

215. Umsetzung von 3-O-Acetyl-14-anhydrodigitoxigenin und 3-O-Acetyldigitoxigenin mit Osmiumtetroxid

von M. Schüpbach¹⁾, A. F. Krasso²⁾, M. Binder und Ch. Tamm

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

(17. VII. 71)

Summary. Treatment of 3-O-acetyl-14-anhydrodigitoxigenin (**1**) with 1.1 equivalents of OsO₄ gave both the 14 α ,15 α -diol **2** and the 14 β ,15 β -diol **4**. Degradation to the corresponding methyl etianates **7** and **10**, respectively, established their stereochemistry. Treatment of both the 14-hydroxy-15-acetoxy-cardenolides **3** and **5** with OsO₄ leads to the expected mixtures of 20,22-diols, a partial separation of which was achieved after acetylation. The butenolide ring of 3-O-acetyldigitoxigenin (**25**) also reacted with OsO₄, yielding the two 20,22-diols **26** and **27**, the stereochemistry of which has tentatively been assigned on the basis of NMR. data.

Um die Herzwirksamkeit von C/D-*trans*-verknüpften Cardenoliden zu prüfen, hatten wir versucht, 14-*epi*-Digitoxigenin durch mikrobielle Hydroxylierung von 14-Desoxy-14 α H-digitoxigenin zu erhalten, jedoch ohne Erfolg. Das gewünschte 14-*epi*-Digitoxigenin wurde schliesslich auf chemischem Weg aus 3-O-Acetyl-14-anhydrodigitoxigenin erhalten [1]. Kernstück der betreffenden Reaktionssequenz war die Umsetzung von 3-O-Acetyl-14-anhydrodigitoxigenin mit OsO₄ in Pyridin. Bei dieser Reaktion wird in Gegenwart von überschüssigem OsO₄ auch die Doppelbindung des Butenolidrings angegriffen. Wir haben deshalb diese Umsetzung auch mit 3-O-Acetyl-digitoxigenin selbst durchgeführt. Über die bei diesen Reaktionen anfallenden hydroxylierten Digitoxigenin- und *epi*-Digitoxigenin-Abkömmlinge und einige ihrer Acetylderivate wird im folgenden berichtet.

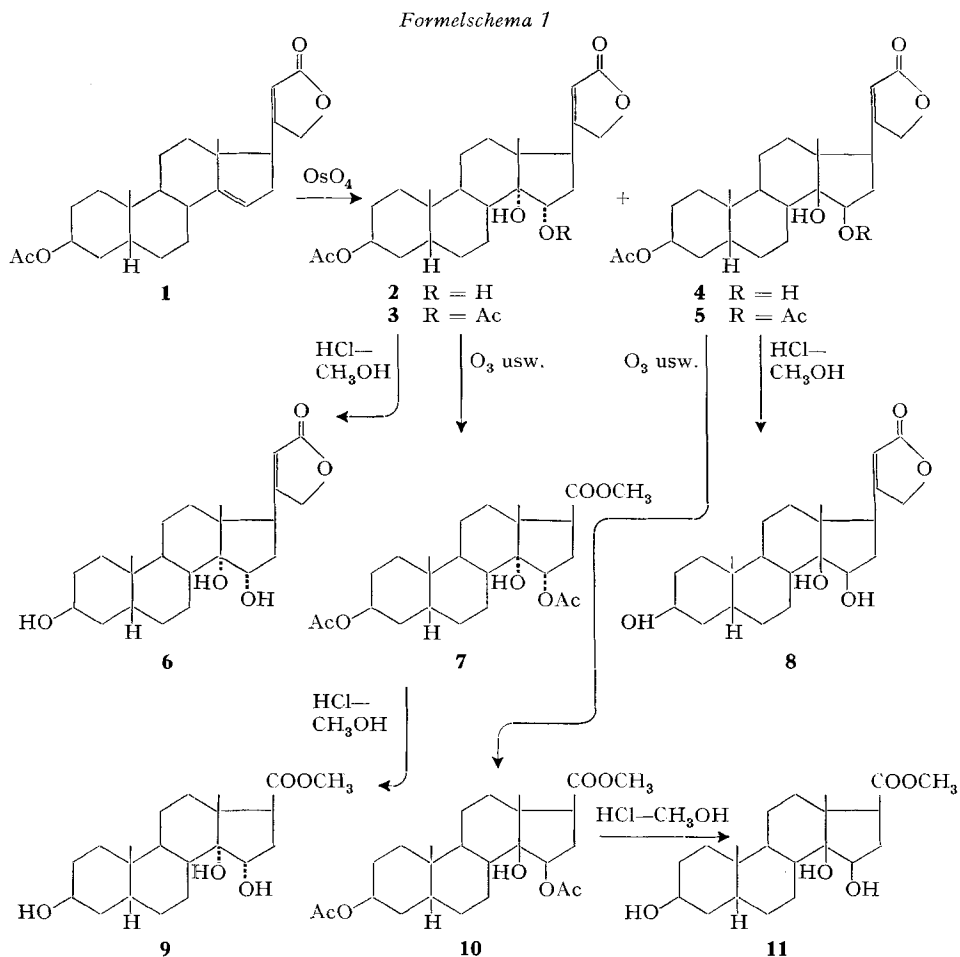
1. Umsetzung von 3-O-Acetyl-14-anhydrodigitoxigenin (1) mit 1,1 Mol OsO₄. – Nach *Tschesche et al.* [2] lässt sich die 14,15-Doppelbindung von Cardenoliden in Pyridin mit OsO₄ bei 22° selektiv zum α - oder (und) β -Diol oxydieren. Da sich beim üblichen Aufarbeiten der Osmiumsäure-Ester mit H₂S schwer entfernbare S-haltige Verunreinigungen bildeten, wurde das Gemisch nach [3] mit NaHSO₃ behandelt. Nach chromatographischer Trennung wurden das 14 α ,15 α -Diol **2** und das 14 β ,15 β -Diol **4** in 60 bzw. 5% Ausbeute erhalten [4]. Verwendung von Äther anstelle von Pyridin als Lösungsmittel steigerte die Ausbeute von **4** auf 10%. Beide Diole wurden unabhängig später auch von *Okada & Saito* [5] hergestellt.

