

245. 3 α - und 3 β -Amino-3-desoxy-digitoxigenin¹⁾

Partialsynthetische Versuche in der Reihe der Herzgifte, 5. Mitt. ²⁾

von **Ludwika Sawlewicz, Ekkehard Weiss** *^{2a)}, **Horst H. A. Linde**
und **Kuno Meyer**

Pharmazeutisches Institut und Institut für Organische Chemie* der Universität Basel

(28. VIII. 72)

Zusammenfassung. Es wird die Synthese der im Titel genannten 3-Amino-cardenolide beschrieben.

Im folgenden berichten wir über Versuche, die mit Digitoxigenin (**1**) durchgeführt, den Ersatz der 3ständigen Hydroxylgruppe³⁾ durch die Aminogruppe zum Ziel hatten. Dafür wurden die beiden folgenden Wege gewählt:

A. Oxydation des Digitoxigenins **1** zum Keton **2**, Umsetzung von **2** mit Hydroxylamin und schonende Reduktion des Oxims zum Gemisch der beiden an C(3) epimeren 3-Amino-cardenolide **11** und **14**⁴⁾.

B. Austausch der Tosyloxy-Gruppe in 3-O-Tosyldigitoxigenin (**4**), bzw. in 3 α -O-Tosyldigitoxigenin (**9**) durch den Azido-Rest und katalytische Reduktion desselben zur Amino-Gruppe.

Weg. A. Die Oxydation von **1** wurde nach *Jones et al.* [9] mit *Kiliani*-Lösung [10] in wässrigem Aceton durchgeführt und gab in guter Ausbeute das Keton **2**. Umsetzung mit Hydroxylaminacetat führte zu einem Gemisch von 2 Substanzen, die im DC. (= Dünnschichtchromatogramm) polarer als **2** waren und die *Z*- und *E*-Formen des Digitoxigenon-oxims darstellten. Die Oximierung verläuft – wie durch Kontrolle im DC. leicht festzustellen war – rasch und ist bereits nach 30 Min. vollständig. Das

¹⁾ Hierüber wurde bei Anlass der Internationalen Tagung für Arzneipflanzenforschung am 27. Juli 1970 in Wien kurz berichtet [1].

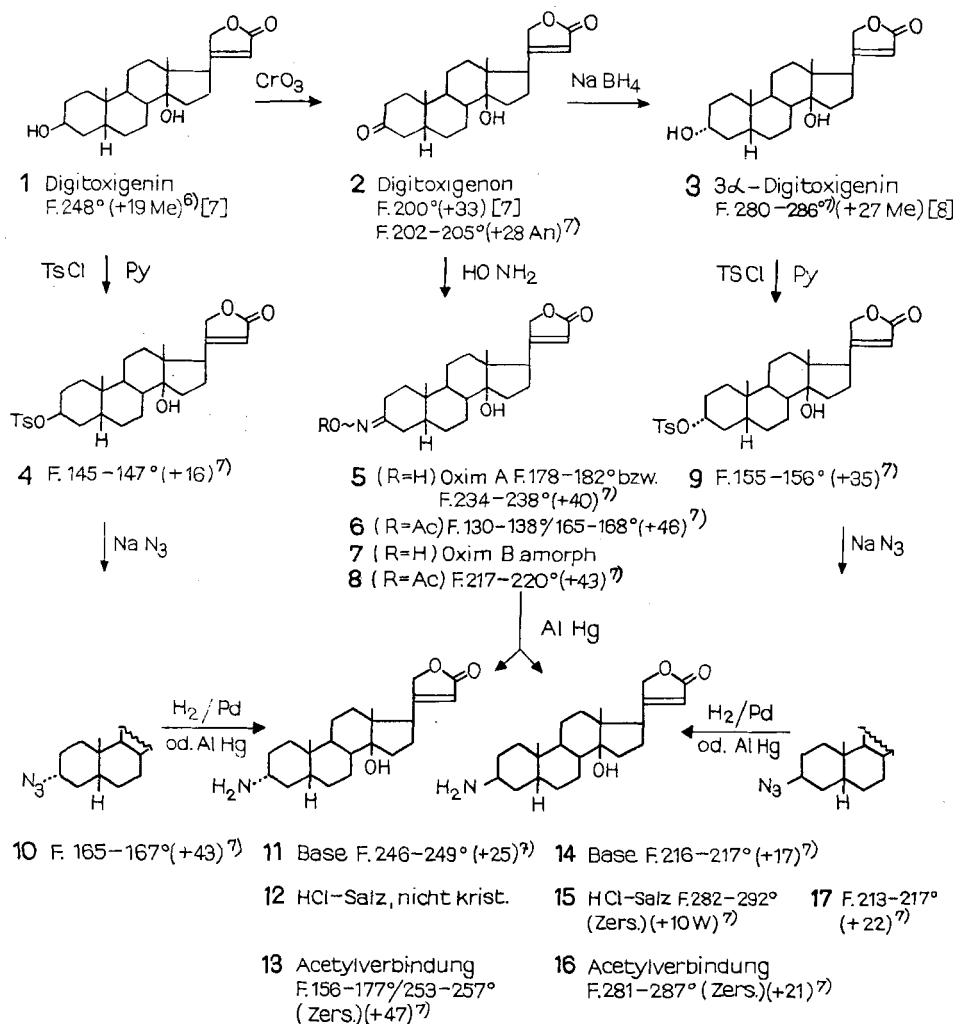
²⁾ 4. Mitteilung, siehe [2].

^{2a)} Jetzige Adresse: *Fa. F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.*, 4002 Basel.

