 mg 14 α -Artebufogenin gab 970 mg IV vom Smp. 218–223° (kein Doppel-Smp. wie früher⁴⁾).

$C_{26}H_{34}O_5$ (426,53) Ber. C 73,21 H 8,03% Gef. C 73,48 H 8,11%

Acetyl-14 β -artebufogenin (VI) aus IV

Etwa 4 mg Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) wurden in 1 ml Bz-Chf (1:1) gelöst, mit einer gehäuften Mikrospatelspitze Al_2O_3 versetzt und einige Min. auf dem Dampfbad erwärmt. Das Papierchromatogramm (System Fmd/Pe-Bz (4:1)) wies nun deutlich zwei Flecke auf. Der Rf-Wert des einen (= 0,41) entsprach demjenigen von IV, der andere (= 0,54) demjenigen von „Artebufogenin-acetat A''⁴⁾ = Acetyl-14 β -artebufogenin (VI).

Versuche zur Umlagerung von 14 α -Artebufogenin (III) vom Smp. 255–261°³⁷⁾

a) 18 mg III wurden in 1 ml Py gelöst und 48 Std. bei 40° stehengelassen. Im Papierchromatogramm (System Fmd/Pe-Bz(4:6)) nur Ausgangsmaterial.

b) 10 mg III wurden in 1 ml Chf gelöst, mit 0,1 ml 60-proz. $HClO_4$ versetzt und 18 Std. bei 35° stehengelassen. Im Papierchromatogramm (wie unter a)) etwa gleiche Mengen III und V sowie wenig einer unpolaren Substanz.

c) 4 mg III wurden in 4 ml Chf gelöst, mit 0,01 ml 60-proz. $HClO_4$ versetzt und 20 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Im Papierchromatogramm (wie unter a)) keine Bufadienolide mehr nachweisbar.

d) 5 mg III wurden in 4 ml Chf gelöst und mit 10 mg neutralem Al_2O_3 ³⁸⁾ 24 Std. auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Im Papierchromatogramm (wie unter a)) III und V.

e) 5 mg III wurden in 4 ml Bz gelöst und mit 10 mg neutralem Al_2O_3 ³⁸⁾ 24 Std. auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Im Papierchromatogramm (wie unter a)) etwa zu gleichen Teilen III und V.

f) 17 mg III wurden in 12 ml Bz gelöst und mit 35 mg wasserfreiem Na-acetat während 26 Std. auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Im Papierchromatogramm (wie unter a)) nur III.

g) 6 mg III wurden in 7 ml Bz gelöst und mit 18 mg Al_2O_3 sauer «Woelm» während 26 Std. auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Im Papierchromatogramm (wie unter a)) etwa gleiche Mengen an III und V.

Präparative Gewinnung von 14 β -Artebufogenin (V) aus III

370 mg 14 α -Artebufogenin (III) vom Smp. 255–261° wurden in 250 ml Bz gelöst, mit 1000 mg Al_2O_3 ³⁸⁾ versetzt und 6 Tage auf dem Dampfbad unter Rückfluss erhitzt. Eine nach 44 Std. durchgeführte papierchromatographische Kontrolle zeigte, dass die beiden Artebufogenine etwa zu gleichen Teilen im Reaktionsgemisch enthalten waren. Nach 72 bzw. 120 Std. durchgeführte analoge Kontrollen ergaben eine leichte Verschiebung des 1:1-Verhältnisses zugunsten von 14 β -Artebufogenin (V). Zur Aufarbeitung wurde vom Al_2O_3 abfiltriert, letzteres mit Mc ausgewaschen und dieses mit der benzolischen Lösung im Vakuum zum Schaum eingedampft. Die präparative Auftrennung in die einzelnen Bestandteile geschah auf Papierstreifen⁵⁾ im System Fmd/Pe-Bz (4:6), Laufzeit etwa 2 1/2 Std. Dabei zeigte sich, dass ausser den beiden Artebufogeninen III und V noch 3 weitere Substanzen im Reaktionsgemisch enthalten waren, die aber nicht weiter untersucht wurden. Isoliert wurde nur 14 β -Artebufogenin in der früher beschriebenen Art und Weise⁵⁾. Ausbeute: 155 mg. Davon wurden 50 mg in $Py-Ac_2O$ acetyliert. Zweimaliges Umlösen der rohen Acetylverbindung gab 36 mg prismatische Kristalle vom Smp. 221–228°; $[\alpha]_D^{19} = -59,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,187$ in Chf). Die Mischprobe mit dem früher⁴⁾ beschriebenen „Artebufogenin-acetat A'' ($[\alpha]_D^{17} = -63^\circ$ in Chf) vom Smp. 217–229° schmolz bei 220–231°. Die restlichen 105 mg wurden an Al_2O_3 chromatographiert; es konnten aber aus keiner Fraktion Kristalle erhalten werden.

³⁷⁾ Wobei jeweils vor der Ausführung des Papierchromatogramms in üblicher Weise aufgearbeitet wurde.

³⁸⁾ J. P. RUCKSTUHL & K. MEYER, Helv. 40, 1270 (1957), besonders S. 1285, Fussnote 26).

Abbau von Acetylresibufogenin (II)

a) 3,5 g Acetylresibufogenin vom Smp. 225–231° wurden in 100 ml An gelöst, unter Kühlung mit 4 g fein gepulvertem KMnO_4 versetzt und bis zum Verschwinden (etwa 10 Min.) der violetten Farbe auf der Maschine geschüttelt. Ein weiterer Zusatz von 1,8 g KMnO_4 war nach 2 Std. verbraucht. Hierauf wurde noch 1 g KMnO_4 zugegeben und weitere 4 Std. geschüttelt. Nach dieser Zeit war noch KMnO_4 nachweisbar. Die durch MnO_2 braun gefärbte Suspension wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde fein pulverisiert und in einem Rundkolben mit W und verd. H_2SO_4 versetzt, bis die Lösung eben kongosauer war. Hierauf wurde in einem Eis-W-Gemisch abgekühlt und SO_2 eingeleitet. Der gut verschlossene Kolben wurde in Eiswasser stehengelassen und von Zeit zu Zeit umgeschüttelt, bis der Niederschlag rein weiss geworden war. Nun wurde rasch mit Chf-Ä(1:4)-Gemisch ausgeschüttelt, die Chf-Ä-Lösung mehrmals mit Wasser gewaschen und danach in üblicher Weise durch Ausschütteln mit Na_2CO_3 -Lösung in saure (= 2,85 g) und neutrale (350 mg) Anteile getrennt. Das Gemisch der Säuren wurde in An gelöst; dieses wurde stark eingengt, worauf Kristallisation eintrat: 900 mg rohe Abbausäure VII. Umlösen aus An gab 710 mg vom Smp. 182–188° (Zers.). Die Mutterlaugen von VII wurden vereinigt, im Vakuum zur Trockne gebracht, hierauf in wenig Me gelöst und mit ätherischem Diazomethan verestert. Anschliessende chromatographische Aufteilung an Al_2O_3 gab 520 mg Ester IX vom Smp. 160–166°³⁹⁾. IR.-Spektrum siehe Fig. 1.

b) Ein genau gleich durchgeführter Abbauersuch mit 3,5 g II, aber ohne Reduktion des gebildeten MnO_2 , gab 2,66 g rohe Säure und daraus 850 mg umkristallisierte Abbausäure VII vom Smp. 186–190° (Zers.).

3 β , 14 β , 20-Trihydroxy-21-nor-5 β -pregnan (XIV)*1. Durch Reduktion der Abbausäure VII*

a) In die Suspension von 350 mg LiAlH_4 in 25 ml trockenem Ä wurde die Lösung von 200 mg Säure VII (Smp. 182–188°) in 40 ml trockenem Ä unter Umschwenken eingetropfelt und das Reaktionsgemisch während 4½ Std. stengelassen. Hierauf wurde unter Kühlen mit verd. H_2SO_4 kongosauer gemacht und mit 10 ml Chf versetzt. Die Chf-Ä-Schicht wurde im Scheidetrichter neutral gewaschen und in üblicher Weise aufgearbeitet: 185 mg Neutrales und 10 mg Säure. Weitere Umsetzung siehe weiter unten.

b) 820 mg Abbausäure VII, in genau gleicher Weise während 16 Std. mit LiAlH_4 reduziert, gaben 700 mg rohes Neutralprodukt. Aus Alk-An-Ä 590 mg Triol XIV vom Smp. 170–205°, das auch nach dem Umkristallisieren immer recht unscharf bei 182–206° schmolz; $[\alpha]_D^{20} = -14^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,861$ in Alk).

$\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_3$ (322,47) Ber. C 74,49 H 10,63% Gef. C 74,25 H 10,89%

2. Durch Reduktion von 3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII)

650 mg XVIII vom Smp. 153–160° und 490 mg gute Mutterlauge von XVIII (aus Acetyldigitoxigenin nach der Ozonmethode¹⁶⁾) wurden in 100 ml trockenem Ä gelöst und mit der Lösung von 2,6 g LiAlH_4 in 60 ml Ä versetzt. Nach 14 Std. wurde aufgearbeitet: 900 mg Neutralteil; aus Alk-An-Ä 720 mg Triol XIV vom Smp. 168–206°. – Eine mit 195 mg reinem Ester XVIII vom Smp. 153–157° analog durchgeführte Reduktion gab 195 mg reines Triol XIV vom Smp. 182–206°.

**3 β , 20-Diacetoxy-14 β , 15 β -oxido-21-nor-5 β -pregnan (XIII) und
3 β , 20-Diacetoxy-14 β -hydroxy-21-nor-5 β -pregnan (XV)**

1. Das oben unter a) beschriebene rohe Triol XIV (185 mg) wurde in Py-Ac₂O acetyliert und der daraus nach üblicher Aufarbeitung erhaltene rohe Ester (220 mg) zunächst papierchromatographisch untersucht (System Fmd/Pe-Bz(4:1); Sichtbarmachung der gewanderten Substanzen durch Besprühen mit gesättigter SbCl_3 -Chf-Lösung und kurzes Erwärmen auf 90–100°), wobei eindeutig zwei verschiedene Substanzen sich nachweisen liessen. Bei der chromatographischen

³⁹⁾ In einem andern Ansatz mit 1 g II wurde die Reduktion des MnO_2 mit SO_2 bei Zimmer-temperatur durchgeführt. Bei diesem Versuch konnte keine kristallisierte Abbausäure VII gefasst werden. Bei der chromatographischen Aufteilung des amorphen Methylester-Gemisches konnten nur rund 60 mg Kristalle des Esters IX gewonnen werden.

