

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)

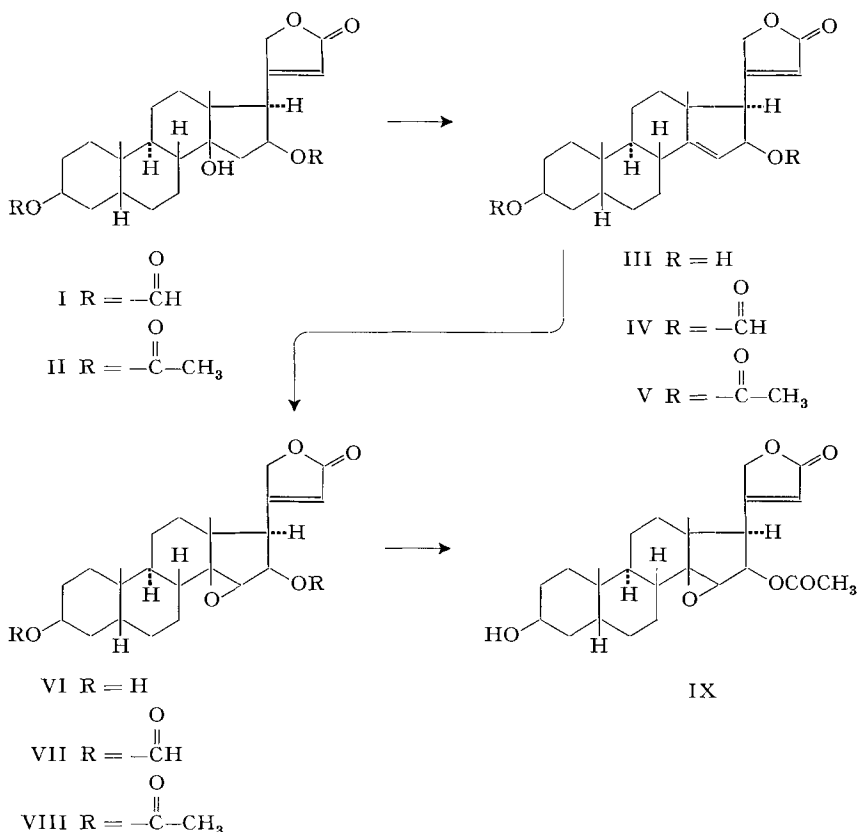
Zusammenfassung. Die Teilsynthese von 3β-Hydroxy-14, 15β-epoxy-16β-acetoxy-5β, 14β-card-20(22)-enolid (IX) wird beschrieben.

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-

verbindungen IV bzw. V [2] durch Epoxydierung nach demselben Verfahren – Umsetzung in Aceton mit einer wässrigen Lösung von N-Bromacetamid – bereitet, wie die früher [3] beschriebenen 14,15 β -Epoxyde der Digitoxigeninreihe (vgl. hierzu auch [4]). Zur Gewinnung von IX aus dem Epoxid VII wurde dieses in Methanol mit wässrigem NH₃ zum Epoxid VI verseift, das durch partielle Acetylierung IX gab.

Da unseres Wissens III noch nie beschrieben wurde¹⁾, haben wir auch noch dieses Δ^{14} -Anhydrocardenolid durch Verseifen von IV mit wässrigem NH₃ bereitet.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit, Frau Dr. D. Živanov und Herrn E. Hauser für ihre Mitarbeit bei der Auftrennung von Substanzgemischen, Frl. S. Spengel (von unserem Institut) für die Aufnahme der NMR.-Spektren und Herrn Dr. W. Vetter (F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel) für die Aufnahme der MS.-Spektren.