³⁾ Die natürlichen herzaktiven Steroide tragen an C(3) eine β -orientierte HO-Gruppe, deren räumliche Lage für die Herzwirkung bei den Cardenoliden von entscheidender Bedeutung ist: eine Epimerisierung an diesem chiralen Zentrum führt bei dieser Herzgiftklasse zu nahezu unwirksamen Produkten, während in der Bufadienolidreihe eine konfigurative Umkehrung an C(3) lediglich eine mehr oder weniger starke Abschwächung der Toxizität verursacht (siehe *Tamm* [3]). Dass die Hydroxylgruppe an C(3) überhaupt nicht erforderlich ist, geht sowohl aus neueren Befunden von *Tamm et al.* [4] als auch von *Saito et al.* [5] hervor: 3-Desoxydigitoxigenin zeigt eine dem Digitoxigenin vergleichbare Wirksamkeit.

⁴⁾ Der eine von uns (*E. W.*) hat diesen Weg schon vor mehreren Jahren beschritten und konnte dabei die beiden epimeren 3-Aminoverbindungen in Form ihrer *N*-Acetylverbindungen gewinnen. Durch Zufall erhielten wir gegenseitig Kenntnis von den gleichgerichteten Untersuchungen, was uns nun⁵⁾ veranlasst, unsere ersten Ergebnisse gemeinsam zu veröffentlichen. *E. W.* dankt Herrn Prof. *T. Reichstein* für die Anregung zu diesen Versuchen und für das seiner Arbeit entgegengebrachte Interesse.

⁵⁾ Vor kurzem wurde ein vom Oxim ausgehender Weg zur Bereitung von 3-Aminocardenoliden auch von *U. Stache et al.* beschrieben [6].



rohe Oxim liess sich durch Chromatographie an Silicagel (SiO₂) auftrennen. Das im DC. schneller laufende Oxim A (5) kristallisierte und war dann auch durch Animpfen des Oximgemisches direkt in Kristallen zu gewinnen. Das Oxim B (7) konnte ebenfalls als nach DC. weitgehend einheitliches Produkt gewonnen werden; es blieb aber amorph⁸⁾. In trockenem Zustand sind beide Oxime stabil, bilden aber in Lösung allmählich wieder Gemische von 5 und 7. Zur Charakterisierung der beiden Oxime wurden ihre Acetylverbindungen 6 und 8 hergestellt. 6 liess sich aus 5 durch vorsichtige Acetylierung und schonende Aufarbeitung des Reaktionsgemisches weitgehend ohne

⁶⁾ Die Zahlen in runden Klammern geben die auf ganze Zahlen auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht an, wobei keine Angabe Drehung in Chloroform, An in Aceton, Me in Methanol und W in Wasser bedeutet. Ts = *p*-CH₃C₆H₄SO₂–.

⁷⁾ Siehe exp. Teil dieser Arbeit.

⁸⁾ Stache et al. [6] geben hierfür einen Smp. von 131° bzw. 230° an.

Isomerisierung bereiten und in Kristallen gewinnen, die nach DC. eine Spur **8** enthielten. **8** kristallisierte direkt aus dem rohen Acetylierungsprodukt des Oximgemisches (**5** + **7**) und erwies sich im DC. als einheitlich und polarer als **6**. **6** und **8** sind im festen Zustand etwa gleich stabil wie die freien Oxime **5** und **7**. In Lösung wandeln sie sich ineinander um, wobei aber **8** das stabilere Isomere zu sein scheint.

Für die Reduktion der Oximgruppe gibt es eine Reihe von Verfahren⁹⁾, doch musste im vorliegenden Fall darauf geachtet werden, dass dabei nicht auch der Butenolidring angegriffen wird. Die Reduktion des Digitoxigenon-oximgemisches mit Aluminiumamalgam (AlHg) [12] wurde in Dioxan/Äthanol/Wasser in Gegenwart von etwas NH₃ und NH₄Cl oder in etwa 80proz. Äthanol bei 20° durchgeführt und ihr Ablauf im DC. verfolgt. Nach 2–3 Tagen war die Reduktion beendet. Wie im exp. Teil beschrieben wird, konnte aus dem Gemisch der beiden an C(3) epimeren Aminocardenolide **11** und **14** die 3 β -Aminoverbindung als Hydrochlorid **15** in Kristallen gewonnen werden¹⁰⁾. Es gelang dagegen nicht, das an C(3) epimere Hydrochlorid **12** zu kristallisieren. (Zur Konfiguration an C(3) siehe weiter unten.) Nach Acetylierung der Mutterlaugenrückstände von **15** und anschliessender chromatographischer Aufteilung an SiO₂ kristallisierten sowohl **16** als auch **13**¹¹⁾. Ein Versuch, das Gemisch der freien Amine **11** und **14** durch Chromatographie aufzutrennen, führte zu keinen einheitlichen Produkten. Wohl konnten die an C(3) epimeren Aminocardenolide weitgehend voneinander getrennt werden. Sie waren aber mehr oder weniger stark verunreinigt, so dass keine Kristalle gewonnen werden konnten (im exp. Teil nicht beschrieben).

Die Konfiguration an C(3) der N-Acetylverbindungen **13** und **16** liess sich mit Hilfe der NMR.-Spektren (60 MHz; CDCl₃; TMS als interner Standard) festlegen. Das NMR.-Spektrum von **13** zeigt ein breites Signal zwischen 3,42 und 4,0 ppm, das dem axialen 3 β -ständigen Proton zukommt. Im NMR.-Spektrum von **16** erscheint bei 4,0–4,33 ppm ein breites Dublett, das nach dem Schütteln mit D₂O zum «Singulett» bei etwa 4,17 ppm wird (Signalbreite bei halber Höhe etwa 7 Hz), was für das Vorliegen eines äquatorialen 3 α -ständigen Protons spricht. Auch aus dem Vergleich der molekularen Drehungen von **13** und **16** mit denjenigen analoger N-Acetylaminosteroide lässt sich die Konfiguration an C(3) der neuen Aminocardenolide ableiten. Wie aus der nachfolgenden Tabelle hervorgeht, beträgt die Differenz der [M]_D-Werte zwischen den 3 α -Acetylamino- und den 3 β -Acetylamino-Verbindungen jeweils etwa +100°.

