

NMR.-Spektrum zeigte 0,85 D-Atome pro CH₂-Gruppe. Im Massenspektrum waren 0,81 D-Atome pro Molekel zu erkennen, wovon 0,62 als d₁-Derivat und 0,19 als d₂-Derivat.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] Vorhergehende Mitteilung: *H. Dahn, J. A. Garbarino & C. O'Murchu*, *Helv.* 53, 1370 (1970).
 [2] *S. Mitsui, K. Iijima & T. Masuko*, *Nippon Kagaku Zasshi* 84, 833 (1963) [*Chem. Abstr.* 60, 5369 (1964)]; *A. M. Khan, F. J. McQuillan & I. Jardine*, *Tetrahedron Letters* 1966, 2649; *J. chem. Soc. (C)* 1967, 136.
 [3] *S. Mitsui & E. Sato*, *Nippon Kagaku Zasshi* 86, 416 (1965) [*Chem. Abstr.* 63, 8149 (1965)].
 [4] *H. Dahn & U. Solms*, *Helv.* 35, 1162 (1952); *H. Dahn, P. Zoller & U. Solms*, *ibid.* 37, 565 (1954); *L. Birkofer*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 75, 429 (1942).
 [5] *E. Fischer & O. Weichold*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 41, 1286 (1908); *M. Betti & M. Mayer*, *ibid.* 41, 2071 (1908); *A. Ingersoll & R. Adams*, *J. Amer. chem. Soc.* 44, 2933 (1922).
 [6] *C. S. Marvel & W. A. Noyes*, *J. Amer. chem. Soc.* 42, 2259 (1920).
 [7] *R. E. Bowman & H. H. Stroud*, *J. chem. Soc.* 1950, 1342.
 [8] *A. Streitwieser jr. & J. R. Wolfe jr.*, *J. org. Chemistry* 28, 3263 (1963).
 [9] *A. Streitwieser jr., J. R. Wolfe jr. & W. D. Schaeffer*, *Tetrahedron* 6, 338 (1959); *V. E. Althouse, D. M. Feigl, W. A. Sanderson & H. S. Mosher*, *J. Amer. chem. Soc.* 88, 3595 (1966).
 [10] *A. Cambell & J. Kenyon*, *J. chem. Soc.* 1946, 25.
 [11] *H. Gerlach*, *Helv.* 49, 2481 (1966).

162. 3-O-Phosphoryl-digitoxigenin

Partialsynthetische Versuche in der Reihe der Herzgifte, 3. Mitteilung¹⁾

von **Ludwika Sawlewicz, Horst H. A. Linde** und **Kuno Meyer**

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

(26. VI. 70)

Zusammenfassung: Die Bereitung von 3-O-Phosphoryl-digitoxigenin (III), seines Dinatrium- und Piperaziniumsalzes sowie seines Dimethylesters IV wird beschrieben.

Die Gruppe der chemisch sehr nahe verwandten herzwirksamen Steroid-Glykoside ist durch die ihnen gemeinsame, weitgehend selektive Wirkung auf den Herzmuskel ausgezeichnet; für diese ist grundsätzlich der Geninanteil verantwortlich, während die an C-3 haftende Zuckerkomponente dafür nur von sekundärer Bedeutung ist, was vergleichende Versuche mit Glykosiden und den ihnen zugrundeliegenden Geninen sowohl beim Tier als auch beim herzinsuffizienten Menschen ergeben haben [2].

