

## Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat und zwei seiner Ester

Von K.-H. SEGEL\*)

Mit 3 Abbildungen

### Inhaltsübersicht

Die Synthese des Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinats und seines wasserlöslichen Natriumsalzes aus Digitoxigenin mit Bernsteinsäureanhydrid werden beschrieben. Ferner wird die Überführung in den Methyl- und den Glykolester erläutert. Durch die Hydrolyse, die zum Ausgangsprodukt Digitoxigenin führte, ist eine  $\beta$ -Konfiguration am C-3 bewiesen worden.

Die Wirkung der Digitalisglykoside auf das Herz wird durch einen charakteristischen Molekülbau verursacht. Unter anderem muß sich der Hydroxylsauerstoff in Stellung 3 des Cardenolids in der  $\beta$ -Konfiguration befinden<sup>1)</sup>. Wandelt man beispielsweise Digitoxigenin in Epidigitoxigenin, d. h. die genannte  $\beta$ -Stellung am C-3 in eine  $\alpha$ -Stellung um, so verliert die Substanz ihre Herzwirksamkeit<sup>2)</sup>.

Zum Schutz und zur Charakterisierung wurde die genannte Hydroxylgruppe bei Herzglykonen häufig mit Acetyl-, Benzoyl- und Tosylresten verknüpft, wobei eine gewisse Herzwirksamkeit erhalten bleibt<sup>1)</sup>. Allerdings bringen diese Reaktionen stets einen Verlust an hydrophiler Eigenschaft mit sich. Legt man dagegen Wert auf eine Steigerung, so empfiehlt sich die Verknüpfung mit Bernsteinsäure. Eine solche Verknüpfung benutzte bereits die Firma Chas. Pfizer a. Co.<sup>3)</sup>, indem sie bei adrenocorticotropen Steroidhormonen C-21-Hemisuccinate herstellte.

Wir interessierten uns für ein wasserlösliches Digitoxigenin-Derivat, das wir durch Veresterung mit Bernsteinsäure und Salzbildung gewinnen konnten. Dabei bleibt die  $\beta$ -Stellung des C-3-Hydroxyls bestehen. Wie man vermuten konnte, zeigte diese Verbindung eine positiv-inotrope Reaktion am

\*) Jetzige Anschrift: 1017 Berlin, Box 2.

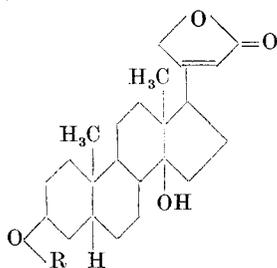
<sup>1)</sup> Ch. TAMM, Fortschr. Chem. organ. Naturstoffe **13**, 137 (1956). — L. FIESER a. M. FIESER, „Steroids“ New York: Reinhold Publ. Corp. u. London: Chapman & Hall Ltd. 1959. — H. LETTRÉ, H. H. INHOFFEN u. R. TSCHESCHE, „Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe“, Bd. 1, R. TSCHESCHE, „Die Herzgifte“, Stuttgart: Ferdinand Enke, 1954.

<sup>2)</sup> H. P. SIGG, Ch. TAMM u. T. REICHSTEIN, Helv. chim. Acta **36**, 985 (1953).

<sup>3)</sup> Chas. PFIZER a. Co., British Pat. 769,767 20. 5. 55.

isolierten Froeschherz nach STRAUB<sup>4</sup>), über die ausführlicher von KÖSSLER<sup>5</sup>) an anderer Stelle berichtet wurde. Leider gelangte uns die Publikation von ZINGG und MEYER<sup>6</sup>), die bereits 3 $\beta$ -Succinoxy-digitoxigenin beschrieben, erst nach Abschluß unserer Arbeiten und beim Abfassen des Manuskriptes in die Hände. ZINGG und MEYER teilten allerdings mit, daß das Kaliumsalz des Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinats keine Herzwirkung bei Katzen hervorrief.

Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat (**1**) stellten wir aus Digitoxigenin und Bernsteinsäureanhydrid in Pyridin in befriedigender Ausbeute nach dem Verfahren von BEHREND und ROTH<sup>7</sup>) her. Die Verbindung löst sich leicht in alkoholischer Kali- oder Natronlauge, und hieraus gewinnt man die entsprechenden, wasserlöslichen Salze (**3**). Eine Veresterung mit Diazomethan



- 1** R = CO—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—COOH  
**2** R = CO—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—COOCH<sub>3</sub>  
**3** R = CO—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—COONa (oder K)  
**4** R = CO—CH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>—CO—OCH<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>OH

Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat (**1**) und Derivate

zum Methylester (**2**) gelingt fast quantitativ. Die Umsetzung des Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinats mit Äthylenoxid ist nur in Anwesenheit von wasserfreiem Eisen(III)-chlorid als Katalysator nach GILMAN und YALE<sup>8</sup>) möglich (**4**). Ohne diesen Katalysator findet keine Umsetzung statt.