Weg B. Dieses eingangs kurz skizzierte Verfahren ist z.B. vor einiger Zeit zur stereospezifischen Partialsynthese von 3 α -Aminocholestan benützt worden [16]. Während die Tosylierung von **3** bei 20° ohne Bildung von Nebenprodukten verläuft, entstehen aus **1** neben dem gesuchten Ester **4** schwächer polare Produkte, deren Bildung weitgehend unterbleibt, wenn bei tieferen Temperaturen tosyliert wird (siehe exp.

⁹⁾ Eine kurze Zusammenstellung hierüber findet sich bei *Pettit et al.* [11].

¹⁰⁾ Wie im exp. Teil beschrieben, wird bei der Aufarbeitung der Reduktionsansätze mit AlHg überraschenderweise trotz der Anwesenheit von freiem NH₃ und dem bei der Reduktion gebildeten Al(OH)₃ das Hydrochlorid und nicht die freie Base isoliert. Dies kann so erklärt werden, dass beim Aufnehmen mit Chloroform nicht nur das freie Amin in Lösung ging, sondern noch eine andere (anorganische) Base, die beim Eindampfen das Chloroform zersetzte, wobei das entstandene HCl **15** bildete.

¹¹⁾ **16** lässt sich auch nach Acetylierung des rohen Reduktionsgemisches **11** und **14** durch direkte Kristallisation gewinnen (im exp. Teil nicht beschrieben).

Protonenresonanzsignale^{a)} bei 60 MHz bzw. **6** und **8** bei 100 MHz aufgenommen in CDCl₃; Wert in ppm ($\pm 0,025$ ppm); TMS = 0 ppm

Substanz	C(21)—2H ^{b)}	C(22)—H	C(3)—H	Sonstiges	C(19)—3H	C(18)—3H
4	4,88 «t» (2)	5,87 t (2)	4,88 sm (α H)	arom.—CH ₃ : 2,47 s «AA'BB'» des Tosylrestes: 7,29; 7,42; 7,76; 7,89	0,94 s	0,87 s
6	4,91 «d × d» (etwa 2 + 1,5)	5,88 t (etwa 1,5)		CH ₃ —CO—N=: 2,15 s	0,99 s	0,90 s
8	4,90 «d × d» (etwa 1,5)	5,88 t (etwa 1,5)		CH ₃ —CO—N=: 2,15 s	0,98 s	0,90 s
9	4,90 «d × d» (etwa 3 + 2)	5,88 t (etwa 2)	4,12–4,70 bm (β H)	arom.—CH ₃ : 2,43 s «AA'BB'» des Tosylrestes: 7,28; 7,42; 7,76; 7,90	0,88 s	0,85 s
10	4,88 «t» (etwa 2)	5,87 «t» (etwa 2)	3,00–3,67 bm (β H)		0,96 s	0,89 s
11	4,89 «t» (etwa 2)	5,87 t (etwa 2)	2,42–3,08 bm (β H)		0,92 s	0,87 s
13	4,88 «d × d» (etwa 3 + 2)	5,86 t (etwa 2)	3,42–4,00 bm (β H)		0,94 s	0,88 s
14	4,92 «d × d» (etwa 3,5 + 2)	5,89 t (etwa 2)	3,26 sm (α H) BH 7,0		0,95 s	0,88 s
16	4,88 «d × d» (etwa 3 + 2)	5,85 t (etwa 2)	4,00–4,33 bd ↓ D ₂ O 4,17 sm (α H) BH 7,0	CH ₃ —CO—NH—: 1,98 s	0,97 s	0,88 s
17	4,92 «d × d» (etwa 3 + 1,5)	5,89 t (etwa 1,5)	3,97 sm (α H) BH 7,5		0,95 s	0,88 s

^{a)} d = Dublett; «d × d» = Dublett von Dubletts; m = Multiplett; s = Singulett; t = Triplett; b = breit; s = schmal.

BH = Signalbreite bei halber Höhe in Hz; () = Aufspaltung in Hz.

^{b)} Angegeben ist die «Verschiebung» der Mitte der zentralen Linien des ABX-Systems.

Vergleich der molekularen Drehungen

	[M] _D in Chloroform	Δ
3 α -Acetylamino-Verbindung 13	+ 195°	
3 β -Acetylamino-Verbindung 16	+ 88°	+ 107°
3 α -Acetylamino-5 β -cholestan [13] [14]	+ 206°	
3 β -Acetylamino-5 β -cholestan [13]	+ 112°	+ 94°
3 α -Acetylamino-5 α -cholestan [13]	+ 155°	
3 β -Acetylamino-5 α -cholestan [13] [15]	+ 49°	+ 106°

Teil). Als Lösungsmittel für die Azidolyse der Tosylester **4** und **9** erwies sich Dimethylformamid [16] als am geeignetsten (siehe dazu auch [17]). Die an C(3) epimeren Azidoverbindungen **10** und **17** konnten in Kristallen gewonnen werden. Für die Reduktion der Azido-Gruppe in **10** und **17** wurde zunächst wiederum ALHg verwendet. Da aber dieses Reduktionsverfahren jeweils eine mühsame Aufarbeitung erforderte, haben wir später die experimentell weit einfachere katalytische Reduktion der Azido-Gruppe mit Pd/CaCO₃ versucht, wobei unter den üblichen Bedingungen (Raumtemperatur, Normaldruck) ein selektiver Angriff auf die Azido-Gruppe erfolgte und der Butenolidring keine nennenswerte Veränderung erfuhr¹²⁾. (Erhaltung der typischen durch den Butenolidring bedingten selektiven Absorption der Cardenolide bei etwa 217 nm). Dieser Befund ist überraschend, zeigt doch Digitoxigenin unter denselben Bedingungen nach etwa 3 Std. infolge Hydrierung der Doppelbindung im Butenolidring im UV. keine selektive Absorption mehr. Demgegenüber bleibt die Extinktion (bei etwa 217 nm) einer Lösung von **17** in Äthanol noch nach 15–20 Std. unverändert, wobei die Azido-Gruppe meist nach 2–3 Std. schon zur Amino-Gruppe reduziert ist. Dieses überraschende Verhalten lässt sich damit erklären, dass die basische Gruppierung an C(3) des Steroidskeletts eine Orientierung zur Katalysatoroberfläche hin erfährt, wodurch die katalytisch leicht angreifbare ungesättigte Lactongruppierung von der aktiven Oberfläche des Katalysators so weit entfernt ist, dass kein Angriff mehr auf sie erfolgen kann¹³⁾.