Aufteilung an 6 g Al_2O_3 liess sich zunächst mit Pe-Bz (4:1) und (1:1) 45 mg XIII eluieren, die aus Pe Kristalle vom Smp. 130–136° gaben. Nach dreimaligem Umlösen 11 mg vom Doppel-Smp. 115–118°/137–139°. Das IR.-Spektrum (CaF_2 -Prisma) zeigte eine sehr deutliche Bande bei $3,32 \mu$ (CH-Schwingung der Epoxyd-Gruppe). – Bz und Bz-Chf (9:1) eluierten 85 mg Substanz. Aus Pe Kristalle vom Smp. 130–154°. Nach dreimaligem Umlösen aus Pe 65 mg Prismen XV vom Smp. 154–157°, Misch-Smp. mit dem weiter unten unter 3. beschriebenen Präparat von XV ohne Depression.

2. Das oben unter b) erhaltene Triol XIV gab nach Acetylierung und üblicher Aufarbeitung bei der chromatographischen Reinigung nur XV und kein XIII.

3. 320 mg durch Reduktion des Esters XVIII erhaltenes Triol (siehe oben) wurden ebenfalls acetyliert und die rohe Diacetylverbindung (370 mg) an Al_2O_3 chromatographiert. Dreimaliges Umlösen der dabei gewonnenen Kristalle gab 300 mg XV vom Smp. 156–158,5°; $[\alpha]_D^{20} = +15,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,133$ in Chf).

$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_5$ (406,54) Ber. C 70,90 H 9,42% Gef. C 71,17 H 9,37%

3 β -Acetoxy-14 β , 20-dihydroxy-21-nor-5 β -pregnan (XVI) aus XV

50 mg Diacetylverbindung XV (erhalten aus Acetylsesibufogenin) vom Smp. 154–157° wurden in 5 ml Me gelöst, mit einer Lösung von 50 mg KHCO_3 in 1,25 ml W versetzt und 50 Std. bei 32° stehengelassen. Nach dieser Zeit wurde mit verd. HCl angesäuert und das Me im Vakuum abdestilliert. Nach üblicher Aufarbeitung 46 mg Neutralstoff. Aus \check{A} -Pe 41 mg XVI vom Smp. 161–167°; $[\alpha]_D^{25} = -18,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,991$ in Chf).

$\text{C}_{22}\text{H}_{36}\text{O}_4$ (364,51) Ber. C 72,49 H 9,96% Gef. C 72,56 H 10,14%

3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII) und 3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-lacton-(20 \rightarrow 14) (XXI) aus XVI

195 mg XVI vom Smp. 161–167° wurden in 5 ml Eisessig gelöst, mit 13 ml 2-proz. CrO_3 -AcOH-Lösung versetzt und 13 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das überschüssige CrO_3 wurde mit einigen Tropfen Me reduziert. Die übliche Aufarbeitung gab 80 mg Neutrales und 100 mg Säure. Die Säure wurde mit ätherischem Diazomethan methyliert und an Al_2O_3 chromatographiert. Die mit Pe-Bz(3:1) und Pe-Bz(1:1) eluierte Substanz (64 mg) kristallisierte spontan und gab nach zweimaligem Umlösen aus \check{A} -Pe 48 mg feine, lange und flache Nadeln vom Smp. 156–158°; $[\alpha]_D^{19} = +37,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,072$ in Chf). Die Mischprobe mit authentischem Ester XVIII¹⁵⁾ gab keine Depression.

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{O}_5$ (392,5) Ber. C 70,37 H 9,24% Gef. C 70,63 H 9,27%

Die Neutralteile aus verschiedenen CrO_3 -Oxydationen von XVI wurden vereinigt (160 mg) und an 4 g Al_2O_3 chromatographiert. Pe-Bz (3:1) und Pe-Bz (1:1) eluierten 112 mg Substanz, die zwischen 165–169° schmolz. Umlösen aus \check{A} -Pe gab 90 mg dicke Prismen vom Smp. 168–170°; $[\alpha]_D^{21} = -14,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,085$ in Chf).