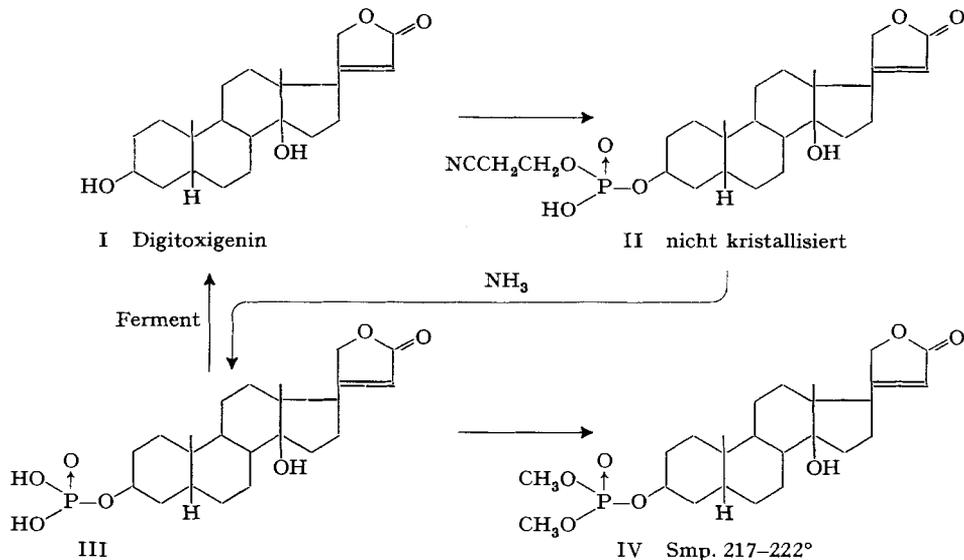
Im Rahmen von teilsynthetischen Versuchen in der Reihe der Steroid-Herzgifte beabsichtigten wir u. a. auch, den Zuckeranteil der bekanntesten und in der Medizin meistgebrauchten Glykoside vom Typus des Digitoxins durch Reste zu ersetzen, die der Gesamtmolekel eine besonders hohe Wasserlöslichkeit verleihen. Hier wird in Ergänzung früherer Arbeiten²⁾ in dieser Richtung die Bereitung des im Titel genannten Phosphorsäureesters beschrieben.

Zur Gewinnung von 21-O-phosphorylierten Steroiden, die früher nur durch mehrstufige Verfahren zugänglich waren (s. z. B. [4]), sind in neuerer Zeit verschiedene

¹⁾ 2. Mitt. [1].

²⁾ Erste Versuche in dieser Richtung waren von uns bereits vor längerer Zeit durch Bereitung der gut wasserlöslichen Kaliumsalze der Bernsteinsäurehalbesten von Digitoxigenin und von verwandten Aglykonen unternommen worden [3].

direkte Methoden bekannt geworden [5] [6]. Von diesen kommt für die Bereitung von 3-O-Phosphorsäure-cardenolidestern nur das unter milden Bedingungen durchführbare von *Brownfield & Shultz* [6] benützte und von *Tener* [8] erstmals zur Phosphorylierung von Nucleosiden beschriebene Verfahren in Frage: Man lässt Mono- β -cyanoäthylphosphorsäureester (β -CEB) und N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) in Pyridin bei Raumtemperatur auf das Carbinol einwirken, wobei der entsprechende saure Mono- β -cyanoäthylphosphorsäureester entsteht. Digitoxigenin (I) liess sich so leicht in II überführen. Zur Abspaltung der Cyanoäthylgruppe benützten wir statt



der üblicherweise verwendeten verd. NaOH eine Lösung von NH_3 [7], die den Butenolidring nicht angreift, oder NaJ in Methyläthylketon [8]. Der Phosphorsäuremonoester III gab im DC. und PC. [7] nur *einen* Fleck. Von III wurde das Dinatriumsalz und entsprechend den Angaben von *Brownfield & Shultz* [6] das kristallisierte Piperaziniumsalz und ausserdem mit ätherischem Diazomethan der Dimethylester IV hergestellt.

Zum Konstitutionsbeweis von III wurde dieses mit saurer Phosphatase hydrolysiert, was dünnschichtchromatographisch reines Digitoxigenin (I) ergab.

Bei der pharmakologischen Prüfung erwies sich das Na-Salz von III an der Katze (Methode nach *Hatcher*) bis zu 5,4 mg/kg als wirkungslos, während die mit dem Dimethylester ermittelte *Hatcher*-Dosis im Mittel 0,7 mg/kg betrug.

Der Direktion der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, Basel, danken wir bestens für die Unterstützung dieser Arbeit, Herrn Prof. Dr. *A. Hürlimann* und Herrn Dr. *H. P. Bächtold* für die pharmakologische Prüfung und Herrn Dr. *A. Dirscherl* (alle *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*) für die Ausführung der Mikroanalysen.

Experimenteller Teil

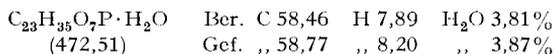
Allgemeines. Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. - *Abkürzungen:* Ae = Diäthyläther, AcOH = Eisessig, Alk = Äthanol, An = Aceton, Bu = n. Butanol, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, Cy =

Cyclohexan, DC. = Dünnschichtchromatogramm, DCC = Dicyclohexyl-carbodiimid, E = Essigsäure-äthylester, Me = Methanol, ML. = Mutterlaugenrückstände, PC. = Papierchromatogramm, Py = Pyridin, SiO₂ = Kieselgel (zur Säulenchromatographie «Merck» 0,05–0,2 mm, zur DC. «Camag» D5 mit 0,5% Leuchtpigment ZS Super «Riedel-De Haën»), W = Wasser.

3-O-[Mono-β-cyanoäthylphosphoryl]-digitoxigenin (II) aus I. - a) *Phosphorylierungsreagenz.* 15 g saurer Ionenaustauscher (Dowex 50 W × 8, 200–400 mesh, H⁺-Form), in einem Becherglas durch mehrmaliges Dekantieren mit W neutralgewaschen, wurden in 10 ml W suspendiert und mit 5 g Ba-Salz von β-CEB versetzt und so lang gerührt, bis kein Ba-Salz mehr sichtbar war. Hierauf wurde das Gemisch in eine Säule (∅ = 2 cm) gegeben und solange mit W (Überdruck) gewaschen, bis das Eluat neutral reagierte. Die Eluate wurden in einem Kolben, der 10 ml Py enthielt, gesammelt und im Vakuum bei 50–60° eingedampft. Der Rückstand wurde 10–12mal mit je 10 ml trockenem Py versetzt und dieses wieder im Vakuum entfernt, und schliesslich nach 2 Std. Trocknen bei 40°/0,1 Torr in 10 ml Py gelöst. Diese Lösung enthält etwa 260 mg β-CEB (P-Reagenz) pro ml.

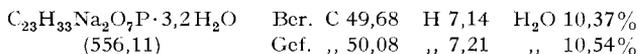
b) *Umsetzung von I mit dem P-Reagenz.* 936 mg Digitoxigenin (I) (2,5 mMol) wurden mit 4,3 ml P-Reagenz (entspr. 7,5 mMol) und 10 ml Py versetzt und im Vakuum eingedampft. Nach Versetzen mit 10 ml trockenem Py wurde wiederum im Vakuum zur Trockene gebracht und dieses Verfahren noch 5mal mit je 10 ml Py wiederholt. Hierauf wurde der Rückstand in 10 ml Py gelöst, mit einer Lösung von 4,17 g (etwa 20 mMol) DCC in 77 ml Py, die 1–2 Std. im voraus bereitet worden war, versetzt und 24 Std. verschlossen bei 20° stehengelassen. Nach dieser Zeit war im DC. [Chf-Alk-(10:1)] kein I mehr nachweisbar. Es wurde nun mit 13 ml W versetzt und 24 Std. bei 20° stehengelassen. Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wurde abgenutscht und mit W gewaschen. Das Filtrat dampfte man im Vakuum ab, gab 5 ml 2N Na₂CO₃-Lösung und 2 ml W zu und extrahierte 4mal mit Chf. Die Chf-Extrakte wurden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand enthielt u. a. nur sehr wenig I. Die alkalischen, wässrigen, mit Chf ausgeschüttelten Phasen wurden mit 2N HCl auf pH 4 gebracht und 4mal mit je 10 ml Chf-Alk-(4:1) extrahiert. Die Chf-Alk-Auszüge wurden 3mal mit je 3 ml W gewaschen, sorgfältig von der Wasserphase abgetrennt und direkt im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde 2mal mit Chf-Alk-(4:1) versetzt und dieses im Vakuum verjagt: 1,173 g II als leicht gelb gefärbter Schaum. *Kedde-Reaktion* [9] stark positiv, ebenso der Nachweis auf P und N.

3-O-Phosphoryl-digitoxigenin III. - a) *Durch Verseifen von II mit NH₃-Lösung.* Die obigen 1,173 g II wurden in 4 ml Me, 85 ml W und 4,25 ml 25-proz. NH₃-Lösung gelöst und in verschlossenem 500-ml-Rundkolben 2 Std. auf 80–90° erwärmt. Hierauf dampfte man im Vakuum ab, nahm den Rückstand in 5 ml N HCl auf, wobei sich ein Niederschlag bildete, und schüttelte 4mal mit je 10 ml Chf-Alk-(4:1) aus. Die Chf-Auszüge wusch man 3mal mit je 3 ml W, trennte sie sorgfältig vom W ab und dampfte sie im Vakuum ein: 920 mg Rückstand = rohes III. $[\alpha]_D^{20} = 0^\circ \pm 3^\circ$ (in Alk). *Kedde-Reaktion* [9] stark positiv.



b) *Durch Umsetzen von II mit NaJ in Methyläthylketon.* Eine Lösung von 200 mg trockenem II in 5 ml trockenem Methyläthylketon wurde mit 200 mg NaJ versetzt und 15 Std. gekocht. Hierauf wurde im Vakuum abgedampft, der Rückstand zwischen Chf und W verteilt, die wässrige Phase mit 2N HCl auf pH 4 gebracht und 5mal mit je 30 ml Chf-Alk-(4:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden der Reihe nach mit W gewaschen, im Vakuum eingedampft und der Rückstand durch 3maliges Versetzen mit Bz und Verdampfen desselben im Vakuum getrocknet: 77 mg Rückstand (= III), der im DC. [E-Cy-(5:2) und Chf-Alk-(10:1)] oder im PC. [Bu-AcOH-W-(5:3:2)] (nach Trocknung des Papiers mit gesättigter Lösung von SbCl₃ in Chf besprüht und erhitzt oder mit *Kedde-Reagenz* besprüht) nur *einen* Fleck gab.

Dinatriumsalz von III. Eine Lösung von 189 mg III in trockenem Alk wurde mit methanolischem NaOH auf ein pH von etwa 7 gebracht. Die nach Zufügen von Ae ausgefallene Substanz (205 mg) ergab, aus Me kristallisiert, 170 mg Di-Na-Salz. Im PC. (siehe bei III) nur *ein* Fleck.



Piperaziniumsalz von III. Eine Lösung von 225 mg III in Me wurde mit einer Lösung von Piperazin in Me bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt. Der nach Zugabe von viel Ae aus-

gefallene Niederschlag wurde abfiltriert (225 mg) und aus viel Me kristallisiert: 177 mg Nadeln vom Smp. 228–235°, $[\alpha]_D^{20} = +10,7^\circ \pm 3^\circ$ (in W).

$C_{27}H_{45}N_2O_7P \cdot 2,1H_2O$	Ber. C 56,06	H 8,57	N 4,84	P 5,35	H ₂ O 6,54%
(578,47)	Gef. „ 55,81	„ 8,59	„ 5,07	„ 5,74	„ 6,73%

Enzymatische Dephosphorylierung von III zu I. Eine Lösung von 10 mg Dinatriumsalz von III in 1 ml W wurde mit 8 mg «Saure Phosphatase gereinigt» (C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim) versetzt und 80 Std. bei 37° stehengelassen. Hierauf wurde mit Chf extrahiert, welches nach dem Waschen mit W, Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Eindampfen 8 mg rohes I hinterliess. Aus An-Ae Kristalle vom Smp. 243–247°, Misch-Smp. mit Digitoxigenin (I) ohne Erniedrigung, im DC. ein einziger Fleck.

Dimethylester IV von III. Eine Lösung von 920 mg III in wenig Me wurde mit ätherischem Diazomethan bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach 2 Min. wurde der Überschuss an Diazomethan im Vakuum entfernt und der Rückstand (965 mg) aus wenig An-Ae kristallisiert: 660 mg Kristalle vom Smp. 213–220°. Nach 2maligem Umlösen aus Chf-Ae 610 mg Blättchen vom Smp. 215–220°. Die vereinigten ML. (355 mg) wurden an 80 g SiO₂ mit Chf-Alk-(20:1) chromatographiert, wobei (aus Chf-Ae) noch 125 mg einheitliche Kristalle von IV, Smp. 217–222°, erhalten wurden. $[\alpha]_D^{20} = +19,4^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf). $\lambda_{max} = 215$ nm ($\log \epsilon = 4,2$).

$C_{25}H_{39}O_7P$	Ber. C 62,23	H 8,15	P 6,24	OCH ₃ 12,86%
(482,54)	Gef. „ 61,86	„ 7,93	„ 6,34	„ 12,74%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 2. Mitteilung: L. Sawlewicz & K. Meyer, Pharmaceut. Acta Helv. 45, 261 (1970).
 [2] K. K. Chen, R. E. Brown & H. Worth, J. Amer. pharmaceut. Assoc. 27, 189 (1938); H. Gold, N. T. Kwit, S. J. Shane & C. Dayrit, J. clin. Pharmacol. 9, 148 (1969).
 [3] M. Zingg & K. Meyer, Pharmac. Acta Helv. 32, 393 (1957).
 [4] I. G. Poos, R. Hirschmann, G. A. Bailey, F. A. Culler Jr., L. A. Sarett & J. M. Chemerda, Chemistry & Ind. 1958, 1260.
 [5] K. Irmischer, Chemistry & Ind. 1961, 1035.
 [6] R. B. Brownfield & W. Shultz, Steroids 2, 597 (1963).
 [7] G. M. Tener, J. Amer. chem. Soc. 83, 159 (1961).
 [8] L. Zervas & I. Dilaris, J. Amer. chem. Soc. 77, 5354 (1955); Chem. Ber. 89, 925 (1956); vgl. hierzu auch F. Cramer & D. Voges, Chem. Ber. 92, 952 (1959).
 [9] D. L. Kedde, Diss. Leyden 1946; Pharmac. Weekblad 82, 741 (1947); vgl. auch I. E. Bush & D. H. Taylor, Biochem. J. 52, 643 (1952).

163. 3β-Hydroxy-14, 15β-epoxy-16β-acetoxy-5β, 14β-card-20(22)-enolid aus Gitoxigenin

Partialsynthetische Versuche in der Reihe der Herzgifte, 4. Mitteilung [1]

von Ursula Boffo, Horst H. A. Linde und Kuno Meyer

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

(26. VI. 70)

Zusammenfassung. Die Teilsynthese von 3β-Hydroxy-14, 15β-epoxy-16β-acetoxy-5β, 14β-card-20(22)-enolid (IX) wird beschrieben.

Für Vergleichszwecke benötigten wir das im Titel genannte Epoxid IX sowie dessen Acetylverbindung VIII. Diese beiden Cardenolide wurden ausgehend von Di-O-formylgitoxigenin (I) bzw. Di-O-acetylgitoxigenin (II) über ihre 14-Anhydro-