Die Hydrolyseversuche mit Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat waren sowohl mit verdünnten Laugen (Salzbildung) als auch mit verdünnten Säuren erfolglos. Eine Hydrolyse gelang erst mit Natrium-n-butylat in Diäthyläther/Aceton, leicht abgewandelt nach der Methode von RABITSCH<sup>9</sup>). Man erhält Digitoxigenin zurück, womit eine 3 $\beta$ -Verknüpfung der Bernsteinsäure bewiesen ist.

<sup>4</sup>) W. STRAUB, Biochem. Z. **28**, 392 (1910) — L. THER, „Pharmakologische Methoden“, Wissenschaftl. Verlagsges. m. b. H. Stuttgart, 1949.

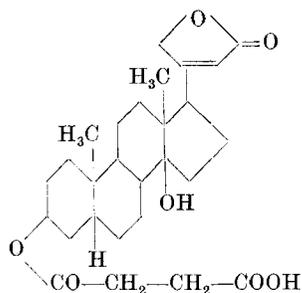
<sup>5</sup>) A. KÖSSLER, Monatsber. Dt. Akad. Wiss. Berlin, **5**, 303 (1963).

<sup>6</sup>) M. ZINGG u. K. MEYER, Pharm. Acta Helv. **32**, 393 (1957).

<sup>7</sup>) R. BEHREND u. P. ROTH, Liebigs Ann. Chem: **331**, 359 (1904).

<sup>8</sup>) H. GILMAN a. H. L. YALE, Amer. chem. Soc. **72**, 3593 (1950).

<sup>9</sup>) G. RABITSCH, Monatsber. Dt. Akad. Wiss. Berlin **5**, 299 (1963).



- ↗ KOH, NaOH → keine Hydrolyse
- HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> → keine Hydrolyse
- ↘ Natrium-n-butylat → Digitoxigenin

#### Hydrolyse von Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat

Für außerordentlich gute Assistenz sei Frl. S. KÜNKEL vielmals gedankt.

### Beschreibung der Versuche

Alle angegebenen Schmelzpunkte wurden auf dem BOETIUS-Heiztisch bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis 200° etwa  $\pm 2^\circ$ , darüber  $\pm 3^\circ$ . Bei der Papierchromatographie ist abgewandelt nach SCHINDLER und REICHSTEIN<sup>10)</sup> absteigend (etwa 4 Stunden) mit dem System Benzol-Chloroform 3:1 (Vol./Vol.), mit Formamid gesättigt, gearbeitet worden. Das Papier, Whatman No. 1, war mit Aceton-Formamid 4:1 (Vol./Vol.) getränkt. Entwickelt wurde mit 20proz. chloroformiger Antimon(III)-chlorid-Lösung<sup>11)</sup>. Für die Dünnschichtchromatographie benutzte man Kieselgel G „Merck“ (Platten 7 × 12 cm), ließ in Essigsäureäthylester laufen und entwickelte ebenfalls mit Antimontrichlorid-Lösung.

#### Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat (1)

Zu einer Lösung von 250 mg (2/3 mMol) Digitoxigenin (Fp. 238—254°) in 6 ml absol. Pyridin wurden 2,5 g (25 mMol) Bernsteinsäureanhydrid hinzugefügt. Nach 1/2-stündigem Schütteln, wobei sich der größte Teil löste, blieb die Mischung zwei Wochen bei Raumtemperatur stehen. Der Reaktionsverlauf wurde mit Hilfe der Papierchromatographie grob verfolgt. (Siehe Abb. 1.) Danach wurde das Pyridin im Vakuum abgedampft, der ölige, trübe, z. T. kristalline Rückstand in etwa 3 ml Methanol gelöst und tropfenweise mit so viel Wasser versetzt, bis Kristallisation einsetzte. Man ließ über Nacht stehen, saugte ab und wusch die Kristalle (150 mg) mit wenig Wasser. Dann wurden sie in etwa 25 ml Chloroform gelöst und die Lösung mit Wasser, zweimal mit 2 n Schwefelsäure und wiederum zweimal mit Wasser gewaschen, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Chloroform im Vakuum abgedampft. Den entstandenen schwach bräunlichen Schaum kristallisierte man aus Methanol/Äther um. Ausbeute: 129 mg (41% d. Th.) Nach wiederholtem Umkristallisieren Fp: 222 bis 234°.  $[\alpha]_D^{24} = -14,5^\circ$  (c = 1,24 Me-

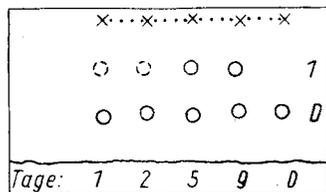
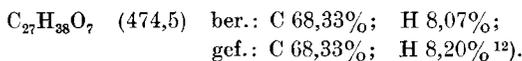


Abb. 1. Reaktionsverlauf der Umsetzung von Digitoxigenin (D) mit Bernsteinsäureanhydrid zu Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat (1)

<sup>10)</sup> O. SCHINDLER u. T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **34**, 108 (1951).

<sup>11)</sup> R. TSCHESCHE, G. GRIMMER u. F. SEEHOFER, *Chem. Ber.* **86**, 1235 (1953).

thanol). Die Substanz löst sich gut in Methanol, Pyridin; mäßig gut in Aceton, Äthanol, Dioxan, Essigsäureäthylester; wenig in Benzol und nicht in Äther, Petroläther und Wasser. Chromatogramme siehe Abb. 2.  $R_f$ -Wert 0,35.



### Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemibernsteinsäure-methylester (2)

Zur Methylierung des Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinats wurde zu 25 mg, in etwa 1 ml Aceton gelöst, tropfenweise frisch zubereitete, gelbe, ätherische Diazomethanlösung hinzugegeben, wobei sich eine lebhaft Gasentwicklung und gleichzeitige Entfärbung ergab. Mit einigen Tropfen Überschuß der Diazomethanlösung blieb die Mischung über Nacht stehen und wurde dann im Vakuum bis zum fast farblosen Sirup eingengt. Man nahm den Sirup in wenig Methanol auf und verdampfte erneut. Schließlich wurde aus Aceton/Äther zweimal umkristallisiert. Ausbeute 24 mg (93% d. Th.) farblose, lange, dünne, blättchenartige Drusen; Fp. 193–198°.  $R_f = 0,95$  (Siehe Abb. 2).

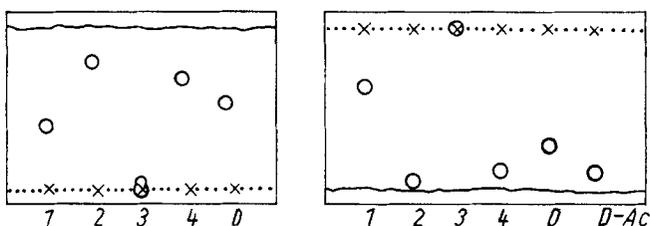


Abb. 2. Dünnschicht- und Papierchromatogramme (D = Digitoxigenin, D-Ac = Digitoxigenin-3 $\beta$ -acetat)

### Natriumsalz des Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinats (3)

30 mg Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat löste man in wenigen Tropfen Methanol in der Wärme und fügte äquivalente Mengen (0,1 ml) einer 2,5proz. Natronlauge hinzu. Die klare Lösung erwärmte man bis zum Siedepunkt, fügte etwa 1 ml Methanol hinzu und brachte mit Äther zum Kristallisieren. Man ließ über Nacht stehen, saugte ab und wusch die Kristalle mit Äther. Feine, farblose Kristalle, Fp. 201–203°. Löslich in kaltem Wasser und Methanol  $R_f$ -Wert 0,0 (siehe Abb. 2).

### Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemibernsteinsäure-glykolester (4)

50 mg Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat, vorher  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 80° im Vakuum getrocknet wurden bei  $-10^\circ$  in etwa 10 ml Äthylenoxid gelöst und mit etwa 1 mg wasserfreiem Eisen(III)-chlorid versetzt. Die klare Lösung färbte sich dabei schwach gelbbraun und wurde bei  $0^\circ$  verschlossen aufbewahrt. Die Reaktion ist papierchromatographisch verfolgt worden. Nach zwei Monaten verdampfte man das Äthylenoxid an der Luft, wobei ein klarer, brauner Sirup zurückblieb. Er wurde in etwa 1 ml Methanol aufgenommen, das  $\text{FeCl}_3$  mit wenig 2 n Natriumcarbonatlösung gefällt und abfiltriert. Nun setzte man noch etwas Me-

<sup>12)</sup> Die Mikroelementaranalyse führte Frau F. KNOBLOCH (Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Pharmakologie) aus, wofür wir herzlich danken.

thanol hinzu und fällte den Rest des Natriumcarbonats aus, filtrierte ab und engte die Lösung auf etwa 2 ml ein. Jetzt wurde mit Wasser versetzt, wobei sich die Lösung milchig trübte, und dreimal mit Chloroform extrahiert. Die Chloroformextrakte wurden mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Aus dem schwach gelben Sirup bildeten sich innert einer halben Stunde Kristallrosetten. Ausbeute etwa 30 mg (55% d. Th.). Aus Methanol/Äther umkristallisiert ergaben sich feine, farblose, leichte Nadeln, Fp. 170 bis 201°. Die Substanz löst sich gut in Aceton, Chloroform, Dioxan, Pyridin; in der Wärme gut in Äthanol, Benzol, Essigsäureäthylester, Methanol; nicht in Äther, Petroläther und Wasser. R<sub>f</sub>-Wert 0,90 (siehe Abb. 2). Eine Umsetzung mit Diazomethanlösung ergab keine Reaktion.

## Hydrolyseversuche von Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat

### 1. Mit verd. Salzsäure (A)

Es wurden 4 mg Digitoxigenin-3 $\beta$ -hemisuccinat (1) durch Erhitzen in drei Tropfen Methanol gelöst, und die Lösung mit 0,5 ml 0,1 n Salzsäure versetzt. Den ausgefallenen Niederschlag brachte man mit mehreren Tropfen Methanol wieder in Lösung. Nun wurde 30 min unter Rückfluß gekocht. Die papierchromatographische Untersuchung (siehe Abb. 3) ergab lediglich Ausgangssubstanz.

### 2. Mit verd. Schwefelsäure (B)

In der gleichen Weise wie mit verd. Salzsäure wurden 4 mg 1 mit verd. Schwefelsäure (0,1 n) behandelt. Die Prüfung ergab auf dem Papierchromatogramm (siehe Abb. 3) neben der Ausgangssubstanz einen zusätzlichen, etwas schwächeren Fleck. Es handelt sich dabei allerdings nicht um das erwartete Digitoxigenin.

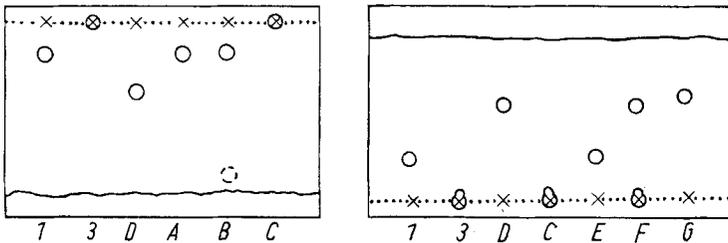


Abb. 3. Papier- und Dünnschichtchromatogramme der Hydrolyseversuche

### 3. Mit verd. Natronlauge (C)

4 mg 1 löste man durch Erwärmen in 3 Tropfen Methanol und fügte 0,5 ml, 0,1 n Natronlauge hinzu. Im ersten Moment trübte sich die Lösung, wurde aber nach kurzem Umschütteln wieder klar. Dann ist 30 min unter Rückfluß gekocht worden. Die Überprüfung mit Hilfe der Dünnschicht- und Papierchromatographie (siehe Abb. 3) zeigte, daß sich das Natriumsalz (B) gebildet hatte. Säuerte man die Reaktionslösung mit verd. Schwefelsäure an, so bildete sich 1 zurück (E).

### 4. Mit Natrium-n-butylat (G)

Man löste 25 mg 1 in 2,5 ml Aceton, fügte 2,5 ml Äther und 3,1 ml frisch bereitetes Natrium-n-butylat (0,23 g metallisches Natrium in 100 ml wasserfreiem n-Butanol gelöst) hin-

zu ( $\text{pH} \sim 10\text{--}11$ ). Nun wurde 30 min geschüttelt. Die etwas getrübe Lösung goß man in 45 ml Chloroform und filtrierte den flockigen Niederschlag ab. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgedampft. Zur restlichen Entfernung des Butanols kamen wiederum 3 ml Chloroform hinzu. Die erneute Trübung wurde wieder durch Filtrieren entfernt und die Lösung nochmals eingengt. Den Rückstand nahm man mit Methanol auf und kristallisierte mit Äther. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol/Äther schmolz das farblose Produkt bei  $227\text{--}232^\circ$ . Durch Dünnschichtchromatographie konnte es als Digitoxigenin (siehe Abb. 3) nachgewiesen werden.

Bei der Dünnschichtchromatographie der Mutterlauge (**F**) zeigte sich, daß sich auch ein Teil Natriumsalz des Digitoxigenin- $3\beta$ -hemisuccinats (**3**) gebildet hatte.

Berlin-Buch, Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Angewandte Isotopenforschung.

Bei der Redaktion eingegangen am 24. Februar 1964.