Die Analysenwerte von **2** passten auf die Summenformel C₂₅H₃₆O₆. Im UV.-Spektrum (λ_{\max} = 214 nm; log ϵ = 4,18) zeigte sich der intakte Butenolidring. Das IR.-Spektrum wies neben den erwarteten Carbonylabsorptionen des Butenolidrings und der Acetylgruppe zwei scharfe und eine assoziierte HO-Bande bei 3680, 3620 bzw. 3540 cm⁻¹. Die Zuordnung der Konfigurationen an C-14 und C-15 erfolgte auf Grund des NMR.-Spektrums des Acetylderivats **3**, welches aus **2** durch Behandeln mit Acetanhydrid in Pyridin bei 37° erhalten wurde. Die Signale der 18- und 19-

¹⁾ Jetzige Adresse: Laboratorium für Angewandte Chemie, Kannenfeldstrasse 2, 4000 Basel.

²⁾ Jetzige Adresse: *F. Hoffmann-La Roche & Co., AG.*, 4002 Basel.

Methylgruppen treten bei $\delta = 0,79$ bzw. $0,97$ ppm auf, was ausgezeichnet mit den nach Zürcher [6] berechneten Werten von $\delta = 0,82$ bzw. $0,98$ ppm übereinstimmt. Der Verbindung **2** kommt somit die Struktur des 3β -Acetoxy-14,15 α -dihydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolids³⁾ zu.



Es bedeutet: Ac = CH_3CO .

Die spektroskopischen Daten und Werte der Elementaranalyse des isomeren Diols **4** stimmten mit denen von **2** überein. Im NMR.-Spektrum des analog bereiteten Acetylderivats **5** erscheinen die Resonanzen der 18- bzw. 19-Methylgruppe bei $\delta = 0,94$ und $0,96$ ppm, was sich auch mit den theoretischen Werten, soweit berechenbar, von $\delta = 0,89$ bzw. $0,97$ ppm vereinbaren lässt.

Die für C-14 der Diole **2** und **4** angenommene Konfiguration liess sich durch Ozonabbau der Acetylderivate **3** bzw. **5** nach Meyer & Reichstein [7] [8] bestätigen.

³⁾ Wir halten uns streng an die «IUPAC-IUB 1967 Revised Tentative Rules for Steroid Nomenclature», Steroids 13, 277 ff. (1969).

Die so erhaltenen 17 β -Androstancarbonsäuren wurden mit Diazomethan verestert. Trotz wiederholter Reinigung kristallisierten die Methylester **7** bzw. **10** nicht, waren aber in den Dünnschichtchromatogrammen einheitlich; die Analysenwerte stimmten gut. Zusätzlich zu einer scharfen HO-Bande in den IR.-Spektren von **7** bzw. **10** bei 3590 cm⁻¹ tritt bei **10** eine weitere breite HO-Bande bei 3420 cm⁻¹ auf, die auf eine Wasserstoffbrücke zwischen der 17 β -Methoxycarbonyl- und der 14 β -Hydroxy-Gruppe zurückgeht [9].

Entacetylierung der Ester **7** und **10** mit methanolischem HCl bei 20° lieferte die Trihydroxysäure-methylester **9** bzw. **11** mit stimmenden Analysenwerten.

Ebenfalls mit methanolischem HCl gelang die Entacetylierung der Diacetyl-derivate **3** bzw. **5**. Die Triole **6** bzw. **8** der Formel C₂₃H₃₄O₅ kristallisierten und gaben stimmende Analysenwerte.

2. Umsetzung von 3-O-Acetyl-14-anhydrodigitoxigenin (1) mit 2,5 Mol OsO₄. – Wird die eben beschriebene Reaktion mit 2,5 Mol OsO₄ durchgeführt, so wird auch die Doppelbindung des Butenolidrings angegriffen. Dabei entstehen aus **1** die 4 möglichen isomeren Tetrole. Sie wurden in geringer Menge auch beim Behandeln von **1** mit nur 1,1 Mol OsO₄ beobachtet. Die Reaktionsprodukte sind wegen der zahlreichen Hydroxylgruppen in unpolaren Lösungsmitteln schlecht löslich und wurden deshalb nicht als solche isoliert. Eine teilweise Auftrennung gelang über die O-Acetyl-derivate **12**, **15**, **19** und **22**, die durch analoge Umsetzung der 3,15-Di-O-acetyl-Verbindungen **3** bzw. **5** erhalten wurden. Säulenchromatographisch liessen sich die aus den isomeren Diolen **2** und **4** entstandenen Tetrolpaare voneinander trennen. Da jedoch aus **2** und **4** bzw. deren 15-O-Acetylderivaten **3** und **5** die jeweiligen Tetrolpaare separat dargestellt werden konnten, verzichteten wir auf die obige Trennung. Beim Acetylieren entstehen aus den Tetrolen deren 3,15,20,22-Tetra-O-acetyl-, 3,15,22-Tri-O-acetyl-Derivate und ein 3,15,22-Triacetyl-Derivat, welches infolge nachträglicher Wasserabspaltung die 20,22-Doppelbindung wieder enthält.

Chromatographie an Kieselgel mit Essigester-Cyclohexan-(1:1) führte zu einer Auftrennung des aus 3 β ,15 α -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (**3**) erhaltenen acetylierten Gemisches in zwei Komponenten, deren erstere nicht identifiziert werden konnte. Die zweite Komponente liess sich durch erneute Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform in die bezüglich der Konfiguration an C-20 und C-22 isomeren Paare der 3,15,20,22-Tetra-O-acetyl- und der 3,15,22-Tri-O-acetyl-Derivate **14** und **17** bzw. **13** und **16** auftrennen.

Das im Massenspektrum gefundene M⁺-Ion des Gemisches von **14** und **17** bei *m/e* = 592 bestätigt die Summenformel C₃₁H₄₄O₁₁. Im IR.-Spektrum taucht die für gesättigte γ -Lactone charakteristische Carbonylabsorption bei 1800 cm⁻¹ auf. Das NMR.-Spektrum zeigt neben den bekannten Signalen vier 3-Protonen-Singulette, die den Methylgruppen der 4 Acetylreste entsprechen. Das Proton an C-22 erscheint als Singulett bei δ = 5,51 ppm.