$\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (360,48) Ber. C 73,30 H 8,95% Gef. C 73,11 H 8,93%

3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII) aus XXI

40 mg Lacton XXI vom Smp. 168–170° wurden in 5 ml Me gelöst, mit 1 ml 25-proz. KOH versetzt und 15 Std. bei 32° stehengelassen. Hierauf wurde mit HCl angesäuert, im Vakuum von Me befreit und in üblicher Weise aufgearbeitet; man erhielt 6 mg Neutrales (verworfen) und 45 mg Säure. Der daraus mit ätherischem Diazomethan bereitete Ester wurde in 2 ml Py gelöst, mit 1,8 ml Ac_2O versetzt und 15 Std. bei 36° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung des Acetylierungsgemisches aus \check{A} -Pe feine Kristallnadeln, die nach zweimaligem Umlösen aus \check{A} -Pe 22 mg XVIII vom Smp. 156–158° gaben. Misch-Smp. mit authentischem Ester¹⁵⁾ ohne Depression.

3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII) aus IX

179 mg IX vom Smp. 162–168° wurden in 20 ml AcOH gelöst, mit 70 mg $\text{PtO}_2, \text{H}_2\text{O}$ versetzt und 8 Std. bei 20° in der Schüttelbirne hydriert. Verbrauch: 16,3 ml H_2 . Nach üblicher Aufarbeitung wurde das lackartige Hydrierungsprodukt an 8 g Silicagel chromatographiert. Bz-Chf (9:1) eluierte 53 mg Substanz, die aus \check{A} -Pn in feinen, langen Nadelchen kristallisierte. Nach mehrmaligem Umlösen aus \check{A} -Pn 18 mg lange, glänzende und flache Nadeln vom Smp. 149–154°;

Misch-Smp. mit authentischem Ester XVIII ohne Depression. – Die späteren Eluate (total 98 mg Trockenrückstände) waren alle amorph und konnten auch nach Rechromatographie an Al_2O_3 nicht zur Kristallisation gebracht werden.

3 β -Hydroxy-14 β , 15 β -oxido-17 α -ätiansäure-methylester (XXIV)

330 mg 3 β -Acetoxy-14 β , 15 β -oxido-ätiansäure-methylester (IX) vom Smp. 150–163° wurden in 13 ml Me gelöst, mit 1,3 ml 25-proz. KOH-Lösung versetzt und 38 Std. bei 30° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung und Methylierung des erhaltenen Säuregemisches wurde wie früher⁴⁾ auf chromatographischem Wege in die beiden Hydroxyester VIII und XXIV getrennt.

3 β , 20-Diacetoxy-14 β -hydroxy-21-nor-5 β , 17 α -pregnan (XXVII)

a) *Aus XXIV.* 24 mg 3 β -Acetoxy-14 β , 15 β -oxido-17 α -ätiansäure-methylester (XXIV) vom Smp. 171–173° wurden in 3 ml Äther gelöst, mit der Lösung von 70 mg LiAlH_4 in 4 ml trockenem Äther versetzt und 15 Std. bei 20° stehengelassen. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene und im Vakuum getrocknete Neutralprodukt (28 mg Schaum) wurde in einigen Tropfen Py-Ac₂O acetyliert und das rohe Acetylprodukt an 1 g Al_2O_3 chromatographiert. Mit Pe-Bz (1:1) wurden 8 mg Substanz eluiert; aus Ä-Pe Kristalle vom Smp. 120–122°⁴⁰⁾. Reines Bz eluierte 10 mg der gesuchten Substanz: XXVII; aus Ä-Pe Nadelchen vom Smp. 124–128°. Misch-Smp. mit den Kristallen vom Smp. 120–122° bei 110–123°; Misch-Smp. mit dem nach b) (siehe unten) bereiteten Präparat von 3 β , 20-Diacetoxy-14 β -hydroxy-21-nor-5 β , 17 α -pregnan (XXVII) vom Smp. 131–134° bei 124–132°. Das IR.-Spektrum der Substanz vom Smp. 124–128° war identisch mit demjenigen der authentischen Diacetylverbindung XXVII vom Smp. 131–134° aus Digitoxigenin.

b) *Aus XXIX.* Zur Bereitung der nötigen 3 β , 14 β -Dihydroxy-17 α -ätiansäure (XXIX) wurden 210 mg 3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-20-keto-5 β -pregnansäure-lacton-(21 \rightarrow 14) vom Smp. 228–233° entsprechend den früheren Angaben¹⁸⁾ verseift und die dabei gebildete α -Ketocarbonsäure mit H_2O_2 in KHCO_3 -Lösung zu XXIX oxydiert. Erhalten wurden 115 mg Kristalle vom Smp. 220–244° (Zers.). Eine Probe davon wurde aus Me-An umgelöst und schmolz dann bei 232–248° (Zers.). 92 mg Dihydroxysäure XXIX vom Smp. 220–224° wurden, in etwas Me gelöst, mit ätherischem Diazomethan übergossen. Nach Aufhören der N_2 -Entwicklung wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde in 10 ml frisch über Na destilliertem Tetrahydro-furan gelöst und mit der Lösung von 310 mg LiAlH_4 in 10 ml Tetrahydro-furan versetzt. Anschliessend wurde 60 Min. auf dem Dampfbad unter Rückfluss gekocht. Nach Ansäuern mit verd. H_2SO_4 wurde im Vakuum das Tetrahydro-furan verjagt und wie üblich aufgearbeitet: 85 mg Neutralteil. Dieser wurde in Py-Ac₂O acetyliert. Das rohe Acetylierungsprodukt wurde an 3 g Al_2O_3 chromatographiert. Die Hauptmenge liess sich mit Pe-Bz (1:1) eluieren. Nach mehrmaligem Umkristallisieren 45 mg Kristalle XXVII vom Smp. 131–134°; $[\alpha]_D^{25} = -16,5^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,115 in Chf).

