

195. Die Konfiguration des Kohlenstoffatoms Nr. 3 von Ouabagenin¹⁾.

Glykoside und Aglykone, 182. Mitteilung²⁾

von G. Volpp und Ch. Tamm.

(26. VIII. 57.)

Die Konstitution und Konfiguration des Ouabagenins ist kürzlich im Sinne der Strukturformel I bewiesen worden³⁾. Mit Ausnahme von C-3 wurden für die Konfiguration aller Asymmetriezentren eindeutige chemische Beweise geliefert. Auf Grund der starken cardiotonischen Wirksamkeit des Ouabains wurde angenommen, dass in Ouabagenin (I) die HO-Gruppe an C-3 wie bei den meisten bekannten Geninen β -ständig angeordnet ist. Es ist jetzt gelungen, auch diese Zuordnung durch einen eindeutigen chemischen Beweis sicherzustellen, worüber wir im folgenden berichten möchten.

Beim Abbau von 1,19-Isopropyliden-3,11-di-O-acetyl-ouabagenin (III) hatte sich gezeigt, dass die Acetylgruppe an C-3 mit Basen bedeutend rascher verseift wird als diejenige an C-11³⁾. Auf Grund dieser Erfahrung behandelten wir III mit methanolisch-wässrigem Na_2CO_3 bei 20°. Nach Chromatographie an SiO_2 erhielten wir neben vollständig verseiftem 1,19-Isopropyliden-ouabagenin (II) etwa gleich viel eines amorphen Produkts, das im Papierchromatogramm (System Wasser: n-Butanol-Toluol) nur einen einzigen, zwischen II (kürzere Laufstrecke) und III (längere Laufstrecke) liegenden Fleck gab. Dieses Rohprodukt lieferte in guter Ausbeute ein krist. Benzoylderivat. Nach den Analysenwerten und dem UV.-Spektrum muss es sich um das 3-Mono-O-benzoyl-Derivat V handeln. Die amorphen Anteile der Verseifungsreaktion enthielten somit das gesuchte 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin (IV) in fast reiner Form. In IV sind die HO-Gruppen an C-3 und C-5 für eine Ringschlussreaktion mit SOCl_2 , wie sie Plattner et al.⁴⁾ zum ersten Male bei Strophanthidin als Konfigurationsbeweis durchgeführt haben, wie gewünscht, freigelegt, während die übrigen Sauerstofffunktionen soweit es nötig ist, geschützt sind. IV lieferte nach Behandlung mit SOCl_2 in Pyridin bei -15° einen einheitlichen krist. Stoff, dessen Analysenwerte auf die Formel $\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{O}_9\text{S}$ stimmten. Er gab mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung. Sein IR.-Spektrum (vgl. Fig. 1)

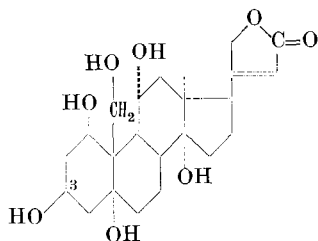
¹⁾ Aus der Diss. G. Volpp, Basel.

²⁾ 181. Mitt.: O. Renkonen, O. Schindler & T. Reichstein, *Croatica Chemica Acta* **29** (1957), im Druck.

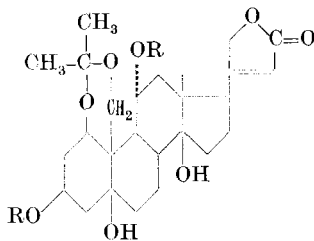
³⁾ Ch. Tamm, G. Volpp & G. Baumgartner, *Helv.* **40**, 1469 (1957).

⁴⁾ Pl. A. Plattner, A. Segre & O. Ernst, *Helv.* **30**, 1432 (1947).

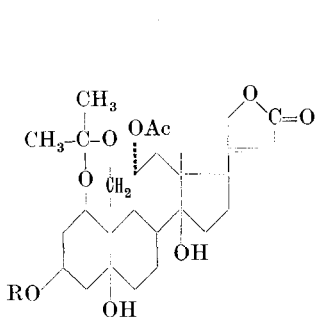
liess keine HO-Gruppe mehr erkennen. Neben den erwarteten Maxima des Butenolidringes und der Acetylgruppe trat eine starke Bande bei $8,55 \mu$ auf, die höchstwahrscheinlich die S=O-Streckschwingung darstellt. Einfacher gebaute 1,3-Cyclosulfite zeigen in diesem Gebiet ebenfalls eine starke, charakteristische Bande, die *de la Mare* et al.⁵⁾



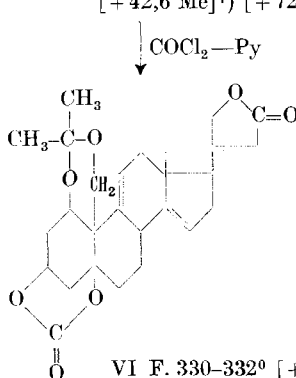
I Ouabagenin F. 255–256°⁶⁾
[+11 W]



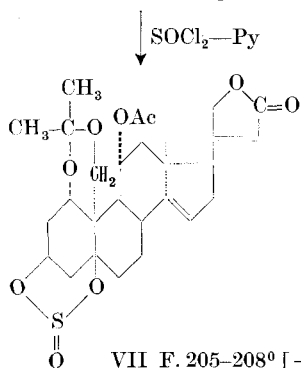
II (R = H) F. 200–235°⁶⁾; F. 303–305°⁷⁾⁸⁾
III (R = Ac) F. 268–269°⁶⁾⁷⁾⁸⁾
[+42,6 Me]⁷⁾ [+72 D]⁹⁾



IV (R = H) amorph
V (R = Bz) F. 266–269° [+29 Chf]



VI F. 330–332° [+98 Chf]



VII F. 205–208° [–24 Chf]

Ac = $\text{CH}_3\text{CO}-$; Bz = $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}-$.

Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht an. Es bedeuten: Chf = Chloroform; D = Dioxan; Me = Methanol und W = Wasser.

⁵⁾ P. B. D. de la Mare, W. Klyne, D. J. Millen, J. G. Pritchard & D. Watson, J. chem. Soc. **1956**, 1813.

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

⁷⁾ R. P. A. Sneed & R. B. Turner, J. Amer. chem. Soc. **75**, 3510 (1953).

⁸⁾ Ch. Tamm, Helv. **38**, 147 (1955).

⁹⁾ C. Djerassi & R. Ehrlich, J. org. Chemistry **19**, 1351 (1954).

der S=O-Gruppe zugeordnet haben¹⁰). Demnach ist der erwartete Ringschluss eingetreten, wobei gleichzeitig die HO-Gruppe an C-14 abgespalten worden ist. Der erhaltene Stoff besitzt somit die Konstitution des cyclischen Sulfits VII.

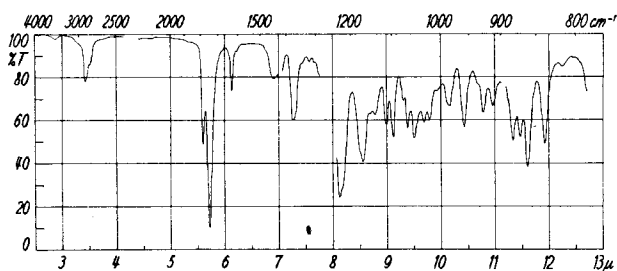


Fig. 1.

IR.-Absorptionsspektrum*).

3,5-Cyclosulfit des 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-14-anhydro-ouabagenins (VII), Lösung in CH_2Cl_2 ; $d = 0,2 \text{ mm}$; $c = 0,053\text{-m}$. Banden bei: $5,60 \mu$ ($\text{C}=\text{O}$, Vorbande des Butenolidrings); $5,71 \mu$ ($\text{C}=\text{O}$, Butenolidring + Acetyl); $6,12 \mu$ ($\text{C}=\text{C}$, Butenolidring + Δ^{14}); $8,12\text{--}8,14 \mu$ ($\text{C}-\text{O}-\text{CO}-$, Acetat); $8,55 \mu$ ($\text{S}=\text{O}$).

Der Ringschluss liess sich auch mit Hilfe von Phosgen in Pyridin bewerkstelligen, wie ein weiterer Versuch zeigte, der mit 1,19-Isopropyliden-ouabagenin (II) direkt ausgeführt wurde¹¹). Es entstand ein krist. Neutralstoff, dessen Analysenwerte am besten auf die Formel $\text{C}_{27}\text{H}_{32}\text{O}_7$ stimmten. Nach dem IR.-Spektrum (vgl. Fig. 2) enthielt der Stoff keine HO-Gruppen mehr. Er war gegen CrO_3 -Pyridin¹²) bei 20° beständig. Obwohl mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung zu beobachten war, nahm er bei der katalytischen Hydrierung mit Pt-Eisessig ca. $3,2 \text{ Mol H}_2$ auf (1 H_2 : Butenolidring, 2 H_2 : 2 weitere Doppelbindungen). Daraus kann geschlossen werden, dass sich der cyclische Kohlensäureester gebildet hat¹³), dass aber gleichzeitig Wasserabspaltung an C-11 und C-14 stattgefunden hat. Da die ole-

¹⁰) So zeigen z. B. das Cyclosulfit des Propan-diols-(1,3) ein Maximum bei 1190 cm^{-1} ($8,39 \mu$) und das Cyclosulfit des $3\beta,5$ -Dihydroxy-koprostan's eines bei 1192 cm^{-1} ($8,40 \mu$). Diese IR.-Spektren wurden an einem Kristallfilm dieser Stoffe, der sich nach Abdampfen einer CS_2 -Lösung gebildet hatte, aufgenommen, während unser Cyclosulfit in CH_2Cl_2 -Lösung gemessen wurde. Dieser Unterschied dürfte für die Verschiebung der $\text{S}=\text{O}$ -Strettschwingung verantwortlich sein.

¹¹) Vgl. analoge Reaktionen bei einem Derivat des Periplogenins: P. Speiser & T. Reichstein, *Helv.* **30**, 2143 (1947), und des Acovenosigenins A: W. Schlegel, Ch. Tamm & T. Reichstein, *Helv.* **38**, 1013 (1955).

¹²) G. I. Poos, G. E. Arth, R. E. Beyler & L. H. Sarett, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 422 (1953).

¹³) Dafür sprechen auch die intensiven Banden bei $5,69\text{--}5,73 \mu$ ($\text{C}=\text{O}$) bzw. $8,19 \mu$ ($\text{C}-\text{O}-\text{CO}-$) des IR.-Spektrums.

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

finischen Doppelbindungen hydrierbar sind, dürften sie sich am ehesten in der 9,11- bzw. 14-Stellung befinden. Das Eintreten dieser Nebenreaktion ist angesichts des grossen Phosgenüberschusses, der verwendet wurde, verständlich. Somit dürfte dem erhaltenen Reak-

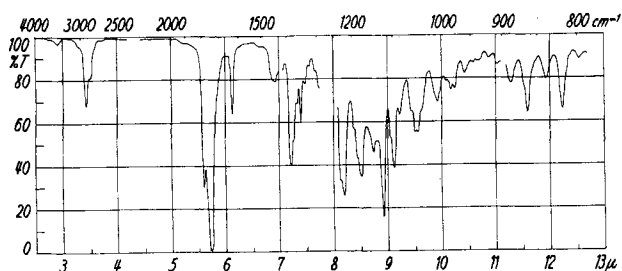


Fig. 2.

IR.-Absorptionsspektrum*).

3,5-Cyclocarbonat des 1,19-Isopropyliden-11,14-dianhydro-ouabagenins (VI), Lösung in CH_2Cl_2 ; $d = 0,2 \text{ mm}$; $c = 0,066\text{-m}$. Banden bei: $5,59 \mu$ ($\text{C}=\text{O}$, Vorbande des Butenolidrings); $5,69\text{--}5,74 \mu$ ($\text{C}=\text{O}$, Butenolidring + Carbonat); $6,12 \mu$ ($\text{C}=\text{C}$, Butenolidring + $\Delta^{9,11} + \Delta^{14}$); $8,19 \mu$ ($\text{C}-\text{O}-\text{CO}$, Carbonat); $12,23 \mu$ ($\text{C}=\text{C}$, $\Delta^{9,11} + \Delta^{14}$).

tionsprodukt die Strukturformel VI zukommen, wobei die Lage der beiden isolierten Doppelbindungen allerdings nicht streng bewiesen ist.

Die beschriebenen Ringschlüsse zwischen den beiden Hydroxylen an C-3 und C-5 sind nur möglich, wenn sie sich auf der gleichen Seite des Steringerüsts befinden. Da *Tschesche & Snatzke*¹⁴⁾ für die HO-Gruppe an C-5 die β -Stellung bewiesen haben, muss folglich auch das Hydroxyl an C-3 β -ständig angeordnet sein.

Wir danken Herrn Prof. *T. Reichstein* für das grosse Interesse, das er unserer Arbeit entgegengebracht hat. Ferner danken wir dem „Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung“ sowie der eine von uns (*G. V.*) der „Hermann-Schlosser-Stiftung“, Frankfurt a.M., für die gewährte Unterstützung.

Experimenteller Teil.

Alle Smp. wurden auf dem *Kofler*-Block bestimmt und sind korrigiert: Fehlergrenze in benützter Ausführung bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Die Substanzproben zur Drehung und zur Aufnahme der UV.- und IR.-Spektren wurden 1 Std. bei 70° und 0,05 Torr und zur Analyse 3–5 Std. bei 100° über P_2O_5 und 0,05 Torr getrocknet. Die Chromatogramme wurden nach dem Durchlaufverfahren¹⁵⁾ mit neutralem Al_2O_3 der Aktivitätsstufe I der Fa. *M. Woelm*, Eschwege, Deutschland, oder mit Silicagel der Korngrösse 0,15–0,30 mm durchgeführt. Papierchromatographie¹⁶⁾ und Entwicklung mit

¹⁴⁾ *R. Tschesche & G. Snatzke*, Chem. Ber. **88**, 1558 (1955).

¹⁵⁾ *T. Reichstein & C. W. Shoppee*, Disc. Farad. Soc. Nr. **7**, 305 (1949).

¹⁶⁾ *O. Schindler & T. Reichstein*, Helv. **34**, 108 (1951); *H. Hegedüs, Ch. Tamm & T. Reichstein*, Helv. **36**, 357 (1953); *E. Schenker, A. Hunger & T. Reichstein*, Helv. **37**, 680 (1954).

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

*Kedde-Reagens*¹⁷⁾ nach früheren Angaben. Bei den Lösungsmitteln gelten die folgenden Abkürzungen: An = Aceton, Be = Benzol, Bu = n-Butanol, Chf = Chloroform, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser. Verhältniszahlen bedeuten das Verhältnis der Volumina.

Rohes 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin (IV) aus III. Eine Lösung von 1,88 g 1,19-Isopropyliden-3,11-di-O-acetyl-ouabagenin (III) vom Smp. 260—267° in 70 cm³ Me wurde mit 45 cm³ 2-n. wässrigem Na₂CO₃ 16 Std. bei 22° stehengelassen. Hierauf wurde im Vakuum auf etwa 40 cm³ eingengt und dreimal mit je 100 cm³ Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt (= Auszüge 1—3), dann auf etwa 20 cm³ eingengt und noch dreimal mit je 100 cm³ Chf-Alk-(2:1) ausgeschüttelt (= Auszüge 4—6).

Die *Auszüge 1—3* gaben nach Waschen mit wenig W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen 945 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm (System W: To-Bu-(4:1) auf Front) einen starken mittleren und 2 schwächere Flecken zeigte. Der schnellste Fleck entsprach unverändertem III, der langsamste lief wie II. Das gesamte Material wurde an 25 g Silicagel chromatographiert.

Die Fraktionen 1—4 (37 mg, eluiert mit Chf und Chf-Me-(99:1)) enthielten nach dem Papierchromatogramm nur III (schnellster Fleck; Rf = 0,90).

Die Fraktionen 6 und 7 (eluiert mit Chf-Me-(95:5)) gaben 690 mg *rohes 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin* (IV), das im Papierchromatogramm einen einzigen Fleck gab, der zwischen II und III lag (Rf = 0,59). Das Rohprodukt kristallisierte auch nach weiterer Chromatographie an Al₂O₃ bisher nicht und wurde direkt weiterverwendet.

Die Fraktionen 8—13 (210 mg, eluiert mit Chf-Me-(9:1)) gaben aus Me-Ae 156 mg II vom Smp. 270—280° (langsamster Fleck).

Die *Auszüge 4—6* gaben nach analoger Aufarbeitung 876 mg Rohprodukt. Aus Me-Ae 476 mg II vom Smp. 269—280° (langsamster Fleck; Rf = 0,16).

Es wurden somit aus 1,88 g III insgesamt erhalten: 632 mg krist. II (= 34%), 37 mg rohes III (= 2%) und 690 mg rohes IV (= 37%).

1,19-Isopropyliden-3-O-benzoyl-11-O-acetyl-ouabagenin (V) aus rohem IV. Eine Lösung von 75 mg rohem 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin (IV) in 1,5 cm³ Py wurde bei 0° mit 0,75 cm³ Benzoylchlorid versetzt und 16 Std. bei 22° stehengelassen. Nach Stehen mit 0,75 cm³ Me während 3 Std. wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chf aufgenommen, mit 2-n. Na₂CO₃ und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Nach Abdampfen des Benzoesäure-methylesters bei 85° und 0,05 Torr wurde der Rückstand (85 mg) an 2,5 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Be-Chf-Gemischen eluierten Fraktionen (57 mg) gaben aus An-Ae 48 mg Kristalle vom Smp. 271—273°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus An-Ae und Me-Ae Stäbchen vom Smp. 266—269°; $[\alpha]_D^{22} = +29^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 1,116 in Chf). UV.-Spektrum (in Äthanol): Maxima bei 224 m μ (log ϵ = 4,39); 273 m μ (log ϵ = 2,97); 281 m μ (log ϵ = 2,92). IR.-Spektrum (in CH₂Cl₂): Banden bei 2,80 μ und 2,84—2,87 μ (O—H); 5,60 μ (C = O, Vorbande, Butenolidring); 5,72 μ (C = O, Butenolidring + Acetyl); 5,83 μ (C = O, Benzoyl assoz.); 6,13—6,15 μ (C = C, Butenolidring + aromat. Ring); 6,24 μ und 6,88 μ (C = C, aromat. Ring); 8,11 μ (C—O—CO—, Acetat). Rf = 0,66 im System Fmd:Be.

C ₃₅ H ₄₄ O ₁₀	Ber. C 67,29	H 7,10	O 25,61%
(624,70)	Gef. „ 67,36	„ 7,15	„ 25,79%

3,5-Cyclosulfit des 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-14-anhydro-ouabagenins (VII) aus rohem IV. Aus der Lösung von 153 mg rohem 1,19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin (IV) in 15 cm³ alkoholfreiem Chf¹⁸⁾ wurden 4 cm³ Chf zur Entfernung von Feuchtigkeitsresten abdestilliert, darauf wurde die Lösung bei etwa –15° mit 1 cm³ abs. Py und 0,75 cm³ SOCl₂ versetzt, 1 Std. bei –15°, dann noch 24 Std. bei 22° stehengelassen. Nach Zerlegen mit Eis wurde mit Chf ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit 2-n. HCl, 2-n. Na₂CO₃ und W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft.

¹⁷⁾ I. E. Bush & D. A. H. Taylor, Biochem. J. **52**, 643 (1952).

¹⁸⁾ Bereitet nach G. Wohlleben, Angew. Chem. **68**, 752 (1956).

Das braungefärbte Rohprodukt (140 mg) gab nach kurzem Aufkochen mit Me und etwas Aktivkohle 109 mg fast farbloses Material, das an 3 g Silicagel chromatographiert wurde. Die mit Chf eluierten Fraktionen (85 mg) gaben aus An-Ae 63 mg Kristalle vom Smp. 217–219°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Me-Ae und An-Ae Rhomben vom Smp. 205–208° (Zers.). $[\alpha]_D^{22} = -24^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 1,843$ in Chf). Mit Tetranitromethan in Chf-Lösung Gelbfärbung. IR.-Spektrum vgl. Fig. 1; Rf = 0,79 im System Fmd:Be.

$C_{28}H_{36}O_9S$	Ber. C 61,29	H 6,62	O 26,25	S 5,84%
(548,63)	Gef. „ 61,39	„ 6,89	„ 26,34	„ 5,75%

3, 5-Cyclocarbonat des 1, 19-Isopropyliden-11, 14-dianhydro-ouabagenins (VI) aus II. Eine Lösung von 505 mg 1, 19-Isopropyliden-ouabagenin (II) vom Smp. 274–279° in 20 cm³ abs. Py und 30 cm³ alkoholfreiem Chf¹⁹) wurde bei –15° mit 50 cm³ Toluol, das 14% Phosgen enthielt, versetzt, 1 Std. bei –15° stehengelassen und dann noch 1,5 Std. bei 22° geschüttelt. Nach Zerlegen mit Eis, Ausschütteln mit Chf, Waschen der Chf-Lösungen mit 2-n. Na₂CO₃ und W, Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen, wurden 625 mg Rohprodukt erhalten (braun gefärbt), das an 20 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf-(9:1) eluierten Fraktionen (300 mg) gaben aus Me-Ae 126 mg Kristalle vom Smp. 319–325° (Zers.). Nach Umkristallisieren aus Me-Ae zu Drusen vereinigte Nadeln vom Smp. 330–332° (Zers.). $[\alpha]_D^{22} = +98^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,878$ in Chf). Mit Tetranitromethan in Chf keine Gelbfärbung. Rf = 0,86 im System Fmd:Be-Chf-(7:5); Rf = 0,77 im System W:To-Bu-(9:1).

$C_{27}H_{32}O_7$	Ber. C 69,21	H 6,88	O 23,90%
(468,53)	Gef. „ 68,74; 68,75	„ 7,10; 6,87	„ 24,08%

Mikrohydrierung¹⁹): Eine Lösung von 9,318 mg Substanz in 2 cm³ Eisessig nahm in Gegenwart von vorhydriertem Pt (aus 20 mg PtO₂·H₂O) in 180 Min. 1,57 cm³ H₂ auf (741 mm/22°). Ber. auf C₂₇H₃₂O₇ (468,53): 3,2 Mol H₂.

Oxydationsversuch mit CrO₃-Pyridin: Eine Lösung von 111 mg Substanz vom Smp. 319–325° in 1,1 cm³ abs. Py wurde zu CrO₃-Pyridin-Komplex, bereitet nach Poos et al.¹²) aus 112 mg CrO₃ und 1,1 cm³ abs. Py, gegeben und 15 Std. bei 22° geschüttelt. Nach Verdünnen mit Chf-Me-(3:1), Filtrieren und Eindampfen resultierten 256 mg Rohprodukt, das zur weiteren Reinigung in Chf gelöst wurde und mit 2,5 g Al₂O₃ 2 Std. bei 22° geschüttelt wurde. Nach Filtrieren und Eindampfen wurden 155 mg Rohprodukt erhalten, das an 5 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Die mit Be-Chf (95:5) eluierten Fraktionen (60 mg) gaben aus Me-Ae 41 mg Kristalle vom Smp. 330–331° (Zers.). Misch-Smp. mit Ausgangsmaterial ebenso.

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

Zusammenfassung.

Aus der Überführung von 1, 19-Isopropyliden-11-O-acetyl-ouabagenin (IV) in das krist. 3, 5-Cyclosulfit VII und von 1, 19-Isopropyliden-ouabagenin (II) in das krist. 3, 5-Cyclocarbonat VI wird die β -Stellung der Hydroxylgruppe an C-3 in Ouabagenin (I) abgeleitet.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel.

¹⁹) Ausgeführt in der Apparatur nach N. Clauson-Kaas & F. Limborg, Acta chem. scand. 1, 884 (1947).