Für das Gemisch von **13** und **16** ergibt das Massenspektrum ein Molekulargewicht von 550 (C₂₉H₄₂O₁₀). Im NMR.-Spektrum sind nur 3 den Acetylgruppen entsprechende Singulette zu sehen.

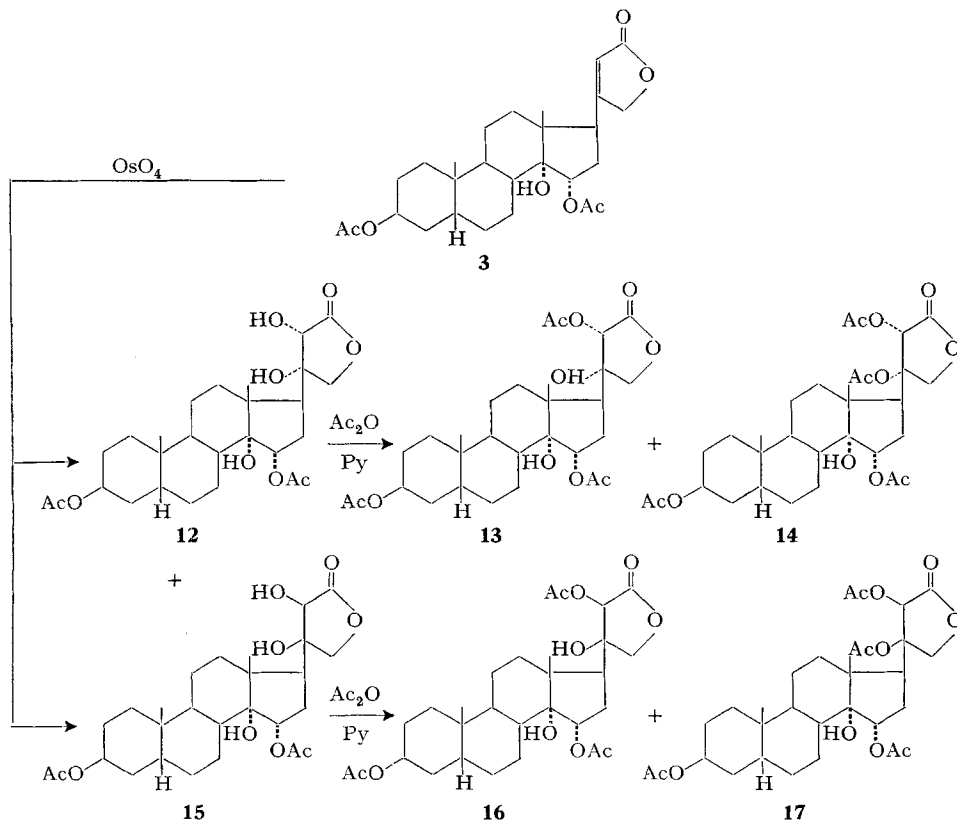
Eine Trennung dieser Gemische in die einzelnen Isomeren gelang nicht.

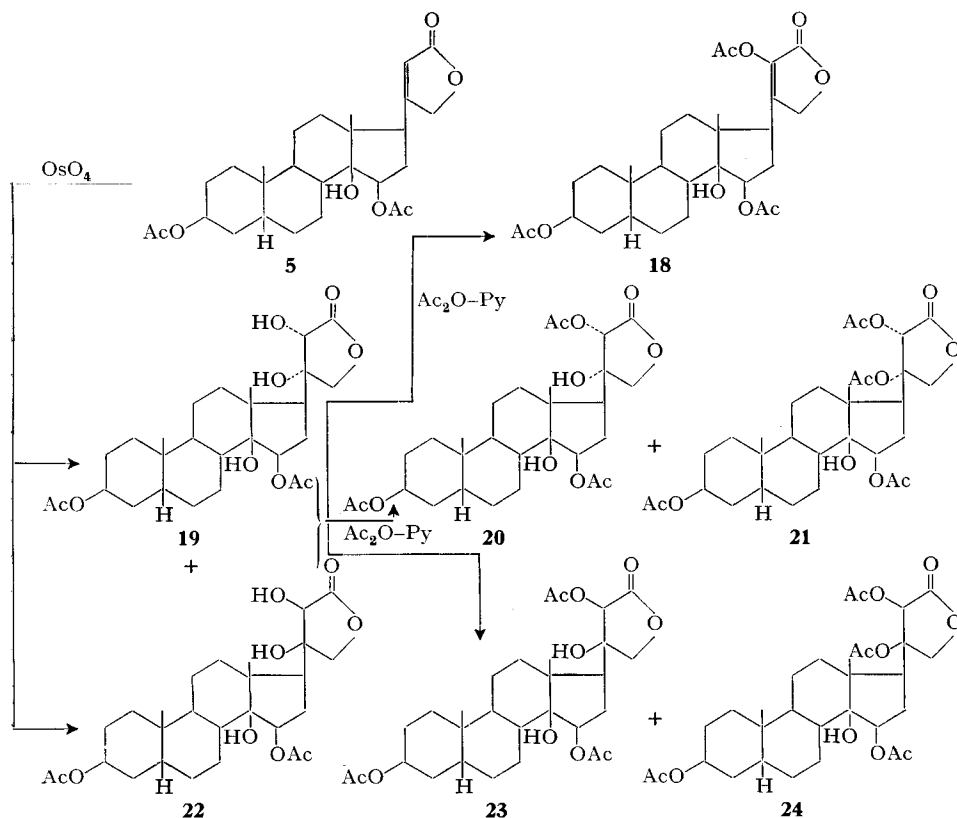
Das acetylierte Gemisch der aus dem $3\beta, 15\beta$ -Diacetoxy-14-hydroxy- $5\beta, 14\beta$ -card-20(22)-enolid (**5**) erhaltenen Produkte liess sich säulenchromatographisch zunächst in 3 Komponenten auftrennen. Erneute Chromatographie der ersten Komponente lieferte wiederum 3 Substanzen, das $3\beta, 15\beta, 22$ -Triacetoxy-14-hydroxy- $5\beta, 14\beta$ -card-20(22)-enolid (**18**), das Gemisch der Tetra-O-acetyl-derivate **21** und **24** und eine weitere Substanz, deren Struktur nicht aufgeklärt werden konnte. Die 2. Substanz besteht aus dem Gemisch der Tri-O-acetyl-derivate **20** und **23**, deren sehr ähnliche Polarität eine Trennung verunmöglichte. Die Identifizierung der 3. Substanz war ebenfalls nicht möglich.

