

Das Diastereomerengemisch wurde in 20 ml heissem Methanol gelöst und 20 ml Äther zugegeben. Nach ca. 10 Min. begann die Ausscheidung von weissen Kristallen. Die Lösung wurde 24 Std. bei 0° stehengelassen, die Kristalle abgenutscht und mit einigen ml Äther nachgewaschen. Ausbeute 0,32 g, Smp. 186–190°. Dieses Produkt erwies sich als ein Gemisch von Glutaminsäure und Glutamat. Es ist nur teilweise in Methanol löslich (die Glutaminsäure ist unlöslich in Methanol). Nach Zugabe von Äther zerfällt das Glutamat wieder teilweise.

Die erste Methanol-Äther-Mutterlauge wurde im Vakuum eingedampft und das zurückbleibende Öl mit Äther verrieben. Die ausgeschiedenen Kristalle wurden abgenutscht und mit Äther gewaschen. 0,38 g weisse Kristalle vom Smp. 145–147°.

$C_{23}H_{32}O_7N_2$  (448,50) Ber. C 61,59 H 7,19 N 6,25% Gef. C 61,63 H 7,34 N 6,39%

Die Äther-Waschlaugen wurden vereinigt und im Vakuum auf ca. 2–3 ml eingedampft. Die ausgeschiedenen glänzenden Tafeln wurden abgenutscht und aus Äther umkristallisiert. Ausbeute 76 mg, Smp. 61–62°,  $[\alpha]_D^{20} = +4,32^\circ$  ( $c = 0,3$  in Alkohol).

$C_{18}H_{23}O_3N$  (301,37) Ber. C 71,73 H 7,69 N 4,65% Gef. C 71,52 H 7,64 N 4,70%

*Katalytische Debenzylierung.* 75 mg der Substanz von Smp. 61–62° wurden in 30 ml abs. Methanol gelöst und mit 0,1 g Pd-Kohle hydriert. Nach Aufnahme der theoretischen Wasserstoffmenge wurde die Lösung abfiltriert und das zurückbleibende Öl aus dem Kugelrohr destilliert. Ausbeute 23,1 mg. Sdp. 220–225° (Badtemperatur)/2 Torr.  $[\alpha]_D^{20} = -1,92^\circ$  ( $c = 0,03$  in 1N HCl).

$C_4H_{11}O_3N$  (121,14) Ber. C 39,66 H 9,15 N 11,56% Gef. C 39,47 H 9,40 N 11,49%

Die *Analysen* wurden in der Mikroanalytischen Abteilung des Organisch-chemischen Institutes der Universität Szeged ausgeführt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Das linksdrehende *erythro*-2-Amino-1,3,4-trihydroxy-butan wurde auf folgendem stereospezifischen Weg synthetisiert: Das aus dem *trans*-1,4-Dibenzyl-2-buten (II) dargestellte *trans*-Epoxyd III gibt durch Ammonolyse *dl-erythro*-2-Amino-1,3,4-trihydroxy-butan-1,4-dibenzyläther (IV), welcher mit L-Glutaminsäure gespalten wurde. Das durch Hydrogenolyse gebildete D-*erythro*-2-Amino-1,3,4-trihydroxy-butan ist identisch mit dem aus Triacetylspingosin durch Ozonabbau und nachfolgende Reduktion erhaltenen Präparat.

Organisch-chemisches Institut der Universität Szeged (Ungarn).

## 44. Selektive Reduktionen mit Lithium-*tert*-butoxy-aluminiumhydrid in der Cardenolid- und der Bufadienolid-Reihe

6. Mitteilung über Reaktionen mit Mikroorganismen<sup>1)</sup>

von **Ch. Tamm**

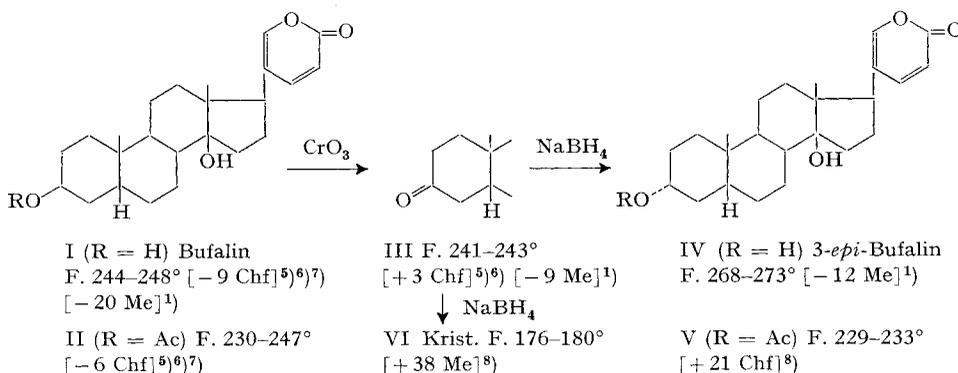
(4. XII. 59)

Bei den Cardenoliden und Bufadienoliden stösst die selektive Reduktion von C=C-Doppelbindungen und Carbonylgruppen, die sich am Steroidgerüst befinden, auf erhebliche Schwierigkeiten, da die üblichen Reduktionsmittel sowohl den Butenolidring ( $\alpha,\beta$ -ungesättigtes  $\gamma$ -Lacton) wie auch den Hexadienolidring ( $\alpha,\beta$ ;  $\gamma,\delta$ -ungesättigtes  $\delta$ -Lacton) in der Regel bedeutend rascher angreifen. Aus diesem Grunde sind

<sup>1)</sup> 5. Mitt.: CH. TAMM & A. GUBLER, Helv. 42, 473 (1959).

katalytische Hydrierungen, metallische Reduktionen und die reaktionsfähigeren Vertreter der komplexen Metallhydride, wie z. B.  $\text{LiAlH}_4$ , nicht verwendbar, wenn die Lactongruppen gleichzeitig unversehrt bleiben sollen. Eine Ausnahme bilden Al-Amalgam<sup>2)</sup>, Al-Isopropylat<sup>2)</sup> und  $\text{NaBH}_4$ <sup>3)</sup>.

Kürzlich haben wir im Zusammenhang mit der mikrobiologischen Umwandlung von Krötengiften aus 3-Dehydrobufalin (= Bufalon) (III) 3-*epi*-Bufalin (IV) hergestellt<sup>1)</sup>. Die Reduktion hatten wir mit  $\text{NaBH}_4$  unter den üblichen Bedingungen<sup>3)</sup> in Dioxan-Wasser-(3:1) (4 Std. bei 20°) vorgenommen. Die Ausbeute an IV war auffallend schlecht; sie betrug nur 50%<sup>4)</sup>. Dieser Befund veranlasste uns, die  $\text{NaBH}_4$ -



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht an. Es bedeuten Chf = Chloroform und Me = Methanol.

Reduktion von III genauer zu untersuchen. Es wurde zunächst festgestellt, dass sich die Ausbeute an IV nicht erhöhte, wenn in methanolischer Lösung gearbeitet wurde. Die Reduktion wurde hierauf nochmals in Dioxan-Wasser-(4:1) (4 Std. bei 20°) wiederholt und das Rohprodukt im Papierchromatogramm geprüft. Es waren 4 Stoffe nachweisbar, nämlich 3-*epi*-Bufalin (IV), Spuren von Bufalin (I) und Ausgangsmaterial III; der vierte Stoff war unbekannt. Durch direkte Kristallisation und

<sup>2)</sup> Al-Amalgam und Al-Isopropylat wurden erstmals von E. RABALD & J. KRAUS, Z. physiol. Chem. 265, 39 (1940), zur selektiven Reduktion der relativ reaktionsträgen Aldehydgruppe von Strophanthidin zu Strophanthidol verwendet. In der Bufadienolidreihe wurde Al-Isopropylat z. B. von A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. 35, 1934 (1952), zur gezielten Reduktion der 3-Ketogruppe von Scillarenon ( $\Delta^4$ -3-Keton) zum allylischen Alkohol Scillarenin eingesetzt. Al-Amalgam ist in der Bufadienolidreihe nicht brauchbar, da es auch den Hexadienolidring reduziert.

<sup>3)</sup>  $\text{NaBH}_4$  wurde zuerst von A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Chem. Ber. 85, 635 (1952), zur Reduktion der angulären C-19-Aldehydgruppen von Cardenoliden und Bufadienoliden, und von H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 985 (1953), zur Reduktion der 3-Ketogruppe in 3-Ketocardenoliden verwendet. Das Reagens hat in der Folge für analoge Reduktionen breiteste Anwendung gefunden.

<sup>4)</sup> Analoge Reduktionen von 3-Ketocardenoliden ergeben den gesuchten Alkohol in der Regel in Ausbeuten von 80–90%.

<sup>5)</sup> M. KOTAKE & K. KUWADA, Sc. Inst. Phys. Chem. Research (Tokyo) 36, 106 (1939); vgl. C. 1939, II, 1681.

<sup>6)</sup> K. MEYER, Pharmac. Acta Helv. 24, 222 (1949).

<sup>7)</sup> K. MEYER, Helv. 32, 1238 (1949).

<sup>8)</sup> Vgl. Exper. Teil dieser Arbeit.

$\text{Al}_2\text{O}_3$ -Chromatographie gelang es, nicht nur 3-*epi*-Bufalin (IV), sondern auch das unbekannte Nebenprodukt in papierchromatographisch reiner krist. Form abzutrennen. Es wanderte im Papierchromatogramm viel langsamer als I, III und IV.

Die geringen Mengen erlaubten es nicht, die Konstitution des Nebenproduktes aufzuklären. Es war mit keinem bekannten Bufadienolid identisch. Für die Ausführung von Analysen reichte das Material nicht; doch konnten UV.- und IR.-Spektren aufgenommen werden (vgl. Fig. 1–3). Aus ihnen ist ersichtlich, dass der  $\alpha$ -Pyroneering nicht mehr vorhanden ist, da im UV. das charakteristische Maximum bei 300  $m\mu$  und im IR. die  $\text{C}=\text{O}$ -Streckschwingung fehlten. Statt dessen trat im kurzwelligen UV.-Gebiet<sup>9)</sup> bei 199  $m\mu$  ein deutliches intensives Maximum zutage, das auf eine isolierte  $\text{C}=\text{C}$ -Doppelbindung schliessen liess. Der Stoff war neutral, besass keine reduzierenden Eigenschaften und zeigte im Papierchromatogramm stark polaren Charakter. Möglicherweise ist der Lactonring durch  $\text{NaBH}_4$  reaktiv geöffnet worden, so dass

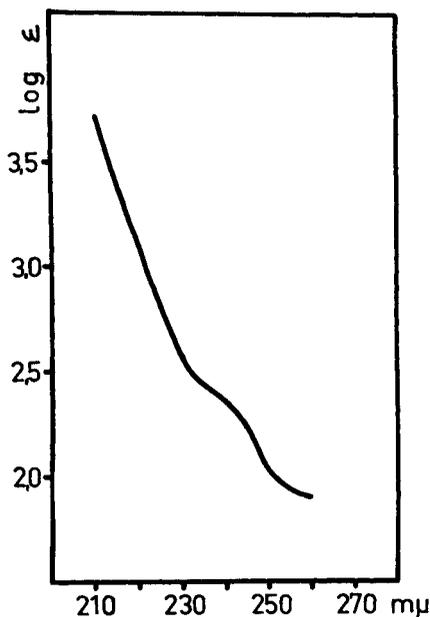
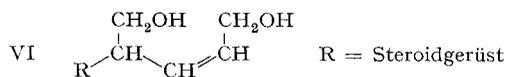


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektrum<sup>10)</sup> von Subst. VI in Äthanol (ber. auf  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4$ )

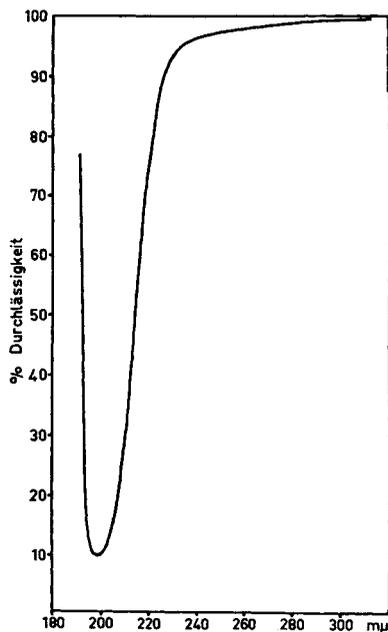


Fig. 2. Kurzwelliges UV.-Absorptionsspektrum<sup>10)</sup> von Subst. VI in Äthanol (ber. auf  $\text{C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4$ )  $\lambda_{\text{max}} = 199 \text{ m}\mu$  ( $T = 9,8\%$ , entspr.  $\log \epsilon = 4,00$ )<sup>11)</sup>

<sup>9)</sup> Zur Messtechnik vgl. K. STICH, G. ROTZLER & T. REICHSTEIN, Helv. 42, 1480 (1959).

<sup>10)</sup> Aufgenommen mit einem BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK2. Die Kurve von Fig. 2 wurde in  $\text{N}_2$ -Atmosphäre<sup>9)</sup> im Spektrollabor der Organisch-chemischen Anstalt der Universität Basel gemessen.

<sup>11)</sup> Die Werte sind für Streulicht korrigiert<sup>9)</sup>.

der Seitenkette des Nebenprodukts eventuell die Struktur VI zukommen könnte. Die HO-Gruppe an C-3 dürfte in Analogie zu IV  $\alpha$ -ständig angeordnet sein.

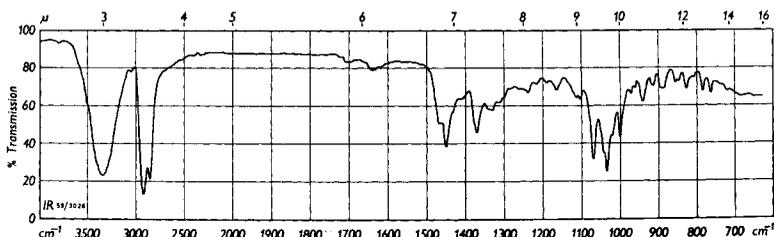


Fig. 3. IR.-Absorptionsspektrum von Subst. VI, fest in KBr<sup>12)</sup>

In einem weiteren Versuch reduzierten wir Bufalon (III) mit  $\text{LiAlH}_4$  in der Erwartung, VI als Hauptprodukt zu finden ( $\text{LiAlH}_4$  reduziert bekanntlich Ester- und Lacton-Gruppen). Nach den Papierchromatogrammen war ein Gemisch von mehreren stark polaren Stoffen entstanden, das VI nicht enthielt. Die Trennung in präparativem Maßstab durch  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Chromatographie ergab bisher keinen krist. Stoff.

Aus den obigen Beobachtungen geht hervor, dass der Hexadienolidring der Bufadienolide selbst gegenüber  $\text{NaBH}_4$ , das als mildes Reduktionsmittel gilt, nicht völlig stabil ist<sup>13)</sup>. Nach den bisherigen Erfahrungen scheint der Butenolidring der Cardenolide wesentlich resistenter zu sein. Ausserdem hat  $\text{NaBH}_4$  noch einen anderen Nachteil. Sehr oft ist es schwierig, auch nach Behandlung mit Mannit<sup>3)</sup>, die Reduktionsprodukte gänzlich von Bor zu befreien, was ihre Kristallisation verhindern kann. Die Einführung eines neuen Reagens, das diese Nachteile nicht hat, schien uns deshalb sehr erwünscht.

BROWN & MCFARLIN<sup>15)</sup> beschrieben kürzlich die Herstellung und Eigenschaften von Lithium-tri-*tert.*-butoxy-aluminiumhydrid  $\text{LiAlH}[\text{OC}(\text{CH}_3)_3]_3$  und fanden, dass das neue komplexe Metallhydrid unter sehr milden Bedingungen Aldehyde und Ketone reduziert, Ester jedoch intakt lässt. WHEELER & MATEOS<sup>16)</sup> und FAJKOS<sup>17)</sup> zeigten, dass das neue Reagens gewisse Steroidketone ebenso stereospezifisch wie die bisher bekannten Metallhydride reduziert.

Wir fanden jetzt, dass  $\text{LiAlH}[\text{OC}(\text{CH}_3)_3]_3$  auch bei den Cardenoliden und Bufadienoliden für die selektive Reduktion von Carbonylgruppen sehr geeignet ist. Die Reaktionsbedingungen sind äusserst mild, indem die meisten Reduktionen in Tetrahydrofuran-Lösung bei 0° nach 15–16 Min. beendet sind. Wie Vorversuche zeigten, bleiben dabei die Lactonringe absolut intakt. Eine Reihe von Beispielen für selektive

<sup>12)</sup> Aufgenommen mit einem PERKIN-ELMER-Zweistrahl-IR.-Spektrophotometer, Modell 21, mit NaCl-Prisma.

<sup>13)</sup> Zu dieser Feststellung sind ganz kürzlich auch BHARUCHA *et al.*<sup>14)</sup> gekommen, als sie Marinobufagin mit  $\text{NaBH}_4$  in wässrigem Äthanol bei pH 8–9 behandelten. Nicht nur hatte sich der 14,15-Oxydring geöffnet, sondern es liessen sich papierchromatographisch noch ca. 4 weitere stärker polare, nicht identifizierte Stoffe nachweisen.

<sup>14)</sup> M. BHARUCHA, H. JÄGER, K. MEYER, T. REICHSTEIN & O. SCHINDLER, *Helv.* 42, 1395 (1959).

<sup>15)</sup> H. C. BROWN & R. F. MCFARLIN, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 252 (1956); 80, 5372 (1958).

<sup>16)</sup> O. H. WHEELER & J. L. MATEOS, *Chemistry & Ind.* 1957, 395.

<sup>17)</sup> J. FAJKOŠ, *Coll. Czech. chem. Comm.* 24, 2284 (1959).

Tabelle 1. Reduktionen mit  $\text{LiAlH}[\text{OC}(\text{CH}_3)_3]_3$  in Tetrahydrofuran

| Edukte                 |   | Zeit;<br>Temperatur | Produkte<br>nach Papierchrom. <sup>18)</sup> bzw. präparative<br>Isolierung  |
|------------------------|---|---------------------|--|
| Funktionelle<br>Gruppe | Beispiel                                    |                     |  |
| Butenolidring          | Digitoxigenin                               | 15 Min.; 0°         | Digitoxigenin (st)   |
| Hexadienolidring       | Bufalin                                     | 15 Min.; 0°         | Bufalin (st)   |
| 3-Keto                 | 3-Dehydrodigitoxigenin<br>(= Digitoxigenon) | 15 Min.; 0°         | 90% 3- <i>epi</i> -Digitoxigenin <sup>19)</sup><br>8% Digitoxigenin <sup>20)</sup>   |
|                        | 3-Dehydrobufalin<br>(= Bufalon)             | 15 Min.; 0°         | 98% 3- <i>epi</i> -Bufalin <sup>19)</sup>  |
| 19-Aldehyd             | Strophanthidin                              | 15 Min.; 0°         | Strophanthidin (m)<br>Strophanthidol (st)  |
|                        |   | 1 Std.; 0°          | Strophanthidin (s)<br>Strophanthidol (st)  |
|                        |   | 1 Std.; 0°          | 3% Nebenprodukt vom Rf-Wert 0,87<br>30% Strophanthidin (s) (Rf-Wert 0,46)<br>55% Strophanthidol (st) (Rf-Wert 0,34)                      |
|                        |   | 8 Std.; 0°          | Strophanthidin (s)<br>Strophanthidol (st)  |
|                        |   | 1 Std.; 20°         | Strophanthidin (s)<br>Strophanthidol (st)  |
|                        |   | 4 Std.; 20°         | Strophanthidin (s)<br>Strophanthidol (st)  |
|                        |   | 17 Std.; 20°        | Strophanthidin (ss) (Rf-Wert 0,60)<br>Strophanthidol (st) (Rf-Wert 0,48)<br>Fleck vom Rf-Wert 0,19 (s-m)<br>Fleck vom Rf-Wert 0,70 (s-m) |
|                        | Hellebrigenin                               | 15 Min.; 0°         | Hellebrigenin (m)<br>Hellebrigenol (st)  |
|                        |   | 1 Std.; 20°         | Hellebrigenin (s)<br>Hellebrigenol (st)  |
|                        |   | 1 Std.; 20°         | 23% Hellebrigenin<br>62% Hellebrigenol   |
| 14,15-Oxido            | Marinobufagin                               | 15 Min.; 0°         | Marinobufagin (st)   |
| 3-Acetoxy              | 3-O-Acetyl-strophanthidol                   | 15 Min.; 0°         | 3-O-Acetyl-strophanthidol (st)   |
|                        |   | 1 Std.; 0°          | Strophanthidin (ss)<br>3-O-Acetyl-strophanthidol (st)<br>Strophanthidol (ss)   |
|                        | 3-O-Acetyl-strophanthidin                   | 1 Std.; 0°          | 91% 3-O-Acetyl-strophanthidol  |
| 3,16-Diacetoxy         | Di-O-acetyl-gitoxigenin                     | 1 Std.; 0°          | Di-O-acetyl-gitoxigenin (st)   |
| 3-Formyloxy            | 3-O-Formyl-digitoxigenin                    | 15 Min.; 0°         | 3-O-Formyl-digitoxigenin (st)  |
|                        |   | 1 Std.; 20°         | 3-O-Formyl-digitoxigenin (st)<br>Digitoxigenin (s)   |

<sup>18)</sup> Es bedeuten: ss = sehr schwacher Fleck; s = schwacher Fleck; m = mittelstarker Fleck; st = starker Fleck. Für weitere Einzelheiten vgl. den experimentellen Teil.

<sup>19)</sup> 3-Hydroxyl äquatorial.

<sup>20)</sup> 3-Hydroxyl axial.

Reduktionen an freien oder veresterten Aglykonen des Digitalis-Strophanthus- und Scilla-Bufo-Typs sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die Reduktionen wurden im Mikromaßstab durchgeführt und ihr Verlauf papierchromatographisch kontrolliert. In einigen speziellen Fällen wurden die Reaktionsprodukte präparativ isoliert, um Angaben über die Ausbeuten machen zu können. Als erstes wurde die Reduktion der 3-Ketogruppe untersucht. Sie ergab 90–98% des äquatorialen Alkohols. So verdoppelte sich z. B. die Ausbeute an 3-*epi*-Bufalin (IV) aus 3-Dehydrobufalin (III) gegenüber derjenigen, die bei der NaBH<sub>4</sub>-Reduktion von III erzielt wurde. IV wurde bei dieser Gelegenheit durch das krist. Acetylderivat V charakterisiert. – Die C-19-Aldehydgruppe erwies sich erwartungsgemäß bedeutend reaktionsträger. Reihenversuche mit Strophanthidin bei 0° und 20° ergaben als optimale Bedingungen die Behandlung während 8 Std. bei 0° bzw. 1 Std. bei 20°. Auch bei längeren Reaktionszeiten verschwand im Papierchromatogramm der Strophanthidinfleck nie vollständig. Nach 17 Std. bei 20° traten ausserdem noch zusätzliche KEDDE-positive Nebenprodukte auf. Ein präparativer Versuch während 1 Std. bei 0° ergab erst 60% Strophanthidol und noch 30% Strophanthidin. Ähnlich verhielt sich Hellebrigenin, das Analogon der Bufadienolidreihe. Die Ausbeute an Hellebrigenol betrug 62%. – Die 14,15-Oxidogruppe von Marinobufagin, die von NaBH<sub>4</sub> geöffnet wird<sup>14)</sup>, blieb intakt. – Empfindlichere Ester, wie gewisse Acetate und Formiate, können bei NaBH<sub>4</sub>-Reduktionen gleichzeitig verseift werden. Gegenüber LiAlH[OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sub>3</sub> waren z. B. 3- und 16-Acetoxygruppen völlig resistent. Die Reduktion von 3-O-Acetyl-strophanthidin ergab schon in 1 Std. bei 0° fast quantitativ 3-O-Acetyl-strophanthidol. Selbst die labile Formyloxygruppe, z. B. in 3-O-Formyl-digitoxigenin, blieb unter den Standardbedingungen erhalten. Erst bei 20° wurde etwas Verseifungsprodukt festgestellt.

Zum Schluss sei noch das Ergebnis der Toxizitätsbestimmung von 3-*epi*-Bufalin (IV) (bestimmt an der Katze nach HATCHER-BRODIE<sup>21)</sup>) erwähnt (vgl. Tab. 2).

Tabelle 2. Toxizität von 3-*epi*-Bufalin (IV) und einigen bekannten Aglykonen

| Substanz   | Geometrisches Mittel der letalen Dosis (Katze) in mg/kg |
|--|---|
| 3- <i>epi</i> -Bufalin (IV) . . . . .            | 0,966 <sup>22)</sup>                                    |
| Bufalin (I) . . . . .                            | 0,137 <sup>23)</sup>                                    |
| 3- <i>epi</i> -Scilliglaucosidin-19-ol . . . . . | 0,360 <sup>24)</sup>                                    |
| Scilliglaucosidin-19-ol . . . . .                | 0,095 <sup>24)</sup>                                    |
| 3- <i>epi</i> -Digitoxigenin . . . . .           | unwirksam bis 4,77 mg <sup>25)</sup>                    |
| Digitoxigenin . . . . .                          | 0,459 <sup>26)</sup>                                    |

<sup>21)</sup> Die Prüfung verdanken wir Herrn Dr. W. SCHALCH von unserem pharmakologischen Laboratorium (Leitung Dr. A. CERLETTI).

<sup>22)</sup> Orientierender Mittelwert aus 3 Tieren (langsame Infusion (1 ml in 24 Min.) einer 0,3-proz. Lösung von IV in Äthanol-Wasser-(4:1). Die Kontrolltiere ertrugen die 6fache Menge an 80-proz. Äthanol ohne jegliche Zeichen einer toxischen Wirkung<sup>21)</sup>).

<sup>23)</sup> K. MEYER, *Pharmac. Acta Helv.* 24, 222 (1949); *Helv.* 32, 1238 (1949).

<sup>24)</sup> A. KATZ, *Helv.* 40, 831 (1957).

<sup>25)</sup> H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, *Helv.* 38, 166 (1955).

<sup>26)</sup> K. K. CHEN, *Annual Rev. Physiol.* 7, 677 (1945).

IV ist das erste  $3\alpha$ -Hydroxy- $5\beta$ -bufadienolid, dessen Toxizität gemessen worden ist. In Tab. 2 sind auch die Werte einiger bekannter Stoffe zum Vergleich angegeben. Daraus geht hervor, dass 3-*epi*-Bufalin (IV) nur 7,3 mal schwächer wirksam als Bufalin (I) ist. Auch 3-*epi*-Scilliglaucosidin-19-ol, das eine  $3\alpha$ -Hydroxy- $\Delta^4$ -Gruppierung besitzt, ist im Vergleich zu Scilliglaucosidin-19-ol noch recht wirksam. Weitere Bufadienolide mit  $3\alpha$ -Konfiguration sind bisher nicht bekannt geworden. In der Cardenolidreihe wirkt sich bei den  $5\beta$ -Derivaten die Konfigurationsänderung an C-3 offensichtlich wesentlich stärker auf die biologische Aktivität aus (vgl. Digitoxigenin vs. 3-*epi*-Digitoxigenin). Im allgemeinen sind die Aglykone dieser Reihe bekanntlich an sich schon merklich schwächer wirksam als diejenigen der Scilla-Bufo-Reihe.

Wir möchten den Herren Prof. T. REICHSTEIN und K. MEYER, Basel, auch an dieser Stelle für die Überlassung von Marinobufagin bzw. Bufalin herzlich danken.

### Experimenteller Teil<sup>27)</sup>

Die Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. Fehlergrenze bis  $200^\circ$  ca.  $\pm 2^\circ$ , darüber  $\pm 3^\circ$ . Die Adsorptions-Chromatogramme an  $Al_2O_3$  (neutral, von M. WOELM, Eschwege, Deutschland) erfolgten nach dem Durchlaufverfahren<sup>28)</sup>. Substanzproben zur Messung der Drehung und der Spektren wurden 1 Std. bei  $70$ – $80^\circ$  und zur Analyse bei angegebener Zeit und Temperatur bei 0,02 Torr. getrocknet.

**Papierchromatographie.** – Papier WHATMAN Nr. 1. Entwickeln der Cardenolide mit KEDDE-Reagens<sup>29)</sup> und der Bufadienolide mit 20-proz.  $SbCl_3$  in Chloroform<sup>30)</sup>.

Lösungsmittelsysteme:

*Digitoxigenin*, *3-epi-Digitoxigenin*, *3-Dehydrodigitoxigenin* (= *Digitoxigenon*), *Marinobufagin*: Benzol-Chloroform-(7:5)/Formamid-Aceton-(1:4)<sup>29)</sup>.

*3-O-Formyl-digitoxigenin*: Benzol-Petroläther-(2:3)/Propylenglykol-Wasser-(4:1)<sup>30c,d)</sup>.

*3,16-Di-O-acetyl-gitoxigenin*: Benzol/Propylenglykol-Wasser-(4:1)<sup>30c,d)</sup>.

*Strophanthidin*, *Strophanthidol*, *3-O-Acetyl-strophanthidin*, *3-O-Acetyl-strophanthidol*: Toluol-n-Butanol-(9:1)/Wasser<sup>31)</sup>.

*Bufalin*, *3-epi-Bufalin*, *3-Dehydrobufalin* (= *Bufalon*): Benzol-Chloroform-(2:1)/Propylenglykol-Wasser-(4:1)<sup>30c,d)</sup>.

*Hellebrigenin* und *Hellebrigenol*: Benzol-Chloroform-(1:1)/Propylenglykol-Wasser-(4:1)<sup>30c,d)</sup>.

**Reduktion von 3-Dehydrobufalin (= Bufalon) (III) mit  $NaBH_4$ .** – Eine Lösung von 132 mg III vom Smp.  $237$ – $240^\circ$  (durch Abdampfen mit Benzol getrocknet) in 12 ml Dioxan-Wasser-(3:1) wurde mit einer Lösung von 132 mg  $NaBH_4$  in 6 ml Dioxan-Wasser-(3:1) versetzt und 1 Std. bei  $22^\circ$  stengelassen. Nach Zugabe von weiteren 60 mg  $NaBH_4$ , gelöst in 3 ml Dioxan-Wasser-(3:1), wurde noch 3 Std. stengelassen. Hierauf wurde mit 10 ml Wasser versetzt,  $2N$   $H_2SO_4$  bis zur eben kongosauren Reaktion zugegeben, im Vakuum etwas eingeeengt, mit Chloroform ausgeschüttelt und die Auszüge im Vakuum eingedampft. Das Produkt wurde mit 30 ml Methanol, 30 ml  $0,1N$   $H_2SO_4$  und 600 mg D-Mannit 30 Min. unter Rückfluss gekocht. Nach Entfernen des Methanols im Vakuum wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, die Auszüge mit  $2N$   $Na_2CO_3$  und Wasser gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft.

<sup>27)</sup> Bei der Ausführung der Versuche war Herr W. ZÜRCHER in sehr geschickter und gewissenhafter Weise behilflich.

<sup>28)</sup> T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Discuss. Faraday Soc. Nr. 7, 305 (1949).

<sup>29)</sup> O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 34, 108 (1951); H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953).

<sup>30)</sup> a) D. LAWDAY, Nature 170, 415 (1952); b) P. ZOLLER & CH. TAMM, Helv. 36, 1744 (1953); c) H. R. URSCHELER, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 38, 883 (1955); d) R. BOLLIGER & K. MEYER, Helv. 40, 1659 (1957).

<sup>31)</sup> E. SCHENKER, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 680 (1954).

Es resultierten 141 mg Rohprodukt. Im Papierchromatogramm (System Benzol-Chloroform-(2:1)/Propylenglykol-Wasser-(4:1); Laufzeit ca. 3 Std. auf Front) waren 4 Flecke sichtbar: Ausgangsmaterial III (Rf-Wert 0,86; sehr schwach), Bufalin (I) (Rf-Wert 0,57; sehr schwach), 3-*epi*-Bufalin (IV) (Rf-Wert 0,47; Hauptfleck) und Nebenprodukt VI (Rf-Wert 0,16; mittel; im UV.-Licht orange Fluoreszenz). Aus Aceton-Äther 44 mg Kristalle vom Smp. 256–264°. Nach Umkristallisieren aus Aceton reines 3-*epi*-Bufalin (IV) in Platten vom Smp. 266–272°. Trocknung zur Analyse<sup>32)</sup>: 5 Std. bei 120° (Schweinchen).

$C_{24}H_{34}O_4$  (386,51) Ber. C 74,6 H 8,9 O 16,5% Gef. C 74,9 H 8,5 O 16,1%

Die Mutterlaugenrückstände (81 mg) wurden an 2,5 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Die Fraktionen 1 und 2 (eluiert mit Chloroform-Methanol-(99:1)) ergaben aus Aceton-Äther noch 15 mg krist. 3-*epi*-Bufalin (IV) vom Smp. 253–263°.

Die Fraktionen 3 und 4 (eluiert mit Chloroform-Methanol-(99:1)) gaben Spuren amorphes Material.

Die Fraktionen 5–10 (eluiert mit Chloroform-Methanol-(98:2)) lieferten aus Aceton-Äther 15 mg Kristalle vom Smp. 156–180°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Aceton-Äther, *Subst. VI* in Prismen vom Smp. 176–180°.  $[\alpha]_D^{20} = +38 \pm 3^\circ$  ( $c = 0,723$  in Methanol). Für UV.- und IR.-Spektren sowie Papierchromatographie vgl. Theoret. Teil.

3-*O*-Acetyl-3-*epi*-bufalin (V) aus IV. 35 mg 3-*epi*-Bufalin (IV) vom Smp. 235–259° wurden mit 1,0 ml abs. Pyridin und 1,0 ml Acetanhydrid 24 Std. bei 37° stehengelassen. Nach Eindampfen im Vakuum wurde in Chloroform aufgenommen, die Lösungen mit 2N HCl, 2N  $Na_2CO_3$  und Wasser gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Das Rohprodukt (35 mg) wurde an 1 g  $Al_2O_3$  chromatographiert. Die mit Chloroform eluierten Fraktionen (28,5 mg) gaben aus Aceton-Äther 21 mg Kristalle vom Smp. 221–236°. Nach Umkristallisieren aus Aceton-Äther Nadeln vom Smp. 228–235°, die bei 220° zu sublimieren beginnen.  $[\alpha]_D^{21} = +21 \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,258$  in Chloroform). Trocknung zur Analyse: 5 Std. bei 100° (Schweinchen).

$C_{26}H_{36}O_5$  (428,55) Ber. C 72,8 H 8,5 O 18,7% Gef. C 72,5 H 8,4 O 18,9%

**«Reduktionslösung» von  $LiAlH[OC(CH_3)_3]_3$  (hergestellt nach Brown & McFarlin<sup>15</sup>.)**

2,5 g  $LiAlH_4$  (FLUKA, purum) wurden in 250 ml abs. Äther aufgeschlämmt, 30 Min. unter Rückfluss gekocht und filtriert. Es resultierten 207 ml Filtrat, das nach Titration (1 ml Ätherlösung mit ca. 10 ml Methanol-Wasser-(1:1) versetzt und das gebildete LiOH mit 0,1N HCl titriert (Phenolphthalein)) 1,71 g  $LiAlH_4$  enthielt. Zu 205 ml dieser Ätherlösung, wurden unter Rühren bei Zimmertemperatur eine Lösung von 10,03 g abs. *tert.*-Butanol in 100 ml abs. Äther getropft. Der weiße Niederschlag wurde nach Abdekantieren des Äthers in 100 ml Tetrahydrofuran (frisch gereinigt) gelöst (= «Reduktionslösung»). Diese «Reduktionslösung» kann, wenn unter Feuchtigkeitsausschluss aufbewahrt, während längerer Zeit gelagert und gebraucht werden. Sie diente für alle im folgenden beschriebenen Versuche.

**Reduktion mit  $LiAlH[OC(CH_3)_3]_3$  im Mikromaßstab.** – Eine Lösung von ca. 20 mg Edukt in 1 ml Tetrahydrofuran (frisch gereinigt) wurde mit 1 ml «Reduktionslösung» versetzt und bei der in Tab. 1 angegebenen Zeit und Temperatur stehengelassen. Hierauf wurde mit 8 ml 5-proz. wässriger Essigsäurelösung versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das nach Waschen der Auszüge mit gesättigter  $KHCO_3$ -Lösung und Wasser und nach Trocknen über  $Na_2SO_4$  erhaltene Rohprodukt wurde papierchromatographisch untersucht. (Bsp. vgl. Tab. 1).

**Reduktion mit  $LiAlH[OC(CH_3)_3]_3$  in präparativem Maßstab.** – 1. 3-Dehydrodigitoxigenin (= Digitoxigenon). Eine Lösung von 161 mg 3-Dehydrodigitoxigenin vom Smp. 198–201° in 8 ml Tetrahydrofuran wurde bei 0° mit 8 ml «Reduktionslösung» versetzt und 15 Min. bei 0° stehengelassen. Nach Zugabe von 70 ml 5-proz. wässriger Essigsäure wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, die Auszüge mit gesättigter  $KHCO_3$ -Lösung und Wasser gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 161 mg Rohprodukt. Aus Methanol-Äther 123 mg papierchromatographisch reines 3-*epi*-Digitoxigenin vom Smp. 275–282°. Die Mutterlaugenrückstände (36 mg) wurden an 3,6 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Die Fraktionen 1–9 (eluiert mit Chloroform +  $20/_{100}$  Methanol) gaben nur Spuren amorphes Material.

<sup>32)</sup> In der 5. Mitteilung dieser Reihe<sup>1)</sup> wurden aus Versehen falsche Analysenwerte angegeben, weshalb die Bestimmung wiederholt wurde.

Die Fraktionen 10–14 (eluiert mit Chloroform + 20/100 Methanol) ergaben aus Methanol-Äther 26 mg Kristalle, die nach Papierchromatogramm aus ca. 50% *Digitoxigenin* und ca. 50% *3-epi-Digitoxigenin* bestanden.

Die Fraktionen 15–20 (eluiert mit Chloroform + 1% Methanol) ergaben aus Methanol-Äther 8 mg *3-epi-Digitoxigenin*, das nach Papierchromatogramm noch Spuren *Digitoxigenin* enthielt.

Insgesamt resultierten: 144,5 mg *3-epi-Digitoxigenin* und 13 mg *Digitoxigenin*.

2. *3-Dehydrobufalin* (= *Bufalon*) (III). 80 mg III vom Smp. 219–231° (papierchromatographisch rein) wurden analog zum 1. Versuch während 15 Min. bei 0° mit «Reduktionslösung» reduziert und aufgearbeitet. Es resultierten 80 mg Rohprodukt, das im Papierchromatogramm nur 1 Fleck von *3-epi-Bufalin* (IV) zeigte. (Kein *Bufalin* (I)!). Aus Aceton-Methanol-Äther 73 mg Kristalle vom Smp. 225–241°. Nach Umkristallisieren aus Methanol-Aceton, 60 mg *3-epi-Bufalin* (IV) vom Smp. 235–259°.  $[\alpha]_D^{25} = +12^\circ \pm 1,5^\circ$  ( $c = 1,689$  in Methanol).

3. *Strophanthidin*. 400 mg *Strophanthidin* vom Smp. 139–143° wurden analog zum 1. Versuch während 1 Std. bei 0° reduziert und aufgearbeitet. Das Rohprodukt (417 mg) zeigte im Papierchromatogramm einen *Strophanthidin*-Fleck (s) und einen *Strophanthidol*-Fleck (st). Es wurde an 20 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Die Fraktionen 1–8 (eluiert mit Chloroform + 0,25% Methanol) gaben 13 mg Material, das einen Fleck vom Rf-Wert 0,87 zeigte. Nicht weiter untersucht.

Die Fraktionen 14–26 (eluiert mit Chloroform + 0,5% und 1% Methanol) gaben 78 mg Material; nach Papierchromatogramm reines *Strophanthidin*.

Die Fraktionen 27–32 (eluiert mit Chloroform + 2% Methanol) gaben 85 mg Material; nach Papierchromatogramm ca. 50% *Strophanthidin* und ca. 50% *Strophanthidol*.

Die Fraktionen 33–52 (eluiert mit Chloroform + 2% und 5% Methanol) gaben 178 mg Material; nach Papierchromatogramm reines *Strophanthidol*.

Insgesamt wurden erhalten: 120 mg *Strophanthidin* und 220 mg *Strophanthidol*.

4. *3-O-Acetyl-strophanthidin*. 170 mg 3-O-Acetyl-strophanthidin vom Doppel-Smp. 183–191°/215–220° wurden analog zum 1. Versuch während 1 Std. bei 0° reduziert. Die Aufarbeitung lieferte 185 mg Rohprodukt. Aus Aceton-Äther 155 mg 3-O-Acetyl-strophanthidol vom Smp. 221–231°; im Papierchromatogramm 1 Fleck. Der Mutterlaugenrückstand enthielt nach Papierchromatogramm 3-O-Acetyl-strophanthidin und eine Spur 3-O-Acetyl-strophanthidin.

5. *Hellebrigenin*. 52 mg *Hellebrigenin* vom Smp. 220–226° wurden analog zum 1. Versuch während 1 Std. bei 0° reduziert und aufgearbeitet. Das Rohprodukt (57 mg) zeigte im Papierchromatogramm *Hellebrigenol* als Hauptfleck und *Hellebrigenin* als Nebenfleck. Es wurde an 3 g  $Al_2O_3$  chromatographiert.

Die Fraktionen 1–3 (eluiert mit Chloroform) gaben 1,5 mg amorphes Material.

Die Fraktionen 4–10 (eluiert mit Chloroform-Methanol-(99:1)) lieferten 12 mg Material; nach Papierchromatogramm reines *Hellebrigenin*. Aus Aceton-Methanol-Äther 7 mg Kristalle vom Smp. 222–225° oder nur Smp. 148–151°.

Die Fraktionen 11–29 (eluiert mit Chloroform-Methanol-(99:1), -(98:2) und -(95:5)) ergaben 32 mg Material; nach Papierchromatogramm reines *Hellebrigenol*. Aus Aceton-Methanol-Äther 26 mg Kristalle vom Doppel-Smp. 155–167°/221–224° oder nur Smp. 148–153°.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Es wird gezeigt, dass der Hexadienolidring der Bufadienolide gegenüber  $NaBH_4$  nicht völlig resistent ist. So ergab 3-Dehydrobufalin (*Bufalon*) (III) nur 40–50% *3-epi-Bufalin* (IV) und 10% eines neuen krist. Nebenprodukts VI, das den  $\alpha$ -Pyronring nicht mehr enthält.

Für die selektive und stereospezifische Reduktion von Carbonylgruppen erwies sich  $LiAlH_4[OC(CH_3)_3]_3$  in Tetrahydrofuran (nach H. C. BROWN & R. F. McFARLIN<sup>15</sup>) sowohl in der Cardenolid- als auch in der Bufadienolid-Reihe als sehr geeignet. Die Lactonringe, Ester- und Epoxyd-Gruppen bleiben intakt.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium SANDOZ, Basel.