Der Direktion der *F. Hoffmann-La Roche* danken wir bestens für die Unterstützung dieser Arbeit.

Die Massen- und NMR.-Spektren und ein Teil der Bestimmungen der spez. Drehungen wurden in den Physikalischen Laboratorien der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.*, Basel, aufgenommen. Wir möchten den Herren Drs. *G. Englert*, *W. Vetter* und *F. Burkhardt* bestens für diese Aufnahmen sowie die Hilfe bei der Interpretation der Spektren danken.

Die Mikroanalysen wurden entweder im Mikroanalytischen Labor der *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG.* oder im Institut für organische Chemie der Universität Basel ausgeführt. Herrn Dr. *A. Dirscherl* bzw. Herrn *E. Thommen* danken wir bestens für diese Bestimmungen.

Herrn Prof. Dr. *A. Hürlimann* und den Herren Drs. *H. P. Bächtold* und *K. Strub* danken wir für die Ermittlung der *Hatcher*-Dosen [= mittlere letale Dosis mg/kg (Katze)].

Experimenteller Teil

Allgemeines. Die Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert (Fehler etwa $\pm 2^\circ$).

Dünnschichtchromatographie. Hierfür benützten wir entweder mit Kieselgel (SiO₂) «*Camag*» mit 5% CaSO₄ (Schichtdicke 0,1 mm) beschichtete Glasplättchen (45 × 75 mm) lufttrocken ohne vorangegangene Aktivierung oder Fertigfolien (40 × 80 mm) POLYGRAM SIL G/UV₂₅₄ (Schichtdicke 0,25 mm) von *Macherey, Nagel & Co.* (D-516 Düren). Als Sprühreagenz diente ein Gemisch von konz. H₂SO₄/Äthanol 1:1. Das Erhitzen erfolgte über einem Infrarotstab. 2- bzw. 3mal Front bedeutet: 2- bzw. 3maliges Aufsteigenlassen des Lösungsmittels bis zur Front, wobei vor jedem neuen Entwickeln das DC.-Plättchen erst an der Luft bei 20° getrocknet wurde. *Säulenchromatographie:* Kieselgel (SiO₂) «*Merck*» (0,05–0,2 mm).

¹²⁾ Dasselbe gilt auch für die entsprechenden Bufadienolide, worüber in einer späteren Mitteilung berichtet werden soll.

¹³⁾ Ob dies auch für solche Cardenolide Gültigkeit hat, die eine basische Gruppe an einem C-Atom tragen, das einen geringeren Abstand zur Lactongruppe als das C(3) aufweist, ist bisher noch nicht untersucht worden.

Weg A. – *Digitoxigenon (2)*. 500 mg Digitoxigenin (**1**) vom Smp. 245–250° wurden in 56 ml Aceton gelöst, auf 0° abgekühlt und unter Rühren tropfenweise mit *Kilian*-Lösung [10]¹⁴) versetzt, bis die Lösung eben gelb-orange gefärbt blieb (etwa 0,7 ml). Anschliessend liess man noch 20 Min. bei 0° stehen und zersetzte durch Zugabe von einigen Tropfen Methanol das überschüssige CrO₃. Nach weiteren 20 Min. fügte man 20 ml Wasser zu und entfernte den grössten Teil des Acetons bei 20° im Vakuum. Die wässrige Lösung schüttelte man 4mal mit je 30 ml Chloroform aus. Nach Extraktion der organischen Phase mit verd. Natriumcarbonatlösung, anschliessendem 2maligen Neutralwaschen mit Wasser, Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Eindampfen: 489 mg Rohprodukt, das aus Aceton/Diäthyläther 400 mg **2** in Prismen vom Smp. 202–205° gab; $[\alpha]_D^{26} = +27,8^\circ \pm 2^\circ$ (Aceton).

Digitoxigenon-oxime A (5) und B (7) aus 2. 450 mg **2** vom Smp. 202–205°, mit 450 mg NH₂OH, HCl sowie 900 mg NaOAc, 3 H₂O und 45 ml 96proz. Äthanol versetzt, 30 Min. bei 22° geschüttelt, hierauf in einem Scheidetrichter 250 ml Chloroform zugegeben, wurden 3mal mit je 50 ml 0,5N HCl, 50 ml 10proz. KHCO₃ und 2mal mit 50 ml Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen extrahierte man noch 2mal mit je 100 ml Chloroform/Äthanol 9:1. Nach dem Trocknen der vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum: 474 mg weisser Schaum. Dieser zeigte im DC. (Chloroform + 7% Isopropylalkohol) neben einer Spur **2** zwei etwa gleich grosse Flecke mit kleineren Rf-Werten als **2**. Das rohe Oxim (474 mg) wurde an 250 g Kieselgel mit Chloroform + 7% Isopropylalkohol als Eluierungsmittel chromatographiert. \varnothing der Säule: 41 mm, Fraktionen zu 12 ml pro 30 Min. Die Fraktionen 1–54 eluierten neben 10 mg *Kedde*-negativer [18] Substanz 17 mg eines Gemisches von **5** und **2**. Aus den Fraktionen 55–69 erhielt man total 240 mg rohes Oxim A (**5**), das nach DC. (siehe oben) noch Spuren des langsamer laufenden Oxims B (**7**) enthielt. Die Fraktionen 70–80 gaben total 57 mg Eindampfrückstände: Gemische etwa gleicher Teile von **5** und **7**. Die Fraktionen 81–98 enthielten 150 mg des Oxims B (**7**), das nach DC. (siehe oben) nur noch Spuren von **5** aufwies. Aus den obigen 240 mg des rohen Oxims A nach 2maligem Umlösen aus Methanol/Diäthyläther/n-Pentan 115 mg hexagonale, z. T. zu Drusen vereinigte Blättchen vom Smp. 178–182°, der nach längerem Aufbewahren 234–238° betrug; $[\alpha]_D^{25} = +39,8^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform). Nach DC. (siehe oben) enthielt das Oxim **5** immer noch sehr wenig des Oxims **7**. *Massenspektrum*: M⁺ bei m/e 387 (C₂₃H₃₃NO₄). UV.-Spektrum (Äthanol): 215 nm (log ϵ = 4,23) und 271 nm (log ϵ = 1,64). Das bei der obigen Chromatographie erhaltene, im DC. (siehe oben) langsamer laufende Oxim **7** (150 mg) blieb amorph. Die zu Kristallisationsversuchen angesetzten Lösungen von **7** enthielten im Laufe der Zeit nach DC. (siehe oben) ein Gemisch etwa 1:1 der beiden Oxime **5** und **7**. *Hatcher*-Dosis 0,9. Bei einem weiteren Ansatz wurden aus 2,0 g **2** 2,2 g rohes Oxim gewonnen, aus dem direkt (nach Animpfen mit **5**) 341 mg fast reines Oxim A und 407 mg weniger einheitliches Material kristallisierte. Die Oxime A und B bleiben – trocken aufbewahrt – über längere Zeit unverändert.

O-Acetyl-digitoxigenon-oxim (6) aus 5. 50 mg Oxim **5** (enthielt nach DC. (siehe oben) noch wenig **7**) liess man mit 0,5 ml Pyridin und 0,35 ml Ac₂O 30 Min. bei 25° stehen, engte 1 Std. im Vakuum bei 25° über KOH und konz. H₂SO₄ auf etwa $\frac{1}{3}$ ein, versetzte mit 30 ml CH₂Cl₂ und schüttelte im Scheidetrichter 2mal mit je 10 ml 1N H₂SO₄, 2mal mit je 10 ml 10proz. KHCO₃-Lösung und 2mal mit je 10 ml Wasser durch. Die wässrigen Phasen wurden noch mit 20 ml CH₂Cl₂ nachextrahiert. Die organischen Phasen gaben nach dem Trocknen über Na₂SO₄, Filtrieren und Eindampfen im Vakuum bei 40° 56 mg Rohprodukt, das langsam kristallisierte. Nach DC. (Chloroform + 3% Isopropylalkohol, 2mal Front) war keine wesentliche Isomerisierung während der Aufarbeitung eingetreten. Aus CH₂Cl₂/Diäthyläther/n-Pentan 43 mg **6** in z. T. zu Drusen vereinigten Spiessen vom Doppel-Smp. 130–138° (Aufschäumen)/165–168°; $[\alpha]_D^{25} = +46,2^\circ \pm 4^\circ$ (Chloroform). Enthielt nach DC. (siehe oben) noch sehr wenig **8**. *Massenspektrum*: M⁺ bei m/e 429 (C₂₅H₃₅NO₅). UV.-Spektrum (Äthanol): 212–213 nm (log ϵ = 4,28).

O-Acetyl-digitoxigenon-oxim (8) aus 5 + 7. 40 mg rohes Oxim wurden in 0,6 ml Pyridin gelöst, mit 0,5 ml Acetanhydrid versetzt und 1 Std. bei 25° stehengelassen. Übliche Aufarbeitung gab 35 mg. Im DC. (Chloroform + 3% Isopropylalkohol, 2mal Front) 2 Flecke der O-Acetylverbindungen **6** und **8** (wobei **6** schwächer polar ist als **8**). Aus Aceton/Diäthyläther/n-Pentan 25 mg kurze, z. T. zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. nach dem Umlösen 217–220°; $[\alpha]_D^{24} = +43,5^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform). Nach DC. (siehe oben) einheitliches **8**. UV.-Spektrum (Äthanol): 212–213 nm

¹⁴) Mischung von 2,6 g CrO₃ in 2,3 ml konz. H₂SO₄ und 7 ml Wasser.

($\log \epsilon = 4,28$). *IR.-Spektrum* (CH_2Cl_2): unterscheidet sich lediglich im Fingerprint sehr wenig von demjenigen des **6**. *Hatcher-Dosis* 1,5.

$\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{NO}_5$ (429,54) Ber. C 69,90 H 8,21% Gef. C 69,91 H 8,42%

Reduktion des Oximgemisches 5 + 7. a) *3 β -Amino-3-desoxy-digitoxigenin-hydrochlorid (15)*. 200 mg Oximgemisch wurden in 2,5 ml Dioxan und 6 ml Äthanol gelöst, mit 3,5 ml Wasser und 0,5 ml 10proz. NH_3 -Lösung sowie 100 mg krist. NH_4Cl versetzt. Zu der klaren Lösung fügte man etwa 2 g frisch vorbereitetes Aluminiumamalgam¹⁵⁾ und liess das Reaktionsgemisch bei 20° stehen. Den Reduktionsverlauf verfolgte man im DC. (Chloroform/Äthanol 9:1). Nach 3 Tagen war kein Oxim mehr nachweisbar. Nach Zentrifugieren der Suspension und 3maliger Extraktion des Rückstandes mit heissem Äthanol dampfte man die vereinigten klaren Lösungen im Vakuum ein, versetzte den Rückstand 2mal mit Chloroform und entfernte dieses im Vakuum. Der Rückstand wurde in Aceton aufgenommen. Dabei blieb ein Teil ungelöst. Nach gründlichem Waschen mit Aceton und Trocknen: 150 mg. Das Filtrat gab nach dem Eindampfen 50 mg Rückstand. (Weitere Aufarbeitung siehe weiter unten unter «Acetonlöslichem».) Das in Aceton Unlösliche (150 mg) kristallisierte aus heissem Äthanol beim Abkühlen: 113 mg **15**, Smp. 282–292° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = +10^\circ \pm 5^\circ$ (Wasser). *Beilstein-Probe* auf Halogen und *Kedde-Reaktion* [18] positiv. *Hatcher-Dosis* 1,8.

$\text{C}_{23}\text{H}_{36}\text{ClNO}_3$ Ber. C 67,37 H 8,85 Cl 8,65 N 3,42%
(410,0) Gef. „ 67,39 „ 8,83 „ 8,76 „ 3,49%

Acetylverbindung 16. 50 mg **15** in 1,0 ml trockenem Pyridin gelöst, mit 0,5 ml Acetanhydrid versetzt und 30 Min. bei 20° stehengelassen, wurden mit Wasser und Chloroform versetzt und die organische Phase im Scheidetrichter mit verd. HCl, verd. Na_2CO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der Rückstand gab aus Aceton 37 mg **16** als Prismen vom Smp. 281–287° (Zers.); $[\alpha]_D^{20} = +21^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform). *UV.-Spektrum* (in Äthanol): 216 nm ($\log \epsilon = 4,22$). *Hatcher-Dosis* 0,5.

$\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{NO}_4$ (415,59) Ber. C 72,25 H 8,98 N 3,38% Gef. C 72,37 H 8,99 N 3,37%

Acetylverbindung 13 aus «Acetonlöslichem». 150 mg Acetonlösliches, aus mehreren Ansätzen erhalten (siehe oben bei **15**), in 1 ml Pyridin und 0,5 ml Acetanhydrid gelöst und 30 Min. stehengelassen, gaben nach üblicher Aufarbeitung 170 mg rohes Acetylierungsprodukt, das an 100 g Kieselgel chromatographiert wurde. Eluierungsmittel Chloroform/Äthanol 20:1, Fraktionen zu 15 ml pro 30 Min. Aus den Fraktionen 27–29 resultierten 100 mg Eindampfrückstände, die nach DC. (Chloroform/Äthanol 9:1) ein Gemisch unpolarer Substanzen bildeten (verworfen). Die Fraktionen 48–52 gaben 35 mg rohes **16**. Aus Aceton-Diäthyläther Kristalle vom Smp. 281–285° (Zers.). Die Fraktionen 56–60 enthielten 30 mg rohes **13**, das nach DC. (siehe oben) einheitlich war. Aus Aceton/Diäthyläther Prismen, die nach dem Trocknen im Vakuum den Doppel-Smp. 156–177°/253–257° (Zers.) zeigten. (Werden die Kristalle von **13** nicht vor der Smp.-Bestimmung im Vakuum getrocknet, dann zeigen sie den einfachen Smp. 156–177°!)

Weg B. – *3 α -Digitoxigenin (3)*. 2 g **2** vom Smp. 202–205°, in 80 ml Dioxan und 20 ml Wasser gelöst, mit der Lösung von 730 mg NaBH_4 in 75 ml 80proz. Dioxan versetzt und 1 Std. bei 20° gerührt, hierauf mit Eisessig neutralisiert, das Dioxan im Vakuum verjagt, der wässrige Rückstand 5mal mit je 30 ml Chloroform/Äthanol 3:1 extrahiert. Nach 2maligem Waschen der organischen Phasen mit jeweils 30 ml Wasser, Trocknen über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum: 1,9 g Rückstand. Aus Methanol 1,67 g **3**, Smp. 271–286°. Nach mehrmaligem Umlösen aus Methanol: Smp. 280–286°.

3 α -O-Tosyl-digitoxigenin (9) aus **3**. 1,6 g **3** vom Smp. 271–286° wurden in 40 ml trockenem Pyridin gelöst, mit der Lösung von 1,5 g Tosylchlorid in 10 ml Pyridin versetzt und 15 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Ansäuern (auf pH 4) wurde mit Chloroform mehrmals extrahiert, die Chloroform-Auszüge gründlich mit verd. Na_2CO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft: 2,2 g dunkelgelber Schaum. Da im DC. (Essigsäureäthylester/Cyclohexan 1:1) neben **9** **3** nachweisbar war, chromatographierte man das ganze

¹⁵⁾ 2 g Al-Späne wurden mit 10proz. NaOH bedeckt, 3 Min. auf dem Dampfbad erhitzt, wobei starke H_2 -Entwicklung einsetzte, die NaOH-Lösung abgossen, das angeätzte Al 4mal mit Wasser und schliesslich 1mal mit Äthanol gewaschen, hierauf 15 Sek. mit 2proz. HgCl_2 -Lösung stehengelassen und sofort mit Wasser (3mal) und Äthanol (1mal) gewaschen.

Rohprodukt an 30 g Kieselgel. 7 Fraktionen zu 100 ml (Chloroform) eluierten nichts, 3 Fraktionen zu 100 ml Chloroform/Äthanol 99:1 enthielten nach DC. (siehe oben) reines **9**. Aus Aceton/Diäthyläther 1,63 g Nadeln vom Smp. 155–156°; $[\alpha]_D^{25} = +35^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform). Mit Chloroform/Äthanol 95:5 wurden noch 390 mg rohes **3** eluiert.

3β-Azido-3-desoxy-digitoxigenin (17) aus 9. 500 mg **9** vom Smp. 155–156° wurden in 43 ml Dimethylformamid gelöst, mit 0,7 g NaN_3 versetzt und unter Wasserausschluss 3 Std. auf 75° erwärmt, danach noch weitere 16 Std. bei 20° geführt, vom NaN_3 abfiltriert, das Filtrat mit 27 ml Wasser und 17 ml Chloroform/Äthanol 4:1 in einen Scheidetrichter gespült. Die wässrige Phase schüttelte man 4mal mit Chloroform/Äthanol 4:1 aus. Die Chloroform/Äthanol/Dimethylformamid-Auszüge wurden 2mal mit je 17 ml Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft: 365 mg krist. Rückstand. Aus Aceton 235 mg Prismen, Smp. 213–215°; nach Umlösen aus Aceton Smp. 213–217°; $[\alpha]_D^{25} = +22^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform). Im DC. (Cyclohexan/Essigsäureäthylester 1:1) einheitlich. Die *Kedde*-Reaktion war positiv.

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3$ (399,53) Ber. C 69,14 H 8,33 N 10,52% Gef. C 69,02 H 8,32 N 10,68%

3β-Amino-3-desoxy-digitoxigenin-hydrochlorid (15) aus 17. 350 mg **17** vom Smp. 213–217°, in 15 ml Dioxan, 10 ml Methanol, 5 ml Wasser und 2 ml 10proz. NH_3 gelöst, mit 80 mg NH_4Cl versetzt und 17 Std. in H_2 -Atmosphäre mit 2 g AlHg^{15} geschüttelt, gaben nach Aufarbeitung, wie oben bei **15** beschrieben, 250 mg rohes Hydrochlorid **15**. Aus Äthanol 235 mg Nadeln, Smp. 277–287° (Zers.). – *Acetylverbindung 16*. 70 mg **15** wurden in üblicher Weise acetyliert: 68 mg rohes **16**. Aus Aceton/Diäthyläther Kristalle vom Smp. 275–287° (Zers.). Die Mischprobe mit dem *via* Oxim bereiteten Acetylprodukt vom Smp. 281–287° (Zers.) schmolz bei 275–287° (Zers.). Im DC. (Chloroform/Äthanol 5:0,3, 2mal Front) zeigten beide Acetylprodukte denselben Rf-Wert.

3β-Amino-3-desoxy-digitoxigenin 14 durch katalytische Reduktion von 17 mit Pd/CaCO₃. 5 g **17** vom Smp. 213–217°, in 50 ml CH_2Cl_2 und 100 ml Methanol gelöst, mit 2,5 g 5proz. Pd/CaCO_3 (*Fluka*) versetzt und 6 Std. bei 20° in H_2 -Atmosphäre geschüttelt, dampfte man nach dem Abfiltrieren des Katalysators im Vakuum bei 30° ein, nahm den Rückstand in 400 ml Chloroform auf und extrahierte mit 400 ml Wasser, das 13 ml 2N HCl enthielt. Die organische Phase wurde noch 2mal mit je 200 ml Wasser und 5 ml 2N HCl ausgeschüttelt, die wässrigen Phasen nacheinander 4mal mit jeweils 200 ml Chloroform gewaschen, dieses über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft: 0,55 g neutrale Anteile. Die vereinigten wässrigen, sauren Ausschüttelungen machte man mit NH_3 -Lösung alkalisch und extrahierte 4mal mit je 200 ml Chloroform. Die Chloroformauszüge passierten 2 Scheidetrichter mit je 50 ml Wasser, das wenig NH_3 -Lösung enthielt. Trocknen über Na_2SO_4 , Filtrieren und Eindampfen im Vakuum bei 30° gab 4,4 g rohes Amin **14**. Aus Chloroform/Diäthyläther 3,98 g dicke Prismen vom Smp. 216–217°¹⁶). $[\alpha]_D^{20} = +17^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform). *UV-Spektrum* (in Äthanol): 217 nm ($\log \epsilon = 4,17$). Die Verbindung enthielt 0,06 Mol Chloroform.

$\text{C}_{23}\text{H}_{35}\text{NO}_3$, 0,06 CHCl_3 Ber. C 72,76 H 9,28 Cl 1,68 N 3,68%
(«380,71») Gef. ,, 72,62 ,, 9,43 ,, 1,74 ,, 3,54%

3-O-Tosyl-digitoxigenin (4) aus 1. 5 g Digitoxigenin, in 20 ml trockenem Pyridin gelöst, mit 3 g Tosylchlorid in 10 ml Pyridin bei 0° tropfenweise versetzt, 3 Tage bei 15° stengelassen und, wie beim Tosylester **9** beschrieben, aufgearbeitet. Der rohe Tosylester enthielt nach DC. (System Cyclohexan/Essigsäureäthylester 1:1) noch wenig Ausgangsmaterial sowie ein schwächer polares Reaktionsprodukt. Durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Aceton/Diäthyläther 1,58 g einheitliche prismatische Plättchen, Smp. 145–147°; $[\alpha]_D^{25} = +16^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform).

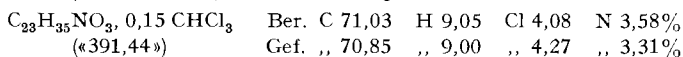
3α-Azido-3-desoxy-digitoxigenin (10) aus 4. Das aus 3,5 g rohem **4** in Dimethylformamid mit 1,0 g NaN_3 erhaltene rohe Azid (2,59 g) wurde, wie bei der Gewinnung von **17** aus **9** beschrieben, aufgearbeitet und hierauf an 250 g Kieselgel mit Essigsäureäthylester/Cyclohexan 1:2 chromatographiert. Fraktionen zu 50 ml/Std. Fraktionen 20–21 enthielten 17 mg unpolare Substanzen, Fraktionen 22–23 ein Gemisch unpolarer Substanzen und nach DC. (siehe oben) **17**, Fraktionen 24–38 nach DC. reines **10** (roh etwa 2 g). Aus Aceton/Diäthyläther 1,2 g Nadeln. Smp. 165–167°; $[\alpha]_D^{25} = +43^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform).

$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_3$ (399,53) Ber. C 69,14 H 8,33 N 10,52% Gef. C 69,11 H 8,35 N 10,33%

¹⁶) U. Stache et al. [6] geben für das von ihnen bereitete «freie» 3ξ-Amino-3-desoxy-digitoxigenin einen Smp. von 270–272° an!

3 α -Amino-3-desoxy-digitoxigenin-hydrochlorid (12) aus **10**. 370 mg **10** vom Smp. 165–167°, in 5 ml Dioxan, 20 ml Methanol, 1 ml 10proz. NH₃ und 2 ml Wasser gelöst, mit 50 mg NH₄Cl versetzt, wie bei der Reduktion von **5** + **7** zu **15** beschrieben, mit 3 g AlHg 4 Tage bei 20° stehengelassen und hierauf aufgearbeitet: 352 mg Rohprodukt, das nicht kristallisierte. *Beilstein*-Probe auf Halogen positiv. *Hatcher*-Dosis nicht bestimmbar (bis 4 unwirksam). – *Acetylverbindung 13* aus **12**. 200 mg **12**, wie üblich acetyliert, gaben 180 mg rohe Acetylverbindung **13**. Aus Aceton/Diäthyläther 100 mg Prismen vom Doppel-Smp. 156–177°/249–252° (Zers.); $[\alpha]_D^{25} = +47^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform). Im Misch-DC. (Chloroform/Äthanol 9:1) mit dem oben beschriebenen **13** nur ein Fleck. *Hatcher*-Dosis 2.

3 α -Amino-3-desoxy-digitoxigenin 11 durch katalytische Reduktion von **10** mit Pd/CaCO₃, 270 mg **10** vom Smp. 165–167° in 5 ml Chloroform und 5 ml Methanol gelöst, mit 150 mg 5proz. Pd/CaCO₃ (*Fluka*) versetzt, 5 Std. in H₂-Atmosphäre geschüttelt, gab nach – wie oben bei der katalytischen Reduktion von **17** zu **14** beschriebener – Aufarbeitung 75 mg neutrale Anteile und 200 mg rohes Amin **11**. Aus Essigsäureäthylester 100 mg feine Prismen vom Smp. 247–250° bzw. 246–249° nach dem Umlösen aus Chloroform¹⁶). Die Mischprobe mit dem Amin **14** schmolz bei 205–240°. $[\alpha]_D^{25} = +24^\circ \pm 3^\circ$ (in Chloroform). Die Verbindung enthält 0,15 Mol Chloroform.



Eine Probe von **11** wurde in einigen Tropfen Chloroform gelöst, mit HCl-Gas gesättigtem Chloroform (etwa 10 mg HCl/ml) bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und im Vakuum eingedampft. Das Hydrochlorid **12** konnte auch hier nicht kristallin erhalten werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] K. Meyer, *Planta Medica* **19**, Suppl. 4, 2 (1971).
- [2] U. Boffo, H. H. A. Linde & K. Meyer, *Helv.* **53**, 1385 (1970).
- [3] K. K. Chen, *Ann. Rev. Physiol.* **7**, 677 (1945); *Ch. Tamm*, Proc. of the 1st Intern. Pharmacol. Meeting, Pergamon Press, Oxford u. a. 1963, Vol. 3, pag. 11; K. K. Chen, *ibid.* pag. 27; K. K. Chen & F. G. Henderson, *J. Med. Chem.* **8**, 577 (1965); K. K. Chen, *ibid.* **13**, 1029, 1035 (1970).
- [4] W. Zürcher, E. Weiss-Berg & Ch. Tamm, *Helv.* **52**, 2449 (1969).
- [5] Y. Saito, Y. Kanemasa & M. Okada, *Chem. pharm. Bull.* **18**, 629 (1970).
- [6] U. Stache, W. Haede, W. Fritsch, K. Radscheit & E. Lindner, *Offenlegungsschrift* 2013032 (Anmeldetag 19. 3. 1970; Offenlegungstag 30. 9. 1971); *Chem. Abstr.* **76**, 14816b (1972).
- [7] A. Windaus & G. Stein, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **61**, 2436 (1928).
- [8] H. P. Sigg, *Ch. Tamm & T. Reichstein*, *Helv.* **36**, 985 (1953).
- [9] K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones & B. C. L. Weedon, *J. chem. Soc.* **1946**, 39; C. Djerrassi, R. R. Engle & A. Bowers, *J. org. Chemistry* **21**, 1547 (1956).
- [10] H. Kiliiani, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **46**, 667 (1913).
- [11] G. R. Pettit, R. L. Smith, A. K. Das Gupta & J. L. Occolowitz, *Canad. J. Chemistry* **45**, 501 (1967).
- [12] C. Harries & R. Majima, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **41**, 2516 (1908); V. Cerverez & Mme Dumitresco-Colesiu, *Bull. Soc. chim. France* [5] **1**, 852 (1934); A. Wohl, *Bull. Soc. chim. France* [5] **2**, 2135 (1935); Chao-Lun Tseng & Chi Chang, *Science Rep. Natl. Univ. Peking* **1**, Nr. 3, 19 (1936), *Chem. Abstr.* **31**, 95 (1937).
- [13] C. W. Shoppee, D. E. Evans, H. C. Richards & G. H. R. Summers, *J. chem. Soc.* **1956**, 1649.
- [14] H. C. Richards, C. W. Shoppee, J. C. P. Sty & G. H. R. Summers, *J. chem. Soc.* **1956**, 1054.
- [15] J. H. Pierce, C. W. Shoppee & G. H. R. Summers, *J. chem. Soc.* **1955**, 690.
- [16] A. K. Bose, J. F. Kistner & L. Farber, *J. org. Chemistry* **27**, 2925 (1962).
- [17] A. Cave, F.-X. Jarreau, Qui Khuong-Huu, M. Lebauf, N. Serban & R. Goutarel, *Bull. Soc. chim. France* **1967**, 701.
- [18] D. L. Kedde, *Pharmac. Weekbl.* **82**, 741 (1947); vgl. auch I. E. Bush & D. H. Taylor, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).