Experimentelles. – *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: Ac₂O = Essigsäureanhydrid, Ae = Diäthyläther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Bz = Benzol, Chf = Chloroform, Cy = Cyclohexan, DC. = Dünnschichtchromatographie

¹⁾ In der Arbeit von Voigtländer, Balsam & Hampel [5], ist von dem «bisher unbekanntem Δ^{14} -Anhydrodigitoxigenin (bzw. seinem Rhamnosid)» die Rede, was ganz offensichtlich ein Schreibfehler ist, da damit die $\Delta^{8(14)}$ -Anhydroverbindungen gemeint sind.

oder Dünnschichtchromatogramm, Di = Dioxan, E = Essigsäure-äthylester, Fr. = Fraktionen, Me = Methanol, ML = Mutterlaug(e)n-rückstände, SiO₂ = Kieselgel (zur Säulenchromatographie «Merck» 0,05–0,2 mm, zur DC. «Camag» D5 mit 0,5% Leuchtpigment ZS Super «Riedel de Haën»), Py = Pyridin, W = Wasser. Gemische von Flüssigkeiten sind in Vol.-Teilen angegeben.

DC.: Zur Sichtbarmachung der Substanzen wurde nach Besprühen mit konz. H₂SO₄-Alk-(1:1) auf 130–150° erhitzt.

Analytisches: Die Mol.-Gew. wurden massenspektroskopisch (MS9-Massenspektrometer der Firma AEI) bei etwa 70 eV und mit Direktionaleinlass bestimmt. Die NMR.-Spektren wurden bei 60 MHz (T-60, Varian) mit Tetramethylsilan (= 0 ppm) als internem Standard aufgenommen.

3,16-Di-O-formylgitoxigenin (I). Eine Lösung von 3 g Gitoxigenin vom Smp. 228–235° in 15 ml Py wurde auf –10° abgekühlt, innerhalb von 30 Min. mit 14 ml eines auf –10° abgekühlten 2:1-Gemisches von 98-proz. Ameisensäure und Ac₂O versetzt und 15 Std. bei –10° stengelassen. I wurde mit W ausgefällt, abgenutscht, mit W gewaschen, in einem Rundkolben in An gelöst, mit Bz versetzt und im Vakuum abgedampft: 3,34 g rohes I, das nach DC. [E-Cy-(1:1)] nur noch sehr wenig Edukt enthielt. Aus An Kristalle – nach DC. einheitlich – vom Smp. 227–229°; $[\alpha]_D^{23} = -2^\circ \pm 2^\circ$ (Chf). NMR. (CDCl₃): Di-formyl: 7,97 und 8,08 ppm (je 1H, Singulette), C(18)-3H und C(19)-3H: 0,97 ppm (6H, Singulett).

3β,16β-Diformyloxy-5β-card-14,20(22)-dienolid (IV) aus I. 3,34 g rohes I wurden in 25 ml Py gelöst, auf –15° abgekühlt, mit 12 ml einer bei –20° bereiteten 5:1-Mischung von 12 ml Py-SOCl₂ versetzt und 15 Min. bei –15° stengelassen. Hierauf wurde unter weiterem Kühlen mit Eisstückchen und W versetzt. Das ausgefallene IV wurde abgenutscht, mit W gewaschen und in An gelöst; die Lösung wurde mit Bz versetzt und im Vakuum abgedampft: 3,1 g rohes IV, das nach DC. [E-Cy-(1:1)] noch etwas I enthielt. 750 mg rohes IV gaben aus Chf-Ae nach 2maligem Umkristallisieren grobe Nadeln vom Smp. 142–145°; $[\alpha]_D^{23} = +209^\circ \pm 2^\circ$ (Chf). $\lambda_{max}^{Alk} = 212$ nm (log $\epsilon = 4,25$). NMR. (CDCl₃): Di-formyl: 8,01 ppm (2H, «Singulett»), C(18)-3H und C(19)-3H: 1,01 ppm und 1,1 ppm (je 3H, Singulette), C(15)-Vinyl-H: etwa 5,57 ppm (etwa 1H). M⁺ nicht vorhanden, dafür [M – HCOOH]⁺ = 382 entsprechend C₂₄H₃₀O₄.