$\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_5$ (406,54) Ber. C 70,90 H 9,42% Gef. C 70,81 H 9,48%

3 β -Acetoxy-15-keto-14 β , 17 α -ätiansäure-methylester (XXX) aus XXV

a) 320 mg XXV vom Smp. 151–154° wurden in 20 ml An gelöst, mit 1,0 ml einer Lösung von 0,1 ml 60-proz. HClO_4 in 100 ml An versetzt (= 0,001 ml 60-proz. HClO_4) und 10 Min. auf 70° erhitzt. Nach Versetzen mit Wasser wurde im Vakuum vom An befreit, der wässrige Rückstand mit Äther-Chloroform (4:1) extrahiert und die organische Phase mit verd. Sodalösung und Wasser gewaschen. Die Äther-Chloroformlösung hinterliess nach dem Trocknen über Sulfat und Filtrieren und Eindampfen 325 mg Lack, der an 10 g Silicagel chromatographiert wurde. Da sich aus keiner Fraktion ein einheitliches Kristallisat gewinnen liess, wurden alle Fraktionen wieder vereinigt und an Al_2O_3 aufgeteilt. Pe-Bz (1:4) und die ersten Fraktionen mit reinem Bz eluierten 184 mg Substanz (= XXV). Die späteren Fraktionen mit Bz gaben nach dem Eindampfen 30 mg rohes XXX vom Smp. 157–161°. Aus einem weiteren Versuch mit 184 mg XXV konnten nochmals 30 mg rohes XXX gewonnen werden, die mit den eben erwähnten 30 mg XXX vereinigt und an 4 g Al_2O_3 chromatographiert wurden. Bz eluierte 30 mg einheitliches Material (XXX), das nach zweimaligem Umlösen aus Ä-Pe bei 158–161° schmolz.

b) 67 mg XXV vom Smp. 151–154° wurden in 5 ml An gelöst, mit 1 ml einer Lösung von 0,1 ml 60-proz. HClO_4 in 100 ml An versetzt (= 0,001 ml 60-proz. HClO_4) und 30 Min. auf dem

⁴⁰⁾ Wurde nicht näher untersucht (3 β , 15 β , 20-Triacetoxy-21-nor-5 β , 17 α -pregnan?).

Dampfbad erhitzt, hierauf mit 2 ml W versetzt und im Vakuum von An befreit. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das amorphe Produkt in 10 ml Me gelöst, mit 1,3 ml 25-proz. KOH versetzt und 2 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Ansäuern wurde im Vakuum vom Me befreit und, ohne in saure und neutrale Anteile zu trennen, wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand wurde erst mit ätherischem Diazomethan methyliert, dann acetyliert. Die bei der chromatographischen Aufteilung an Al_2O_3 neben amorphen Produkten erhaltenen Kristalle (roh 30 mg) waren einheitlich und schmolzen nach dem Umkristallisieren aus Ä-Pe bei 158–161°, Misch-Smp. mit dem oben erhaltenen Präparat von XXX bei 158–161°. $[\alpha]_D^{19} = -12,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,758$ in Chf). UV.-Spektrum: $\lambda_{\text{max}} = 295 \text{ m}\mu$; $\log \epsilon = 1,42$.

Versuche zur Überführung von Resibufogenin (I) in Bufalin

a) Mit NaBH_4 . 100 mg Resibufogenin (I) vom Smp. 95–105°/162–170° wurden in 5 ml Me gelöst, zu einer Aufschwemmung von 35 mg NaBH_4 in 4 ml Me gegeben und 2 Std. bei 20° stehengelassen. Nach dem Ansäuern mit verd. H_2SO_4 (in der Kälte) wurde das Me im Vakuum verjagt und wie üblich aufgearbeitet. Das Reduktionsprodukt zeigte im Papierchromatogramm (Systeme Pgl-W (4:1)/Bz-Chf (1:1), Fmd/Pe-Bz (4:6) und Fmd/Bz-Chf (6:4)) neben viel Ausgangsmaterial zwei polarere Substanzen, die aber nicht mit Bufalin identisch waren.

b) Mit LiBH_4 . 50 mg Resibufogenin (I) vom Smp. 95–105°/162–170° wurden in Chf gelöst und im Vakuum zum Schaum eingedampft. Dies wurde noch zweimal wiederholt. Hierauf löste man den Rückstand in 6 ml trockenem Ä und gab diese Lösung zu einer Aufschwemmung von 20 mg LiBH_4 in etwa 6 ml trockenem Ä. Nach 21 Std. wurde die bei 20° aufbewahrte Suspension mit verd. H_2SO_4 kongosauer gemacht und in üblicher Weise aufgearbeitet. Die papierchromatographische Untersuchung des rohen Reduktionsproduktes (gleiche Systeme wie unter a)) ergab nur Resibufogenin (I).

Bei einem analog durchgeführten Versuch mit Acetylresibufogenin (II), wobei die Reduktion 6 Std. unter Rückfluss durchgeführt wurde, war nach Aufarbeitung wie unter b) überhaupt kein Bufadienolid mehr nachweisbar.

Oxydation von 3 β -Acetoxy-14 β , 15 β -oxido-ätiansäure-methylester (IX) mit CrO_3 in Eisessig-Wasser

a) 1-Keto-2 β , 4 $\beta\beta$ -dimethyl-7 β -acetoxy-4 $\alpha\alpha$, 8 $\alpha\beta$, 10 $\alpha\beta$ -perhydro-phenanthren-2 α -bernsteinsäure-dimethylester (XX). 470 mg Acetoxysäure VII vom Smp. 182–188° (Zers.) wurden in einigen Tropfen Methanol gelöst und mit ätherischem Diazomethan im Überschuss versetzt. Nach beendeter Reaktion wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand, in 10 ml AcOH gelöst, wurde mit 2,5 ml H_2O und hierauf mit 15 ml einer 2-proz. CrO_3 -Eisessig-Lösung versetzt. Nach 14 Std. (bei 20°) wurde das überschüssige CrO_3 mit einigen Tropfen Me reduziert. Hierauf wurde im Vakuum eingeeengt, in Chf-Ä (1:4) aufgenommen und mit verd. H_2SO_4 so lange ausgeschüttelt, bis die saure wässrige Lösung völlig farblos blieb. Anschliessende übliche Aufteilung mit Na_2CO_3 gab 350 mg Säure und 105 mg Neutrales (siehe unter b)). Die Säure wurde nach Methylierung mit ätherischem CH_2N_2 an 12 g Al_2O_3 chromatographiert. Mit Pe-Bz (3:1) bis Bz-Chf (19:1) wurden 258 mg Substanz eluiert, die von 119–125° schmolzen. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Ä-Pe 217 mg lange, schön ausgebildete Prismen (Bernsteinsäureester XX) vom Smp. 124–126°; $[\alpha]_D^{21} = +2,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,367$ in Chf). Misch-Smp. mit dem weiter unten durch Oxydation von XIX erhaltenen Ester XX ohne Depression.

$\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{O}_7$ (436,53) Ber. C 66,04 H 8,31% Gef. C 66,24 H 8,21%

Die späteren Fraktionen des obigen Chromatogramms blieben alle amorph und wurden nicht weiter untersucht.

b) Ketol A (XXII). Der Neutralteil (105 mg) wurde an 3,5 g Al_2O_3 chromatographiert. Mit Bz-Pe (1:3) bis Bz-Chf (19:1) wurden 83 mg Substanz eluiert. Aus Ä-Pe etwa 15 mg Ketol A (XXII) in farblosen Kristallen vom Smp. 170–203°. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Ä-Pe stieg der Smp. auf 201–206°; $[\alpha]_D^{22} = +60^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,053$ in Chf). Das UV.-Spektrum von XXII (in Alkohol) zeigte selektive Absorption bei 292–294 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 1,80$). Das IR.-Spektrum (in CH_2Cl_2) zeigte die folgenden charakteristischen Maxima: 3,0 μ (assoziertes HO-); 5,75 μ , 5,78 μ und 5,85 μ (Estercarbonyle und 5-Ringketon).

$\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_6$ (406,50) Ber. C 67,95 H 8,43% Gef. C 68,19 H 8,59%

Anhydroketon A (XXIII) durch Wasserabspaltung aus XXII

a) Die Lösung von 7 mg XXII vom Smp. 201–206° in 1 ml Py wurde auf –10° abgekühlt, mit 5 Tropfen gekühltem SOCl_2 versetzt und noch 30 Min. bei –10° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum bei etwa 30° eingedampft, der Rückstand mit kleinen Stückchen Eis versetzt und mit $\text{Chf}-\ddot{\text{A}}$ (1:4) ausgeschüttelt. Nach üblicher Aufarbeitung der $\text{Chf}-\ddot{\text{A}}$ -Lösung wurden 6 mg Rückstand erhalten. Dieser wurde an 150 mg Al_2O_3 in 2 Fraktionen (1,5 ml Bz-Pe (1:9) und 5,5 ml Bz-Pe (3:7)) aufgeteilt und gab aus Pe farblose Kristalle von XXIII, die den Doppel-Smp. 103–105°/113–118° aufwiesen.

b) 42 mg Mutterlaugenrückstände von XXII wurden analog wie unter a) beschrieben mit SOCl_2 in Py umgesetzt. Aufarbeitung und Chromatographie wurden in analoger Weise wie unter a) beschrieben durchgeführt. Die dabei gewonnenen Kristalle wurden mehrmals umkristallisiert und, da sie denselben Smp. zeigten wie die unter a) erhaltenen, mit diesen vereinigt. Nach nochmaligem, gemeinsamem Umlösen aus Pe wurden total 9 mg Anhydroketon A (XXIII) in farblosen Kristallen vom Smp. 105–108°/114–117,5° erhalten; $[\alpha]_D^{25} = +12,8^\circ \pm 4^\circ$ ($c = 0,483$ in Chf).