18 hat nach Massenspektrum ein Molekulargewicht von 532, was der Summenformel $C_{29}H_{40}O_9$ entspricht. Eine für Enolacetate typische Spitze zeigte sich bei $M^+ - 42$. Die im UV.-Spektrum auftretende Absorption bei 218 nm ($\log \epsilon = 4,15$) deutet auf das Vorhandensein des intakten Butenolidrings hin. Dem entsprechen im IR.-Spektrum Banden bei 1770 und 1680 cm^{-1} . Im NMR.-Spektrum treten drei 3-Protonen-Singulette auf, die den 3 Acetylgruppen entsprechen.

Für das Gemisch **21** und **24** resultiert aus dem Massenspektrum ein der Formel $C_{31}H_{44}O_{11}$ entsprechendes Molekulargewicht von 592. Im IR.-Spektrum ist die Bande

Formelschema 2





Es bedeuten: Ac = CH_3CO ; Py = Pyridin

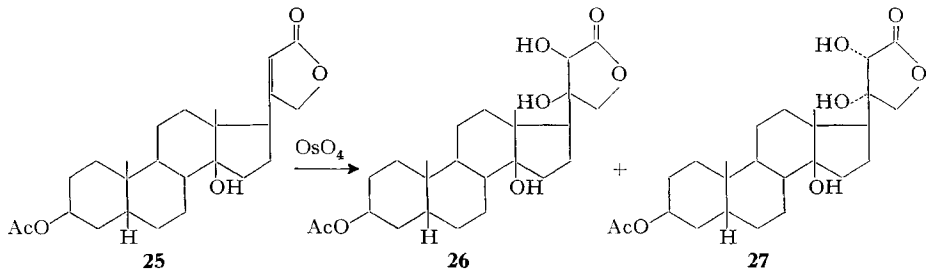
bei 1790 cm^{-1} typisch für das gesättigte γ -Lacton. Im NMR.-Spektrum entsprechen den Acetylgruppen 2 3-Protonen- und ein 6-Protonen-Singulett.

Das Gemisch von **20** und **23** zeigt im Massenspektrum eine der Formel $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_{10}$ entsprechende Molekularspitze bei m/e 550. Im IR.-Spektrum taucht eine zusätzliche breite HO-Bande bei 3330 cm^{-1} auf, daneben bei 1800 cm^{-1} die Absorption des γ -Lactons. Im NMR. sind die drei 3-Protonen-Singulette der Acetylreste vorhanden.

3. Umsetzung von 3-O-Acetyldigitoxigenin (25) mit 1,1 Mol OsO_4 . – Die Reaktion von 3-O-Acetyldigitoxigenin (**25**) mit OsO_4 in Pyridin lieferte nach Aufarbeiten mit NaHSO_3 zunächst das Gemisch der $20\alpha, 22\alpha$ - und $20\beta, 22\beta$ -Dihydroxyderivate **26** und **27**, welches durch Säulenchromatographie und wiederholte präparative Schichtchromatographie in Benzol-Methanol-(4:1) aufgetrennt werden konnte. 3β -Acetoxy-14, $20\alpha, 22\alpha$ -trihydroxy- $5\beta, 14\beta$ -cardanolid (**26**) und 3β -Acetoxy-14, $20\beta, 22\beta$ -trihydroxy- $5\beta, 14\beta$ -cardanolid (**27**) wurden im Verhältnis 1:1 erhalten.

Die Analysenwerte von **26** passten auf die Summenformel $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_7$. Im IR.-Spektrum in KBr tritt bei 3510 cm^{-1} eine scharfe HO-Bande neben breiten assoziierten Banden um 3350 cm^{-1} auf. In Chloroform sind nur intramolekular assoziierte HO-Banden zu erkennen. Daneben zeigten sich die erwarteten Carbonylabsorptionen bei

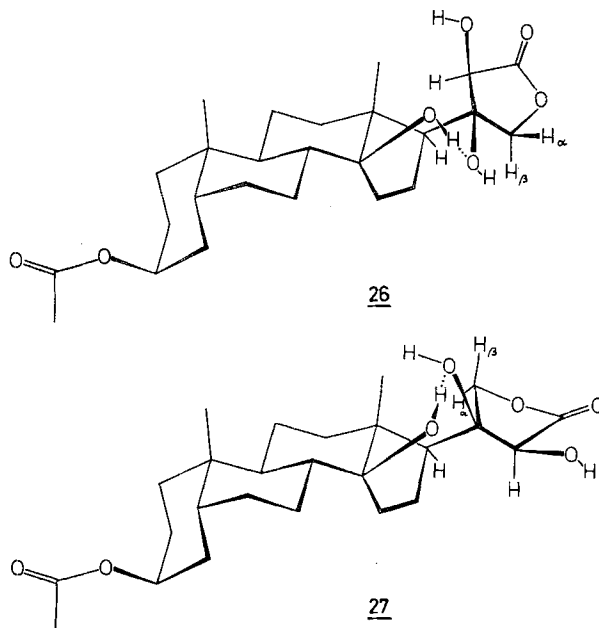
Formelschema 3



1760 bzw. 1720 cm^{-1} . Im NMR.-Spektrum erscheinen die 18- bzw. 19-Methylgruppen bei $\delta = 1,20$ und $1,00$ ppm. Ein breites Singulett bei $\delta = 4,17$ ppm entspricht dem Proton an C-22, und ein Singulett bei $\delta = 4,31$ ppm (2 H) der 21-Methylengruppe. 3 HO-Gruppen bei $\delta = 2,5$, $3,7$ und $5,5$ ppm tauschen mit D_2O aus, wobei das Singulett bei $\delta = 4,17$ ppm scharf wird.

27 kristallisiert mit Methanol; die Analysenwerte stimmten auf die Formel $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_7, 1/2 \text{CH}_3\text{OH}$. Im Gegensatz zu **26** zeigen sich im IR. in KBr und CHCl_3 nur intramolekular assoziierte HO-Banden. Im NMR.-Spektrum treten die 18- und 19-Methylsignale bei $\delta = 1,10$ und $1,00$ ppm auf. Das C-22-Proton erscheint als breites Singulett bei $\delta = 4,07$ ppm. Zwei bei $\delta = 4,20$ und $4,60$ ppm zentrierte Dublette ($J = 10$ Hz) (2 H) entsprechen den Protonen der 21-Methylengruppe, die ein *AB*-System bilden. 3 HO-Signale bei $3,0$, $3,6$ und $6,3$ ppm tauschen mit D_2O aus, wobei wiederum das Singulett bei $\delta = 4,07$ ppm verschärft wird.

Eine vorläufige Zuordnung der Struktur des $20\alpha, 22\alpha$ -Diols zu **26** und des $20\beta, 22\beta$ -Diols zu **27** erfolgte auf Grund von Modellbetrachtungen und NMR.-Kalkulationen



nach *ApSimon* [10]. Die *Dreiding*-Modelle zeigen, dass sich in beiden Isomeren **26** und **27** eine starke H-Brücke zwischen den HO-Gruppen an C-14 und C-20 bilden kann, wozu die 15-Hydroxygruppe nicht befähigt ist. Die unter der zusätzlichen Annahme einer gestaffelten Konformation bezüglich der (C-17)-(C-20)-Bindung durchgeführten Berechnungen⁴⁾ der chemischen Verschiebungen der Protonen an C-21 ergaben, dass das β -ständige H-Atom an C-21 beim Übergang von **26** nach **27** eine starke paramagnetische Verschiebung erfährt, während das entsprechende α -ständige H-Atom nur unwesentlich beeinflusst wird. Beim Übergang von **27** nach **26** sollte das C(22)-H eine Verschiebung nach tieferem Feld zeigen. Beide Voraussagen werden durch die NMR.-Spektren von **26** und **27** bestätigt. Auf Grund dieser Hinweise erteilen wir den Verbindungen **26** bzw. **27** die Strukturen des 3β -Acetoxy-14,20 α ,22 α -trihydroxy-5 β ,14 β -cardanolids bzw. des 3β -Acetoxy-14,20 β ,22 β -trihydroxy-5 β ,14 β -cardanolids.

Wir danken dem «Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung» (Projekt Nr. 3945) für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* Die Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert (Fehler $\pm 2^\circ$). Substanzproben für Mikroanalysen, Drehungen und Spektren wurden mindestens 2 Std. bei 0,02 Torr/30° getrocknet. Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Labor des Instituts für organische Chemie (*E. Thommen*) ausgeführt. IR-, UV- und NMR.-Spektren wurden im Spektrollabor des Instituts (*K. Aegerter*) aufgenommen, und zwar die IR.-Spektren mit einem *Perkin-Elmer*-IR.-Gitterspektrometer, Modell 125, oder einem *Beckman*-IR.-8, und die NMR.-Spektren mit einem *Varian*-Spektrometer A-60 oder einem *Varian*-Spektrometer T-60. – Zur Säulenchromatographie diente «Kieselgel 0,05–0,2 mm» der Fa. *E. Merck A.G.*, Darmstadt. Für die präparative Dünnschichtchromatographie (PDC.) benutzten wir «Kieselgel PF 254» (*E. Merck*) und für die Dünnschichtchromatographie (DC.) «Kieselgel G nach *Stahl*» (*E. Merck*) unter Zusatz von Zinksilicat als Fluoreszenzindikator. Zur Sichtbarmachung von Substanzen auf PDC. wurden UV.-Licht, auf DC. UV.-Licht, J₂-Dämpfe oder spezifische Sprühreagentien verwendet. – Die Massenspektren verdanken wir Herrn Dr. *W. Vetter*, Fa. *F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G.*, Basel; sie wurden auf einem MS-9 Gerät der AEI vermassen.

2. *3 β -Acetoxy-14,15 α -dihydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (2) und 3 β -Acetoxy-14,15 β -dihydroxy-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (4) aus 1.* Eine Lösung von 1,580 g 3-O-Acetyl-14-anhydrodigigoxigenin (**1**) in 90 ml abs. Pyridin wurde unter Rühren mit einer Lösung von 1,5 g OsO₄ in Äther versetzt, worauf der Äther durch Abblasen mit trockenem N₂ grösstenteils entfernt wurde. Nach 4,5 Std. Rühren bei 22° wurde eine Lösung von 3,6 g NaHSO₃ in 60 ml H₂O und 30 ml Pyridin zugegeben. 5malige Extraktion der klaren orangefarbenen Lösung mit Chloroform lieferte nach Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen 1,79 g blassgelbes Rohprodukt. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methylenchlorid-Äther resultierten 659 mg **2** in Prismen vom Smp. 202–203°. $[\alpha]_D^{24} = +24^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 2,337$ in Chloroform). UV.-Spektrum (Äthanol): $\lambda_{\max} = 219$ nm ($\log \epsilon = 4,18$) (Butenolidring). IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): Banden bei 3680, 3610, 3530 (OH); 1780, 1740 und 1720 (C=O); 1620 (C=C); 1230 (C–O–C) cm⁻¹.

C₂₅H₃₆O₆ (432,5) Ber. C 69,42 H 8,39% Gef. C 68,96 H 8,58%

Chromatographie der Mutterlaugenrückstände von **2** (756 mg) an 120 g Kieselgel mit Äther (Fraktionen von 75 ml) lieferte in den Fraktionen 14–18 400 mg reines **2**, in den Fraktionen 19 und 20 100 mg Gemisch von **2** und **4** und in den Fraktionen 21–24 100 mg reines **4**. Umkristallisieren aus Methanol-Methylenchlorid-Äther ergab Prismen (83 mg), Smp. 250–259°. $[\alpha]_D^{24} = -8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,790$ in Dioxan). UV.-Spektrum (Äthanol): $\lambda_{\max} = 217$ nm ($\log \epsilon = 4,19$).

C₂₅H₃₆O₆ (432,5) Ber. C 69,42 H 8,39% Gef. C 69,16 H 8,49%

4) Für wertvolle Hilfe bei diesen Berechnungen danken wir Dr. *T. G. Payne*.

3. *3 β ,15 α -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (3) aus 2*. Eine Lösung von 620 mg *3 β -Acetoxy-14,15 α -dihydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (2)* in 8 ml abs. Pyridin und 6 ml Acetanhydrid wurde 18 Std. bei 35° stehengelassen. Mehrmaliges Abdampfen mit Benzol im Vakuum lieferte 700 mg Rohprodukt, welches an 60 g Kieselgel (Fraktionen von 100 ml) mit Methylenchlorid-Methanol-(97:3) chromatographiert wurde. Aus den reinen Fraktionen resultierten nach Umkristallisieren aus Aceton 660 mg **3** vom Smp. 225–233°. $[\alpha]_D^{24} = +32^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,373$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3580 (OH); 1782, 1750 und 1725 (C=O); 1630 (C=C) und 1230 (C–O–C) cm^{-1} . NMR.-Spektrum (CDCl_3): u. a. Signale bei 0,79 ppm (18- CH_3) und 0,97 ppm (19- CH_3).

$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_7$ (474,6) Ber. C 68,33 H 8,07% Gef. C 68,15 H 8,02%

4. *3 β ,15 β -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (5) aus 4*. Eine Lösung von 20 mg **4** in 2 ml abs. Pyridin und 1,6 ml Acetanhydrid wurde 16 Std. bei 36° stehengelassen. Aufarbeiten wie bei 3. beschrieben lieferte aus Äther-Petroläther 20 mg **5**, feine Nadeln vom Smp. 123–130°. $[\alpha]_D^{24} = -27^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,59$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3590 (OH); 1780, 1750 und 1730 (C=O); 1625 (C=C) und 1235 (C–O–C) cm^{-1} . NMR.-Spektrum (CDCl_3): u. a. Signale bei 0,94 ppm (18- CH_3) und 0,96 ppm (19- CH_3).

$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_7$ (474,6) Ber. C 68,33 H 8,07% Gef. C 68,58 H 8,08%

5. *3 β ,15 α -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 α -androstan-17 β -carbonsäure-methylester (7) aus 3*. In eine Lösung von 211 mg *3 β ,15 α -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (3)* in 16 ml Essigester wurde während 7 Min. bei –70° ein O_2/O_3 -Strom (O_3 -Gehalt 4%; 120 ml/Min.) eingeleitet. Die violette Lösung entfärbte sich im Lauf einer Stunde und wurde weitere 4 Min. mit dem O_2/O_3 -Gemisch behandelt. Nach Abdampfen im Vakuum wurde das rohe Ozonid in 3 ml Eisessig mit 1 Tropfen H_2O und Zn-Staub (in kleinen Portionen) versetzt. Nach 5 Min. färbte die Lösung feuchtes KJ-Stärkepapier nicht mehr, wurde vom Rückstand abfiltriert und eingedampft. Der Rückstand (216 mg) wurde in 15 ml Methanol gelöst und mit einer Lösung von 230 mg KHCO_3 in 6 ml H_2O versetzt. Nach 15 Std. Stehen bei 22° wurde das Methanol im Vakuum entfernt und die wässrige Suspension mit Chloroform-Äther-(4:1) extrahiert. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen resultierten 175 mg rohes Ketol, das in 20 ml Methanol mit 29 ml Na_2JO_4 -Lösung (625 mg Na_2JO_4 in 50 ml $\text{H}_2\text{O} + 5$ Tropfen 2N H_2SO_4) versetzt und 3 Std. bei 22° unter Lichtausschluss stehengelassen wurde. Nach Abdampfen des Methanols im Vakuum wurde die Lösung mit 2N H_2SO_4 auf pH 1 gestellt und sechsmal mit Chloroform-Äther-(3:1) ausgezogen. Nach Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen resultierten 185 mg rohe Säure, die in Äther gelöst und mit überschüssiger ätherischer Diazomethan-Lösung versetzt wurde. Der rohe Ester **7** (164 mg) zeigte im DC. nur geringfügige Verunreinigungen, die durch Chromatographie an 16 g Kieselgel (Methylenchlorid-Methanol-(97:3)) entfernt werden konnten. Es wurden 130 mg des reinen amorphen Esters **7** erhalten, die im DC. (Äther; Äther-Cyclohexan-(4:1); Methylenchlorid-Methanol-(95:5)) einheitlich waren. $[\alpha]_D^{24} = +55^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,162$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH_2Cl_2): u. a. Banden bei 3600 (OH); 1720 (C=O, breit) und 1225 (C–O–C) cm^{-1} .

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_7$ (450,5) Ber. C 66,64 H 8,50% Gef. C 66,61 H 8,63%

6. *3 β ,15 β -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 β -androstan-17 β -carbonsäure-methylester (10) aus 5* wurde analog zu **7** aus 118 mg *3 β ,15 β -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (5)* hergestellt und war ebenfalls amorph. $[\alpha]_D^{25} = -6,2^\circ$ ($c = 1,206$ in Chloroform). IR.-Spektrum (Methylenchlorid): u. a. Banden bei 3590, 3420 (OH); 1730 (C=O, breit) cm^{-1} . NMR.-Spektrum (CDCl_3): u. a. Signale bei 0,95 (s, 3H, C-18); 1,00 (s, 3H, C-19); 2,00 und 2,08 (s, je 3H), Acetyl an C-3, C-15; 3,65 (s, 1H, OH, tauscht mit D_2O aus); 3,70 (s, 3H, Methylester); 5,05 (m, 1H, C-3) ppm.

7. *3 β ,14,15 α -Trihydroxy-5 β ,14 α -androstan-17 β -carbonsäure-methylester (9) aus 7*. Eine Lösung von 26 mg *3 β ,15 α -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 α -androstan-17 β -carbonsäure-methylester (7)* in 10 ml Methanol und 0,3 ml konz. HCl wurde bei 22° 4 Tage stehengelassen. Verdünnen mit Wasser, Alkalisstellen mit 2N Na_2CO_3 -Lösung und Extraktion mit Methylenchlorid lieferte 22,3 mg rohes **9**, das aus Aceton-Petroläther feine Nadeln vom Smp. 160–165° ergab. $[\alpha]_D^{24} = +68^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,556$ in Methanol).

$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_5$ (366,5) Ber. C 68,82 H 9,35% Gef. C 68,71 H 9,38%

8. *3 β ,14,15 β -Trihydroxy-5 β ,14 β -androstan-17 β -carbonsäure-methylester (11) aus 10*. Der analog zu **9** aus 64 mg *3 β ,15 β -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 β -androstan-17 β -carbonsäure-methylester (10)* erhaltene Ester **11** kristallisierte in Nadeln vom Smp. 132–136°. $[\alpha]_D^{24} = +5,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,757$ in Methanol).

$C_{21}H_{34}O_5$ (366,5) Ber. C 68,82 H 9,35% Gef. C 69,10 H 9,33%

9. *3 β ,14,15 α -Trihydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (6) und 3 β ,14,15 β -Trihydroxy-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (8) aus 3 bzw. 5*. Die Di-O-acetyl-derivate **3** bzw. **5** wurden analog zu **7** bzw. **10** entacetyliert.

6 gab aus Aceton-Äther Kristalle vom Smp. 129–142°. $[\alpha]_D^{24} = +29^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,057$ in Chloroform).

$C_{23}H_{34}O_5$ (390,5) Ber. C 70,74 H 8,78% Gef. C 70,71 H 8,85%

8 kristallisierte aus Aceton-Petroläther in Prismen vom Smp. 248–252°. $[\alpha]_D^{24} = -7,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,174$ in Methanol).

$C_{23}H_{34}O_5$ (390,5) Ber. C 70,74 H 8,78% Gef. C 70,91 H 8,74%

10. *Umsetzung von 3 β ,15 α -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 α -card-20(22)-enolid (3) mit OsO₄*. Eine Lösung von 60 mg **3** in 20 ml abs. Pyridin wurde mit 120 mg OsO₄ 48 Std. bei 22° stengelassen. Aufarbeiten mit wässriger NaHSO₃-Lösung und Extraktion mit Methylchlorid lieferte 72 mg farblosen Schaum, der nach Behandeln mit Acetanhydrid in abs. Pyridin während 20 Std. bei 37° 76 mg Gemisch der Acetyl-derivate **12** und **15** ergab. Dieses wurde an 60 g Kieselgel in Essigester-Cyclohexan-(1:1) chromatographiert (Fraktionen von 15 ml). Aus den Fraktionen Nr. 29–45 resultierten 46 mg eines Gemischs von **13** und **16** mit **14** und **17**. Erneute Chromatographie dieses Gemisches an 30 g Kieselgel mit Chloroform (Fraktionen von 14 ml) ergab in den Fraktionen Nr. 16 und 17 7,3 mg **14** und **17** und in den Fraktionen 22–30 30,8 mg **13** und **16**.

Das *Gemisch von 14 und 17* kristallisierte aus Methanol-Wasser in Nadeln vom Smp. 212–218°. $[\alpha]_D^{24} = +36^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,993$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3590 (OH); 1800, 1750–1730 (C=O) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): Signale bei 0,91 (*s*, 3H, C-18); 0,97 (*s*, 3H, C-19); 2,04, 2,09, 2,10 und 2,19 (*s*, je 3H, Acetyl); 4,52 (*d*, 2H, *J* = 8 Hz); 5,06 (*m*, 2H, C-3, C-15); 5,51 (*s*, 1H, C-22) ppm. Massenspektrum: *M*⁺ bei *m/e* 592.

$C_{29}H_{42}O_{10} \cdot 1/2 H_2O$ (619) Ber. C 60,15 H 7,66% Gef. C 60,54 H 7,75%

Das *Gemisch von 13 und 16* kristallisierte aus Methanol-Wasser in Prismen vom Smp. 152–154°. $[\alpha]_D^{24} = +44^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,78$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3580 (OH); 1800, 1755 und 1730 (C=O) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): u. a. Signale bei 0,95 (*s*, 3H, C-18); 0,97 (*s*, 3H, C-19); 2,04, 2,08 und 2,25 (*s*, je 3H, Acetyl); 4,40 (*s*, 2H), 5,08 (*m*, 2H, C-3, C-15) und 5,45 (*s*, 1H, C-22) ppm. Massenspektrum: *M*⁺ bei *m/e* 550.

$C_{29}H_{42}O_{10} \cdot 1/2 H_2O$ (577,5) Ber. C 60,29 H 7,85% Gef. C 60,28 H 7,85%

11. *Umsetzung von 3 β ,15 β -Diacetoxy-14-hydroxy-5 β ,14 β -card-20(22)-enolid (5) mit OsO₄*. Umsetzung von **5** mit OsO₄ in Pyridin, Aufarbeiten und Acetylierung des rohen Gemischs von **19** und **22** erfolgte wie bei **3** beschrieben. Es resultierten aus 105 mg **5** 131 mg Gemisch der Acetyl-derivate. Durch wiederholte Chromatographie dieses Gemischs an 60 g Kieselgel mit Essigester-Cyclohexan-(1:1) (Fraktionen von 24 ml) wurde aus den Fraktionen Nr. 13–16 56 mg Gemisch von **18**, **21** und **24**, und aus Nr. 17–23 30 mg Gemisch von **20** und **23** erhalten. Durch mehrmalige Chromatographie an der 1000-fachen Menge Kieselgel mit Chloroform-Äthanol-(99:1) konnte **18** vom Gemisch von **21** und **24** abgetrennt werden.

3 β ,15 β ,22-Triacetoxy-14-hydroxy-5 β -14 β -card-20(22)-enolid (18) kristallisierte aus Aceton-Petroläther in langen Nadeln vom Smp. 238–242°. $[\alpha]_D^{24} = -10,0^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,497$ in Chloroform). UV.-Spektrum (Äthanol): Maxima bei 218 nm ($\log \epsilon = 4,14$) und 284 nm ($\log \epsilon = 2,10$). IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3590 (OH); 1770, 1730 (C=O) und 1680 (C=C) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): u. a. Signale bei 0,93 (*s*, 6H, C-18 und C-19); 2,04, 2,07 und 2,28 (*s*, je 3H, Acetyl); 2,64 (*m*, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 4,95 (*m*, 1H); 5,14 (*m*, 1H) ppm. Massenspektrum: *M*⁺ bei *m/e* 532 (C₂₉H₄₀O₉).

Das *Gemisch von 21 und 24* kristallisierte aus Essigester-Cyclohexan in kleinen Prismen vom Smp. 112–118°. $[\alpha]_D^{24} = -29,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 0,503$ in Chloroform). IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3580 (OH); 1795 und 1735 (C=O) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): u. a. Signale bei

0,96 (s, 3H, C-18); 1,05 (s, 3H, C-19); 2,04 und 2,16 (s, je 3H, Acetyl); 2,08 (s, 6H, Acetyl); 2,28 (s, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 2,46 (d, J = 5 Hz); 4,50 (d, 2H, J = 8 Hz); 4,61 (m, 1H); 5,10 (m, 1H, C-3); 5,40 (s, 1H, C-22) ppm.

Das Gemisch von **20** und **23** konnte nicht getrennt werden. IR.-Spektrum (CH₂Cl₂): u. a. Banden bei 3570 (OH); 3330 (OH, breit, assoziiert); 1800 und 1735 (C=O) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): u. a. Signale bei 0,96 (s, 3H, C-18); 1,13 (s, 3H, C-19); 2,04, 2,07 und 2,17 (s, je 3H, Acetyl); 2,52, 3,34 (s, je 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 4,28 (d, 2H, J = 2 Hz); 5,03 (m, 1H, C-3); 5,26 (s, 1H); 5,35 (d, 1H, J = 9 Hz) ppm. Massenspektrum: M⁺ bei m/e 550 (C₂₉H₄₂O₁₀).

12. Umsetzung von 3β-Acetoxy-14-hydroxy-5β,14β-card-20(22)-enolid (**25**) mit OsO₄. Eine Lösung von 338 mg **25** in 10 ml abs. Pyridin wurde mit 200 mg OsO₄ 40 Std. bei 23° gerührt. Nach Zugabe einer Lösung von 500 mg NaHSO₃ in 10 ml H₂O und weiterem Rühren (3 Std.) wurde das Gemisch mit H₂O verdünnt und mit Chloroform dreimal extrahiert. Nach mehrmaligem Abdampfen des Lösungsmittels mit Benzol im Vakuum resultierten 320 mg blassgelber Schaum, der an 30 g SiO₂ mit Methylenchlorid-Methanol-(98:2) chromatographiert wurde (Fraktionen von 30 ml). Aus den Fraktionen Nr. 12–14 wurden 300 mg Gemisch von **26** und **27** erhalten. Wiederholte PDC. in Benzol-Methanol-(4:1) erlaubte eine Trennung der Isomeren.

Das 3β-Acetoxy-14,20α,22α-trihydroxy-5β,14β-cardanolid (**26**) kristallisierte aus Aceton oder Chloroform in Mikrokristallen (120 mg) vom Smp. 221–225°. [α]_D²⁴ = -0,5° ± 1° (c = 0,91 in Methanol-Chloroform-(1:1)). IR.-Spektrum (KBr): u. a. Banden bei 3510 (OH); 3660 (OH, breit, assoziiert), 1760 und 1720 (C=O) cm⁻¹. IR.-Spektrum (CHCl₃): 3540 und 3280 (OH, breit, assoz.); 1775 und 1720 (C=O) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): u. a. Signale bei 1,00 (s, 3H, C-19); 1,20 (s, 3H, C-18); 2,06 (s, 3H, Acetyl); 2,5, 3,7 (s, je 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 4,17 (s, 1H, breit, C-22; verschärft nach D₂O-Zugabe); 4,31 (s, 2H, C-21); 5,11 (m, 1H, C-3) und 5,5 (s, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus) ppm.

C₂₅H₃₈O₇ (450) Ber. C 66,64 H 8,50% Gef. C 67,22 H 8,90%

Das 3β-Acetoxy-14,20β,22β-trihydroxy-5β,14β-cardanolid (**27**) kristallisierte aus Methanol in langen Nadeln (120 mg) vom Smp. 150° (Verlust von Kristall-Methanol) -190°. [α]_D²⁴ = +13,7° ± 1° (c = 0,93 in Methanol-Chloroform-(1:1)). IR.-Spektrum (KBr): u. a. Banden bei 3540, 3450, 3330 (OH, alle breit, assoziiert); 1760 und 1725 (C=O) cm⁻¹; (CHCl₃): 3600–3300 (OH, breit, assoziiert); 1775 und 1720 (C=O) cm⁻¹. NMR.-Spektrum (CDCl₃): u. a. Signale bei 1,00 (s, 3H, C-19); 1,10 (s, 3H, C-18); 2,05 (s, 3H, Acetyl); 3,0 und 3,6 (s, je 1H, OH, tauscht mit D₂O aus); 4,07 (s, 1H, breit, C-22; verschärft nach D₂O-Zugabe); 4,20 und 4,60 (d, je 1H, C-22, AB-System, J = 10 Hz); 5,07 (m, 1H, C-3) und 6,3 (s, 1H, OH, tauscht mit D₂O aus) ppm.

C₂₅H₃₈O₇, 1/2 CH₃OH (466) Ber. C 65,5 H 8,55% Gef. C 65,5 H 8,83%

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] W. Zürcher, E. Weiss-Berg & Ch. Tamm, Helv. 52, 2449 (1969).
- [2] R. Tschesche, W. Freytag & G. Snatzke, Chem. Ber. 92, 3053 (1959).
- [3] J. S. Baran, J. org. Chemistry 25, 257 (1960).
- [4] M. Schüpbach, Dissertation Basel 1965.
- [5] M. Okada & Y. Saito, Chem. pharmac. Bull. 15, 352 (1967); 17, 515 (1969).
- [6] R. F. Zürcher, Helv. 44, 1380 (1961); 46, 2054 (1963); idem, Chimia 18, 349 (1964).
- [7] K. Meyer & T. Reichstein, Helv. 30, 1508 (1947).
- [8] S. A. Simpson, T. Reichstein et al., Helv. 37, 1200 (1954).
- [9] W. Schlegel & Ch. Tamm, Helv. 40, 160 (1957).
- [10] J. W. ApSimon, Tetrahedron 23, 2339, 2357, 2375 (1967).