3β,16β-Dihydroxy-5β-card-14,20(22)-dienolid (III) aus IV. Eine Lösung von 430 mg ML von IV (nach DC. fast einheitlich) in 10 ml Me und 2 ml Di wurde mit 2 ml 10-proz. wässriger NH₃-Lösung versetzt und 48 Std. bei 20° stengelassen. Nach Neutralisieren mit verd. HCl wurde im Vakuum vom Me befreit, wobei III kristallin ausfiel. Abnutschen, Nachwaschen mit Wasser und Aufnehmen in Me-Chf gab auf Zusatz von An Prismen von III. Smp. 240–245° (nach mehrmaligem Umlösen aus Chf). Nach DC. [E-Cy-(1:1)] einheitlich. $[\alpha]_D^{23} = +75^\circ \pm 2^\circ$ [Chf-Me-(1:1)]. NMR. ((CD₃)₂SO): C(15)-Vinyl-H: 5,4 ppm (1H, breites Singulett), C(19)-3H und C(18)-3H: 0,95 und 1,02 ppm (je 3H; Singulette). M⁺ = 372 entsprechend C₂₃H₃₂O₄.

3β,16β-Dihydroxy-14,15β-epoxido-5β,14β-card-20(22)-enolid (VI) aus IV. Eine Lösung von 2,64 g rohem IV in 100 ml An wurde auf 0° abgekühlt, mit der Lösung von 2 g N-Bromacetamid in 50 ml W versetzt und 3 Tage bei 0° stengelassen. Hierauf wurde 1 g N-Bromacetamid zugesetzt und weitere 3 Tage bei 0° stengelassen. Nach Neutralisieren der Lösung mit verd. Na₂CO₃ wurde das An im Vakuum entfernt, die verbliebene wässrige Lösung erschöpfend mit Chf extrahiert, dieses mit W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft: 2,4 g Rohprodukt, das nach DC. [E-Cy-(1:1)] neben VII noch zahlreiche andere Stoffe enthielt. – Zur Verseifung der Formyloxygruppen wurde in 40 ml Me gelöst, mit 6 ml 10-proz. NH₃-Lösung versetzt und 45 Std. bei 20° stengelassen. Nach Konzentrieren der Lösung im Vakuum bei 30–40° wurde diese mehrmals mit Chf-Alk-(4:1) extrahiert. Die organischen Phasen wurden mit verd. HCl, verd. KHCO₃-Lösung und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Den Rückstand (2 g) löste man in 3 ml Chf-Alk-(4:1), gab 3 g Al₂O₃ (neutral, «Woelm») zu und trocknete dieses bei 40° im Vakuum. Das Substanz-Al₂O₃-Gemisch wurde auf eine mit 200 g SiO₂ und E-Cy-(3:2) bereitete Säule (ϕ = 25 mm) gebracht und chromatographiert. Durchlaufgeschwindigkeit 20 ml/30 Min. = eine Fr. Die Eindampfrückstände der Fr. 96–128 wogen 1,05 g = VI, das nach DC. [Chf-Me-(19:1)] geringe Mengen einer unpolaren Substanz enthielt. Aus An 550 mg Prismen, Smp. 236–243°; $[\alpha]_D^{23} = +40^\circ \pm 2^\circ$ (Me). NMR. ((CD₃)₂SO): C(19)-3H und C(18)-3H: 0,87 und 0,92 ppm (je 3H, Singulette). M⁺ = 388 entsprechend C₂₃H₃₂O₅.

3 β -Hydroxy-16 β -acetoxy-14,15 β -epoxido-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (IX) aus VI. 100 mg Kristalle von VI vom Smp. 236–243° sowie 450 mg ML von VI wurden in 7 ml Py gelöst. Die Lösung wurde mit 150 mg Ac₂O versetzt, 45 Std. bei 20° stehengelassen, dann mit W versetzt und abgedampft. Der Rückstand wurde in einigen Tropfen Chf gelöst, mit 700 mg Al₂O₃ (neutral, «Woelm») versetzt und dieses im Vakuum getrocknet. Das Substanz-Al₂O₃-Gemisch wurde auf eine mit 60 g SiO₂ und E-Cy-(1:1) bereitete Säule (\varnothing = 20 mm) gebracht und chromatographiert. Durchlaufgeschwindigkeit 1,5 ml/Min., Fr. zu 45 ml. Die Eindampfrückstände der Fr. 15–30 = 360 mg gaben aus An-Ac 16 mg Prismen von IX, Smp. 244–248°; $[\alpha]_D^{23} = +23^\circ \pm 2^\circ$ (Chf), die nach DC. [E-Cy-(1:1)] völlig einheitlich waren. Aus den ML. konnten noch 218 mg Kristalle vom Smp. 241–245° erhalten werden, die nach DC. eine Spur einer Verunreinigung enthielten. $\lambda_{max}^{Alk} = 212$ nm ($\log \epsilon = 4,192$). NMR. (CDCl₃): C(19)–3H und C(18)–3H: 1,01 ppm (6H, Singulett). $M^+ = 430$ entsprechend C₂₅H₃₄O₆.

3 β ,16 β -Diacetoxy-14,15 β -epoxido-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (VIII) aus II. Eine Lösung von 1,5 g Di-O-acetylgitoxigenin vom Smp. 240–245° in 7,5 ml Py wurde auf –15° abgekühlt, mit dem auf –15° abgekühlten Gemisch von 7,5 ml Py und 1,15 ml SOCl₂ versetzt und 30 Min. bei –15° stehengelassen. Nach Zugabe von Eisstückchen fiel das Anhydroprodukt V aus, das abgenutscht, mit W gewaschen und getrocknet wurde: 1,33 g, die nach DC. [E-Cy-(1:1)] noch eine Spur des Edukts enthielten. Eine Lösung dieses rohen V in 75 ml An wurde auf 0° abgekühlt und mit der Lösung von 1,5 g N-Bromacetamid in 37,5 ml W versetzt und 134 Std. bei 0° im Dunkeln stehengelassen. Während dieser Zeit gab man noch 3mal je 0,75 g festes N-Bromacetamid zu. Nach Neutralisieren mit gesättigter KHCO₃-Lösung wurde im Vakuum vom An befreit, der wässrige Rückstand mit Chf extrahiert, die Chf-Auszüge mit W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Den Rückstand löste man in 10 ml Chf und 4 ml Alk, versetzte mit 5 g Al₂O₃ («Woelm», neutral) und rührte 6 Std. bei 20°. Das Al₂O₃ wurde abfiltriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft, der Rückstand in wenig Chf-Alk-(5:2) gelöst, mit 4 g Al₂O₃ verrieben, dieses im Vakuum getrocknet und auf eine mit E-Cy-(3:7) bereitete Säule (\varnothing = 27 mm) von 200 g SiO₂ gegeben. Durchlaufgeschwindigkeit 1,5 ml/Min., Fr. zu 45 ml. Die Eindampfrückstände der Fr. 41 bis 54 (450 mg) gaben aus (wenig) An auf Zusatz von Ac 267 mg Prismen von VIII, die nach DC. [Chf mit 0,5% Me] einheitlich waren. Smp. 213–217°; $[\alpha]_D^{24} = +20^\circ \pm 2^\circ$ (Chf). $\lambda_{max}^{Alk} = 212$ nm ($\log \epsilon = 4,212$). NMR. (CDCl₃): C(19)–3H und C(18)–3H: 1,02 ppm (6H, Singulett). M^+ nicht sichtbar, dafür $(M - CH_2=C=O)^+ = 430$ (aus der Acetoxygruppe an C-16) entsprechend C₂₅H₃₄O₆.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] 3. Mitteilung: *L. Sawlewicz, H. H. A. Linde & K. Meyer*, *Helv.* 53, 1382 (1970).
 [2] *H. Jäger, O. Schindler & T. Reichstein*, *Helv.* 42, 977 (1959).
 [3] *P. Hofer, H. H. A. Linde & K. Meyer*, *Helv.* 45, 1041 (1962); *L. Sawlewicz, H. H. A. Linde & K. Meyer*, *Helv.* 51, 1353 (1968).
 [4] *H. Sshii, T. Tozoy & D. Satoh*, *Chem. pharmaceut. Bull.* 11, 576 (1963); *Ch. R. Engel & G. Bach*, *Steroids* 3, 593 (1964).
 [5] *H. W. Voigtländer, G. Balsam & B. Hampel*, *Arch. Pharmaz.* 299, 679 (1966), und zwar S. 681.