UV.- und IR.-Spektren sind im Theoret. Teil dieser Arbeit erwähnt.

Bei der Chromatographie des unter b) erhaltenen Wasserabspaltungsproduktes konnten aus den letzten Fraktionen noch Kristalle vom Smp. 207–218° gewonnen werden, die aber nicht identisch mit dem Ausgangsmaterial XXII waren. Sie wurden nicht weiter untersucht.

Abbau von 14 α -Artebufogenin

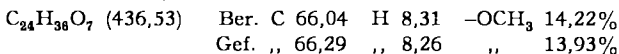
950 mg Acetyl-14 α -artebufogenin (IV) vom Smp. 218–223° wurden in einem Rundkolben in 40 ml An gelöst und auf der Schüttelmaschine innerhalb von 3 Std. mit 3,0 g fein gepulvertem KMnO_4 versetzt. Nach 3 weiteren Std. war noch unverbrauchtes KMnO_4 vorhanden. Hierauf wurde im Vakuum (Wasserstrahlpumpe) bis zum Brei eingedampft, mit H_2O verflüssigt und anschliessend nochmals im Vakuum zur Entfernung der letzten Reste An unter Schütteln und Erwärmen konzentriert. In die mit verd. H_2SO_4 kongosauer gemachte Suspension wurde unter äusserem Kühlen in einem Eis-W-Gemisch SO_2 bis zur Sättigung eingeleitet, hierauf verschlossen unter gelegentlichem Durchschütteln in der Kältemischung bis zur völligen Entfärbung stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung (Ausschütteln mit $\ddot{\text{A}}-\text{Chf}$ (4:1) usw.) wurden 30 mg Neutralteil und 900 mg Säure erhalten. Diese wurde in üblicher Weise mit Diazomethan methyliert und an 28 g Silicagel chromatographiert.

a) 3 β -Acetoxy-15-keto-14 α -ätiensäure-methylester (X). Bz eluierte 250 mg Material, das aus $\ddot{\text{A}}$ -Pe spontan kristallisierte. Nach mehrmaligem Umlösen aus $\ddot{\text{A}}$ -Pe wurden 150 mg Kristalle vom Smp. 180–186° (= X) erhalten; $[\alpha]_D^{20} = +67,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,218$ in Chf). Misch-Smp. mit dem aus IX durch HClO_4 erhaltenen 3 β -Acetoxy-15-keto-14 α -ätiensäure-methylester (siehe weiter unten) bei 176–184°; Misch-Smp. mit dem von REICHSTEIN & Mitarbeitern³⁴⁾ erhaltenen Ester X bei 180–185°.



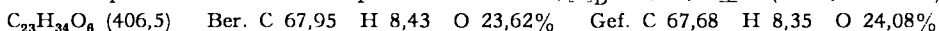
Die IR.-Spektren des von REICHSTEIN und Mitarbeitern³⁴⁾ und uns erhaltenen Esters X waren identisch.

b) 1-Keto-2 β , 4 $\beta\beta$ -dimethyl-7 β -acetoxy-4 $\alpha\alpha$, 8 $\beta\beta$, 10 $\alpha\beta$ -perhydro-phenanthren-2 α -bernsteinsäure-dimethylester (XX). Die letzten Fraktionen mit reinem Bz und die ersten mit Bz-Chf (29:1) des obigen Chromatogramms hinterliessen nach dem Eindampfen total 125 mg einer sehr leicht zu kristallisierenden Substanz, die nach zweimaligem Umlösen aus An- $\ddot{\text{A}}$ 115 mg schöne, lange Prismen von XX gab. Smp. 123–127°; $[\alpha]_D^{25} = +2,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,246$ in Chf). Die Mischprobe mit dem aus 3 β -Acetoxy-äti-(14)-säure-methylester (XIX) durch Ozonolyse bereiteten Bernstein-säureester XX (siehe weiter unten) schmolz bei 124–127°.



Der Dimethylester XX zeigte im UV. ein Maximum bei 289–290 μ und $\log \epsilon = 1,6$ (in Alk.).

c) 3 β -Acetoxy-14 α -hydroxy-15-keto-ätiensäure-methylester (XXVIII). Auf den eben unter b) erwähnten Bernsteinsäureester XX folgte im obigen Chromatogramm eine weitere Substanz (total 75 mg), die nur schlecht kristallisierte. Durch mehrmaliges Umlösen aus $\ddot{\text{A}}$ -Pe wurden 32 mg eines feinen Kristallpulvers XXVIII vom Smp. 238–248° erhalten; $[\alpha]_D^{21} = +54,2^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,036$ in Chf).



Die UV.- und IR.-Spektren sind im Theoretischen Teil dieser Arbeit erwähnt.

3 β -Acetoxy-15-keto-ätien-(8,14)-säure-methylester (XXVI)

15 mg 3 β -Acetoxy-14 α -hydroxy-15-keto-ätiansäure-methylester (XXVIII) vom Smp. 238–248° wurden in 2 ml Py gelöst, im Eis-NaCl-Gemisch abgekühlt und mit 4 Tropfen abgekühltem SOCl₂ versetzt. Es wurde 30 Min. im Kältegemisch stehengelassen, hierauf bei 20° im Vakuum (Wasserstrahlpumpe) eingedampft. Die übliche Aufarbeitung gab 14 mg Neutralteil. Aus Ä-Pe etwa 5 mg Kristalle vom Smp. 142–147°; $[\alpha]_D^{21} = +196,2^\circ \pm 5^\circ$ ($c = 0,422$ in Chf).

Die UV.- und IR.-Spektren sind im Theoretischen Teil dieser Arbeit erwähnt.

1-Keto-2 β , 4b β -dimethyl-7 β -acetoxy-4 $\alpha\alpha$, 8 $\alpha\beta$, 10 $\alpha\beta$ -perhydrophenanthren-2 α -bernsteinsäure-dimethylester (XX) aus XIX

Die Lösung von 220 mg 3 β -Acetoxy-14 β -hydroxy-ätiansäure-methylester (XVIII) vom Smp. 153–160° in 3 ml Py wurde in einem Kältegemisch abgekühlt, mit 0,3 ml gekühltem SOCl₂ versetzt und 4 Std. in der Kälte stehengelassen. Hierauf wurde etwas Bz zugegeben und im Vakuum unter Erwärmen auf 30° eingedampft. Nach üblicher Aufarbeitung wurde durch Umlösen aus Ä-Pe 170 mg des ungesättigten Esters XIX (Smp. 111–119°) erhalten. $[\alpha]_D^{22} = +32,1^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,065$ in Chf). – 148 mg Kristalle von XIX wurden in 15 ml neutralem Essigester gelöst. Die Lösung wurde in CO₂-Schnee-Aceton abgekühlt und hierauf 10 Min. mit ozonhaltigem (4,5%) Sauerstoff behandelt, bis die Lösung blau gefärbt war. Es wurde noch 15 Min. bei –80° stehengelassen, dann im Vakuum bei 20° Badtemperatur eingedampft und der Rückstand in 5 ml AcOH gelöst. Nach Zugabe einer Mischung von 2 ml W, 0,05 ml konz. H₂SO₄, 1,5 ml 30-proz. H₂O₂ und 5 ml AcOH wurde 90 Min. auf dem Dampfbad erhitzt, abgekühlt und mit Chf-Ä (1:4) ausgezogen. Übliche Trennung mit Na₂CO₃-Lösung gab 35 mg Neutralteil und 118 mg Säure, die nach der Veresterung mit ätherischem Diazomethan an Al₂O₃ chromatographiert wurde. Pe-Bz (3:1) bis Pe-Bz (1:1) eluierten 48 mg Substanz, die spontan kristallisierte. Smp. nach zweimaligem Umlösen aus Ä-Pe 120–122°.

3 β -Acetoxy-15-keto-14 β -ätiansäure-methylester (XII) aus X

50 mg 3 β -Acetoxy-15-keto-14 α -ätiansäure-methylester (X) vom Smp. 180–186° wurden in 10 ml Me gelöst, mit 2 ml 25-proz. KOH versetzt und 2 Std. auf dem Dampfbad erhitzt. Nach dem Ansäuern wurde im Vakuum vom Me befreit, wie üblich aufgearbeitet und die rohe Säure erst mit CH₂N₂ methyliert, dann acetyliert. Nach üblicher Aufarbeitung 42 mg Neutralprodukt, das an Al₂O₃ chromatographisch gereinigt wurde. Es konnten 18 mg Kristalle (aus Ä-Pe) vom Smp. 176–179° erhalten werden. Misch-Smp. mit dem Abbauester aus VI⁴) bei 177–179,5° und mit dem von REICHSTEIN und Mitarbeitern³⁴) erhaltenen Ester XII bei 176–179°; $[\alpha]_D^{21} = -20,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,118$ in Chf).

3 β -Acetoxy-15-keto-14 α -ätiansäure-methylester (X) aus IX

50 mg 3 β -Acetoxy-14 β , 15 β -oxido-ätiansäure-methylester (IX) wurden in 5 ml An gelöst, mit 0,001 ml 60-proz. HClO₄ versetzt und 30 Min. auf dem Dampfbad erhitzt. Das nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Rohprodukt (50 mg) wurde mit ätherischem Diazomethan nachmethyliert und hierauf an 2,0 g Silicagel chromatographiert. Reines Bz eluierte 30 mg Substanz, die roh bei 174–179° schmolz. Nach dem Umlösen aus Ä-Pe lag der Smp. bei 175–184°. Misch-Smp. mit dem beim Abbau von IV erhaltenen Ester X bei 176–184°.

SUMMARY

On the basis of new degradation work it is shown that Resibufogenin is 3 β -hydroxy-14 β , 15 β -oxido-bufadien-(20; 22)-olide. It can easily be isomerized into 15-ketosteroids (Coprostane type!), which are more stable in the C/D-*cis*-junction.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel