

Partialsynthese von Canarigenin

Hans P. Albrecht*) und Paul Reichling

Forschungsinstitut der Knoll AG, Naturstoffchemie,

6700 Ludwigshafen

Eingegangen am 18. April 1975

Die Hydroxylierung der konjugierten Diengruppierung in 14-Hydroxy-14 β -carda-3,5,20(22)-trienolid (Dianhydroperiplogenin, **1**) mit einem Äquivalent Osmiumtetroxid erfolgt selektiv an der weniger substituierten Doppelbindung zu einem Gemisch der beiden isomeren *cis*-Diole **2** und **3**. Sauer katalysierte Wasserabspaltung aus **2** und **3** unter milden Bedingungen gibt **4**, das durch Reduktion mit Lithiumaluminiumtri-*tert*-butoxyhydrid in 3 β ,14-Dihydroxy-14 β -carda-4,20(22)-dienolid (Canarigenin, **5**) übergeführt werden kann.

A Partial Synthesis of Canarigenin

Hydroxylation of the conjugated diene system of 14-hydroxy-14 β -carda-3,5,20(22)-trienolide (dianhydroperiplogenin, **1**) with one equivalent of osmium tetroxide occurs selectively at the less substituted double bond and gives a mixture of the isomeric *cis*-diols **2** and **3**. Acid catalysed dehydration of **2** and **3** under mild conditions yields **4**, which can be reduced with lithium tri-*tert*-butoxyaluminum hydride to give 3 β ,14-dihydroxy-14 β -carda-4,20(22)-dienolide (canarigenin, **5**).

Die Blätter des auf den Kanarischen Inseln vorkommenden Fingerhuts *Digitalis canariensis* L.¹⁻³⁾ und die Samen der Jutepflanze *Corchoris capsularis* L.⁴⁾ enthalten herzwirksame Glykoside, die sich von 3 β ,14-Dihydroxy-14 β -carda-4,20(22)-dienolid (Canarigenin, **5**) ableiten. Bei der sauren Hydrolyse dieser Canarigeninglykoside entsteht zwar intermediär das Aglykon, doch wird **5**, das aufgrund seiner 4-En-3-ol-Gruppierung sehr säurelabil ist, bereits bei pH 4 teilweise epimerisiert und zu 14-Hydroxy-14 β -carda-3,5,20(22)-trienolid (Dianhydroperiplogenin, **1**) dehydratisiert. Da **1** aus dem sauren Hydrolysat eines Extrakts aus *Digitalis canariensis* leicht isolierbar ist, untersuchten wir die Möglichkeit, es als Ausgangsmaterial für die Synthese modifizierter Herzglykosidaglykone zu verwenden. Dabei fanden wir, daß sich **1** in einer dreistufigen Reaktionsfolge in **5** überführen läßt, das bisher durch chemische oder enzymatische Spaltung¹⁻³⁾ gereinigter Canarienglykoside oder über Partialsynthese⁵⁾ nur schwer zugänglich war⁶⁾.

*) Korrespondenz bitte an diesen Autor richten.

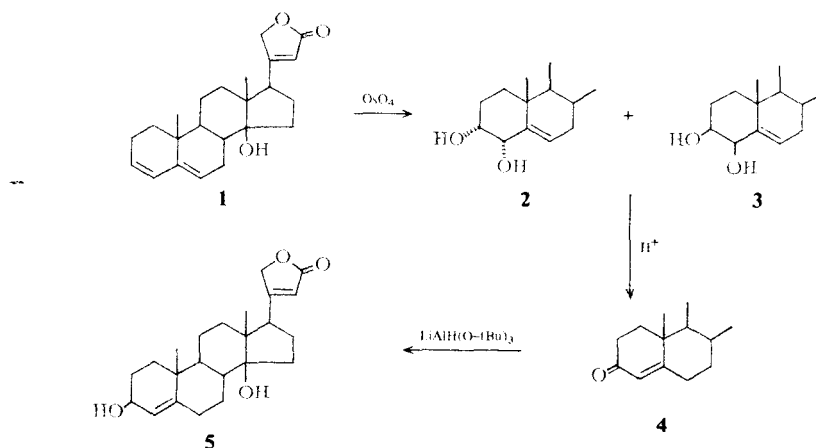
¹⁾ R. Tschesche, G. Snatzke, J. Delgado und A. G. González, Liebigs Ann. Chem. **663**, 157 (1963).

²⁾ P. Studer, S. K. Pavanaram, C. R. Gavilanes, H. Linde und K. Meyer, Helv. Chim. Acta **46**, 23 (1963).

³⁾ S. Spengel, E. Hauser, H. H. A. Linde, A. V. Vaz und K. Meyer, Helv. Chim. Acta **50**, 1893 (1967).

⁴⁾ E. Venkato Rao, D. Venkato Rao, S. K. Pavanaram, J. von Ew und T. Reichstein, Helv. Chim. Acta **54**, 1960 (1971).

⁵⁾ W. Fritsch, H. Kohl, U. Stache, W. Haede, K. Radschelt und H. Ruschig, Liebigs Ann. Chem. **727**, 110 (1969).



Die Reaktion von **1** mit 1,1 Äquivalenten Osmiumtetroxid in Pyridin führte zur selektiven Hydroxylierung der weniger substituierten Doppelbindung; dabei wurde in 66proz. Ausbeute ein Gemisch aus 3 α ,4 α ,14-Trihydroxy-14 β -carda-5,20(22)-dienolid (**2**) und 3 β ,4 β ,14-Trihydroxy-14 β -carda-5,20(22)-dienolid (**3**) im Verhältnis von etwa 5:1 erhalten. Durch Chromatographie an Kieselgel konnten **2** und **3** in reiner Form isoliert werden. Die bevorzugte Bildung von **2** steht in Übereinstimmung mit stereochemischen Betrachtungen, die einen Angriff des Osmiumtetroxids an der weniger gehinderten α -Seite erwarten lassen. Die Hydroxylierung von **1** ließ sich auch mit katalytischen Mengen Osmiumtetroxid und Bariumchlorat in wäßrigem Tetrahydrofuran durchführen. Diese selektive Hydroxylierung steroidal 3,5-Diene, die bisher nicht beschrieben worden ist, sollte sich allgemein für die Herstellung von Δ^5 -3,4-Dihydroxysteroiden, unter bevorzugter Bildung der Δ^5 -3 α ,4 α -Diole, eignen. Bei der Übertragung der Reaktion auf Cholesta-3,5-dien wurde entsprechend ein Gemisch erhalten, das vorwiegend aus Cholest-5-en-3 α ,4 α -diol (**6**)⁷⁾ und geringen Mengen Cholest-5-en-3 β ,4 β -diol (**7**)⁸⁾ bestand.

Die Sicherung der Struktur und Konfiguration der Hydroxylierungsprodukte war durch die ¹H-NMR-Spektren möglich. Die Verbindungen **2**, **3**, **6** und **7** zeigen im Bereich um $\delta \approx 5.8$ ppm ein ¹H-Signal für das olefinische Proton an C-6, das infolge der Aufspaltung durch die benachbarten Protonen an C-7 und Allylkopplung mit 4-H als Multiplett auftritt.

Die Zuordnung der Konfigurationen an C-3 und C-4 erfolgte in Anlehnung an die von Zürcher⁹⁾ aufgestellten Regeln über die chemische Verschiebung der C-19-Methylprotonen. Da Substituenten an C-3 unabhängig von ihrer Konfiguration dieses Signal nicht wesentlich beeinflussen, ist die bei **3** und **7** im Vergleich zu 3 β ,14-Dihydroxy-

⁶⁾ Nach Abschluß dieser Arbeit ist in einer Kurzmitteilung eine weitere Partialsynthese von **5** ausgehend von Digitoxigenin bekannt geworden: Y. Kamano, G. R. Pettit und M. Tozawa, J. Org. Chem. **39**, 2319 (1974).

⁷⁾ K. Jaworski und I. Malunowicz, Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. Sci. Chim. **21**, 801 (1973) [C. A. **80**, 1020u (1974)].

⁸⁾ O. Rosenheim und W. W. Starling, J. Chem. Soc. **1937**, 377.

⁹⁾ R. F. Zürcher, Helv. Chim. Acta **46**, 2054 (1963).

14 β -card-5,20(22)-dienolid¹⁰⁾ (Xysmalogenin) und Cholesterin sowie **2** und **6** gefundene Verschiebung um etwa 0.15 ppm nach tieferem Feld nur mit einer β -ständigen, quasiauxialen Hydroxygruppe an C-4 vereinbar. Daraus folgt, da die Hydroxygruppen an C-3 und C-4 *cis*-ständig sein müssen, die 3 β ,4 β -Hydroxy-Konfiguration für **3** und entsprechend 3 α ,4 α -OH für **2**.

Tabelle 1. Chemische Verschiebungen der C-18- und C-19-Methylprotonen einiger Steroide in CDCl₃/CD₃OD = 10:2 (TMS als innerer Standard)

Steroid	δ -Werte [ppm] für	
	19-H	18-H
Xysmalogenin	1.02	0.90
2	1.03	0.92
3	1.18	0.92
Cholesterin	1.00	0.67
6	1.03	0.70
7	1.20	0.70

Für die weitere Umsetzung war die Trennung des Isomerengemischs **2** und **3** nicht erforderlich. Durch Dehydratisierung in Benzol (30 min bei Rückflußtemp.) in Gegenwart von *p*-Toluolsulfonsäure wurden die Diole **2** und **3** in 76proz. Ausbeute glatt in 14-Hydroxy-3-oxo-14 β -carda-4,20(22)-dienolid (Canarigenon, **4**) übergeführt. Reduktion von **4** mit Lithiumaluminiumtri-tert.-butoxyhydrid in Tetrahydrofuran und anschließende Kristallisation aus Methylendichlorid gaben reines **5**, das mit authentischem Canarigenin^{2,3)} identisch war.

Wir danken Herrn Dr. F. H. Dürr, Analytische Abteilung der Knoll AG, für anregende Diskussionen und seine Hilfe bei der Interpretation der ¹H-NMR-Spektren. Herrn Prof. Dr. K. Meyer, Pharmazeutisches Institut der Universität Basel, danken wir für eine Vergleichsprobe Canarigenin.

Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler-Mikroheiztisch (Fa. Reichert) bestimmt und sind nicht korrigiert. — Die optischen Drehungen wurden mit einem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 M gemessen. Die UV-Spektren wurden mit einem Beckman-Spektrophotometer DK-2A, die IR-Spektren mit einem Perkin-Elmer-Spektrometer 221 und die ¹H-NMR-Spektren mit einem Gerät Varian A-60A unter Verwendung von Tetramethylsilan als innerem Standard aufgenommen. — Die Aufnahme der Spektren und die Durchführung der Elementaranalysen erfolgten in der Analytischen Abteilung der Knoll AG (Leitung Dr. F. H. Dürr). — Die Dünnschichtchromatographie wurde auf Kieselgelfertigplatten F₂₅₄ (Fa. Merck) ausgeführt (Sichtbarmachung durch UV-Licht und Ansprühen mit konz. Schwefelsäure). Die Säulenchromatographie wurde mit der 50- bis 100fachen Menge Kieselgel durchgeführt.

14-Hydroxy-14 β -carda-3,5,20(22)-trienolid (Dianhydroperiplogenin, **1**): 100 g eines Extrakts aus *Digitalis canariensis*¹¹⁾ wurden zu einer unter Rückfluß erhitzten 0.2 N Lösung von H₂SO₄

¹⁰⁾ J. Polonia, A. Kuritzkes, H. Jäger und T. Reichstein, Helv. Chim. Acta **42**, 1437 (1959).

¹¹⁾ Dieser wurde gewonnen durch erschöpfende Extraktion getrockneter, gemahlener Blätter (280 kg) mit 90proz. Methanol. Zur Entfernung des Methanols wurde i. Vak. eingedunstet. Der zurückgebliebene wäßrige Auszug wurde durch Extraktion mit Tetrachlohlenstoff von unpolaren Bestandteilen befreit und anschließend mit Chloroform und Chloroform-Methanol (3:2) extrahiert. Die so erhaltenen Auszüge wurden vereinigt und gaben 12.5 kg Trockenextrakt.

in 50proz. Methanol (1500 ml) gegeben und unter Rühren 1 h bei Rückflußtemp. hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde abgekühlt, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert, zur Entfernung der Hauptmenge Methanol i. Vak. auf ca. 1200 ml eingengt und mit Essigsäure-äthylester (3×1000 ml) extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Chromatographie des Rückstandes mit Methylendichlorid/Aceton (10:1) und Kristallisation aus Methanol gaben 3.9 g **1** mit Schmp. 188–195°C. $[\alpha]_D^{20} = -43^\circ$ ($c = 0.46$ in Chloroform) [Lit.¹²⁾; Schmp. 212–214°C. $[\alpha]_D^{25} = -42.3^\circ$ ($c = 1.4$ in Chloroform)]. $R_F = 0.35$ (Methylendichlorid/Aceton = 10:1).

3 α ,4 α ,14-Trihydroxy-14 β -carda-5,20(22)-dienolid (2) und 3 β ,4 β ,14-Trihydroxy-14 β -carda-5,20(22)-dienolid (3)

a) *Durch Hydroxylierung mit Osmiumtetroxid*: 1.06 g (3.0 mmol) **1** in 30 ml Pyridin wurden mit 8 ml einer 0.4 M Lösung von Osmiumtetroxid in Pyridin versetzt. Nach 4 h bei Raumtemp. wurden 10 ml konz. Natriumhydrogensulfit-Lösung zugegeben. Nach 2 stdg. Rühren wurde in Chloroform aufgenommen. Die Chloroformphase wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Chromatographie des Rückstandes mit Methylendichlorid/Methanol (20:1) ergab 770 mg (66%) eines Gemisches aus **2** und **3** im Verhältnis von etwa 5:1, das direkt für die weitere Umsetzung verwendet werden konnte. — Zur Reindarstellung der Isomeren wurden 200 mg Gemisch mit Methylendichlorid/Methanol (20:1) chromatographiert.

Man erhielt 120 mg reines **2** mit Schmp. 245–248°C (Methylendichlorid/Hexan). $[\alpha]_D^{20} = -16^\circ$ ($c = 0.5$ in Methanol), $R_F = 0.20$ (Methylendichlorid/Methanol = 10:1). — ¹H-NMR (CDCl₃/CD₃OD = 10:2): $\delta = 5.9$ (breites s; 1, 22-H), 5.8 (m; 1, 6-H), 5.0 (m; 2, 21-H₂), 4.25 (m; 1, 3-H), 4.0 (m; 1, 4-H), 1.03 (s; 3, 19-CH₃), 0.92 ppm (s; 3, 18-CH₃).

C₂₃H₃₂O₅ (388.5) Ber. C 71.10 H 8.30 Gef. C 70.73 H 8.12

Daneben erhielt man 30 mg reines **3** mit Schmp. 237–239°C (Methylendichlorid/Hexan). $[\alpha]_D^{20} = -21^\circ$ ($c = 0.5$ in Methanol), $R_F = 0.18$ (Methylendichlorid/Methanol = 10:1). — ¹H-NMR (CDCl₃/CD₃OD = 10:2): $\delta = 5.9$ (breites s; 1, 22-H), 5.75 (dd; 1, 6-H), 5.0 (m; 2, 21-H₂), 4.1 (d; 1, 4-H; $J_{3,4} = 3$ Hz), 3.65 (m; 1, 3-H), 1.18 (s; 3, 19-CH₃), 0.92 ppm (s; 3, 18-CH₃).

C₂₃H₃₂O₅ (388.5) Ber. C 71.10 H 8.30 Gef. C 70.91 H 8.17

b) *Durch Hydroxylierung mit Osmiumtetroxid/Bariumchlorat*: 3.55 g (10.0 mmol) **1** in 100 ml Tetrahydrofuran wurden mit 1.62 g (5.0 mmol) Bariumchlorat-hydrat in 40 ml Wasser und 3.5 ml einer 0.4 M Lösung von Osmiumtetroxid in Äther versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde unter Rühren bei Raumtemp. aufbewahrt und der Fortgang der Reaktion durch DC mit Methylendichlorid/Methanol (5:1) verfolgt. Die Umsetzung war nach 60 h beendet. Es wurde mit 10 ml Natriumhydrogensulfit-Lösung und 10 ml Pyridin versetzt und wie unter a) angegeben aufgearbeitet. Chromatographie gab 2.50 g (64%) eines Gemisches aus **2** und **3**.

Cholest-5-en-3 α ,4 α -diol (6) und Cholest-5-en-3 β ,4 β -diol (7): 1.1 g (3.0 mmol) Cholesta-3,5-dien wurden wie voranstehend unter a) beschrieben hydroxyliert. Es wurden 600 mg (50%) eines Gemisches aus **6** und **7** erhalten.

2malige Chromatographie mit Methylendichlorid/Aceton (20:1) gab 375 mg (32%) **6** mit Schmp. 188–190°C (Methylendichlorid/Methanol). $[\alpha]_D^{20} = -45^\circ$ ($c = 0.48$ in Chloroform) [Lit.⁷⁾; Schmp. 176–186°C, $[\alpha]_D^{20} = -53^\circ$ ($c = 1.15$ in Chloroform)], $R_F = 0.46$ (Methylen-

12) J. L. Breton, J. Delgado und A. G. Gonzalez, Chem. Ind. (London) 1959, 513.

dichlorid/Methanol = 10:1) und 0.16 (Methylendichlorid/Aceton = 10:1). $^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 10:2$): $\delta = 5.78$ (m; 1, 6-H), 4.25 (m; 1, 3-H), 3.98 (d; 1, 4-H; $J_{3,4} = 3$ Hz), 1.03 (s; 3, 19- CH_3), 0.70 ppm (s; 3, 18- CH_3).

Außerdem erhielt man bei der Chromatographie (s. oben) 150 mg Gemisch aus **6** und **7**, aus dem durch Chromatographie mit Methylendichlorid/Methanol (30:1) 50 mg reines **7** gewonnen wurden. Schmp. 176–177°C (Methylendichlorid/Äther). $[\alpha]_D^{20} = -59^\circ$ ($c = 0.5$ in Chloroform) [Lit.⁸; Schmp. 176–177°C, $[\alpha]_D^{20} = -65^\circ$, $R_F = 0.43$ (Methylendichlorid/Methanol = 10:1) und 0.13 (Methylendichlorid/Aceton = 10:1)]. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 10:2$): $\delta = 5.6$ (m; 1, 6-H), 4.03 (d; 1, 4-H; $J_{3,4} = 3$ Hz), 3.55 (m; 1, 3-H), 1.20 (s; 3, 19- CH_3), 0.70 ppm (s; 3, 18- CH_3).

14-Hydroxy-3-oxo-14 β -carda-4,20:22-dienolid (Canarigenon, 4): Zu einer Lösung von 90 mg wasserfreier *p*-Toluolsulfonsäure in 100 ml absol. Benzol wurden 970 mg (2.5 mmol) Gemisch der isomeren Diole **2** und **3** gegeben. Die Suspension wurde unter Rückfluß erhitzt, wobei das Kondensat beim Zurückfließen ins Reaktionsgefäß eine 5 cm hohe Schicht von Molekularsieb A4 passierte. Im Verlauf von 30 min entstand eine klare Lösung. Es wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand mit Chloroform aufgenommen und die Chloroformlösung mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Chromatographie des Rückstands mit Methylendichlorid/Aceton (10:1) ergab 710 mg (76%) **4** mit Schmp. 238–245°C (Aceton/Petroläther). $[\alpha]_D^{20} = +96^\circ$ ($c = 0.55$ in Chloroform) [Lit.²; Schmp. 238–248°C, $[\alpha]_D^{20} = +91^\circ$ ($c = 1.33$ in Chloroform); Lit.³; Schmp. 250–262°C, $[\alpha]_D^{20} = +112^\circ$ ($c = 1.0$ in Chloroform)], $R_F = 0.47$ (Methylendichlorid/Methanol = 10:1). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 5.92$ (breites s; 1, 22-H), 5.75 (s; 1, 4-H), 4.9 (m; 2, 21- H_2), 1.2 (s; 3, 19- CH_3), 0.95 ppm (s; 3, 18- CH_3).

3 β ,14-Dihydroxy-14 β -carda-4,20:22-dienolid (Canarigenin, 5): 850 mg (2.3 mmol) **4** wurden in Tetrahydrofuran gelöst und bei 0°C unter magnetischem Rühren mit 3.0 g (11.8 mmol) Lithiumaluminiumtri-*tert*-butoxyhydrid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei 0°C und anschließend 3 h bei Raumtemp. gerührt. Nach Neutralisation mit 5proz. Essigsäure wurde in Chloroform aufgenommen, mit gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft. Zur Reinigung wurde der Rückstand, der neben **5** noch 5–10% 3 β ,14-Dihydroxy-14 β -carda-4,20:22-dienolid enthält, in warmem Methylendichlorid gelöst, bis zur beginnenden Kristallisation eingengt und die Fällung bei -10°C vervollständigt. Ausbeute 590 mg (69%) laut DC einheitliches **5** mit Schmp. 230–234°C, $[\alpha]_D^{20} = +42^\circ$ ($c = 0.5$ in Chloroform) [Lit.¹; Schmp. 192–196°C, $[\alpha]_D^{20} = +46^\circ$ ($c = 1.0$ in Chloroform); Lit.³; Schmp. 208–222°C, $[\alpha]_D^{20} = +41^\circ$ (Chloroform); Lit.⁵; Schmp. 258–260°C, $[\alpha]_D^{20} = +63^\circ$ ($c = 0.85$ in Chloroform)], $R_F = 0.41$ (Methylendichlorid/Methanol 10:1). Das Produkt war identisch (Schmp., Misch.-Schmp., $[\alpha]_D^{20}$, IR-Spektrum und DC) mit authentischem Canarigenin^{2,9}. $^1\text{H-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD} = 10:1$): $\delta = 5.9$ (breites s; 1, 22-H), 5.32 (breites s; 1, 4-H), 4.95 (m; 2, 21- H_2), 4.15 (m; 1, 3-H), 1.07 (s; 3, 19- CH_3), 0.92 ppm (s; 3, 18- CH_3).

$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{O}_4$ (372.5) Ber. C 74.16 H 8.66 Gef. C 74.30 H 8.51

[51:75]