

## 156. Beweis des Steringerüstes von Ouabagenin<sup>1)</sup>

Glykoside und Aglykone, 180. Mitteilung<sup>2)</sup>

von Ch. Tamm, G. Volpp und G. Baumgartner<sup>3)</sup>.

Herrn Prof. Dr. T. Reichstein zu seinem sechzigsten Geburtstag  
in Dankbarkeit gewidmet.

(29. V. 57.)

Ouabagenin (I) ist aus Ouabain (= g-Strophanthin) (III), einem stark herzwirksamen Glykosid, das *Arnaud*<sup>4)</sup> bereits 1888 aus der Rinde und den Wurzeln des Ouabaio-Baumes (= *Acokanthera Schimperi* (A.DC.) *Benth* et *Hook.*<sup>5)</sup>) und etwas später auch aus den Samen von *Strophanthus gratus* *Wall.* et *Hook.* isoliert hatte, in unversehrtem Zustand erstmals 1942 von *Mannich & Siewert*<sup>6)</sup> erhalten worden. Es besitzt die Bruttoformel  $C_{23}H_{34}O_8$ <sup>6)</sup> und ist damit das sauerstoffreichste der bisher bekannten Cardenolide<sup>7)</sup>. Von den acht Sauerstoffatomen sind zwei im Butenolidring (Bildung von Iso-ouabain<sup>8)</sup>)<sup>10)</sup> und Dihydro-ouabain aus Ouabain<sup>8)</sup>, Abbau zu Ätiensäure-Derivaten<sup>11)12)</sup>) festgelegt. Die Bildung von Iso-ouabain spricht gleichzeitig für das Vorliegen einer tertiären Hydroxylgruppe an C-14<sup>6)</sup>)<sup>10)</sup>. Für die fünf weiteren alkoholischen Hydroxylgruppen, von denen vier acetylierbar sind<sup>11)</sup>), konnten durch die Untersuchungen verschiedener Arbeits-

<sup>1)</sup> Auszug aus der Diss. G. Volpp, Basel.

<sup>2)</sup> 179. Mitt.: E. Weiss, O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **40**, 980 (1957).

<sup>3)</sup> Jetzige Adresse: F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel.

<sup>4)</sup> A. Arnaud, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **106**, 1011 (1888); **107**, 1162 (1888).

<sup>5)</sup> Diese *Acokanthera*-Spezies wurde ursprünglich provisorisch als *Carissa ouabaio* *Franch.* et *Poiss.* und später ebenfalls provisorisch als *Acokanthera ouabaio* *Cathel.* bezeichnet. *Acokanthera Schimperi* (A. DC.) *Benth.* et *Hook* ist aber eine sehr polymorphe Art, deren botanische Identifizierung sehr schwierig ist. Deshalb ist die Identifizierung des Pflanzenmaterials, das *Arnaud* 1888 zur Isolierung von Ouabain benutzt hatte, nicht als völlig sicher zu betrachten. Vgl. dazu P. R. O. Bally, K. Mohr & T. Reichstein, Helv. **35**, 45 (1952), sowie spätere Mitteilungen von P. R. O. Bally, K. Mohr, F. Thudium, O. Schindler & T. Reichstein, wo die ältere Literatur zitiert ist.

<sup>6)</sup> C. Mannich & G. Siewert, Ber. deutsch. chem. Ges. **75**, 737 (1942).

<sup>7)</sup> Die richtige Bruttoformel von Ouabain,  $C_{29}H_{44}O_{12}$ , wurde 1932 von Jacobs & Bigelow<sup>8)</sup> abgeleitet. Die Identifizierung der L-Rhamnose als Zuckeranteil des Glykosids verdanken wir *Arnaud* (1898)<sup>9)</sup>.

<sup>8)</sup> W. A. Jacobs & N. M. Bigelow, J. biol. Chemistry **96**, 647 (1932).

<sup>9)</sup> A. Arnaud, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **126**, 346, 1208 (1898).

<sup>10)</sup> W. A. Jacobs & N. M. Bigelow, J. biol. Chemistry **101**, 15 (1933).

<sup>11)</sup> A. Meyrat & T. Reichstein, Helv. **31**, 2104 (1948).

<sup>12)</sup> R. F. Raffauf & T. Reichstein, Helv. **31**, 2111 (1948).

kreise die Stellungen 1, 3, 5, 11 und 19 gesichert werden<sup>8)</sup><sup>13-18)</sup>. Dabei wurde angenommen, dass Ouabagenin das normale Steringerüst der Cardenolide besitzt. Durch unsere Versuche, über die wir im Folgenden berichten möchten, wird der bisher noch ausstehende Beweis für die Annahme geliefert<sup>19)</sup>.

Als Ausgangsmaterial diente das bekannte 1,19-Isopropyliden-3,11-di-O-acetyl-ouabagenin (VII)<sup>6)</sup><sup>20)</sup>. Die 1,19-Stellung des Isopropylidenrests haben wir früher<sup>16)</sup> mit Hilfe von Oxydationsversuchen an 1,19-Isopropyliden-ouabagenin (= Ouabagenin-monoacetonid) (VI) abgeleitet. Die folgenden Reaktionen erhärten diesen Befund: Sowohl der „Ozon-Abbau“<sup>21)</sup> ( $O_3$ , Zn-Eisessig,  $KHCO_3$ ,  $NaJO_4$ <sup>22)</sup>) als auch der Abbau mit  $KMnO_4$  in Aceton<sup>23)</sup> von VII ergaben vorwiegend saure Anteile, wobei die erstgenannte Methode zuverlässigere Resultate lieferte. Wegen der sehr leichten Abspaltbarkeit der Isopropylidengruppe durch Säuren war für beide Reaktionsfolgen besondere experimentelle Vorsicht geboten. Die entstandenen Säuren gaben nach Methylierung mit  $CH_2N_2$  den Ätiansäure-methylester VIII, der bisher amorph blieb. Nach sukzessiver Behandlung von VIII mit  $Na_2CO_3$  in wässrigem Methanol bei 20°,  $CH_2N_2$ ,  $CrO_3$ -Pyridin-Komplex<sup>24)</sup> und Chromatographie an  $Al_2O_3$  wurden zwei krist. Ester im Mengenverhältnis von 1:3 erhalten. Der eine vom Smp. 133 – 136° und der Formel  $C_{23}H_{32}O_8$  (geringere Menge) besitzt die Konstitution des 3-Keto-5,14,19-trihydroxy-11α-acetoxy-14β-ätiens-(1)-säure-methylesters (X), der andere vom Smp. 201 – 203° und der Formel  $C_{21}H_{28}O_7$  (größere Menge) diejenige des 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14β-ätiens-(1)-säure-methylesters (XII). Die Gründe sind folgende: Die UV.-Spektren beider Ester zeichnen sich durch ein intensives Maximum bei 233 m $\mu$  und eine schwächere Vorbande bei 308 m $\mu$  bzw. 315 m $\mu$  aus, die der  $\text{A}^1\text{-3-Keton-Gruppierung}$  zuzuord-

<sup>13)</sup> L. F. Fieser & M. S. Newman, J. biol. Chemistry **114**, 705 (1936).

<sup>14)</sup> K. Florey & M. Ehrenstein, J. org. Chemistry **19**, 1174 (1954).

<sup>15)</sup> R. P. A. Sneeden & R. B. Turner, J. Amer. chem. Soc. **77**, 130 (1955).

<sup>16)</sup> Ch. Tamm, Helv. **38**, 147 (1955).

<sup>17)</sup> R. Tschesche & G. Snatzke, Chem. Ber. **88**, 1558 (1955).

<sup>18)</sup> R. B. Turner & J. A. Meschino, J. Amer. chem. Soc. **78**, 5130 (1956).

<sup>19)</sup> Eine kurze Mitteilung ist darüber bereits erschienen; vgl. Ch. Tamm, G. Volpp & G. Baumgartner, Experientia **13**, 185 (1957).

<sup>20)</sup> R. P. A. Sneeden & R. B. Turner, J. Amer. chem. Soc. **75**, 3510 (1953).

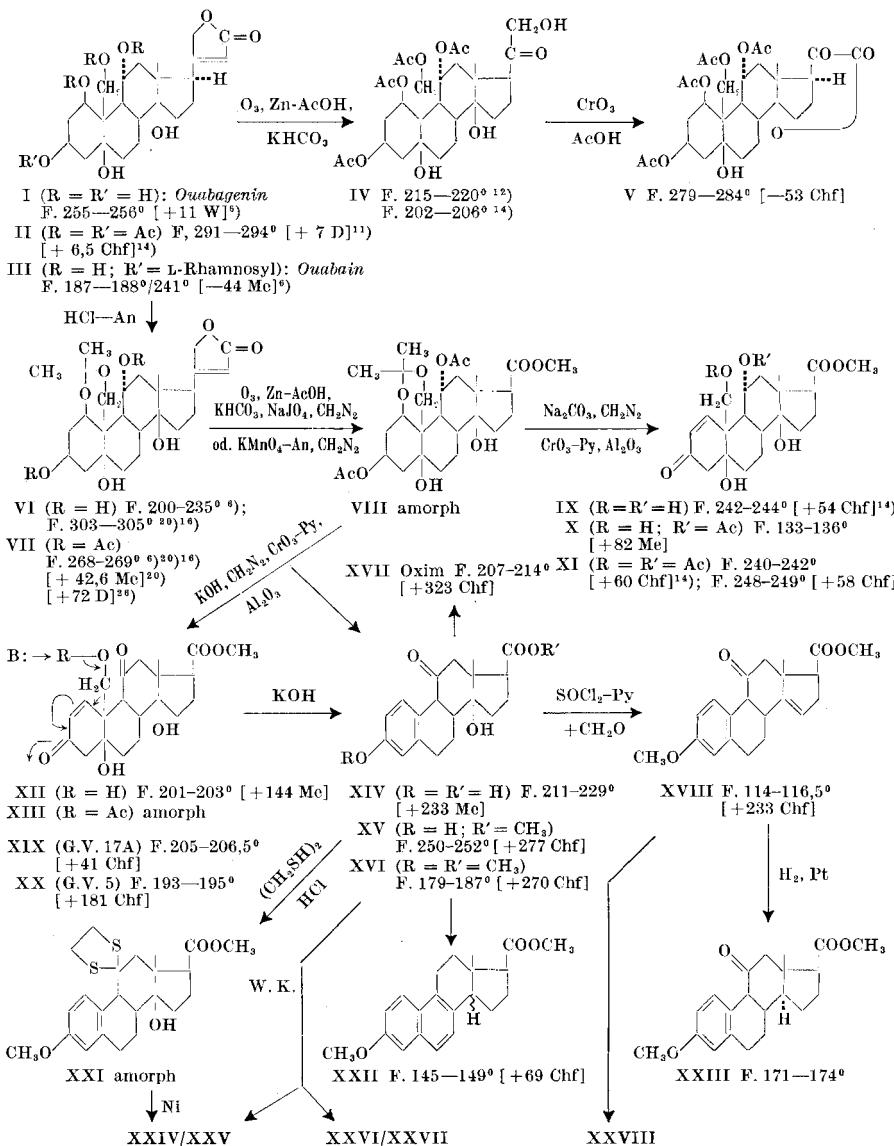
<sup>21)</sup> K. Meyer & T. Reichstein, Helv. **30**, 1508 (1947).

<sup>22)</sup> Zur Verwendung von  $NaJO_4$  zur Spaltung der intermedial gebildeten Ketolseitenkette vgl. W. Schlegel, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **38**, 1013 (1955), resp. S. A. Simpson, J. F. Tait, A. Wettstein, R. Neher, J. v. Euw, O. Schindler & T. Reichstein, Helv. **37**, 1200 (1954).

<sup>23)</sup> M. Steiger & T. Reichstein, Helv. **21**, 828 (1938); F. Hunziker & T. Reichstein, Helv. **28**, 1472 (1945).

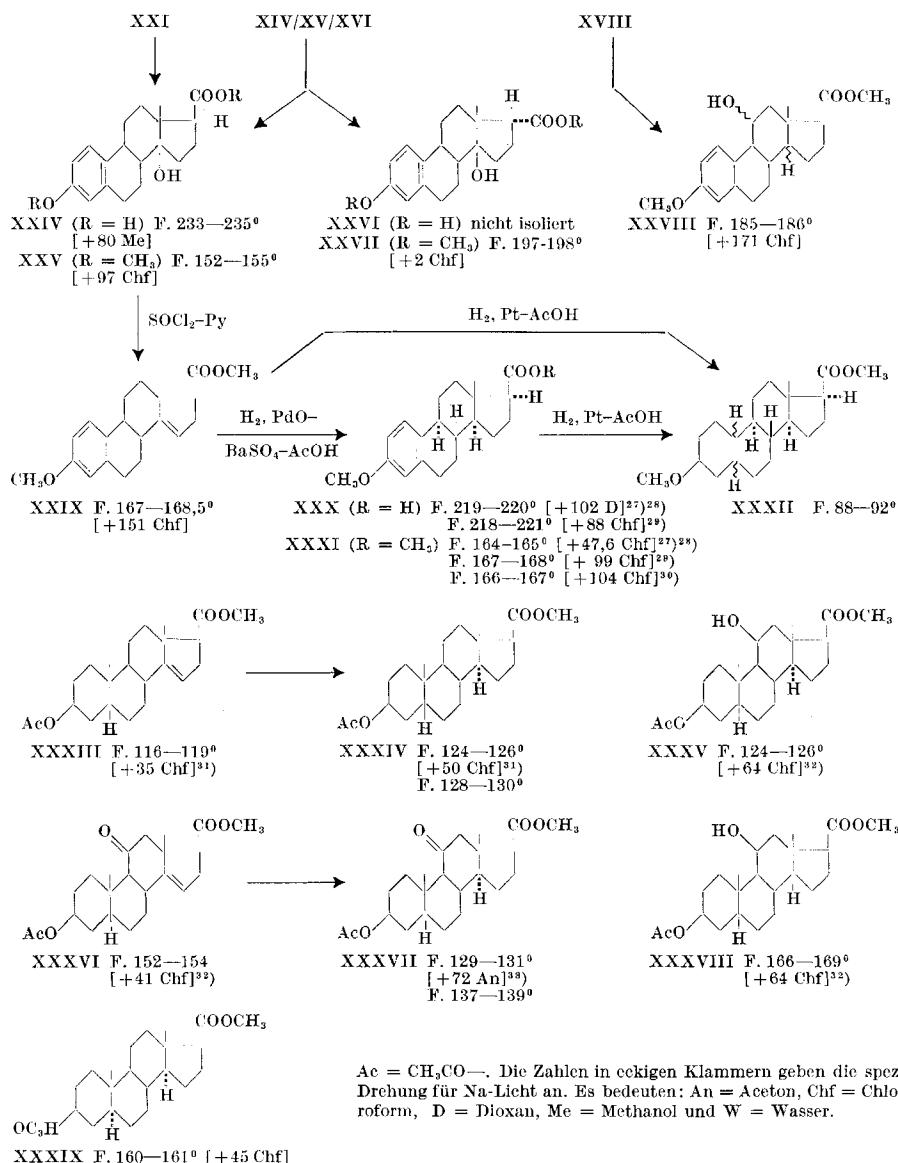
<sup>24)</sup> G. I. Poos, G. E. Arth, R. E. Beyler & L. H. Sarett, J. Amer. chem. Soc. **75**, 422 (1953).

nen sind (vgl. Tab. I und Fig. 1). Entsprechende Banden sind auch im IR. (vgl. Tab. II und Fig. 3 und 4) sichtbar: für X bei  $5,96 \mu$  und für XII bei  $5,96 - 6,02 \mu$ . Beide Stoffe zeigen noch ein weiteres Maximum bei  $5,84 \mu$ , das von der C=O-Schwingung der 17-Carbomethoxygruppe, die mit der 14-Hydroxylgruppe assoziiert ist, herrührt (vgl.<sup>25</sup>).



<sup>25</sup> W. Schlegel & Ch. Tamm, Helv. **40**, 160 (1957).

<sup>26</sup> C. Djerassi & R. Ehrlich, J. org. Chemistry **19**, 1351 (1954).



Ac = CH<sub>3</sub>CO—. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht an. Es bedeuten: An = Aceton, Chf = Chloroform, D = Dioxan, Me = Methanol und W = Wasser.

<sup>27)</sup> C. Djerassi & C. R. Scholz, J. Amer. chem. Soc. **71**, 3962 (1949).

<sup>28)</sup> Werte von Djerassi & Scholz<sup>27)</sup>.

<sup>29)</sup> Eigene Messung an authent. Präparat von Djerassi & Scholz<sup>27)</sup>.

<sup>30)</sup> Präparat aus XXIX bereitet.

<sup>31)</sup> F. Hunziker & T. Reichstein, Helv. **28**, 1472 (1945).

<sup>32)</sup> Dieser Stoff wurde von Herrn Dr. A. Lardon bereitet; siehe spätere Mitteilung von A. Lardon & T. Reichstein.

<sup>33)</sup> A. Lardon & T. Reichstein, Helv. **26**, 705 (1943).

In XII überlagert sich an dieser Stelle noch die C=O-Schwingung der Ketogruppe (Begründung siehe unten). Ester X zeigt in dieser Region noch ein drittes Maximum bei  $5,76\text{ }\mu$  (C=O) sowie eines bei  $8,12\text{ }\mu$ , die von der 11-Acetoxygruppe stammen. Sie fehlen bei XII. Dementsprechend liess sich in XII auch mikroanalytisch keine Acetylgruppe nachweisen.

*Florey & Ehrenstein*<sup>14)</sup> hatten kürzlich einen Tetrahydroxyester vom Smp.  $242^{\circ}$  und daraus ein Di-O-acetyl-Derivat vom Smp.  $240^{\circ}$  bereitet. Diesen Stoffen kann man jetzt die Strukturformeln IX bzw. XI zuerteilen. Unser Ester unterscheidet sich von diesen beschriebenen Stoffen eindeutig. Er lieferte aber ein Acetyl-derivat, das mit dem Diacetoxyester XI der genannten Autoren identisch sein dürfte<sup>34)</sup>. Daraus folgt, dass es sich bei X tatsächlich um ein Mono-O-acetyl-Derivat von IX handelt, wobei nach der Herstellungsweise für die Acetoxy-Gruppe nur die 11-Stellung in Frage kommt. Die Verseifung der  $11\alpha$ -Acetoxy-Gruppe in VIII ist offensichtlich durch die Raumbeanspruchung des Isopropylidenrests bedeutend erschwert<sup>35)</sup>. Denn wurde VIII mit KOH statt  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bei  $20^{\circ}$  verseift, dann genau gleich mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$ ,  $\text{CrO}_3$ -Pyridin und  $\text{Al}_2\text{O}_3$  behandelt, so erhielt man den Acetoxyester X nicht mehr. Das Hauptprodukt war der Ketoester XII<sup>36)</sup>. Daneben entstand in geringer Menge der Phenolester XV (Konstitutionsbeweis siehe unten).

Für die weiteren Umsetzungen stellte XII ein günstiges Ausgangsprodukt dar, indem die Sauerstoffatome der Stellungen 11, 14 und 19 die erwünschte funktionelle Differenzierung aufwiesen. Ring A dieses Esters XII liess sich mit wässrig-methanolischer KOH bei  $20^{\circ}$  sehr leicht aromatisieren. Die Reaktion war schon nach 15 Min. beendet. Es entstanden Formaldehyd, der als krist. Dimedon-Derivat isoliert wurde, und eine phenolische Säure, deren Analysenwerte auf die Formel  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_5$  passten. Sie besitzt die Konstitution des 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratriens-(1,3,5:10) (XIV). Die Reaktion mit dem  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\text{-FeCl}_3$ -Reagens<sup>37)</sup> war positiv. Eine alkoholische Lösung zeigte im UV. ein Maximum bei  $280\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,21$ ) und eine Schulter von  $215-222\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,91-3,88$ ).

<sup>34)</sup> XII gab bei der Acetylierung das Acetyl-derivat XIII, das bisher nicht kristallisierte.

<sup>35)</sup> Unter denselben Bedingungen ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bei  $20^{\circ}$  in wässr. Methanol) lassen sich nach *Florey & Ehrenstein*<sup>14)</sup> im  $1\beta, 3\beta, 11\alpha, 19$ -Tetraacetoxy-5,14-dihydroxy-14 $\beta$ -ätiensäure-methylester und im  $1\beta, 5, 14$ -Trihydroxy- $3\beta, 11\alpha, 19$ -triacetoxy-14 $\beta$ -ätiensäure-methylester alle Acetylgruppen vollständig verseifen.

<sup>36)</sup> Für die Bildung der  $\Delta^1$ -ungesättigten 3-Keton-Gruppierung unter gleichzeitigem Verlust des Isopropylidenrests im Verlaufe dieser Reaktionen gilt die für einen analog gebauten Stoff (Formel XVII der Arbeit<sup>16)</sup> früher<sup>16)</sup> gegebene Erklärung. Die damals für diese chromophore Gruppe berechnete UV.-Absorptionskurve stimmt mit den jetzt für X und XII gemessenen Kurven bestens überein.

<sup>37)</sup> G. M. Barton, R. S. Evans & J. A. F. Gardner, Nature **170**, 249 (1952).

Tabelle I.  
UV.-Absorptionspektron\*)

Substanz	$\lambda_{\text{max}}$ in m $\mu$	$\log \epsilon$	Lösungsmittel
$1\beta,3\beta,11\alpha,19$ -Tetraacetoxyl-5,14-dihydroxy-20-keto- $14\beta$ -pregnan-21-säure-lacton-(21 $\rightarrow$ 14) (V); vgl. Fig. 1	355 hohe Endabsorption	1,67	Äthanol
$3$ -Keto- $5,14,19$ -trihydroxy- $11\alpha$ -acetoxy- $14\beta$ -ätién-(1)-säure-methylester (X); vgl. Fig. 1	233 315	4,06 1,55	Äthanol
$3,11$ -Diketo- $5,14,19$ -trihydroxy- $14\beta$ -ätién-(1)-säure-methylester (XII); vgl. Fig. 1	233 305—310	4,09 1,75	Äthanol
$3,14$ -Dihydroxy-11-keto- $17\beta$ -carboxy- $14\beta$ -östratrien-(1,3,5;10) (XIV); vgl. Fig. 1	215—222 Schulter 280	3,91—3,88 3,21	Äthanol
$240$ $290$		3,94 3,56	0,1-n. wässr. KOH
$3,14$ -Dihydroxy-11-keto- $17\beta$ -carbomethoxy- $14\beta$ -östratrien-(1,3,5;10) (XV)	215—220 Schulter 280	3,9 3,25	Äthanol
$3$ -Methoxy- $11$ -keto- $14$ -hydroxy- $17\beta$ -carbomethoxy- $14\beta$ -östratrien-(1,3,5;10) (XVI); vgl. Fig. 2	215—225 Schulter 278 285	3,92—3,86 3,14 3,10	Äthanol

3-Methoxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-östratetraen-(1,3,5,10,14) (XVIII)	220—230 Schulte	4,1—4,0	Äthanol
	230	3,31	
	285 Schulte	3,29	
Substanz G. V. 5 (XX) (ber. auf C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub> )	215—222 Schulte 278,5 284,5	ca. 3,85 ca. 3,2 ca. 3,2	Äthanol
	230	4,76	
	267	3,70	
	278	3,72	
3-Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\xi$ -östrapentaen-(1,3,5:10,6,8:9); vgl. Fig. 2	288 310 312 321 328	3,56 3,05 3,36 3,31 3,43	Äthanol
	220—225 Schulte 278 286,5 307,5 323	3,9 3,31 3,30 1,85 1,72	Äthanol
3-Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-östratetraen-(1,3,5,10,14) (XXXI)	215—225 Schulte 278 286,5 305—310 Schulte	3,92 3,34 3,32 ca. 1,5	Äthanol

\*) Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Unicam-SP-500-Spektrophotometer.

In wässrig-alkalischer Lösung traten statt dessen zwei Maxima bei  $240\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,94$ ) bzw.  $290\text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,56$ ) auf (vgl. Tab. I und Fig. 1). Dieses Verhalten ist für Phenole charakteristisch. Die Aromatisierung dürfte durch eine Elektronenverschiebung, wie sie in der Formel XII angegedeutet ist, zustandekommen. Die Base greift am Wasserstoff des 19-Hydroxyls an; gleichzeitig wird die HO-Gruppe an C-5 als Wasser abgespalten ( $\beta$ -Eliminierung) (vgl. dazu <sup>15</sup>)). Nach kurzer Einwirkung von  $\text{CH}_2\text{N}_2$  (15 Min. bei  $0^\circ$ ) gab XIV den phenolischen Methylester XV, der, wie bereits erwähnt, als Nebenprodukt einer andern Reaktion erhalten worden war. Die positive Reaktion mit  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\text{-FeCl}_3$ -Reagens<sup>37</sup>), das UV.-Spektrum (genau gleich

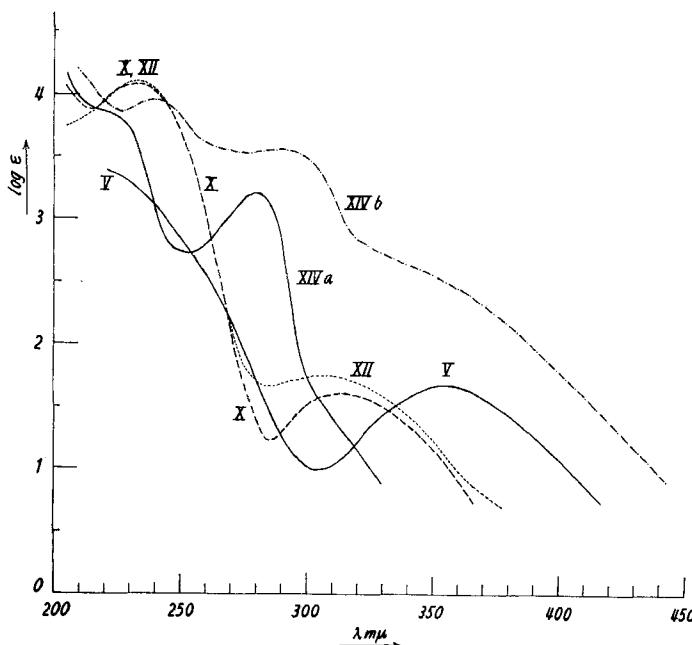


Fig. 1

UV.-Absorptionsspektren (vgl. Tabelle I)\*).

- Kurve V:  $1\beta,3\beta,11\alpha,19$ -Tetraacetoxy-5,14-dihydroxy-20-keto-14 $\beta$ -pregnan-21-säure-lacton ( $21 \rightarrow 14$ ) (V); ber. auf  $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_{12}$ ; in Äthanol.
- Kurve X: 3-Keto-5,14,19-trihydroxy-11 $\alpha$ -acetoxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (X); ber. auf  $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_8$ ; in Äthanol.
- Kurve XII: 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (XII); ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_8$ ; in Äthanol.
- Kurve XIVa: 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XIV); ber. auf  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_5$ ; in Äthanol.
- Kurve XIVb: 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XIV); ber. auf  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_5$ ; in 0,1-n. wässriger KOH.

\* Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Unicam-SP-500-Spektrophotometer.

wie bei XIV; vgl. Tab. I) und das IR.-Spektrum, das Banden bei  $2,90 \mu$  (O-H);  $5,84 \mu$  (C=O der  $17\beta$ -Carbomethoxygruppe assoziiert mit der  $14\beta$ -HO-Gruppe<sup>25</sup>);  $5,88 \mu$  (C=O, 11-Keton), und das Triplet bei  $6,18 \mu$ ,  $6,32 \mu$  und  $6,66 \mu$  (C=C, aromat. Ring) aufwies (vgl. Tab. II bzw. Fig. 5), erhärten seine Konstitution. Die phenolische HO-Gruppe in XV liess sich entweder durch längeres Stehen mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  (mindestens 4 Tage bei  $0^\circ$ ) oder mit Dimethylsulfat in alkalischer Lösung veräthern. Es entstand der Phenoläther XVI ( $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_5$ ), der auch direkt aus der Phenolsäure XIV mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  erhalten wurde. Die  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\text{-FeCl}_3$ -Reaktion fiel erwartungsgemäss negativ aus.

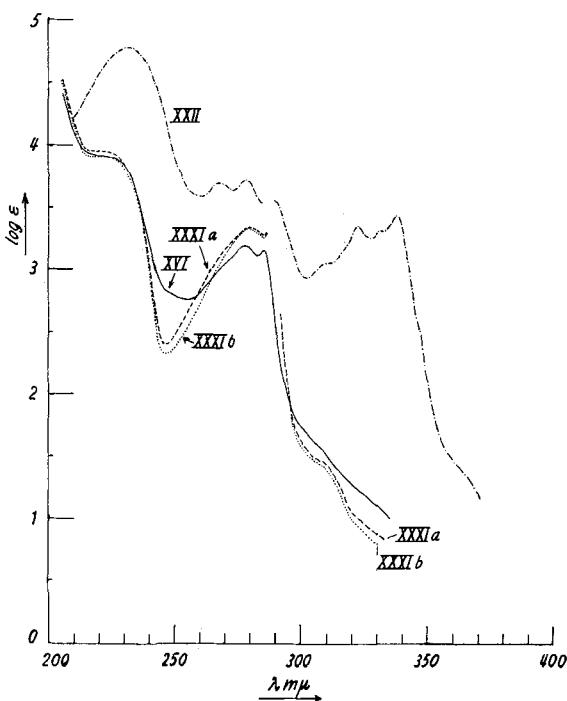


Fig. 2.

UV.-Absorptionsspektren in Äthanol (vgl. Tabelle I)\*).

Kurve XVI: 3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy- $17\beta$ -carbomethoxy- $14\beta$ -östratrien-(1,3,5;10) (XVI); ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_5$ .

Kurve XXII: 3-Methoxy- $17\beta$ -carbomethoxy- $14\beta$ -östrapentaen-(1,3,5;10,6,8:9); ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_3$ .

Kurve XXXIa: 3-Methoxy- $17\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5;10) (XXXI); ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_3$ ; Präparat aus Ouabagenin-Abbau.

Kurve XXXIb: 3-Methoxy- $17\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5;10) (XXXI); ber. auf  $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_3$ ; authentisches Präparat.

\*) Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Unicam-SP-500-Spektrophotometer.

Tabelle II.

IR.-Absorptionspektron\*)

Substanz	Lösungsmittel	$\lambda_{\max}$ in $\mu$	Gruppierung
3-Keto-5,14,19-trihydroxy-11 $\alpha$ -acetoxy-14 $\beta$ -ätiен-(1)-säure-methylester (X); vgl. Fig. 3	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2,91—2,93 5,76 5,84 5,96 8,13	O—H C=O, Acetyl C=O, —COOCH <sub>3</sub> assoziiert $\Delta^1$ -3-Keton Acetat
3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14 $\beta$ -ätiен-(1)-säure-methylester (XII); vgl. Fig. 4	fest in KBr	2,91—2,93 5,84 5,96—6,02	O—H C=O, —COOCH <sub>3</sub> assoz. + 11-Keton 3-Keton
3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XV); vgl. Fig. 5	fest in KBr	2,90 5,84 5,88 6,18; 6,32; 6,66	O—H C=O, —COOCH <sub>3</sub> assoziiert C=O, 11-Keton C=C, aromat. Ring
3-Methoxy-14-hydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XVI)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2,90—2,94 5,84 6,20; 6,34; 6,66 8,21	O—H C=O, —COOCH <sub>3</sub> assoz. + 11-Keton C=C, aromat. Ring =C—O—, Aryläther
3-Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\xi$ -östrapentaen-(1,3,5:10,6,8;9) (XXII)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	5,77 6,13; 6,24; 6,64; 6,72 8,27	C=O, —COOCH <sub>3</sub> C=C, aromat. Ringe =C—O—, Aryläther
3-Methoxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXIII)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	5,78—5,82 6,20; 6,34—6,36; 6,65 8,13; 8,32	C=O, —COOCH <sub>3</sub> + 11-Keton C=C, aromat. Ring =C—O—, Aryläther

3-Methoxy-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXV)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2,91 5,85 6,21; 6,35; 6,67 8,23—8,25	O—H C=O, —COOCH <sub>3</sub> assoziiert C=C, aromat. Ring =C—O—, Aryläther
3-Methoxy-14-hydroxy-17 $\alpha$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXVII)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2,77 5,77 6,20; 6,33; 6,65 8,28—8,30	O—H C=O, —COOCH <sub>3</sub> C=C, aromat. Ring =C—O—, Aryläther
3-Methoxy-11 $\xi$ -hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\xi$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXVIII)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	2,79 5,76 6,20; 6,34; 6,65 8,11	O—H C=O, —COOCH <sub>3</sub> C=C, aromat. Ring =C—O—, Aryläther
3-Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-östrateraen-(1,3,5:10,14) (XXIX)	$\text{CH}_2\text{Cl}_2$	5,76 6,02 6,20; 6,34; 6,66 8,13; 8,33	C=O, —COOCH <sub>3</sub> C=C, Δ <sup>14</sup> C=C, aromat. Ring =C—O—, Aryläther
3-Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI); vgl. Fig. 6	$\text{CS}_2$	5,76 7,97; 8,09	C=O, —COOCH <sub>3</sub> =C—O—, Aryläther
3 $\xi$ -Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-5 $\xi$ ,10 $\xi$ -östran (XXXII); vgl. Fig. 7	$\text{CS}_2$	5,77 9,16—9,18	C=O, —COOCH <sub>3</sub> $\text{C—O—C}$ , aliphat. Äther
Ätiansäure-methylester	$\text{CS}_2$	5,76	C=O, —COOCH <sub>3</sub>
3 $\beta$ -Methoxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester (XXXIX)	$\text{CS}_2$	5,75 9,05; 9,12	C=O, —COOCH <sub>3</sub> $\text{C—O—C}$ , aliphat. Äther

\*) Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem *Perkin-Elmer*-Spektrophotometer, Modell 21.

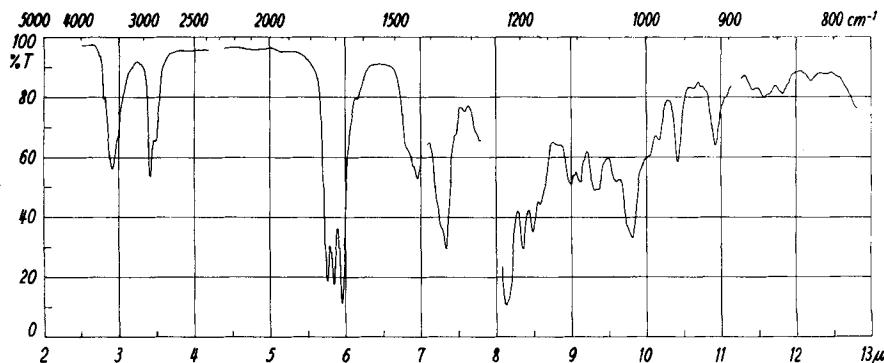


Fig. 3.

IR.-Absorptionsspektrum\*).

3-Keto-5,14,19-trihydroxy-11 $\alpha$ -acetoxy-14 $\beta$ -ätiensäure-methylester (X),  
Lösung  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $d = 0,2 \text{ mm}$ ,  $c = 0,077 \text{ m}$ .

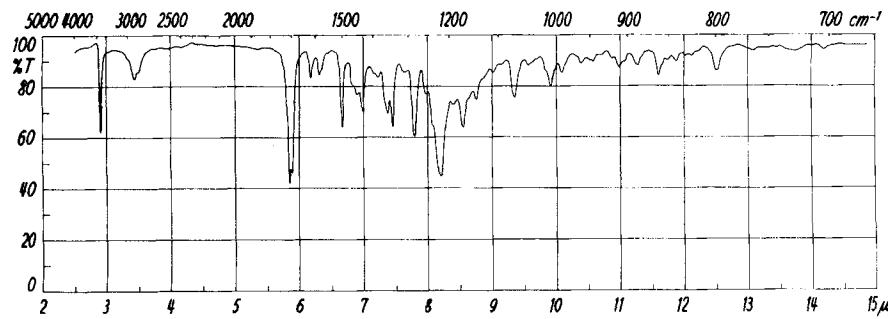


Fig. 4.

IR.-Absorptionsspektrum\*).

3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14 $\beta$ -ätiensäure-methylester (XII),  
fest in KBr gepresst, kompensiert mit KBr. Vgl. Tab. II.

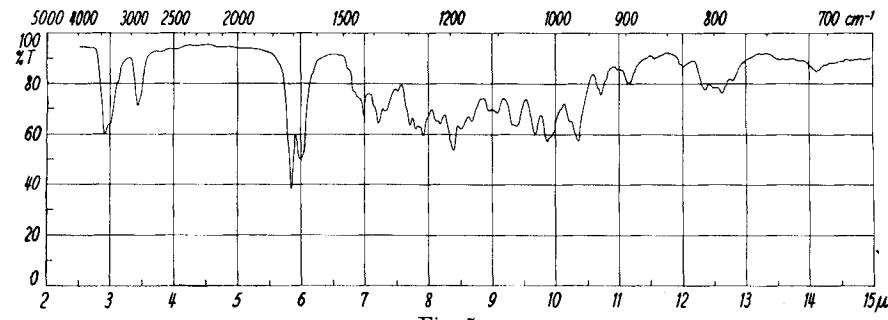


Fig. 5.

IR.-Absorptionsspektrum\*).

3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -ostatrien-(1,3,5:10) (XV),  
fest in KBr gepresst, kompensiert mit KBr. Vgl. Tab. II.

\*) Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem Perkin-Elmer-IR.-Spektrometer, Modell 21.

Analytisch waren 2 Methoxylgruppen nachweisbar. Das UV.-Spektrum (vgl. Tab. I und Fig. 2) zeigte den für Phenoläther typischen Verlauf ( $\lambda_{\max}$  bei  $278 \text{ m}\mu$ ; ( $\log \epsilon = 3,14$ ) und bei  $285 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,10$ ) sowie Schulter bei  $215-225 \text{ m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3,92-3,86$ )). Das IR.-Spektrum (vgl. Tab. II) stimmte damit ebenfalls überein (neue Bande bei  $8,21 \mu$  für  $=\text{C}-\text{O}-$  des Arylathers). Die Stoffe XIV, XV und XVI zeigten bemerkenswert hohe positive optische Drehungswerte. Wurde die Aromatisierung des Ketoesters XII mit KOH unter schärferen Bedingungen (3 Std. bei  $110^\circ$ ) durchgeführt, so entstand nach Methylierung mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  nicht XV oder XVI, sondern ausschliesslich ein neuer Stoff, dessen Konstitution wir noch nicht aufgeklärt haben, und den wir vorläufig als Substanz G.V. 5 (XX) bezeichnen. Nach dem UV.-Spektrum (vgl. Tab. I) ist Subst. G. V. 5 ebenfalls aromatisch. Sie wurde auch als Nebenprodukt nach der Methylierung der Phenolsäure XIV mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  erhalten, wenn für diese Umsetzung nicht ganz reines Material verwendet wurde.

Der aromatische Ketoester XVI sollte sich relativ leicht zu einem Stoff mit bekannter Konstitution umformen lassen. Zur Verwirklichung dieses Ziels schien uns die Überführung in  $3\text{-Methoxy-}17\beta\text{-carbomethoxy-}\ddot{\text{o}}\text{-stratrien-(1,3,5:10)}$  (XXXI) am aussichtsreichsten, da sie nur zwei prinzipielle Reaktionen benötigte: Ersatz der 11-Keto-gruppe und der 14-Hydroxygruppe durch Wasserstoff. Wir versuchten zunächst im ersten Schritt die Hydroxylgruppe und dann die Ketogruppe zu entfernen. Die Wasserabspaltung in XVI mit  $\text{SOCl}_2$  in Pyridin lieferte den ungesättigten Ester XVIII. Die neue Doppelbindung befindet sich nach dem UV.-Spektrum (vgl. Tab. I), das weder Konjugation zum aromatischen Ring noch zur Ketogruppe erkennen liess, wie in analogen Fällen in 14-Stellung. Ein Vorversuch mit  $3\beta\text{-Acetoxy-}11\text{-keto-}\ddot{\text{o}}\text{-ien-(14)-säure-methylester}$  (XXXVI) als Modellsubstanz zeigte, dass die partielle Hydrierung der olefinischen Doppelbindung mit Pt in Äthylacetat + eine Spur Eisessig möglich ist (vgl. Tab. III im exper. Teil). Als Hauptprodukt wurde der gesättigte Ketoester XXXVII erhalten<sup>38)</sup>. Die analoge Hydrierung von XVIII verlief jedoch anders. Sie lieferte in sehr geringer Ausbeute ein Gemisch von zwei Kristallisaten vom Smp.  $171^\circ$  bzw.  $185^\circ$ , das durch Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  getrennt werden konnte. Das Material reichte für die Ausführung von Analysen nicht. Das IR.-Spektrum des Stoffes vom Smp.  $171^\circ$  (Nebenprodukt) liess neben der Carbomethoxygruppe noch die 11-Keto-Gruppe erkennen (breite Bande von  $5,78-5,82 \mu$ ; vgl. Tab. II); die HO-Bande fehlte jedoch. Der Stoff dürfte deshalb die Strukturformel XXIII besitzen. Der Ester vom Smp.  $185^\circ$  (Hauptprodukt) zeigte im IR. Banden bei  $2,79 \mu$  ( $\text{O}-\text{H}$ ) und bei  $5,76 \mu$  ( $\text{C}=\text{O}$ , Carbomethoxygruppe) (vgl. Tab. II). Die 11-Ketogruppe ist demnach reduziert worden, weshalb diesem Stoff die Konstitution XXVIII zukommt, in der die Konfiguration

von C-11 und C-14 noch unbestimmt sind (Betr. C-14, vgl. Bem.<sup>38</sup>)). Nach Hydrierung von XVIII in Gegenwart von Pt in reinem Eisessig und anschliessender Rückoxydation mit CrO<sub>3</sub> in Eisessig liessen sich überhaupt keine krist. Produkte fassen. 11 $\beta$ -Hydroxyester vom Typus XXVIII lassen sich offenbar unter diesen Bedingungen nicht ohne weiteres zum gewünschten Ketoester (XXIII) zurückoxydieren. Weitere Versuche in dieser Richtung wurden deshalb nicht unternommen.

Der Erfolg trat ein, als die Reihenfolge der Entfernung der beiden Sauerstoffatome in XVI vertauscht wurde. Die 11-Ketogruppe des Esters XVI zeigte gegenüber Ketonreagenzien normale Reaktionsfähigkeit, wie aus der Bildung des krist. Oxims XVII ersichtlich war, da durch die Aromatisierung des Ringes A und das Fehlen der angulären Hydroxymethylgruppe an C-10 keine räumliche Behinderung mehr besteht. Sie erlaubte damit auch die Bildung des Thioketals XXI mit Äthandithiol unter Bedingungen, welche die 14-Hydroxylgruppe intakt liessen. XXI kristallisierte bisher nicht. Es lieferte nach reduktiver Entschwefelung mit *Raney*-Ni den krist. Ester XXV mit der Bruttoformel C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> [im IR. (vgl. Tab. II) Banden bei: 2,91  $\mu$  (O—H) und 5,85  $\mu$  (C=O, Carbomethoxygruppe assoz.) erkennbar]. In einem analogen Versuch, für den Rohkristalle von XVI verwendet wurden, entstand neben XXV ein krist. Stoff, dessen UV.-Spektrum (vgl. Fig. 2 und Tab. I) für  $\beta$ -Methoxynaphthalin typisch ist<sup>39</sup>). Im IR.-Spektrum (vgl. Tab. II) war die HO-Gruppe nicht mehr sichtbar. Das Nebenprodukt besitzt die Konstitution XXII, in der nur die Konfiguration von C-14 unbestimmt ist<sup>40</sup>). Aus den molekularen Drehungen ([M]<sub>D</sub>-Werten) der Stoffe XVI und XXV liess sich der molekulare Drehungsbeitrag der 11-Ketogruppe in XVI berechnen;

<sup>38</sup>) In ganz geringer Ausbeute entstand ein zweiter krist. Stoff, der höchstwahrscheinlich mit dem 3 $\beta$ -Acetoxy-11 $\beta$ -hydroxy-14 $\beta$ -ätiansäure-methylester (XXXVIII) identisch ist. Der isomere 3 $\beta$ -Acetoxy-11 $\beta$ -hydroxy-ätiansäure-methylester (XXXV), der bei dieser Hydrierung sicher in mindestens gleich grosser Menge gebildet wird, konnte in diesem Versuch, der nur mit einer kleinen Substanzmenge durchgeführt wurde, nicht gefasst werden, da er eine viel geringere Neigung zur Kristallisation als XXXVIII zeigt. (Privatmitteilung von Dr. A. Lardon, der die Stoffe XXXV und XXXVI zum ersten Male bereitet hat<sup>32</sup>).

<sup>39</sup>) Vgl. die UV.-Spektren von ähnlich gebauten Stoffen, die Sneeden & Turner<sup>15</sup>) beschrieben haben.

<sup>40</sup>) Offenbar war das verwendete rohe Präparat von XVI durch einen Stoff verunreinigt, der statt der Ketogruppe eine HO-Gruppe enthielt. Es muss Abspaltung von 2 Mol Wasser und Wanderung der beiden Doppelbindungen eingetreten sein. Säurekatalysierte Wanderungen von Doppelbindungen in den 7:8-, 8:9-, 8:14-, 9:11- und 14:15-Stellungen sind wohl bekannt. Die Isomerisierung von Equilin (= 7-Dehydro- $\ddot{\text{o}}$ stron), die zu 8:9-Dehydro-14- $\beta$ - $\ddot{\text{o}}$ stron und zu 9:11-Dehydro-14- $\beta$ - $\ddot{\text{o}}$ stron<sup>15</sup>)<sup>41</sup>) führt, spricht dafür, dass auch in XXII die Ringe C und D cis-ständig verknüpft sind, resp. das H-Atom an C-14  $\beta$ -ständig ist.

<sup>41</sup>) D. Banes, J. Carol & E. O. Haenni, J. biol. Chemistry **187**, 557 (1950).

er beträgt  $+633^\circ \pm 15^\circ$ <sup>42)</sup>. Dieser  $\Delta[M]_D$ -Wert ist aussergewöhnlich gross, denn in den Ätiensäure-methylestern und  $5\alpha$ -Ätiensäure-methylestern trägt die 11-Ketogruppe im Mittel nur  $+60^\circ$  an die molekulare Drehung bei<sup>43)</sup>. Weniger glatt und einheitlich verlief die Entfernung der 11-Keto-Gruppe, wenn statt der Thioketalmethode die *Wolff-Kishner*-Reaktion benutzt wurde. Ausgehend von der freien Phenolsäure XIV entstand als Hauptprodukt die erwartete sauerstoffärmer Säure XXIV, die mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  den bereits erwähnten Ester XXV lieferte. Die Mutterlaugen der krist. Säure XXIV gaben nach Methyllierung noch etwas XXV sowie den isomeren Ester XXVII. Da das IR.-Spektrum von XXVII (vgl. Tab. II) im Gegensatz zu XXV keine Assoziation der Carbomethoxygruppe mit der 14-Hydroxylgruppe erkennen liess (Banden bei  $2,77 \mu$  ( $\text{O}-\text{H}$ ) und  $5,77 \mu$  ( $\text{C}=\text{O}$ )), hat eine Epimerisierung von C-17 stattgefunden, womit die Konstitution dieses Stoffes bewiesen sein dürfte. Damit stimmt auch die Differenz der  $[M]_D$ -Werte zwischen den beiden isomeren Estern XXV und XXVII ( $\Delta[M]_D^{\beta-\alpha}$ -Wert) gut überein, die  $+280^\circ \pm 37^\circ$  beträgt<sup>44)</sup>. Mit  $\text{SOCl}_2$  in Pyridin wurde aus XXV glatt der ungesättigte Ester XXIX gewonnen (im IR: keine HO-Bande, dagegen Maximum nach  $5,76 \mu$  verschoben ( $\text{C}=\text{O}$ -Schwingung der nicht-assoziierten Carbomethoxygruppe) (vgl. Tab. II). Die selektive Absättigung der isolierten Doppelbindung gelang durch Hydrierung mit Hilfe eines  $\text{PdO}\text{-BaSO}_4$ -Katalysators nach *Kuhn & Haas*<sup>45)</sup> in Eisessiglösung. In Gegenwart dieses Katalysators wurde der aromatische Ring nicht angegriffen und, wie ein Vorversuch mit XXXIII zeigte, Wasserstoff von der  $\alpha$ -Seite her an die isolierte Doppelbindung angelagert (vgl. Vorversuche Nr. 5, 6 und 9 in Tab. III). Der als Hauptprodukt erhaltenen Ester XXXI war mit einem authentischen Präparat von 3-Methoxy- $17\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) von *Djerassi &*

<sup>42)</sup> Dieser  $\Delta[M]$ -Wert wurde aus den  $[M]_D$ -Werten von XVI ( $+968^\circ \pm 7^\circ$  in Chf) und XXV ( $+335^\circ \pm 8^\circ$  in Chf) errechnet.

<sup>43)</sup> Zum Vergleich dienten die  $[M]_D$ -Werte der folgenden Esterpaare: 1)  $3\beta$ -Hydroxy-11-keto-ätiensäure-methylester ( $[M]_D = +251^\circ \pm 7^\circ$  in An) und  $3\beta$ -Hydroxy-ätiensäure-methylester ( $[M]_D = +190^\circ \pm 14^\circ$  in An):  $\Delta[M]_D = +61^\circ \pm 21^\circ$ . 2)  $3\beta$ -Acetoxy-11-keto-ätiensäure-methylester ( $[M]_D = +281^\circ \pm 8^\circ$  in An) und  $3\beta$ -Acetoxy-ätiensäure-methylester ( $[M]_D = +198^\circ \pm 11^\circ$  in An):  $\Delta[M]_D = +83^\circ \pm 19^\circ$ . 3)  $3\beta$ -Acetoxy-11-keto- $5\alpha$ -ätiensäure-methylester ( $[M]_D = +193^\circ \pm 8^\circ$  in D) und  $3\beta$ -Acetoxy- $5\alpha$ -ätiensäure-methylester ( $[M]_D = +143^\circ \pm 8^\circ$  in Chf):  $[M]_D = +50^\circ \pm 16^\circ$ . Die den  $[M]_D$ -Werten zugrunde liegenden  $[\alpha]_D$ -Werte wurden den „Tables de Constantes et Données numériques 6. Constantes Sélectionnées, Pouvoir Rotatoire Naturel. I. Stéroïdes“ von *J. P. Mathieu & A. Petit*, Paris 1956, entnommen.

<sup>44)</sup> Der  $\Delta[M]_D^{\beta-\alpha}$ -Wert wurde aus dem  $[M]_D^\beta$ -Wert von XXV ( $+335^\circ \pm 10^\circ$  in Chf) und dem  $[M]_D^\alpha$ -Wert von XXVII ( $+55^\circ \pm 27^\circ$  in Chf) errechnet. Für das Isomerenpaar  $5\alpha$ -Ätiensäure-methylester und  $5\alpha,17\alpha$ -Ätiensäure-methylester geben *L. F. Fieser & M. Fieser* in „Natural Products Related to Phenanthrene“, New York 1949, auf Seite 213 den  $\Delta[M]_D^{\beta-\alpha}$ -Wert von  $+284^\circ$  an.

<sup>45)</sup> *R. Kuhn & H. J. Haas*, Angew. Chem. **67**, 785 (1955).

Scholz<sup>27)</sup> nach Smp., Misch-Smp., spez. Drehung<sup>46)</sup>, UV.- und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 2 und 6 sowie Tab. I und II) identisch. Das Vergleichspräparat stellten wir aus authentischer Säure XXX her, die Prof. C. Djerassi<sup>47)</sup> uns freundlicherweise zur Verfügung gestellt hatte. Der Abbau beweist nochmals die Anwesenheit einer Hydroxylgruppe

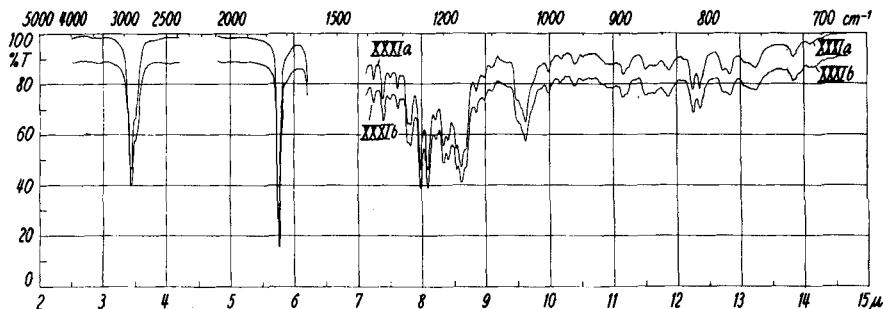


Fig. 6\*).

## IR.-Absorptionsspektrum.

Kurve XXXIa: 3-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI), Präparat aus Ouabagenin-Abbau, Lösung in CS<sub>2</sub>, d = 0,5-mm; c = 0,025-m.

Kurve XXXIb: 3-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI), authentisches Präparat, Lösung in CS<sub>2</sub>, d = 0,5-mm; c = 0,024-m.

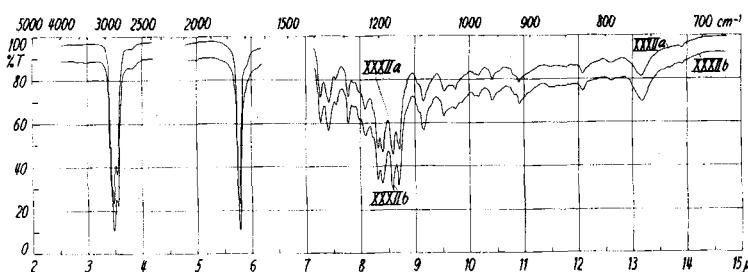


Fig. 7\*).

## IR.-Absorptionsspektrum.

Kurve XXXIIa: 3ξ-Methoxy-17β-carbomethoxy-5ξ,10ξ-östran (XXXII), Präparat aus Ouabagenin-Abbau, Lösung in CS<sub>2</sub>, d = 0,5-mm, c = 0,035-m.

Kurve XXXIIb: 3ξ-Methoxy-17β-carbomethoxy-5ξ,10ξ-östran (XXXII), Präparat aus authentischem XXXI, Lösung in CS<sub>2</sub>, d = 0,5-mm, c = 0,048-m.

\*) Aufgenommen von Herrn Dr. P. Zoller mit einem *Perkin-Elmer*-IR.-Spektrophotometer, Modell 21.

<sup>46)</sup> Bei der spez. Drehung stellten wir eine Unstimmigkeit fest. Djerassi & Scholz<sup>27)</sup> fanden für XXXI  $[\alpha]_D^{26} = +47,6^\circ$  in Chf. Wir fanden für das Präparat XXXI, das wir aus der authentischen Säure XXX frisch bereitet hatten,  $[\alpha]_D^{23} = +99^\circ \pm 2^\circ$  in Chf. Das durch Abbau von Ouabagenin gewonnene Präparat XXXI zeigte  $[\alpha]_D^2 = +104^\circ \pm 6^\circ$  in Chf. Die beiden letzteren Werte stimmen befriedigend miteinander überein.

<sup>47)</sup> Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Prof. C. Djerassi, Wayne University, Detroit, USA, bestens für die Überlassung dieses Präparates danken.

an C-3 in Ouabagenin (I). Bei der Hydrierung von XXIX mit Pt in Eisessig wurde auch der aromatische Ring angegriffen. Als Hauptprodukt entstand der perhydrierte Ester XXXII. XXXII war mit einem Präparat, das durch analoge Hydrierung von authentischem XXXI gewonnen wurde, nach Smp., Misch-Smp. und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 7 und Tab. II) ebenfalls identisch. Die Anwesenheit der 3-Methoxy-Gruppe<sup>48)</sup> (keine Hydrogenolyse) stützt sich nur auf die für aliphatische Äther typische Bande bei 9,16–9,18  $\mu$  des IR.-Spektrums<sup>49)</sup>. Die Konfiguration von C-3, C-5 und C-10 ist unbestimmt.

Durch die Sicherstellung des normalen Steringerüstes für Ouabagenin (I) ist die Diskussion der räumlichen Anordnung seiner funktionellen Gruppen auf eine solide Basis gestellt. Die  $17\beta$ -ständige Carbomethoxy-Gruppe von XXXI beweist die  $17\beta$ -Stellung des ursprünglichen Butenolidrings in Ouabagenin. Die entscheidenden Reaktionen des Abbaus waren so gewählt, dass eine Inversion dieses Asymmetriezentrums mit Sicherheit auszuschliessen ist.

Die Bildung von Iso-ouabain aus Ouabain (III) ist nur möglich, wenn die HO-Gruppe an C-14 und der Butenolidring an C-17 sich auf derselben Seite des Ringsystems befinden, d. h.  $\beta$ -ständig angeordnet sind. Da in dieser Reaktion eine Epimerisierung *a priori* nicht auszuschliessen ist, haben wir analog zu früheren Fällen<sup>50),51)</sup> den eindeutigen Beweis dadurch erbracht, dass wir Tetra-O-acetyl-ouabagenin (II) mit Ozon usw. zum bekannten Ketol IV abbauten und dieses mit CrO<sub>3</sub>-Eisessig oxydierten. Es entstanden vorwiegend neutrale Anteile, aus denen in guter Ausbeute das Lacton V erhalten wurde. Das UV.-Spektrum (vgl. Fig. 1 und Tab. I) zeigte das charakteristische Maximum bei 355 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 1,67$ ) sowie die hohe Endabsorption (vgl. 51)). Die  $\beta$ -Stellung des 14-Hydroxyls ist auch aus den zahlreichen IR.-Spektren abzuleiten, in denen die C=O-Schwingung der  $17\beta$ -Carbamethoxygruppe wegen der H-Brücke die typische Verschiebung von ca. 5,76  $\mu$  nach ca. 5,84  $\mu$  erfahren hat<sup>25)</sup>.

<sup>48)</sup> Für eine Methoxylbestimmung reichte die Substanzmenge nicht.

<sup>49)</sup> Im Ätiensäure-methylester, der zum Vergleich gemessen wurde, fehlt dieses Maximum, während im  $3\beta$ -Methoxy- $5\alpha$ -ätiensäure-methylester (XXXIX) ein entsprechendes Dublett auftritt (vgl. Tab. II). Der Äther XXXIX ist in der Literatur bisher nicht beschrieben. Er wurde durch Methylierung des  $3\beta$ -Hydroxy- $5\alpha$ -ätiensäure-methylesters mit CH<sub>3</sub>J und Ag<sub>2</sub>O erhalten. Die Zuordnung der Bande von 9,16–9,18  $\mu$  des Esters XXXII zu einer C—O—C-Streckschwingung ist im Einklang mit den Resultaten von J. E. Page, J. chem. Soc. 1955, 2017, der bei den 3-Methoxy-Derivaten des Cholestan und Koprostans in CS<sub>2</sub>-Lösung entsprechende Schwingungen im Bereich von 1100–1104 cm<sup>-1</sup> (9,06–9,09  $\mu$ ) (äquatoriale Methoxygruppe) und von 1086–1090 cm<sup>-1</sup> (9,17–9,21  $\mu$ ) (axiale Methoxygruppe) fand.

<sup>50)</sup> F. Hunziker & T. Reichstein, Helv. **28**, 1472 (1945); K. Meyer, Helv. **30**, 1976 (1947); P. Speiser & T. Reichstein, Helv. **31**, 622 (1948); W. Schlegel, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **38**, 1013 (1955).

<sup>51)</sup> H. P. Sigg, Ch. Tamm & T. Reichstein, Helv. **38**, 1721 (1955).

Die Acetylierbarkeit der HO-Gruppe an C-11 beweist die  $\alpha$ -Stellung [vgl. Bildung von Tetra-O-acetyl-ouabagenin (II)<sup>52)</sup>].

Die  $\beta$ -Konfiguration der HO-Gruppen an C-1 und C-5 geht aus der Konstitution des 1,5,19-Orthoformiats von Ouabagenin hervor, die *Tschesche & Snatzke*<sup>17)</sup> gut begründet haben. Die Bildung des 1,19-Isopropylidenderivats VI sowie die relativ schwere Acetylierbarkeit des 1-Hydroxyls<sup>52)</sup> sprechen ebenfalls für die axiale 1 $\beta$ -Konfiguration<sup>53).</sup>

Ein chemischer Beweis für die Konfiguration der HO-Gruppe an C-3 fehlt noch. Die starke biologische Wirksamkeit von Ouabain spricht aber für die  $\beta$ -Stellung. Alle bisher bekannten Cardenolide mit einer 3 $\alpha$ -ständigen Hydroxylgruppe der A/B-cis-Reihe zeigten keine Herzaktivität<sup>54)</sup><sup>54a)</sup>.

Damit ist für Ouabagenin die von *Mannich & Siewert*<sup>6)</sup> seinerzeit nur auf Grund von Analogien vorgeschlagene Konstitution und Konfiguration eines 1 $\beta$ ,3 $\beta$ ,5,11 $\alpha$ ,14,19-Hexahydroxy-carden-(20:22)-olids (I) endgültig bewiesen.

Herrn Prof. *T. Reichstein* danken wir für das grosse Interesse, das er unserer Arbeit entgegengebracht hat. Wir danken Herrn Dr. *P. Zoller* für die hilfreichen Diskussionen der IR.-Spektren bestens. Wir danken dem „Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung“ für die gewährte Unterstützung. Ferner dankt der eine von uns (*G. V.*) der *Hermann-Schlosser-Stiftung*, Frankfurt a. M., für ein Stipendium.

## Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert; Fehlergrenze in benützter Ausführung bis 200° etwa  $\pm$  2°, darüber etwa  $\pm$  3°. Substanzproben zur Drehung und zur Aufnahme von UV.- und IR.-Spektren wurden 1 Std. bei 70° und 0,05 Torr und zur Analyse 3—5 Std. bei 70° oder 100° über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> und 0,05 Torr getrocknet, sofern nicht anderes angegeben ist. Übliche Aufarbeitung bedeutet: Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Chf oder Chf-Ae-(1:3), Waschen mit 2-n. HCl, 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und Wasser, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen im Vakuum. Die Chromatogramme wurden nach dem Durchlaufverfahren<sup>55)</sup> ausgeführt, wobei Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nach früheren Angaben<sup>56)</sup> ohne Verwendung von Säure vom Alkali befreit, aber bei 185° reaktiviert wurde, oder neutrales Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> der Aktivitätsstufe I der Fa. *M. Woelm*, Eschwege, Deutschland, verwendet wurde.

<sup>52)</sup> Das Tri-O-acetyl-ouabagenin besitzt eine freie HO-Gruppe an C-1 und nicht an C-11. Vgl. <sup>14)</sup>.

<sup>53)</sup> Wären gleichzeitig HO-Gruppen in 1 $\alpha$ - und 11 $\alpha$ -Stellung anwesend, so würden sie einander sterisch stark behindern, so dass die Acetylierung unter normalen Bedingungen nur ein 3,19-Di-O-acetyl-Derivat ergeben sollte, was nicht der Fall ist.

<sup>54)</sup> Vgl. 3-Epi-digitoxigenin (*H. P. Sigg, Ch. Tamm & T. Reichstein*, Helv. **36**, 985 (1953)); 3-Epi-tanghinigenin (*H. P. Sigg, Ch. Tamm & T. Reichstein*, Helv. **38**, 166 (1955)).

<sup>54a)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen ist es uns gelungen, auch einen chemischen Beweis für die  $\beta$ -Stellung der HO-Gruppe an C-3 zu erbringen, indem sich die beiden Hydroxyle an C-3 und C-5 von 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin mit SOCl<sub>2</sub> in Pyridin zu einem Ring schliessen ließen. Es bildete sich das 3,5-Cyclosulfit des 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-14-anhydro-ouabagenins. Vgl. spätere Mitteilung.

<sup>55)</sup> *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, Disc. Farad. Soc. Nr. **7**, 305 (1949).

<sup>56)</sup> *J. v. Euw, A. Lardon & T. Reichstein*, Helv. **27**, 1287; besonders Seite 1292, Fussnote 2 (1944).

Das für die Chromatographie verwendete Silicagel besass die Korngrösse 0,15–0,30 mm. Bei den Lösungsmitteln gelten die folgenden Abkürzungen: Ae = Äther, Alk = Äthanol, An = Aceton, Be = Benzol, Chf = Chloroform, Me = Methanol, Pe = Petroläther (Sdp. 50–70°), Pn = Pentan, Py = Pyridin und W = Wasser. Verhältniszahlen bedeuten immer das Verhältnis der Volumina.

$1\beta,3\beta,11\alpha,19$ -Tetraacetoxy-5,14-dihydroxy-20-keto- $14\beta$ -pregnan-21-säure-lacton-(21 → 14) (V) aus II. In eine Lösung von 484 mg Tetra-O-acetyl-ouabagenin (II) vom Smp. 278–285° in 75 cm<sup>3</sup> Essigester wurde bei –70° während 15 Min. ozonhaltiger Sauerstoff (200 cm<sup>3</sup>/Min.; ca. 3,5% O<sub>3</sub> enthaltend) eingeleitet. Die tiefblaue Farbe blieb weitere 15 Min. bestehen. Hierauf wurde bei 20° im Vakuum vollständig eingedampft, der Rückstand in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig aufgenommen und unter Schütteln mit Zn-Staub in Portionen versetzt, bis die Lösung KJ-Stärke-Papier nicht mehr blau färbte. Nach Filtrieren wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chf aufgenommen, mit Sodalösung und W neutral gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 551 mg farbloser Schaum, der in 24 cm<sup>3</sup> Me gelöst, mit einer Lösung von 0,73 g KHCO<sub>3</sub> in 12 cm<sup>3</sup> W versetzt und 16 Std. bei 22° stehengelassen wurde. Hierauf wurde das Me im Vakuum entfernt und mit Chf ausgeschüttelt. Nach Waschen mit W, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen im Vakuum wurden 438 mg Rohprodukt erhalten. Aus Me-Ae 201 mg rohes krist.  $1\beta,3\beta,11\alpha,19$ -Tetraacetoxy-5,14,21-trihydroxy- $14\beta$ -pregnan-on-(20) (IV) vom Smp. 185–194°, das Silberdiammin-Lösung in der Kälte rasch reduzierte. Das gesamte krist. Material wurde in 2,5 cm<sup>3</sup> reinstem Eisessig gelöst und in Portionen mit insgesamt 5,5 cm<sup>3</sup> 1-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig (entspr. 1,2 O-Äquiv.) versetzt, worauf nach 3 Std. noch freies CrO<sub>3</sub> nachweisbar war. Nach 16 Std. Stehen mit einigen Tropfen Me wurde im Vakuum eingedampft, in Chf aufgenommen, die Chf-Lösung mit 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Sodalösung und W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 174 mg neutrales Rohprodukt. Aus An-Pe 64 mg Kristalle vom Smp. 276–280°. Zur Reinigung wurden sie an 1,5 g Silicagel chromatographiert. Aus den mit Chf eluierten Fraktionen wurden 43 mg Kristalle vom Smp. 275 bis 286° (ab 270° Sintern) erhalten. Nach Umkristallisieren aus An-Pe Rhomben vom Smp. 276–283° (Zers.); [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = –53° ± 2° (c = 0,931 in Chf). UV.-Spektrum vgl. Kurve V in Fig. 1.

C <sub>29</sub> H <sub>38</sub> O <sub>12</sub>	Ber. C 60,20	H 6,62	O 33,18%
(578,59)	Gef. , , 60,15	, , 6,81	, , 33,32%

1,19-Isopropyliden-ouabagenin (= Ouabagenin-monoacetonid) (VI) aus Ouabain (III) wurde nach früheren Angaben<sup>6)</sup> durch Spaltung mit Aceton-HCl gewonnen, zeigte gewöhnlich den Smp. 261–270° (Zers.) und wurde direkt weiter verwendet (25 g III gaben durchschnittlich 12–13 g VI).

1,19-Isopropyliden-3,11-di-O-acetyl-ouabagenin (VII) aus VI. Verbesserte Vorschrift: 12,97 g 1,19-Isopropyliden-ouabagenin (VI) vom Smp. 262–278° wurden in 800 cm<sup>3</sup> Pyridin und 80 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid suspendiert und unter Schütteln 3 Std. auf 60° erwärmt, wodurch vollständige Lösung eintrat. Nach Stehen während 4 Tagen bei 22° ergab die übliche Aufarbeitung aus An-Ae 7,73 g fast farblose Kristalle vom Smp. 260–267° und 2,20 g Kristalle vom Smp. 256–261°, die direkt weiter verwendet wurden. (Acetylierung nach Mannich & Siewert<sup>6)</sup> bzw. Tamm<sup>16)</sup> (3 Std. Rückfluss) hatte eine Reinigung des Produktes durch Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> erforderl.)

Roher 1 $\beta$ ,19-Isopropyliden-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -diacetoxy-5,14-dihydroxy- $14\beta$ -ätiensäure-methylester (VIII) aus VII. 1. „Ozon-Abbau“ (besseres Verfahren): In eine Lösung von 7,70 g 1,19-Isopropyliden-3,11-di-O-acetyl-ouabagenin (VII) vom Smp. 260–267° in 770 cm<sup>3</sup> reinstem neutralem Äthylacetat wurde bei –70° während 2 Std. O<sub>3</sub>-haltiger Sauerstoff (mit 3,5% O<sub>3</sub>; 200 cm<sup>3</sup> pro Min.) eingeleitet, worauf die tiefblaue Farbe während längerer Zeit bestehen blieb. Nach Erwärmen auf 20° wurden 120 cm<sup>3</sup> Eisessig zugegeben und unter Umschütteln insgesamt 30 g Zn-Staub in Portionen zugefügt, wobei die Temp. unter 25° gehalten wurde. Hierauf bläute das Reaktionsgemisch KJ-Stärke-Papier nicht mehr. (Die Reduktion des Ozonids mit Zn kann auch

in reiner Eisessiglösung ausgeführt werden.) Nach Filtrieren und Eindampfen im Vakuum wurde der Rückstand in Chf-Alk-(4:1) aufgenommen, mit 2-n. Sodalösung und W neutralgewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und eingedampft. Es resultierten 9,6 g farbloser Schaum, der in  $380 \text{ cm}^3$  Me gelöst und mit einer Lösung von 7,7 g  $\text{KHCO}_3$  in  $150 \text{ cm}^3$  W versetzt wurde. Nach Stehen während 13—16 Std. bei  $22^\circ$  wurde das Me im Vakuum entfernt und mit Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt. Nach Waschen der Auszüge mit W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen im Vakuum wurden 6,85 g farbloser Schaum erhalten. Dieser wurde mit  $400 \text{ cm}^3$  Me und  $600 \text{ cm}^3$  einer 1,2-proz. wässrigen  $\text{NaJO}_4$ -Lösung (vom pH = 6—7, durch Zugabe von wenig  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  eingestellt) 16 Std. bei  $22^\circ$  stehen gelassen. Nach Entfernen des Me im Vakuum wurde die wässrige Suspension im Scheide-trichter mit Chf-Alk-(4:1) unterschichtet und unter intensiver äusserer Kühlung mit Eis-Kochsalz-Mischung mit 4-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  auf pH = 4 eingestellt. Die Chf-Alk-(4:1)-Lösung wurde sofort in einen zweiten Scheidetrichter übergeführt und dort mit ätherischer  $\text{CH}_2\text{N}_2$ -Lösung bis zur bleibenden Gelbfärbung versetzt. Nach Waschen mit Sodalösung und W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen im Vakuum wurden 6,4 g roher Ester VIII als farbloser Schaum erhalten, der auch nach Chromatographie an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  nicht kristallisierte.

2.  $\text{KMnO}_4$  in Aceton (schlechteres Verfahren): Eine Lösung von 708 mg 1,19-Isopropyliden-3,11-di-O-acetyl-ouabagenin (VII) in  $25 \text{ cm}^3$  An wurde mit 710 mg fein gepulvertem  $\text{KMnO}_4$  2 Std. auf der Maschine geschüttelt, worauf das  $\text{KMnO}_4$  verbraucht war. Nach Eindampfen im Vakuum wurde der fein pulverisierte Rückstand bei  $0^\circ$  mit 2-n.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und Eis versetzt bis zur gerade kongosäuren Reaktion, etwas Chf zugefügt, rasch filtriert, dann gründlich mit Chf bei  $0^\circ$  ausgeschüttelt. Die Chf-Lösungen wurden mehrmals mit kleinen Portionen 2-n.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und W bei  $0^\circ$  ausgeschüttelt, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 273 mg neutrale Anteile (gelbbrauner Schaum), die nicht weiter untersucht wurden. Die Sodalösungen und Waschwasser wurden zusammen bei  $0^\circ$  mit konz. HCl bis zur gerade kongosäuren Reaktion versetzt und so rasch wie möglich gründlich mit Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge gaben nach Waschen mit wenig W und Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  370 mg saure Anteile (farbloser Schaum), die in  $1 \text{ cm}^3$  Me gelöst und mit ätherischer  $\text{CH}_2\text{N}_2$ -Lösung versetzt wurden. Nach Waschen mit Sodalösung und W, Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Eindampfen wurden 276 mg roher Ester VIII erhalten, der bisher ebenfalls nicht kristallisierte.

Verseifung von VIII mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  usw.: 3-Keto-5,14,19-trihydroxy- $11\alpha$ -acetoxy- $14\beta$ -ätien-(1)-säure-methylester (X) und 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy- $14\beta$ -ätien-(1)-säure-methylester (XII) aus VIII. 1,67 g roher 1 $\beta$ ,19-Isopropyliden-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -diacetoxy-5,14-dihydroxy- $14\beta$ -ätiansäure-methylester (VIII) (Produkt aus „ $\text{O}_3$ -Abbau“) wurden mit  $60 \text{ cm}^3$  Me und  $40 \text{ cm}^3$  0,5-n. wässrigem  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  16 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Nach Entfernen des Me im Vakuum wurde die Suspension mit Chf-Alk-(4:1) gründlich ausgeschüttelt, die Auszüge mit W gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 1,13 g neutrale Anteile. Die verbliebene wässrige Phase wurde bei  $0^\circ$  auf pH = 3—4 eingestellt, bei  $0^\circ$  mit Chf-Alk-(4:1) ausgeschüttelt, die Auszüge mit Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt (saure Anteile) wurde in wenig Me gelöst und wie üblich mit ätherischem  $\text{CH}_2\text{N}_2$  behandelt und aufgearbeitet. Es resultierten weitere 0,22 g neutrale Anteile. Alle neutralen Anteile wurden vereinigt (1,35 g), in  $14 \text{ cm}^3$  abs. Py gelöst und mit  $\text{CrO}_3$ -Pyridin-Komplex, bereitet aus 1,4 g  $\text{CrO}_3$  und  $14 \text{ cm}^3$  abs. Py nach Poos et al.<sup>24)</sup>, 15 Min. geschüttelt und hierauf 15 Std. bei  $20^\circ$  stehengelassen. Der dunkelbraune, Gel-artig verfestigte Schlamm wurde auf der Nutsche scharf abgesaugt und mit Py und Chf-Alk-(4:1) gründlich gewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum bei  $50^\circ$  eingedampft, der Rückstand in  $200 \text{ cm}^3$  Chf aufgenommen, mit 20 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  30 Min. bei ca.  $50^\circ$  geschüttelt. Nach Filtrieren und Nachwaschen mit Chf-Alk-(4:1) resultierten nach Eindampfen im Vak. 1,10 g brauner Schaum, der an 33 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert wurde. Die Fraktionen 1—4 (eluiert mit Be und Be-Chf-(1:1)) gaben 95 mg braunes Öl (verworfen).

Die Fraktionen 5—14 (578 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1) und -(1:4) gaben aus An-Ae-Pe 341 mg Kristalle vom Smp. 127—134°. Nach Umkristallisieren 3-Keto-5,14,19-

trihydroxy-11 $\alpha$ -acetoxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (X) in quadratischen Blättchen von Smp. 133–136° (Blasenbildung);  $[\alpha]_D^{25} = +82^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,212$  in Me). UV.-Spektrum vgl. Kurve X und Fig. 1; IR.-Spektrum vgl. Fig. 3.

$C_{23}H_{32}O_8$	Ber. C 63,28 (436,49)	H 7,39	O 23,33% ,, 28,54%
	Gef. ,, 64,28; 63,82	,, 7,35; 8,25	,, 28,54%

Die Fraktionen 15–19 (164 mg eluiert mit Chf) gaben aus An-Pe 109 mg Kristalle vom Smp. 190–197°. Nach Umkristallisieren aus An-Pe 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (XII) in feinen Nadeln vom Smp. 201–203;  $[\alpha]_D^{25} = +144^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,877$  in Me). Der Stoff reduzierte Silberdiammin-Lösung bei 20° augenblicklich. UV.-Spektrum vgl. Kurve XII in Fig. 1 und IR.-Spektrum vgl. Fig. 4.

$C_{21}H_{28}O_7$	Ber. C 64,27 (392,44)	H 7,19	O 28,54 —CO·CH <sub>3</sub> 0% Gef. ,, 63,95; 63,60	,, 7,80; 7,44	,, 28,54	,, 0%
-------------------	--------------------------	--------	--------------------------------------------------------	---------------	----------	-------

Die restlichen Fraktionen gaben nur noch amorphes Material.

3-Keto-5,14-dihydroxy-11 $\alpha$ ,19-diacetoxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (XI) aus X. 30 mg 3-Keto-5,14,19-trihydroxy-11 $\alpha$ -acetoxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (X) wurden mit 1 cm<sup>3</sup> abs. Py und 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 14 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung lieferte 30 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 24 mg Kristalle vom Smp. 245–248°. Nach Umkristallisieren aus An-Ae feine Drusen vom Smp. 248–249°;  $[\alpha]_D^{25} = +58^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,290$  in Chf). Florey & Ehrenstein<sup>14)</sup> fanden den Smp. 240–242° (aus An) und  $[\alpha]_D^{25} = +60,3^\circ$  (in Chf).

$C_{25}H_{34}O_9$ (478,53)	Ber. C 62,74	H 7,16%	Gef. C 62,65; 63,13	H 7,31; 7,34%
----------------------------	--------------	---------	---------------------	---------------

3,11-Diketo-5,14-dihydroxy-19-acetoxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methyl-ester (XIII) aus XII. 30 mg 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (XI) wurden mit 1 cm<sup>3</sup> Py und 1 cm<sup>3</sup> Acetanhydrid 14 Std. bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung gab 32 mg gelbes Öl, welches auch nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> bisher keine Kristalle lieferte.

Verseifung von VIII mit KOH usw.: 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14 $\beta$ -äten-(1)-säure-methylester (XII), 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carbo-methoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XV) und Substanz G.V. 17A (XIX). 6,40 g roher, 1 $\beta$ ,19-Isopropyliden-3 $\beta$ ,11 $\alpha$ -diacetoxy-5,14-dihydroxy-14 $\beta$ -ätiensäure-methylester (VIII) (Produkt aus „Ozon-Abbau“) wurden mit 64 cm<sup>3</sup> Me und 105 cm<sup>3</sup> 2-n. wässriger KOH 50 Std. bei 22° stehengelassen. Hierauf wurde das Me im Vakuum entfernt, die wässrige Lösung im Scheidetrichter mit Chf-Alk-(4:1) unterschichtet und unter äusserer Kühlung mit Eis-Kochsalz durch Zugabe von 3-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf eben kongosaure Reaktion eingestellt. Die Chf-Alk-(4:1)-Lösung wurde in einem nächsten Scheidetrichter sofort mit ätherischem CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> versetzt und mit 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und W neutral gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vak. eingedampft. Es resultierten 4,62 g neutrale Anteile, die mit 46 cm<sup>3</sup> abs. Py und CrO<sub>3</sub>-Py-Komplex, bereitstellt aus 5,75 g CrO<sub>3</sub> und 58 cm<sup>3</sup> abs. Py nach Poos et al.<sup>24)</sup>, 1 Std. geschüttelt, dann 14 Std. bei 22° stehengelassen wurden. Hierauf wurde der dunkelbraune Schlamm abgenutscht, mit Py und Chf-Alk-(4:1) gründlich nachgewaschen, das Filtrat nach Eindampfen im Vak. in 400 cm<sup>3</sup> Chf aufgenommen und mit 50 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 30 Min. bei ca. 50° geschüttelt. Nach Filtrieren, Nachwaschen mit Chf-Alk-(4:1) und Eindampfen der Filtrate im Vakuum resultierten 3,90 g braunes Rohprodukt, das an 115 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 1–8 (eluiert mit Be und Be-Chf-Gemischen) gaben in der Regel wenig braunes amorphes Produkt. Aus einem Ansatz resultierten aus einer mit Be-Chf-(1:1) eluierten Fraktion 254 mg Rohprodukt (gelb), das aus Ae 191 mg Kristalle vom Smp. 200–208° gab, die nochmals an 5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurden. Aus den mit Be-Chf-(3:1) und -(1:1) eluierten Fraktionen resultierten 100 mg Kristalle vom Smp. 204–208°. Nach Umkristallisieren aus An-Ae Substanz G.V. 17A (XIX) in feinen, zu Drusen vereinigten Nadeln vom Smp. 205–206,5°;  $[\alpha]_D^{25} = +41^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,589$  in Chf). Dieser Stoff wurde noch nicht weiter untersucht.

Die Fraktionen 9—23 (2,32 g, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1), (98:2) und (95:5) gaben aus An-Ae-Pe 1,85 g Kristalle vom Smp. 188—226°. Durch fraktionierte Kristallisation aus An-Pe liessen sich 1,28 g reiner 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14β-äten-(1)-säure-methylester (XII) vom Smp. 196—199° sowie 176 mg vom Smp. 186—191° abtrennen. Die Mutterlaugen (376 mg) lieferten aus An 182 mg Kristalle vom Smp. 223—236°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An—Ae 3,14-Dihydroxy-11-keto-17β-carbomethoxy-14β-östratrien-(1,3,5:10) (XV) in Nadeln vom Smp. 250—252°;  $[\alpha]_D^{23} = +277^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,044$  in Chf).

$C_{20}H_{24}O_5$  (344,39) Ber. C 69,75 H 7,02% Gef. C 69,50 H 7,24%

Der Stoff gab mit  $K_3[Fe(CN)_6]$ - $FeCl_3$ -Reagens nach Barton et al.<sup>37)</sup> eine blaue Färbung (Tüpfelprobe auf Filterpapier). UV.-Spektrum vgl. Tab. I und IR.-Spektrum Fig. 5. Der Stoff zersetzt sich nach einiger Zeit.

3,14 - Dihydroxy - 11 - keto - 17β - carboxy - 14β - östratrien - (1,3,5:10) (XIV) aus XII. Zu einer Suspension von 100 mg 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14β-äten-(1)-säure-methylester (XIII) in 2,5 cm<sup>3</sup> Me wurden unter gleichzeitigem Einleiten von  $N_2$  2,5 cm<sup>3</sup> 2-n. wässriger KOH bei 22° zugefügt. Nach 15 Min. war vollständige Lösung des Materials eingetreten und, wie sich aus einer Versuchsreihe ergab, die Aromatisierung beendet. Die gelb gefärbte Lösung wurde mit 2,75 cm<sup>3</sup> 2-n. wässriger  $H_2SO_4$  versetzt und der gebildete Formaldehyd zusammen mit dem Me mit W-Dampf in 40 cm<sup>3</sup> einer vorgelegten gesättigten Dimedonlösung übergetrieben. Nach der Entfernung des Me begannen sich Kristalle abzuscheiden. Nach Filtrieren und Waschen mit W 76 mg Kristalle vom Smp. 207—223°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus An-W sechseckige Plättchen vom Smp. 211—231°;  $[\alpha]_D^{23} = +233^\circ \pm 2^\circ$  ( $c=1,004$  in Me). Die Säure gab mit  $K_3[Fe(CN)_6]$ - $FeCl_3$ -Reagens<sup>37)</sup> eine blaue Färbung. UV.-Spektrum vgl. Kurve XIV in Fig. 1.

Gewichtsverlust nach Trocknen (5 Std. bei 100°): Gef. 4,87%, ber. für  $1H_2O$  5,18%. Es liegt das Monohydrat der Säure XIV vor.

$C_{19}H_{22}O_5$  Ber. C 69,07 H 6,71 O 24,22%  
(330,37) Gef. „, 68,78 „, 6,85 „, 24,15%

Aus der vorgelegten Dimedonlösung schieden sich nach längerem Stehen bei 0° 52 mg Kristalle ab vom Smp. 185—187° (geschlossenes Röhrchen). Naeh Umkristallisieren aus Alk-W Nadeln vom Smp. 187—188,5°. Nach Smp. und Misch-Smp. identisch mit authentischem Formaldimedon.

Substanz G.V.5 (XX) aus XII. Eine Suspension von 104 mg 3,11-Diketo-5,14,19-trihydroxy-14β-äten-(1)-säure-methylester (XII) in 8 cm<sup>3</sup> Me wurde mit 8 cm<sup>3</sup> 2-n. wässriger KOH unter Durchleiten von  $N_2$  3 Std. auf 110° erhitzt. Die wie im vorangehenden Versuch durchgeführte Aufarbeitung ergab nach Methylierung der in Me gelösten sauren Anteile mit ätherischem  $CH_2N_2$  100 mg neutrales Rohprodukt, das an 3 g  $Al_2O_3$  chromatographiert wurde. Die ersten mit Be eluierten Fraktionen (36 mg) gaben aus Chf-Me 17,8 mg Kristalle vom Smp. 175—186°. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus An-Ae 11 mg Nadeln vom Smp. 193—195°;  $[\alpha]_D^{23} = +181^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,832$  in Chf). Mit Tetranitromethan in Chf schwache Gelbfärbung. UV.-Spektrum vgl. Tab. I.

$C_{21}H_{26}O_5$  Ber. C 70,37 H 7,31 —OCH<sub>3</sub> 17,32%  
(358,42) Gef. „, 70,45 „, 7,14 „, 17,50%

Die späteren Fraktionen gaben 65 mg braune Öle, die nicht mehr kristallisierten.

Substanz G.V.5 wurde in geringer Menge manchmal auch erhalten, wenn die phenolische Säure XIV durch Methylierung mit  $(CH_3)_2SO_4$ -NaOH und  $CH_2N_2$  in XVI übergeführt wurde.

3,14-Dihydroxy-11-keto-17β-carbomethoxy-14β-östratrien-(1,3,5:10) (XV) aus XIV. Eine Lösung von 76 mg 3,14-Dihydroxy-11-keto-17β-carboxy-14β-östratrien-(1,3,5:10) (XIV) in Chf wurden mit ätherischem  $CH_2N_2$  15 Min. bei 0° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung ergab 68 mg Rohprodukt. Aus An-Ae 55 mg Kristalle vom Smp. 233—243°;  $[\alpha]_D^{23} = +283^\circ \pm 3^\circ$  ( $c = 0,766$  in Chf). Misch-Smp. mit Präparat XV aus VIII erhalten ohne Depression. IR.-Spektrum identisch mit Präparat XV aus VIII.

**3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XVI).** — 1. Aus XIV: a) *Mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>:* Eine Lösung von 170 mg 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XIV) vom Smp. 211–225° in 10 cm<sup>3</sup> Me wurden mit einem Überschuss von ätherischem CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> mindestens 4 Tage bei 0° in der Dunkelheit stehengelassen. Nach Eindampfen wurde das Rohprodukt (175 mg) direkt an 5,1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 2 und 3 (11,2 mg, eluiert mit Be und Be-Chf-(99:1)) gaben aus Ae-Pe 10 mg Kristalle vom Smp. 180–188°. Nach Umkristallisieren aus Ae-Pe Substanz G.V. 5 (XX) vom Smp. 188–194°. Misch-Smp. mit Präparat aus XI bereitet war gleich.

Die Fraktionen 4–20 (100 mg, eluiert mit Be-Chf-Gemischen (99:1) bis (8:2)) gaben aus An-Pe 72 mg Kristalle vom Smp. 174–183°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus An-Pe **3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10)** (XVI) in feinen Nadeln vom Smp. 179–187°; [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = +270,5° ± 2° (c = 1,041 in Chf).

C <sub>21</sub> H <sub>26</sub> O <sub>5</sub>	Ber. C 70,37	H 7,31	O 22,32	—OCH <sub>3</sub> 17,32%
(358,42)	Gef. „	70,56	„	7,55 „, 21,91 „, 17,36%

Farbreaktion mit K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]-FeCl<sub>3</sub> war negativ. UV.-Spektrum vgl. Kurve XVI in Fig. 2; IR.-Spektrum siehe Tab. II. Mit Tetranitromethan in Chf-Lösung schwache Gelbfärbung.

Die Fraktionen 21–28 (83,8 mg, eluiert mit Be-Chf-(1:1), Chf und Chf-Me-(95:5)) gaben aus An-Ae 20 mg **3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10)** (XV) vom Smp. 222–243°. Misch-Smp. mit Präparat XV, aus VIII bzw. XIV bereitet, war gleich.

b) *Mit (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-NaOH, dann CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>:* Eine Suspension von 390 mg 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XIV) vom Smp. 212–225° in 4 cm<sup>3</sup> W wurde mit 0,7 cm<sup>3</sup> 2-n. NaOH unter gleichzeitigem Durchleiten von N<sub>2</sub> versetzt (Gelbfärbung). Hierauf wurden 2,4 cm<sup>3</sup> (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugegeben und während 4 Std. unter Rühren portionsweise mit insgesamt 10 cm<sup>3</sup> 2-n. NaOH versetzt, so dass das pH stets 10–12 betrug. Nach 2 Std. begann sich ein Niederschlag zu bilden. Nach insgesamt 4 Std. wurde 2-n. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bis zur gerade kongosäuren Reaktion versetzt, mit Chf ausgeschüttelt, die Chf-Lösungen mit W gewaschen, ätherisches CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> zugesetzt, mit 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt (460 mg gelbes Öl) wurde an 14 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 5–17 (284 mg, eluiert mit Be und Be-Chf-(99:1), (98:2) und (95:5)) gaben aus An-Pe 150 mg Kristalle vom Smp. 175–184°. Nach Umkristallisieren aus An-Pe reines XVI in Nadeln vom Smp. 176–186°.

Die Fraktionen 18–28 (eluiert mit Be und Be-Chf-Gemischen) waren stark gefärbt und lieferten keine Kristalle mehr.

2. Aus XV mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>: Eine Lösung von 200 mg rohem 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XV) in 5 cm<sup>3</sup> Me wurde mit einem Überschuss an ätherischem CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> 14 Tage bei 0° stehen gelassen. Nach Eindampfen im Vakuum gab das Rohprodukt nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 147 mg rohes XVI vom Smp. 170–178°.

**Oxim XVII von 3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XVI).** Eine Lösung von 24 mg 3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XVI) vom Smp. 179–187° in 2 cm<sup>3</sup> abs. Alk wurde mit einer Lösung von 24 mg Hydroxylaminhydrochlorid und 38 mg Na-Acetat-trihydrat in 1,7 cm<sup>3</sup> W 2 Std. auf dem Dampfbad zum Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen wurde mit Chf ausgeschüttelt, die Auszüge mit W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Aus An-Ae 16 mg Kristalle vom Smp. 206–210°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus An-Pe 11,8 mg Plättchen vom Smp. 207–214°; [α]<sub>D</sub><sup>23</sup> = +323° ± 3° (c = 0,785 in Chf).

C <sub>21</sub> H <sub>27</sub> O <sub>5</sub> N (373,44)	Ber. N 3,75%	Gef. N 3,93%
-----------------------------------------------------------	--------------	--------------

3 - Methoxy - 11 - keto -  $17\beta$  - carbomethoxy - östratetraen - (1,3,5:10,14) (XVIII) aus XVI. Eine Lösung von 375 mg 3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy- $17\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XVI) in 3,7 cm<sup>3</sup> abs. Py wurde bei  $-15^\circ$  mit 0,37 cm<sup>3</sup> SOCl<sub>2</sub> versetzt und 30 Min. bei  $-15^\circ$  stehen gelassen (goldgelbe Färbung). Hierauf wurde mit Eis zerlegt und mit Chf ausgeschüttelt. Nach der weiteren üblichen Aufarbeitung resultierten 374 mg Rohprodukt, die aus An-Ae 207 mg Kristalle vom Smp. 112—118° gaben (Verarbeitung der Mutterlaugen siehe unten). Sie wurden an 6,2 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 2—6 (72,3 mg, eluiert mit Be-Pe-(2:1)) gaben aus Ae-Pe 63 mg Kristalle vom Smp. 113—116°. Nach Umkristallisieren aus Ae-Pe 53 mg Nadeln vom Smp. 114—116,5° (Sintern ab 109°);  $[\alpha]_D^{23} = +233^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,969$  in Chf). UV.-Spektrum vgl. Tab. I, IR.-Spektrum Tab. II. Der Stoff, gelöst in Chf, zeigte mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung.

C <sub>21</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	Ber. C 74,09	H 7,11	O 18,80%
(340,40)	Gef. , , 73,80	, , 7,32	, , 18,61%

Die Fraktionen 7—12 (37 mg, eluiert mit Be und Be-Chf-(99:1) und -(98:2)), gaben aus Ae-Pe 30 mg Kristalle vom Doppel-Smp. 90—96°/108—116°. Nach zweimaligem Umkristallisieren wurde ein Gemisch von farblosen Kristallen vom Smp. 111—116° (wahrscheinlich XVIII) und gelben Kristallen vom Doppel-Smp. 94—100°/107—112° erhalten, das sich weder mechanisch noch durch weitere Chromatographie oder Kristallisation trennen liess.

Die Fraktionen 13—16 (49 mg, eluiert mit Be-Chf-(95:5) und -(9:1)) gaben 22,8 mg Kristalle vom Smp. 114—139°, die nicht weiter untersucht wurden.

Die Mutterlaugenrückstände der 207 mg Erstkristalle (140 mg gelbes Öl) gaben nach analoger Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> weitere 29 mg rohes XVIII vom Smp. 109—116° und 31 mg Kristallgemisch vom Doppel-Smp. 90—95°/107—114°.

3 - Methoxy-11-keto- $17\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXIII) und 3 - Methoxy - 11 $\xi$  - hydroxy -  $17\beta$  - carbomethoxy - östratrien - (1,3,5:10) (XXVIII) aus XVIII. — 1. Versuch: Hydrierung mit Pt in Äthylacetat + Spur Eisessig: 62 mg 3-Methoxy-11-keto- $17\beta$ -carbomethoxy-östratetraen-(1,3,5:10,14) (XVIII) wurden, gelöst in 3 cm<sup>3</sup> Essigester und 0,5 cm<sup>3</sup> Eisessig, in Gegenwart von 29,8 mg PtO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O bei 19° und 744 Torr hydriert. Nachdem 11,6 cm<sup>3</sup> H<sub>2</sub> (entspr. 1,1 Mol H<sub>2</sub> pro 1 Mol XVIII) aufgenommen waren, wurde die Hydrierung nach 3,5 Std. abgebrochen, der Katalysator abfiltriert und wie üblich aufgearbeitet. Es resultierten 56 mg Rohprodukt, das an 2 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 4—6 (8,9 mg, eluiert mit Be-Pe-(2:1) und (1:1)) gaben aus Ae-Pe 4,5 mg Kristalle vom Smp. 147—170°. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe 1,3 mg 3 - Methoxy - 11 - keto -  $17\beta$  - carbomethoxy - östratrien - (1,3,5:10) (XXIII) in sechseckigen Plättchen vom Smp. 171—174°. IR.-Spektrum vgl. Tab. II.

Die Fraktionen 8—24 (32 mg, eluiert mit Pe-Be-(1:2), Be und Be-Chf-(9:1)) gaben aus Ae-Pe 14 mg Kristalle vom Smp. 160—184°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe 7 mg 3-Methoxy-11-hydroxy- $17\beta$ -carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXVIII) in Nadeln vom Smp. 185—186°;  $[\alpha]_D^{24} = +171^\circ \pm 5^\circ$  ( $c = 0,461$  in Chf). Mit Tetranitromethan in Chf-Lösung schwache Gelbfärbung. IR.-Spektrum vgl. Tab. II.

2. Versuch: Hydrierung mit Pt in Eisessig, Rückoxydation mit CrO<sub>3</sub>. Eisessig. Eine Lösung von 203 mg 3-Methoxy-11-keto- $17\beta$ -carbomethoxy-östratetraen-(1,3,5:10,14) (XVIII) in 5 cm<sup>3</sup> Eisessig wurden mit 44 mg PtO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O hydriert. Nach 10 Min. war die Hydrierung beendet (H<sub>2</sub>-Aufnahme: 1,04 Mol. exkl. Katalysator). Nach Filtrieren wurde mit 2,00 cm<sup>3</sup> 2-proz. CrO<sub>3</sub>-Eisessig (entspr. 1 O-Äquiv.) versetzt. Nach 3 Std. war noch freies CrO<sub>3</sub> nachweisbar. Nach Stehen mit Me über Nacht und üblicher Aufarbeitung resultierten 190 mg Neutralprodukt (gelbes Öl), das nicht kristallisierte und deshalb an 5,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde. Aus den mit Pe-Be-(2:1) und -(1:1) eluierten Fraktionen (6,5 mg) wurden aus Ae-Pe 1,5 mg Nadeln vom Smp. 139—163° (unreines XXIII ?) erhalten. Die weiteren Fraktionen ergaben insgesamt 140 mg gelbes Öl, das nicht kristallisierte.

**3-Methoxy-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10)** (XXV) aus XVI (Thioketal-Methode). Eine Lösung von 75 mg 3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XVI) in 2 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem<sup>57)</sup> Chf wurde bei 0° mit 0,1 cm<sup>3</sup> Äthandithiol und 2 cm<sup>3</sup> alkoholfreiem<sup>57)</sup> Chf, das bei 22° mit trockenem HCl gesättigt worden war (Gehalt ca. 0,4% HCl), versetzt und 24 Std. bei 0° stehengelassen. Hierauf wurde auf Eis und Sodalösung gegossen. Die weitere übliche Aufarbeitung mit Chf ergab 86 mg rohes Thioketal XXI, das auch nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nicht kristallisierte. Es wurde deshalb direkt in 10 cm<sup>3</sup> frisch über Na dest. Dioxan gelöst und nach Zugabe einer Suspension von etwa 1,5 g *Raney-Ni* der Aktivität W 5<sup>58)</sup> in Alk 10 Std. im Ölbad zum Rückfluss erhitzt. Nach Filtrieren resultierten 69 mg Rohprodukt, das an 2,1 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Die Fraktionen 3—9 (35 mg, eluiert mit Pe-Be-(1:2)) gaben aus Ae-Pe 30 mg Kristalle. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe feine Nadeln vom Smp. 152—155°;  $[\alpha]_D^{25} = +970 \pm 30$  (c = 0,859 in Chf). Mit Tetranitromethan in Chf-Lösung schwache Gelbfärbung. IR.-Spektrum vgl. Tab. II.



Die Fraktionen 10—16 (3,5 mg, eluiert mit Be und Be-Chf-(99:1) und -(99:5)) gaben 2,6 mg Kristallgemisch von XXV und XVI vom Smp. 120—144°.

Die Fraktionen 17—22 (204 mg, eluiert mit Be-Chf-(3:1) und Chf) gaben aus Ae-Pe 14,5 mg XVI vom Smp. 165—182°.

**3-Methoxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\xi$ -östrapentaen-(1,3,5:10,6,8:9)** (XXII) aus rohem XVI. 256 mg rohes 3-Methoxy-11-keto-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XV) vom Smp. 170—178° wurden wie oben beschrieben mit Äthandithiol umgesetzt und mit *Raney-Ni* entschwefelt. Das Rohprodukt (287 mg) wurde an 6 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 1—4 (318 mg, eluiert mit Pe-Be-(1:1) und (1:2)) gaben 25 mg Kristalle vom Smp. 80—130°. Nach sechsmaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe und Ae-Pn feine Nadeln vom Smp. 145—149° (Sintern ab 141°);  $[\alpha]_D^{25} = +690 \pm 40$  (c = 0,6375 in Chf). UV.-Spektrum vgl. Kurve XXII in Fig. 2, IR.-Spektrum Tab. II. Mit Tetranitromethan in Chf-Lösung starke Gelbfärbung.

Umsetzung von 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XIV) nach Wolff-Kishner: 3,14-Dihydroxy-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXIV) und (nach Methylierung) 3-Methoxy-14-hydroxy-17 $\alpha$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXVII). Eine Lösung von 63 mg 3,14-Dihydroxy-11-keto-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XIV) in 2 cm<sup>3</sup> abs. Alk wurde mit 0,40 cm<sup>3</sup> Hydrazinhydrat und einer Lösung von 70 mg Na in 1 cm<sup>3</sup> abs. Alk im evakuierten Einschlussrohr 16 Std. auf 175—180° erwärmt. Nach Abkühlen wurde im Vakuum stark eingeengt, 2-n. HCl bis zur kongosauren Reaktion zugegeben, mit Chf ausgeschüttelt. Die Chf-Lösungen gaben nach Waschen mit W, Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und Eindampfen im Vak. 50 mg Rohprodukt (braun). Aus An-Ae 29 mg Kristalle vom Smp. 228—232°. Nach viermaligem Umkristallisieren aus An-Ae und Me-Ae 3,14-Dihydroxy-17 $\beta$ -carboxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXIV) in hexagonalen Plättchen vom Smp. 233—235°;  $[\alpha]_D^{25} = +800 \pm 50$  (c = 0,500 in Me).

Eine Probe der Säure XXIV lieferte nach Methylierung mit CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> bei 0° während 6 Tagen 3-Methoxy-14-hydroxy-17 $\beta$ -carbomethoxy-14 $\beta$ -östratrien-(1,3,5:10) (XXV).

Die Mutterlaugenrückstände der 29 mg rohen krist. Säure XXIV (34 mg) wurden in Me gelöst und 14 Tage bei 0° mit ätherischem CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> behandelt. Das neutrale Rohprodukt wurde an 1,5 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert.

Die Fraktionen 4—8 (eluiert mit Be-Chf-(98:2) und (95:5)) gaben aus Ae-Pe 12,5 mg Kristalle vom Smp. 142—150°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe reiner Ester XXV vom Smp. 152—154°.

<sup>57)</sup> Bereitet durch Filtrieren über Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (*Woelm*, basisch) nach G. Wohlleben, Angew. Chem. **68**, 752 (1956).

<sup>58)</sup> H. Adkins & H. R. Billika, J. Amer. chem. Soc. **70**, 695 (1948).

Die Fraktionen 9—11 (6,3 mg, eluiert mit Be-Chf-(95:5)) gaben aus An-Ae-Pe 3,6 mg Kristalle vom Smp. 176—192°. Nach viermaligem Umkristallisieren aus An-Ae-Pe 3-Methoxy-14-hydroxy-17α-carbomethoxy-14β-östratrien-(1,3,5:10) (XXVII) in kleinen Stäbchen vom Smp. 197—198°;  $[\alpha]_D^{24} = +2^\circ \pm 8^\circ$  ( $c = 0,128$  in Chf). IR.-Spektrum vgl. Tab. II.

3-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratetraen-(1,3,5:10,14) (XXIX) aus XXV. Eine Lösung von 39 mg 3-Methoxy-14-hydroxy-17β-carbomethoxy-14β-östratrien-(1,3,5:10) (XXV) vom Smp. 145—152° in 0,5 cm³ abs. Py wurde bei —15° mit 0,05 cm³ SOCl₂ versetzt und 1 Std. bei —15° stehengelassen. Nach Zerlegen mit Eis ergab die übliche Aufarbeitung mit Ae-Chf-(3:1) 34 mg Rohprodukt, das an 0,91 g Al₂O₃ chromatographiert wurde.

Die mit Pe-Be-(1:1), -(1:2), Be und Be-Chf-Gemischen eluierten Fraktionen (25 mg) gaben aus Ae-Pe 23 mg Kristalle vom Smp. 164,5—166,5°. Nach Umkristallisieren aus Ae-Pe feine Nadeln vom Smp. 167—168,5°;  $[\alpha]_D^{24} = +151^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,303$  in Chf). IR.-Spektrum vgl. Tab. II. Mit Tetranitromethan in Chf-Lösung gab XXIX eine starke Gelbfärbung.

3-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI) aus XXIX. Eine Lösung von 17,92 mg 3-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratetraen-(1,3,5:10,14) (XXIX) in 2 cm³ Eisessig wurde in Gegenwart von 60 mg PdO-BaSO₄-Katalysator, bereitet nach Kuhn & Haas<sup>45</sup>, bei 21° und 735 Torr hydriert<sup>59</sup>. Nach 11 Std. waren 1,40 cm³ H₂ (entspr. 1,0 Mol.) aufgenommen. Hierauf wurde unterbrochen, abfiltriert und wie üblich aufgearbeitet. Es resultierten 19,4 mg farbloses Öl, das aus Ae-Pe 15,5 mg Kristalle vom Smp. 162—166° (Sintern bei 153°) lieferte. Kristalle und Mutterlaugen wurden aber zur weiteren Reinigung an 0,6 g Al₂O₃ chromatographiert.

Die Fraktionen 2—5 (10,5 mg, eluiert mit Pe-Be-(2:1) und -(1:1)) gaben aus Ae-Pe 9,0 mg Kristalle vom Smp. 155—167°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe 5 mg Kristalle vom Smp. 163—165°, die nochmals an 300 mg Al₂O₃ chromatographiert wurden. Es resultierten 3,8 mg Kristalle vom Smp. 164—166,5°. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Ae-Pe Nadeln vom Smp. 166—167°;  $[\alpha]_D^{23} = +104^\circ \pm 6^\circ$  ( $c = 0,304$  in Chf). Misch-Smp. einer zerriebenen Probe vom Smp. 165,5—167° mit authentischem 3β-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI) vom Smp. 167—168° (zerrieben 166—168°): 165—167,5°. Das authentische Präparat XXXI zeigte  $[\alpha]_D^{23} = +99^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,075$  in Chf) und  $[\alpha]_D^{26} = +99^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,999$  in Chf). Djerassi & Scholz<sup>27</sup>) fanden den Smp. 163—164° und  $[\alpha]_D^{26} = +47,6^\circ$  (in Chf). Dieser Wert ist offensichtlich falsch. Das Präparat von XXXI wurde durch Behandeln von authentlichem 3-Methoxy-17β-carboxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXX), das uns Prof. C. Djerassi zur Verfügung gestellt hatte, durch übliche Behandlung mit CH₂N₂ gewonnen. Das von ihm erhaltene Präparat der Säure XXX zeigte den Smp. 215—219° (Sintern ab 207°). Nach dreimaligem Umkristallisieren aus An-Pe und Me-Ae quadratische Plättchen vom Smp. 218—221° (Sintern ab 205°);  $[\alpha]_D^{23} = +88^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,071$  in Chf). Djerassi & Scholz<sup>27</sup>) hatten den Smp. 219—220° und  $[\alpha]_D^{26} = +102^\circ$  (in Dioxan) gefunden.

UV.- und IR.-Spektren des authentischen und des aus Abbau des Ouabagenins gewonnenen Esters siehe Kurve XXXI in Fig. 2 bzw. Fig. 6.

Die Fraktionen 6—16 (7,6 mg, eluiert mit Pe-Be-(1:1), Be, Be-Chf-(98:2), -(95:5)) gaben aus Ae-Pe 6,9 mg Kristalle vom Smp. 148—155°. Sie liessen sich weder durch Umkristallisieren noch durch nochmalige Chromatographie reinigen. Höchstwahrscheinlich liegt im Wesentlichen ein durch Isomere verunreinigtes Mischkristallisat von XXXI vor.

3ξ-Methoxy-17β-carbomethoxy-5ξ,10ξ-östran (XXXII). — 1. Aus 3-Methoxy-17β-carbomethoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI): Eine Lösung von 9,0 mg authentischem XXXI in 2 cm³ Eisessig wurde in Gegenwart von insgesamt 12 mg vorhydriertem PtO₂, H₂O bei 21° und 740 Torr (Versuch Nr. 8 in Tab. III) hydriert. Nach 3 Std. war die H₂-Aufnahme beendet. Nach Filtrieren und Eindampfen gab die übliche

<sup>59)</sup> Ausgeführt in einer Apparatur nach N. Clauson-Kaas & F. Limborg, Acta chem. scand. I, 884 (1947).

Tabelle III.

Versuch-Nr.	Ausgangsmaterial	Menge in mg	Katalysator	Lösungsmittel	Isolierte Produkte	Bemerkungen
1	3 $\beta$ -Acetoxy-äthi-(14)-säure-methylester (XXXIII)	9,729	2 mg PtO <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O (vorhydriert)	2 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur 3 $\beta$ -Acetoxy-äthi-säure-methylester (XXXIII) (5,4 mg)	H <sub>2</sub> -Aufnahme nach 2,5 Std. beendet (1,1 Mol. H <sub>2</sub> )
2	XXXIII	62,0	12 mg PtO <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	3 cm <sup>3</sup> Äthylacetat + 0,15 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXIV (51 mg)	H <sub>2</sub> -Aufnahme nach 2 Std. beendet (1,2 Mol. H <sub>2</sub> )
3	XXXIII	15,0	15 mg 10-proz. Pd-C	2 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXII (13,9 mg)	keine H <sub>2</sub> -Aufnahme in 1,5 Std.
4	XXXIII	11,09	2 mg PdO (vorhydriert)	2 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXIV (8,1 mg)	H <sub>2</sub> -Aufnahme nach 21 Std. beendet (1,03 Mol. H <sub>2</sub> )
5	XXXIII	10,54	30 mg PdO-BaSO <sub>4</sub> nach <sup>43</sup> (vorhydr.)	2 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXIV (6,1 mg)	H <sub>2</sub> -Aufnahme nach 4 Std. beendet (1,1 Mol. H <sub>2</sub> )
6	XXXIII	99	264 mg PdO-BaSO <sub>4</sub> nach <sup>43</sup>	5 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXIV (80 mg)	H <sub>2</sub> -Aufnahme nach 8 Std. beendet
7	3 $\beta$ -Acetoxy-11-keto-äthi-(14)-säure-methylester (XXXVI)	63,5	22 mg PtO <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	3 cm <sup>3</sup> Äthylacetat + 0,2 cm <sup>3</sup> Eisessig	XXXVII (43,5 mg) + XXXVIII? (8,7 mg)	H <sub>2</sub> -Aufnahme nach 20 Min. beendet (0,95 Mol. H <sub>2</sub> )
8	3-Methoxy-17 $\beta$ -carbo-methoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI)	9,0	2 mg PtO <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O	2 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXI (siehe Versuch S. 1494)	Nach 70 Min. 0,89 Mol. H <sub>2</sub> aufgenommen, deshalb weiter zu XXXII hydriert (siehe S. 1494)
9	XXXI	9,8	30 mg PdO-BaSO <sub>4</sub> nach <sup>43</sup> (vorhydr.)	2 cm <sup>3</sup> Eisessig	Nur XXXI	Keine H <sub>2</sub> -Aufnahme in 4 Std.

Aufarbeitung 9,1 mg Rohprodukt, das aus Pn-Me 6,3 mg Kristalle vom Smp. 69—82° lieferte. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Pn-Me 1,7 mg Nadeln vom Smp. 88—92° (Sintern ab 82°). IR.-Spektrum vgl. Fig. 7.

2. Aus 3 - Methoxy - 17 $\beta$  - carbomethoxy - östratetraen - (1,3,5:10,14) (XXIX). Eine Lösung von 14 mg XXIX in 2 cm<sup>3</sup> Eisessig wurde mit 20 mg vorhydriertem PtO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O hydriert. Nach 20 Min. war die H<sub>2</sub>-Aufnahme beendet. Nach Filtrieren gab die übliche Aufarbeitung 15 mg Rohprodukt, das an 450 mg Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert wurde.

Die mit Pe-Be-(4:1) und -(2:1) eluierten Fraktionen (7,5 mg) gaben aus Pn-Me 5,2 mg Kristalle vom Smp. 43—80°. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Pn-Me 3,6 mg Nadeln vom Smp. 88—92° (Sintern ab 80°). Misch-Smp. mit Präparat aus XXXI: 88—92° (Sintern ab 82°). IR.-Spektrum vgl. Fig. 7. Aus späteren, mit Be-Chf-(95:5) und -(9:1) eluierten Fraktionen wurden noch 1,4 mg Kristalle vom Smp. 145—152° erhalten; nach Umkristallisieren aus Ae-Pe Smp. 142—150°. Sie wurden nicht weiter untersucht.

Vorversuche zur selektiven Hydrierung der Doppelbindung in 14-Stellung. Die Hydrierungen (außer Nr. 2, 6 und 7) wurden in der Apparatur nach *Clauson-Kaas & Limborg*<sup>54)</sup> ausgeführt. Nach Beendigung der H<sub>2</sub>-Aufnahme wurde vom Katalysator abfiltriert, im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chf oder Chf-Ae-(1:3) aufgenommen, mit 2-n. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und W gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und eingedampft. Das Rohprodukt wurde an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> chromatographiert, falls direkt keine einheitlichen Kristallisate erhalten wurden. Über das Resultat orientiert Tab. III (Seite 1495). Der aus den Versuchen Nr. 1, 2, 5 und 6 erhaltene 3 $\beta$ -Acetoxy-ätiansäure-methylester (XXXIV) zeigte den Smp. 128—130° (Misch-Smp. mit authent. Präparat ebenso); 3 $\beta$ -Acetoxy-11-keto-ätiansäure-methylester (XXXVI) wurde aus dem Versuch Nr. 7 nach Chromatographie an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> erhalten und zeigte den Smp. 137—139°. Die späteren Fraktionen dieser Chromatographie gaben ein Kristallisat vom Smp. 150—172°, das höchstwahrscheinlich unreines XXXIX ist. Da in Versuch Nr. 8 relativ rasch H<sub>2</sub> aufgenommen wurde, hydrierten wir die Substanz nach Zugabe von weiteren 10 mg PtO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O zu Ende (siehe oben).

3 $\beta$  - Methoxy - 5 $\alpha$  - ätiansäure - methylester (XXXIX) aus 3 $\beta$ -Hydroxy-5 $\alpha$ -ätiansäure-methylester. 130 mg 3 $\beta$ -Hydroxy-ätiansäure-methylester wurden mit 10 cm<sup>3</sup> Methyljodid und 600 mg trockenem Ag<sub>2</sub>O, das in Portionen zugegeben wurde, 5,5 Std. am Rückfluss unter Feuchtigkeitsausschluss erhitzt. Nach Filtrieren und Waschen mit Ae resultierten 128 mg Rohprodukt, das nach Filtrieren durch eine Schicht Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> aus Ae-Pn 118 mg Kristalle gab. Nach Umkristallisieren aus Ae-Pn Rhomben vom Smp. 160—161°; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>24</sup> = +45° ± 2° (c = 1,397 in Chf).

C <sub>22</sub> H <sub>36</sub> O <sub>3</sub>	Ber. C 75,81 (346,51)	H 10,42 Gef. , 75,84	—OCH <sub>3</sub> 17,81% ,, 10,65	16,86%
------------------------------------------------	--------------------------	-------------------------	--------------------------------------	--------

IR.-Spektrum siehe Tab. 11.

Die Mikroanalysen verdanken wir unserem mikroanalytischen Laboratorium (Leitung *E. Thommen*).

### Zusammenfassung.

Ouabagenin (I) wurde zum bekannten 3-Methoxy-17 $\beta$ -carbo-methoxy-östratrien-(1,3,5:10) (XXXI) abgebaut. Dadurch wird das Vorliegen des normalen Steringerüstes und die  $\beta$ -Konfiguration des Butenolidrings an C-17 bewiesen. Aus der Überführung von Tetra-O-acetyl-ouabagenin (II) in das Keto-lacton V folgt, dass die Hydroxylgruppe an C-14 ebenfalls  $\beta$ -ständig angeordnet ist. Auf Grund von diesen und früheren Befunden besitzt Ouabagenin die Konstitution und Konfiguration des 1 $\beta$ ,3 $\beta$ ,5,11 $\alpha$ ,14,19-Hexahydroxy-carden-(20:22)-olids (I).

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.