

SUMMARY

On treatment with 0,05N HCl in aqueous ethanol both 1,19-isopropyliden-ouabagenin (II) and ouabagenin (III) yield two new dehydration products, namely monoanhydro-ouabagenin and tetraanhydro-ouabagenin, in the ratio of 1:10. Monoanhydro-ouabagenin is proven to possess the structure of $1\alpha,11\alpha$ -oxido-strophanthidol (V); accordingly the structure VII is assigned to the tetraanhydro derivative. The $1\alpha,11\alpha$ -epoxide group is a characteristic feature for both being novel for the cardenolide series.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel
Department of Chemistry, Harvard University
Cambridge, Mass., USA

**22. $11\alpha,19,21$ -Triacetoxy- 14 -hydroxy- $\Delta^{1,4}$ - 14β -pregnadiendion-(3,20)
aus $1\alpha,11\alpha$ -Oxido-strophanthidol (Monoanhydro-ouabagenin)**

von **Ch. Tamm** und **W. Zürcher**

(3. XII. 62)

In der vorhergehenden Mitteilung ist gezeigt worden, dass Ouabagenin (I) bei der Behandlung mit verd. Salzsäure unter definierten Bedingungen in ein Monoanhydroderivat übergeht, das die Konstitution des $1\alpha,11\alpha$ -Oxido-strophanthidols (II) besitzt¹). Bei der Führung des Strukturbeweises von II war ersichtlich geworden, dass sich Steroide mit einer $1\alpha,11\alpha$ -Oxido-3,5-diol-Gruppierung leicht zu 11-oxygenierten Derivaten mit einer $\Delta^{1,4}$ -3-Ketongruppe umformen lassen, zum Beispiel zu Verbindungen vom Prednison-Typ. Von dieser Möglichkeit Gebrauch machend, beschreiben wir im folgenden die Herstellung des im Titel genannten Hormonanalogs XI.

Di-O-acetyl- $1\alpha,11\alpha$ -oxidostrophanthidol (III)¹) wurde wie üblich mit O_3 behandelt, das Ozonid mit Zn-Eisessig reduziert und das Reaktionsprodukt mit $KHCO_3$ hydrolysiert²). Das Rohprodukt bestand nach dem Dünnschichtchromatogramm aus 5 Komponenten. Durch direkte Kristallisation liess sich daraus das acetylfreie Ketol IV abtrennen. Die Mutterlaugen, welche die partiell acetylierten Derivate von IV enthielten, ergaben nach Acetylierung einheitliches Triacetat V. Auch das reine V war mit $KHCO_3$ nicht vollständig hydrolysierbar. In der Annahme, dass von den drei acetylierbaren Hydroxylen des freien Ketols IV dasjenige in 21-Stellung am raschesten reagiert, wurde IV mit 1,5 Mol Acetanhydrid in Pyridin-Dioxan bei 0° behandelt³). Es entstand ein Gemisch der Mono-, Di- und Triacetate VI bzw. VII bzw. V, das sich durch Chromatographie an Kieselgel, allerdings erst nach Anwendung der Modifikation von DUNCAN⁴), völlig auftrennen liess. Neben

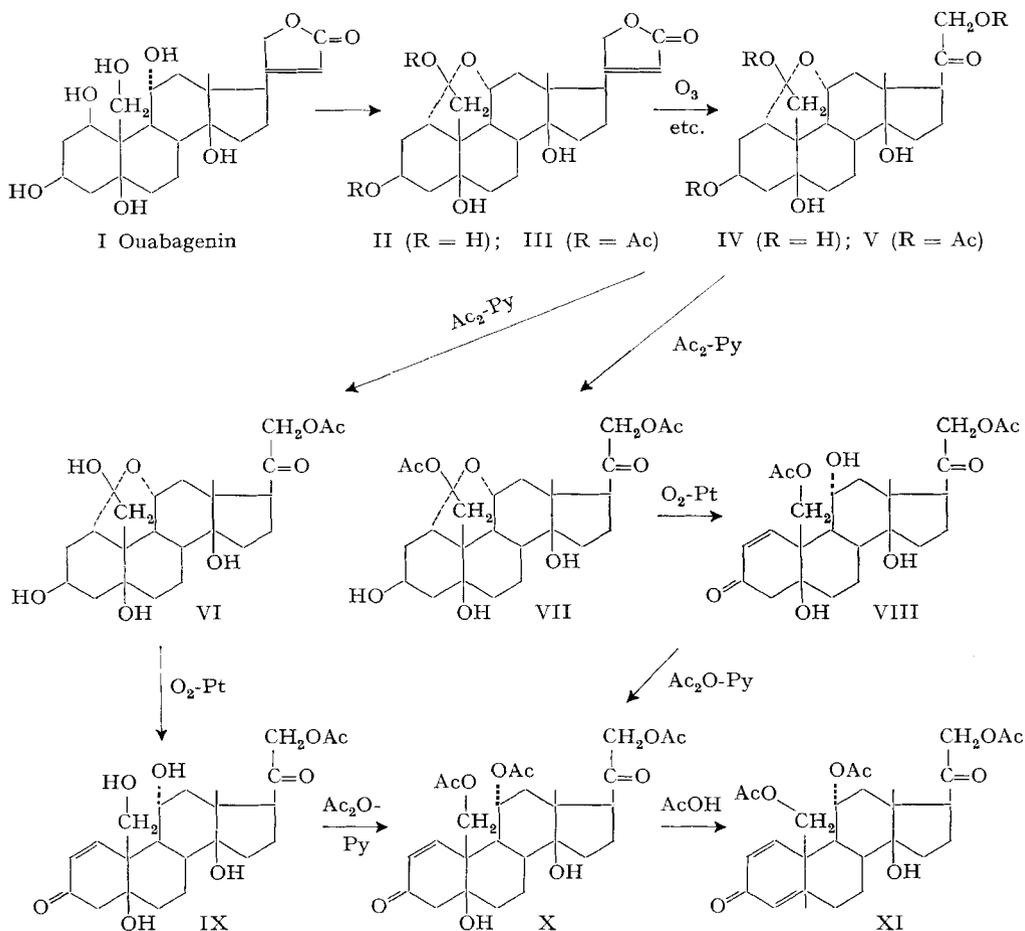
¹) G. VOLPP & CH. TAMM, Helv. 46, 219 (1963); vgl. auch Tetrahedron Letters No. 27, 31 (1960).

²) K. MEYER & T. REICHSTEIN, Helv. 30, 1508 (1947).

³) A. LARDON, Helv. 32, 1517 (1949).

⁴) G. R. DUNCAN, J. Chromatography 8, 37 (1962). Wir danken Herrn DUNCAN für die Mitteilung seines Verfahrens vor dessen Veröffentlichung.

wenig Triacetat V hatten sich die Mono- und Diacetyl-derivate zu gleichen Anteilen gebildet. Die Stellung der Acetylgruppen, entsprechend den Formeln VI und VII, ist nicht absolut, jedoch auf Grund der weiteren Umsetzungen ziemlich sicher bewiesen. Die Stoffe VI und VII wurden nicht näher charakterisiert, sondern direkt



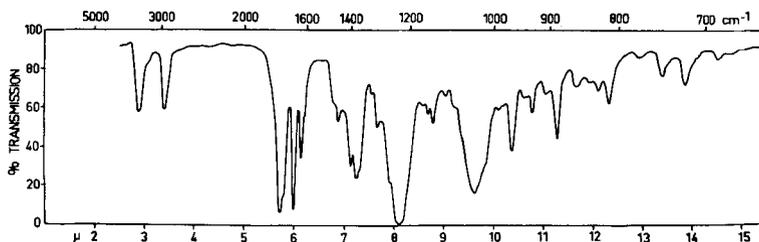
Es bedeuten: Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$; Py = Pyridin.

mit $\text{O}_2\text{-Pt}$ in wässrigem Aceton katalytisch dehydriert^{5) 1)}. Aus dem Diacetat VII wurde nach Chromatographie an Kieselgel ein chromatographisch einheitliches Produkt erhalten, dessen IR.-Spektrum eine α,β -ungesättigte Ketongruppe aufwies. Der Oxidring des intermediären gesättigten 3-Ons hatte sich wie erwartet¹⁾ geöffnet unter Bildung des 11α -Hydroxy- Δ^1 -3-ons VIII. Aus dem Monoacetyl-derivat VI bildete sich in analoger Weise das ungesättigte Keton IX. VIII und IX wurden nicht als solche charakterisiert, sondern nachacetyliert. Aus beiden Stoffen

⁵⁾ H. WIELAND, Ber. deutsch. chem. Ges. 45, 484, 2606 (1912); 46, 3327 (1913); 54, 2353 (1921); R. P. A. SNEEDEN & R. B. TURNER, J. Amer. chem. Soc. 77, 130, 190 (1955); A. KATZ, Helv. 40, 831 (1957); CH. TAMM & A. GUBLER, Helv. 41, 297, 1762 (1958); 42, 239 (1959).

entstand das gleiche Triacetylderivat X, das zwar dünn-schichtchromatographisch rein, aber bisher nur amorph erhalten wurde. X zeigte im UV. das für Δ^1 -3-One typische Absorptionsmaximum bei $231\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,00$) und im IR. alle seiner Struktur entsprechenden Banden⁶⁾. Es blieb jetzt nur noch die Einführung der Doppelbindung in 4-Stellung, durch Abspaltung der 5-Hydroxygruppe. Sie gelang glatt durch Erhitzen des Δ^1 -3-Ons X mit Eisessig unter Rückfluss. Nach Reinigung des Rohproduktes an der Kieselgelsäule wurde das Dienon XI einheitlich und in krist. Form gewonnen. Das UV.-Absorptionsmaximum hatte sich nach $241\text{ m}\mu$ ($\log \varepsilon = 4,26$) verschoben. Diese Lage ist für das gekreuzte Dienon-Chromophor im Ring A typisch⁷⁾. Damit im Einklang war auch das IR.-Spektrum, das neben der Hydroxylbande Carbonylschwingungen bei $5,70\text{--}5,74\ \mu$ (Acetyl); $5,80\ \mu$ (20-Keton) und $5,99\ \mu$ ($\Delta^{1,4}$ -3-Keton), sowie zwei C=C-Banden bei $6,14\ \mu$ und $6,21\ \mu$ aufwies (vgl. Fig.). Damit ist die Konstitution des Endprodukts XI gesichert.

Der SANDOZ AG, Basel, danken wir für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.



IR.-Spektrum von $11\alpha, 19, 21$ -Triacetoxy- 14 -hydroxy- $\Delta^{1,4}$ - 14β -pregnadien- $3, 20$ -dion (XI) fest in KBr

Experimenteller Teil

Allgemeines. Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur Messung der UV.- und IR.-Spektren wurden 1 Std. bei $0,02$ Torr bei $50\text{--}70^\circ$ getrocknet. Die UV.-Spektren wurden mit einem BECKMAN-Spektrophotometer Modell DK 2 und die IR.-Spektren mit einem PERKIN-ELMER-IR.-Zweistrahlspektrophotometer Modell 21 oder einem PERKIN-ELMER-Spektrophotometer Infracord Modell 137 (wird jeweils vermerkt) mit NaCl-Optik im Spektrollabor des Instituts aufgenommen. Die Mikroanalysen verdanken wir unserem Mikroanalytischen Laboratorium (Leitung E. THOMMEN). Die Säulenchromatographie an Kieselgel erfolgte nach DUNCAN⁴⁾ und die Dünn-schichtchromatographie (DC) mit Kieselgel nach STAHL⁸⁾.

O₃-Abbau von 3,19-Di-O-acetyl-1α,11α-oxido-strophanthidol (III). Durch eine Lösung von $1,51\text{ g}$ III vom Smp. $232\text{--}233^\circ$ in 175 ml Äthylacetat wurde bei -80° während 17 Min. O₃-haltiger Sauerstoff geleitet. Nach Eindampfen im Vakuum bei 20° wurde das rohe Ozonid in 30 ml Eisessig gelöst und unter Kühlung portionenweise unter Schütteln mit insgesamt 2 g Zn-Staub versetzt, worauf KJ-Stärke-Papier sich nicht mehr färbte. Nach Filtrieren und Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Chloroform aufgenommen, die Lösung mit $2N\text{ Na}_2\text{CO}_3$ und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt ($1,5\text{ g}$) wurde in 80 ml Methanol gelöst und mit 40 ml 3-proz. wässriger KHCO_3 -Lösung 18 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Zugabe von HCl bis pH 7 und Entfernen des Methanols im Vakuum wurde die wässrige Lösung mit Chloro-

⁶⁾ Zur Erhöhung der Ausbeuten an Triacetylderivat X wurden die in den Mutterlaugen verbliebenen Gemische der vorhergehenden Stufen analog mit O₂-Pt behandelt, acetyliert und chromatographiert.

⁷⁾ Vgl. L. DORFMAN, Chem. Review *53*, 47 (1953).

⁸⁾ E. STAHL, Chemiker-Ztg. *82*, 323 (1958); Arch. Pharmaz. *292/64*, 411 (1959); Angew. Chem. *73*, 646 (1961); vgl. auch E. DEMOLE, J. Chromatography *1*, 24 (1958).

form und Chloroform-Äthanol-(4:1) ausgeschüttelt. Nach Waschen mit wenig Wasser und Trocknen über Na_2SO_4 resultierten 580 mg Chloroformextrakt, der im DC (System Chloroform-Methanol-(9:1)) 5 Flecke (A-E) zeigte und bisher nicht kristallisierte, sowie 620 mg Chloroform-Äthanol-(4:1)-Extrakt, der im DC die 3 Flecke D, E und F zeigte. Der letztere Extrakt ergab aus Aceton-Äther 135 mg Kristalle vom Smp. 201–205°. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther reines $3\beta, 5, 14, 19, 21$ -Pentahydroxy- $1\alpha, 11\alpha$ -oxido- $5\beta, 14\beta$ -pregnanon-(20) (IV) in Prismen vom Smp. 201–202°. $[\alpha]_D^{21} = +60^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,182$ in Methanol). Rf-Wert im DC (System Chloroform-Methanol-(9:1)) 0,36. UV.-Spektrum in Äthanol: $\lambda_{\text{max}} = 280 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 1,69$). IR.-Spektrum fest in KBr: Banden bei $2,73 \mu$ (CH) und $5,88 \mu$ (C=O, 20-Keton). Keine Acetylbanden. Trocknung zur Analyse 5 Std. bei 110° .

$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_7$ (396,5) Ber. C 63,6 H 8,1 O 28,3% Gef. C 63,4 H 8,2 O 28,8%

Die Mutterlaugenrückstände wurden mit dem Chloroformextrakt extrahiert, vereinigt (1,07 g) und dienten so zur Weiterverarbeitung (= amorphe Mutterlaugen).

$3\beta, 19, 21$ -Triacetoxo- $5, 14$ -dihydroxy- $1\alpha, 11\alpha$ -oxido- $5\beta, 14\beta$ -pregnanon-(20) (V) aus IV. 341 mg der obigen amorphen Mutterlaugen wurden mit 3 ml Pyridin und 3 ml Acetanhydrid 18 Std. bei 37° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in Chloroform aufgenommen und die Lösung je 2mal mit 2N HCl, 2N Na_2CO_3 und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Es resultierten 398 mg Rohprodukt, das im DC (System Chloroform-Methanol-(95:5)) neben einem starken noch einen sehr schwachen Fleck zeigte und deshalb an 12 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Die mit Chloroform eluierten Fraktionen ergaben 271 mg farbloses amorphes V, das nach DC einheitlich war. Das IR.-Spektrum (CH_2Cl_2) zeigte Banden bei $2,80 \mu$ und $2,88$ – $2,91 \mu$ (OH); $5,74 \mu$ (C=O, Acetyl); Inflexion bei $5,81 \mu$ (C=O, 20-Keton) und $8,10 \mu$ (C–O–C, Acetat). Zur Analyse 5 Std. bei 100° getrocknet.

$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_{10}$ Ber. C 62,1 H 7,3 O 30,6 CH_3CO – 27,4%
(522,57) Gef. „ 62,1 „ 7,7 „ 30,5 „ 25,4%

Verseifung von $3\beta, 19, 21$ -Triacetoxo- $5, 14$ -dihydroxy- $1\alpha, 11\alpha$ -oxido- $5\beta, 14\beta$ -pregnanon-(20) (V) mit KHCO_3 . Eine Lösung von 190 mg amorphem V in 5 ml Methanol wurde mit 5 ml 5-proz. wässrigem KHCO_3 18 Std. bei 37° stehengelassen. Nach Entfernen des Methanols im Vakuum wurde 9mal mit je 25 ml Chloroform-Alkohol-(3:2) ausgeschüttelt und die Auszüge jeweils mit wenig Wasser gewaschen. Es resultierten 102 mg Rohprodukt A. Die wässrigen Anteile wurden auf pH 7 gebracht, im Vakuum eingedampft und der Rückstand mit Chloroform-Methanol extrahiert. Es resultierten 66 mg Rohprodukt B (enthält wenig IV, nicht weiter verarbeitet). Das Rohprodukt A wurde an 100 g Kieselgel chromatographiert. Zur Elution diente Methylchlorid-Methanol-(9:1) (250-ml-Fraktionen). Die Fraktionen 1 und 2 ergaben 38 mg amorphes Material, das im DC 2 Flecke zeigte, die rascher wanderten als IV, und direkt katalytisch dehydriert wurde (siehe unten). Die Fraktionen 3–7 ergaben 70 mg amorphes Material, das im DC 1 starken Fleck, der wie IV wanderte, zeigte, jedoch noch rascher wandernde Verunreinigungen enthielt. Das Material (60 mg) wurde deshalb an der gleichen Säule rechromatographiert. Nach Abtrennung von 9 mg im DC rascher laufenden Begleitstoffen in den Fraktionen 1 und 2 wurden aus den Fraktionen 3–7 61 mg reines Ketol IV erhalten.

Partielle Acetylierung von $3\beta, 5, 14, 19, 21$ -Pentahydroxy- $1\alpha, 11\alpha$ -oxido- $5\beta, 14\beta$ -pregnanon-(20) (IV). Eine Lösung von 59 mg reinem IV vom Smp. 201–202° in 1,0 ml Dioxan und 0,5 ml abs. Pyridin wurde mit 0,025 ml Acetanhydrid (= 1,5 Mol) versetzt und 20 Std. bei 0° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand noch zweimal mit Aceton abgedampft. Es resultierten 64 mg Rohprodukt, das im DC 3 Flecke zeigte. Es wurde zusammen mit 9 mg analogem Material aus einem anderen Versuch (insgesamt 73 mg) an 75 g Kieselgel chromatographiert. Zur Elution diente Methylchlorid-Methanol-(9:1) (100-ml-Fraktionen). Fraktion 1 ergab 3 mg Triacetat V. Fraktion 2 ergab 29 mg amorphes, DC-einheitliches Material, vermutlich Diacetat VII. IR.-Spektrum in CH_2Cl_2 (Infracord): Banden bei $2,9 \mu$ (OH); $5,75 \mu$ (C=O, Acetyl) und Inflexion bei $5,80 \mu$ (C=O, 20-Keton). Fraktion 3 lieferte 29 mg amorphes, DC-einheitliches Material, vermutlich Monoacetat VI. IR.-Spektrum in CH_2Cl_2 (Infracord): Banden bei $2,95 \mu$ (OH) (sehr stark); $5,72 \mu$ (C=O, Acetyl); $5,28 \mu$ (C=O, 20-Keton).

Partielle katalytische Dehydrierung des vermutlichen Diacetats VII. Eine Lösung von 28 mg des vermutlichen Diacetats VII in 10 ml Aceton und 7,5 ml Wasser wurde zu einer Suspension von

frisch bereitetem Pt (aus 17,5 mg PtO_2) in 2,5 ml Wasser gegeben und 30 Std. in O_2 -Atmosphäre geschüttelt. Nach Filtrieren und Eindampfen resultierten 30 mg Rohprodukt, das an 30 g Kieselgel chromatographiert wurde. Zur Elution diente Methylchlorid-Methanol-(95:5) (10-ml-Fractionen). Die Fraktionen 1–6 gaben nur Spuren Material. Die Fraktionen 7–13 gaben 20,5 mg amorphes Material; nach DC Gemisch (enthalt VIII). Die Fraktionen 14–21 gaben 13 mg amorphes Material, das im DC nur einen Fleck (sichtbar im UV.) zeigte, vermutlich das Δ^1 -3-Keton VIII. IR.-Spektren in CH_2Cl_2 (Infracord) Banden bei 2,78 μ und 2,88 μ (OH); 5,74 μ (C=O, Acetyl), Inflexion bei 5,80 μ (C=O, 20-Keton) und 5,94 μ (C=O, Δ^1 -3-Keton).

Partielle katalytische Dehydrierung des vermutlichen Monoacetats VI. Eine Lösung von 28 mg des vermutlichen Monoacetats VI wurde, genau wie im obigen Versuch beschrieben, mit O_2 -Pt behandelt und das Rohprodukt (29 mg) analog an 30 g Kieselgel chromatographiert. Es resultierten 14 mg vermutliches Δ^1 -3-Keton IX. Analog wurden 35 mg Material der Fraktionen 1 und 2 der Chromatographie des Rohprodukts A aus der Verseifung des Triacetats V (siehe oben) katalytisch dehydriert und chromatographiert, wodurch noch 8 mg vermutliches Δ^1 -3-Keton VIII und 19 mg vermutliches Δ^1 -3-Keton IX erhalten wurden.

11 α , 19, 21-Triacetoxo-5, 14-dihydroxy- Δ^1 -5 β , 14 β -pregnen-dion-(3, 20) (X). Die die Δ^1 -3-Ketone VIII und IX enthaltenden Fraktionen wurden, wie bei V beschrieben, acetyliert. 43 mg des so erhaltenen Rohprodukts wurden an 35 g Kieselgel chromatographiert. Zur Elution diente Methylchlorid-Methanol-(97:3) (10-ml-Fractionen). Die Fraktionen 1–7 ergaben 22 mg rohes X, das im DC noch einen Begleitfleck zeigte. Die Fraktionen 8–16 ergaben 23 mg DC-einheitliches, amorphes X. $[\alpha]_D^{23} = +60^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,830$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Äthanol: $\lambda_{max} = 231 \text{ m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,00$; ber. auf $\text{C}_{27}\text{H}_{36}\text{O}_{10}$). IR.-Spektrum in CH_2Cl_2 : Banden bei 2,80 μ und 2,95 μ (OH); 5,76 μ (C=O, Acetyl), Inflexion bei 5,82 μ (C=O, 20-Keton); 5,96 μ (C=O, Δ^1 -3-Keton), 6,24 μ (C=C, Δ^1 -3-Keton) und 8,20 μ (C–O–C, Acetat).

11 α , 19, 21-Triacetoxo-14-hydroxy- Δ^1 -4-14 β -pregnadien-dion-(3, 20) (XI) aus X. 25 mg reines 11 α , 19, 21-Triacetoxo-5, 14-dihydroxy- Δ^1 -5 β , 14 β -pregnen-dion-(3, 20) (X) wurden mit 1,5 ml Eisessig 30 Min. unter Rückfluss gekocht und hierauf im Vakuum vollständig eingedampft. Der Rückstand gab aus Methanol-Äther 15 mg Rohkristalle. Die Mutterlaugenrückstände wurden an 16 g Kieselgel chromatographiert. Zur Elution diente Methylchlorid-Methanol-(98:2) (10-ml-Fractionen). Die Fraktionen 4 und 5 lieferten noch weitere 3 mg Rohkristalle. Nach Umkristallisieren aus Methanol reines XI in Stäbchen vom Doppelsmp. 121–124°/211–215°. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther Stäbchen vom Smp. 210–216°. $[\alpha]_D^{25} = +64^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,943$ in Chloroform). UV.-Spektrum in Äthanol: Maxima bei 241 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 4,26$) und 320 $\text{m}\mu$ ($\log \epsilon = 1,67$). IR.-Spektrum (fest in KBr): Banden bei 2,89 μ (OH); 5,70–5,74 μ (C=O, Acetyl); 5,80 μ (C=O, 20-Keton); 5,99 μ (C=O, Δ^1 -4-3-Keton); 6,14 μ und 6,21 μ (C=C, Δ^1 -4-3-Keton) und bei 8,11 μ (C–O–C, Acetat). Zur Analyse 5 Std. bei 110° getrocknet.

$\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_9$ (502,5) Ber. C 64,5 H 6,8% Gef. C 64,7 H 7,0%

SUMMARY

The synthesis of 11 α , 19, 21-triacetoxo-14-hydroxy- Δ^1 -4-14 β -pregnadien-3, 20-dione is described using 1 α , 11 α -oxido-strophanthidol (monoanhydro-ouabagenin) as starting material.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel