

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 110° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

2,635 mg Subst. gaben 6,59 mg CO₂ und 2,15 mg H₂O (F.W.)

C₂₁H₃₄O₅ (366,48) Ber. C 68,82 H 9,35% Gef. C 68,25 H 9,13%

Ester X. Krystallisierte nicht aus Methanol. Aus Aceton-Äther farblose, kleine Nadeln, Smp. 198—199°; $[\alpha]_D^{18} = +65,2^\circ \pm 4^\circ$ (c = 0,533 in Aceton).

5,381 mg Subst. zu 1,0094 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{18} = +0,37^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Stunden im Hochvakuum bei 110° getrocknet und im Schweinchen eingewogen.

2,581 mg Subst. gaben 6,17 mg CO₂ und 1,99 mg H₂O (F.W.)

C₂₁H₃₄O₆ (382,48) Ber. C 65,94 H 8,96% Gef. C 65,24 H 8,63%

Die Mischprobe mit Ester IX schmolz bei 170—190°.

Die Mikroanalysen wurden teils im Mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung W. Manser) (ETH.), teils bei Herrn F. Weiser, Basel (F. W.), ausgeführt. Die Ultraviolett-Absorptionsspektren wurden im Mikroanalyt. Labor der ETH. aufgenommen.

Zusammenfassung.

Ouabagenin lieferte bei der Acetylierung zwei verschiedene Acetate A und B, die sich mit KMnO₄ zu zwei verschiedenen Säuren abbauen liessen. Die aus Acetat A erhaltene Säure wurde in den Methylester übergeführt, der bei der Behandlung mit POCl₃ ein Gemisch ungesättigter Ester lieferte, aus dem sich nach Hydrierung ein krystallisiertes Acetat C₂₉H₄₂O₁₁ isolieren liess. Die amorphen Mutterlaugen gaben nach Verseifung und Remethylierung zwei krystallisierte Oxyester, denen vermutlich die Formeln C₂₁H₃₄O₅ und C₂₁H₃₄O₆ zukommen.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

276. Weitere Abbauersuche mit Ouabagenin (II).

Glykoside und Aglykone, 41. Mitteilung¹⁾

von R. F. Raffauf und T. Reichstein.

(20. X. 48.)

Ouabain (hypothetische Teilformel VI) gibt nach Mannich und Siewert²⁾ beim Stehen mit Aceton und HCl Monoaceton-ouabagenin (VIII), Anhydro-ouabagenin (IX) und Ouabagenin (VII). VIII kann durch kurzes Kochen mit Nitrobenzol in IX übergeführt werden; sowohl VIII wie IX liefern bei milder saurer Hydrolyse leicht VII. VIII und IX wurden durch die beiden Diacetate XI und XIII

¹⁾ 40. Mitt. A. Meyrat und T. Reichstein, Helv. 31, 2104 (1948).

²⁾ Die mit Buchstaben bezeichneten Fussnoten siehe Formelseite.

charakterisiert, Ouabagenin (VII) durch ein Tetra-acetat IV vom Smp. 282—285°. Zwecks Gewinnung von Derivaten einer Hexaoxy-ätiocolansäure haben *Meyrat* und *Reichstein*^{a)} kürzlich Ouabagenin (VII) nach *Mannich* und *Siewert* bereitet, was unschwer gelang. Die Acetylierung gab überraschenderweise neben dem Acetat von *Mannich* und *Siewert*, das als Acetat A bezeichnet wurde, noch einen weiteren, anscheinend isomeren Stoff X, den sie Acetat B nannten. Dieses blieb auch bei nochmaliger Behandlung mit Pyridin-Acetanhydrid unverändert.

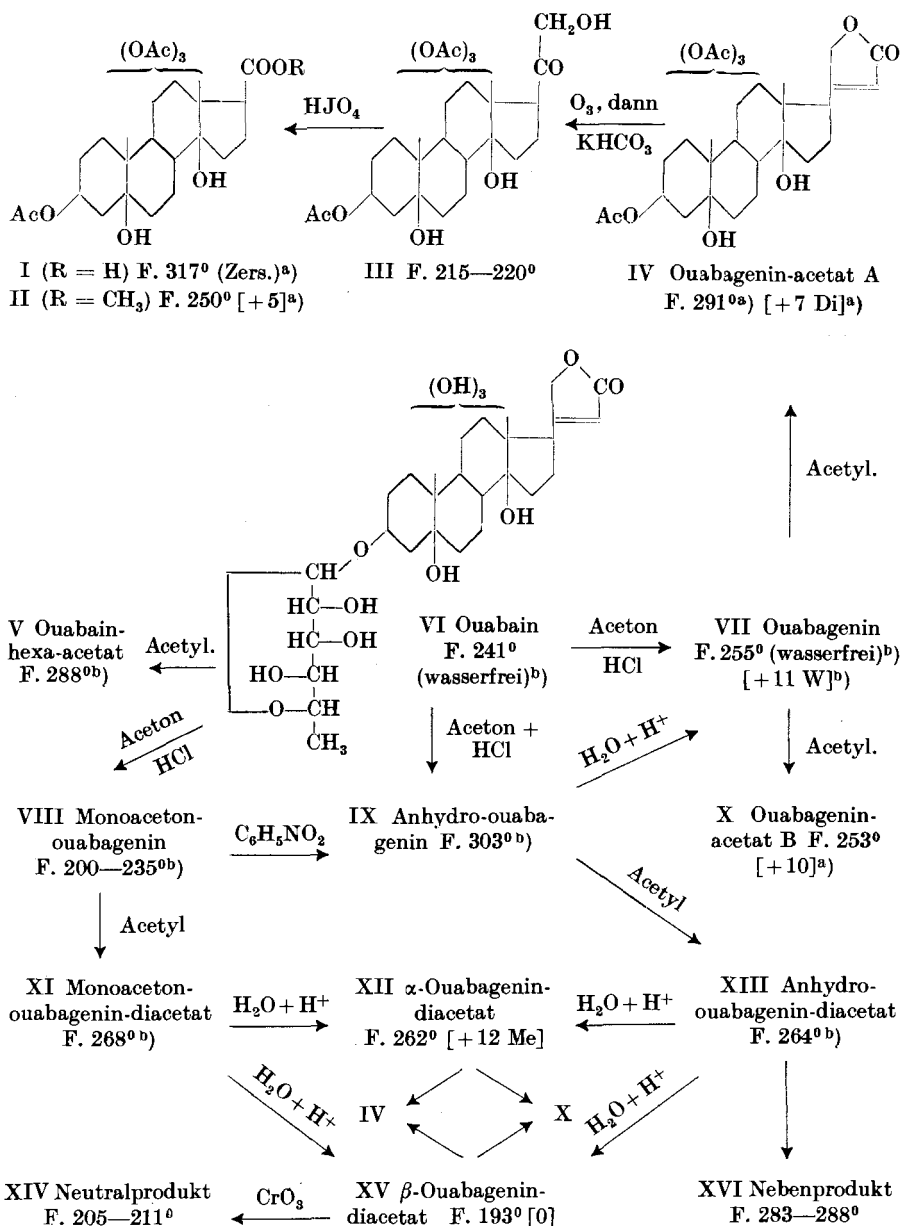
Wir haben die Herstellung von Ouabagenin (VII) vor einiger Zeit wiederholt; es konnte am leichtesten durch Krystallisation aus Nitrobenzol in relativ scharf schmelzenden Krystallen, Smp. 262—265° erhalten werden¹⁾. Nach kurzem Liegen an der Luft sank er durch Aufnahme von Krystallwasser^{b)}. Die Acetylierung gab wieder die 2 Stoffe IV und X, wobei zur Sicherheit noch festgestellt wurde, dass auch IV bei nochmaliger Behandlung mit Pyridin-Acetanhydrid unverändert bleibt. — Weiter wurde das Monoaceton-ouabagenin-diacetat (XI) einer milden Hydrolyse mit wässrig-alkoholischer Schwefelsäure unterworfen. Dabei wurden zwei anscheinend isomere Stoffe XII und XV erhalten, deren Analysen auf die Bruttoformel $C_{27}H_{38}O_{10}$ passten, und die wir daher α -Ouabagenin-diacetat und β -Ouabagenin-diacetat nennen²⁾. Ganz ähnlich verlief die saure Hydrolyse des Anhydro-ouabagenin-diacetats (XIII), nur mussten etwas energischere Bedingungen angewendet werden, um eine Spaltung zu erzielen. Es entstanden dieselben 2 Stoffe XII und XV und daneben noch ein weiteres Produkt XVI, das möglicherweise eine Acetylgruppe verloren hat und das nicht weiter untersucht wurde. Bemerkenswerterweise wurden bei der Acetylierung von XII wieder die zwei Tetraacetate IV und X erhalten, und dieselben beiden Tetraacetate entstanden auch bei der Acetylierung des β -Diacetats (XV). Entweder sind die bisher von uns bereiteten Präparate von VII, XII und XV Gemische gewesen, was möglich, aber nicht sehr wahrscheinlich ist, oder die Acetylierung dieser 3 Stoffe verläuft uneinheitlich, wobei etwa an die Bildung von Ortho-acetaten gedacht werden könnte³⁾4).

¹⁾ Herr Dr. K. K. Chen hatte die Freundlichkeit, die biolog. Wirksamkeit dieses analysenreinen Präparates zu prüfen. An 6 Katzen ergab sich als geometr. Mittel der letalen Dosis $0,2316 \text{ mg} \pm 0,0287 \text{ mg/kg}$. Der Stoff zeigt in diesem Test mithin einen bemerkenswert hohen Toxizität.

²⁾ Es ist nicht ausgeschlossen, dass einer davon (es müsste sich dann am ehesten um XV handeln, da es an Al_2O_3 fester haftet) ein Monoacetat darstellt. Die für $C_{25}H_{36}O_9$ berechneten Werte sind von den für $C_{27}H_{38}O_{10}$ berechneten sehr wenig verschieden.

³⁾ Die Bildung solcher Ortho-acetate ist bei gewissen Polyoxyverbindungen begünstigt, vgl. E. Pacsu, *Advances in Carbohydrate Chemistry*, Academic Press, New York (1945), Vol. I, S. 77ff.

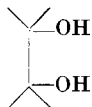
⁴⁾ Möglicherweise hat es ähnliche Gründe, dass bei der Acetylierung von Ouabain (VI) immer nur relativ wenig reines Hexa-acetat V erhalten werden kann. Die reichlichen Mutterlaugen bleiben amorph.



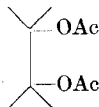
Ac = CH₃CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: ohne Bezeichnung = Chloroform; Di = Dioxan; Me = Methanol; W = Wasser.

^a) A. Meyrat und T. Reichstein, *Helv.* **31**, 2104 (1948).

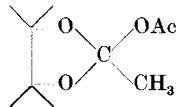
^b) C. Mannich und G. Siewert, *B.* **75**, 737 (1942).



XVII



XVIII



Zwei räumlich nahe HO-Gruppen wurden dann entweder ins normale Diacetat (XVII) oder ins Ortho-diacetat XVIII übergeführt. Das β -Diacetat XV gab mit überschüssiger CrO_3 in Eisessig bei 18° zur Hauptsache ein Neutralprodukt XIV, das bisher nicht weiter untersucht wurde. Es wurde festgestellt, dass VI, VII, IV, X, XI, XII und XV gegen kurzes Kochen in Nitrobenzol beständig sind. Die von *Mannich* und *Siewert* beobachtete glatte Überführung von VIII in IX auf diesem Wege zeigt bei den genannten Stoffen somit keine Parallele. Ob XI beim Erhitzen mit Nitrobenzol in XIII übergeführt wird, ist unsicher; XI und XIII geben bei der Mischprobe keine merkbare Depression.

Schliesslich wurde das Ouabagenin-tetra-acetat A nach der früher beschriebenen Methode¹⁾ mit Ozon behandelt und das rohe Oxydationsprodukt mit KHCO_3 verseift. Ein Teil des erwarteten Ketols III konnte in Krystallen erhalten werden. Abbau des rohen III mit HJO_4 gab die früher beschriebene Säure I, die wieder als Methyl-ester II charakterisiert wurde. Zur Bereitung von II ist dieser Abbau bequemer als die KMnO_4 -Methode. Ein Versuch, Ouabain-hexaacetat (V) in gleicher Weise zu einer Ätiosäure abzubauen, gab kein brauchbares Resultat. Wahrscheinlich wurden bei der Verseifung mit KHCO_3 bereits einige Acetylreste der Zuckerkomponente verseift, sodass bei der anschliessenden HJO_4 -Behandlung auch der Zuckeranteil angegriffen wird. Dagegen liessen sich nach Acetylierung des rohen Ketols etwas Krystalle isolieren, die alkalische Silberdiamminlösung stark reduzierten.

Wir danken Herrn Dr. K. Meyer für seine Hilfe bei der Abfassung des Manuskripts.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert; bis 200° Fehlergrenze ca. $\pm 2^\circ$, darüber ca. $\pm 3^\circ$.

Mannich-Spaltung des Ouabains^{b)}).

10 g Ouabain²⁾ in 500 cm³ Aceton und 5 cm³ konz. HCl gaben nach 10 Tagen bei 20° 4 g rohes Monoaceton-ouabagenin (Smp. $242\text{--}255^\circ$) sowie 1 g rohes Anhydro-ouabagenin (Smp. $271\text{--}281^\circ$). Aus den Mutterlaugen nach *Mannich* und *Siewert*^{b)} 0,25 g Ouabagenin. Reines IX aus rohem VIII oder IX durch Erhitzen mit Nitrobenzol nach Lit.^{b)}: Smp. $300\text{--}305^\circ$.

Ouabagenin. Aus dem rohen VIII oder IX oder den Mutterlaugen dieser zwei Stoffe nach der *Mannich*-Spaltung nach Lit.^{b)}. Umkrystallisieren aus Nitrobenzol, mit

¹⁾ K. Meyer und T. Reichstein, *Helv.* **30**, 1508 (1947).

²⁾ Bezogen von der AG. vorm. B. Siegfried, Zofingen.

Benzol und absolutem Äther gewaschen. Smp. (frisch) 262—265°. Zur Analyse 6 Stunden im Hochvakuum bei 110° getrocknet (Schweinchen).

3,390 mg Subst. gaben 7,83 mg CO₂ und 2,32 mg H₂O (F.W.)
 C₂₃H₃₄O₈ (438,50) Ber. C 62,99 H 7,82% Gef. C 63,03 H 7,66%

Der Stoff gab bei der *Molisch*-Reaktion¹⁾ keine Violettfärbung. Die Toxizität für die Katze ist im theoretischen Teil wiedergegeben. Umkrystallisieren der frischen Krystalle gab denselben Schmelzpunkt. Nach kurzem Liegen an der Luft sank er aber bald durch Feuchtigkeitsaufnahme. Das wasserhaltige Präparat gab aus Methanol Krystalle vom Smp. ca. 238°, entspr. den Befunden von *Mannich* und *Siewert*^{b)}.

α -Ouabagenin-diacetat (XII) und β -Ouabagenin-diacetat (XV).

a) Aus Monoaceton-ouabagenin-diacetat (XI).

0,5 g Monoaceton-ouabagenin-diacetat (XI) vom Smp. 272—273° (aus Methanol) in 25 cm³ 20-proz. Äthanol gelöst, mit 0,4 cm³ 20-proz. H₂SO₄ versetzt und 15 Minuten auf 100° erhitzt. Mit BaCO₃ neutralisiert und durch eine Schicht BaCO₃ filtriert. Das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab aus Wasser 155 mg krystallisiertes β -Acetat, Smp. 193—196°; $[\alpha]_D^{18} = 0^\circ \pm 2,5^\circ$ ($c = 0,9419$ in Chloroform).

9,433 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{18} = 0^\circ \pm 0,02^\circ$.

Trocknung zur Analyse 6 Stunden im Hochvakuum bei 100° (Schweinchen).

3,693 mg Subst. gaben 8,40 mg CO₂ und 2,39 mg H₂O (F.W.)

C ₂₇ H ₃₈ O ₁₀	(522,57)	Ber. C	62,02	H	7,27%
C ₂₅ H ₃₆ O ₉	(480,53)	„ „	62,48	„	7,36%
		Gef. „	62,07	„	7,24%

Das Produkt wurde durch kurzes Kochen in Nitrobenzol nicht verändert.

α -Acetat. Die Mutterlauge des β -Acetats wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand gab aus Methanol, dann aus Aceton 195 mg Krystalle, Smp. 262—265°; $[\alpha]_D^{19} = +11,5^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,6967$ in Methanol).

6,977 mg Subst. zu 1,0015 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{19} = +0,08^\circ \pm 0,02^\circ$.

Trocknung zur Analyse 3 Stunden im Hochvakuum bei 100° (Schweinchen).

5,658 mg Subst. gaben 12,958 mg CO₂ und 3,847 mg H₂O (O.A.)

C ₂₇ H ₃₈ O ₁₀	(522,57)	Ber. C	62,02	H	7,27%
C ₂₅ H ₃₆ O ₉	(480,53)	„ „	62,48	„	7,36%
		Gef. „	62,21	„	7,58%

Das Produkt blieb bei kurzem Kochen in Nitrobenzol unverändert.

b) Aus Anhydro-ouabagenin-diacetat (XIII).

250 mg Anhydro-ouabagenin-diacetat (XIII)^{b)} vom Smp. 270—272° (aus Aceton-Äther)²⁾ wurden mit 10 cm³ Alkohol und 10 cm³ 0,2-n. H₂SO₄ 20 Minuten auf 70° erhitzt. Aufarbeitung wie bei a) gab aus Wasser rasch 30 mg Krystalle vom Smp. 276—279°. Umkrystallisieren aus Methanol erhöhte den Smp. auf 283—288°. Dieses Nebenprodukt XVI wurde nicht weiter untersucht. Die Mutterlaugen gaben nach längerem Stehen in wenig Wasser krystallisiertes β -Acetat. Besser gelang die Trennung durch Chromatographie an Al₂O₃. Mit reinem Chloroform wurde nur α -Acetat eluiert. Aus Methanol Smp. 262—265°, Mischprobe ebenso. Mit Chloroform-Methanol (9:1) wurde das β -Acetat abgelöst, aus Wasser Smp. 193—196°, Mischprobe ebenso.

Beim Behandeln von XIII unter den bei a) angegebenen Bedingungen blieb XIII unverändert.

¹⁾ *H. Molisch*, M. 7, 198 (1886); B. 19, Ref. 746 (1886); vgl. hierzu auch *J. von Euw* und *T. Reichstein*, Helv. 31, 883 (1948).

²⁾ Die Mischprobe mit XI schmolz bei 268—272°.

Ouabagenin-tetra-acetat A (IV)^{b)} und Ouabagenin-tetra-acetat B (X)^{a)}.

a) Aus Ouabagenin (VII). 450 mg analysenreines Ouabagenin (VII) vom Smp. 262—265° (aus Nitrobenzol) mit 5 cm³ absolutem Pyridin und 3 cm³ Acetanhydrid 16 Stunden bei 37° stehen gelassen. Aufarbeitung gab 642 mg Rohprodukt. Aus Methanol, dann aus Aceton-Äther 200 mg Acetat A (IV) vom Smp. 291—294°. Die Mutterlaugen gaben nach Chromatographie^{a)} noch 200 mg Acetat A (IV), sowie 200 mg Acetat B (X), aus Aceton Smp. 253—257°. Mischprobe mit früher^{a)} bereitetem Präparat ebenso.

b) Aus α -Ouabagenin-diacetat (XII). 50 mg α -Ouabagenin-diacetat (XII) vom Smp. 262—265°, 1,5 cm³ absolutes Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid 18 Stunden bei 37° stehen gelassen. Aufarbeitung wie oben gab nach Chromatographie ca. 10 mg reines Acetat A (IV) vom Smp. 291—294°, sowie ca. 30 mg reines Acetat B (X) vom Smp. 253—257°; Mischprobe ebenso.

c) Aus β -Ouabagenin-diacetat (XV). 50 mg β -Ouabagenin-diacetat (XV) vom Smp. 193—196° wurden wie oben acetyliert und gaben ca. 20 mg reines Acetat A (IV), Smp. 291—294°, sowie ca. 20 mg reines Acetat B (X) vom Smp. 253—256°; Mischprobe ebenso.

Versuch zur Nachacetylierung von Acetat A (IV).

50 mg Ouabagenin-acetat A vom Smp. 291—294° in 1,5 cm³ absolutem Pyridin und 0,5 cm³ Acetanhydrid 18 Stunden bei 37° stehen gelassen. Aufarbeitung gab 51 mg Rohprodukt, daraus 41 mg reines Ausgangsmaterial. Auch nach Chromatographie der Mutterlauge konnte kein Acetat B isoliert werden.

Oxydationsprodukt XIV aus XV.

165 mg β -Ouabagenin-diacetat (XV) in 5 cm³ reinstem Eisessig gelöst, bei 18° unter Kühlung mit 2 cm³ 2-proz. CrO₃-Eisessig-Lösung versetzt und 1 Stunde bei 18° stehen gelassen. Innerhalb 5 Stunden wurden noch 4,5 cm³ CrO₃-Lösung (total somit 6,5 cm³ = 130 mg CrO₃ = 4,1 Mol.) zugetropft und zum Schluss noch 2 Stunden stehen gelassen. Es war dann noch CrO₃ nachweisbar. Nach Zusatz von 0,5 cm³ Methanol wurde 12 Stunden stehen gelassen, im Vakuum bei 20° eingedampft, der Rückstand mit Wasser und 3 Tropfen 2-n. H₂SO₄ versetzt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser und KHCO₃-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen 104 mg neutrales Rohprodukt. Aus Methanol-Äther farblose Krystalle, Smp. 205—211°.

Hepta-oxy-pregnan-20-on-tetra-acetat (III).

200 mg Ouabagenin-tetraacetat A (IV) vom Smp. 291—294° in 30 cm³ Äthylacetat gelöst und bei –80° 10 Minuten Ozon eingeleitet¹⁾, dann 15 Minuten bei –80° stehen gelassen, worauf die violette Farbe noch vorhanden war. Im Vakuum eingedampft, farblosen Rückstand in Eisessig gelöst, mit Zinkstaub reduziert, filtriert, Filtrat mit Wasser versetzt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser und Sodalösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrockneten Auszüge hinterliessen beim Eindampfen im Vakuum 180 mg farblosen Schaum. — Dieser wurde in 10 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 300 mg KHCO₃ in 5 cm³ Wasser versetzt und 16 Stunden bei 18° stehen gelassen. Dann wurde das Methanol im Vakuum abgedampft und die wässrige Lösung mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen im Vakuum gab 131 mg rohes Ketol III. Ein Teil (47 mg) wurde aus Methanol umkristallisiert. Farblose Nadeln, Smp. 215—220°. Zur Analyse 3 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

4,694 mg Subst. gaben 10,024 mg CO₂ und 3,126 mg H₂O (O.A.)

C₂₉H₄₂O₁₂ · H₂O (600,64) Ber. C 57,92 H 7,39% Gef. C 58,28 H 7,45%

Der Stoff reduzierte in wenig Methanol gelöst alkalische Silberdiamminlösung rasch und stark.

¹⁾ Bedingungen vgl. K. Meyer und T. Reichstein, *Helv.* **30**, 1508 (1947).

Hexaoxy-ätiocolansäure-tetraacetat (I) aus III.

84 mg rohes Ketol III in 2 cm³ Dioxan gelöst, mit 30 mg HJO₄ in 1 cm³ Wasser versetzt und 12 Stunden bei 18° stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum bei 20° wurde mit etwas Wasser verdünnt, mit viel Chloroform ausgeschüttelt und die mit wenig Wasser gewaschene Chloroformlösung bei 0° mit Sodalösung ausgezogen. Die sofort mit HCl knapp angesäuerten Auszüge wurden wieder mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit wenig Wasser gewaschene und über Na₂SO₄ getrocknete Lösung hinterliess beim Eindampfen im Vakuum 43 mg Säure. Aus Methanol farblose Krystalle, Smp. 317—324° (Zers.). Mischprobe mit früherem Präparat^{a)} ebenso. Der mit Diazomethan daraus bereitete Methylester gab aus Methanol Krystalle vom Smp. 252—255°; Mischprobe mit früherem Präparat ebenso.

Ouabain-hexaacetat (V)^{b)}¹⁾.

1 g Ouabain vom Smp. 193—195° in 10 cm³ absolutem Pyridin und 6 cm³ Acetanhydrid 2 Tage bei 37° stehen gelassen. Aufarbeitung gab 1,51 g Rohprodukt. Aus Methanol-Äther 0,4 g krystallisiertes Acetat, Smp. 302—304°. Die Mutterlange wurde nochmals gleich nachacetyliert und nach der erneuten Aufarbeitung chromatographiert. Aus den mit Chloroform eluierbaren Fraktionen konnten noch 155 mg reine Krystalle erhalten werden. Der Rest (ca. 1 g) blieb amorph. 35 mg reines Hexaacetat V wurden weiter in 0,5 cm³ absolutem Pyridin und 0,3 cm³ Acetanhydrid 4 Stunden auf 70° erhitzt. Die Aufarbeitung gab nur Ausgangsmaterial (V).

Ozonabbau. 530 mg Ouabain-hexaacetat vom Smp. 299—300° wurden wie oben beschrieben ozonisiert und anschliessend bei 0° mit KHCO₃ in wässrigem Methanol verseift. Das Ketol reduzierte alkalische Silberdiamminlösung stark, liess sich aber nicht krystallisieren. Ein kleiner Teil wurde acetyliert und gab Krystalle vom Smp. 225—235°. Die Hauptmenge wurde mit HJO₄ abgebaut, wobei in schlechter Ausbeute neutrale und saure Anteile resultierten, aus denen keine Krystalle gewonnen werden konnten.

Die Mikroanalysen wurden teils bei Herrn F. Weiser, Basel (F. W.), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel (O. A.) ausgeführt.

Zusammenfassung.

Die Bildung von 2 verschiedenen Tetraacetaten A und B aus analysen-reinem Ouabagenin wird bestätigt. Vorsichtige saure Hydrolyse von Monoaceton-ouabagenin-diacetat sowie von Anhydro-ouabagenin-diacetat gibt 2 verschiedene Stoffe, wahrscheinlich Di-acetate, die als α - und β -Ouabagenin-diacetat bezeichnet werden. Jedes gibt bei weiterer Acetylierung wieder die Tetraacetate A und B.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

¹⁾ Arnaud, C. r. **126**, 1654 (1898), beschreibt ein Ouabain-heptaacetat vom Smp. 310°, das er mit Acetanhydrid und ZnCl₂ erhalten hatte.