本研究は著者等が薬理研究会研究所, 東京大学薬学部にて在職中に行なったものである。本研究にあたり, 菌の培養につきご協力を賜った武田薬工研究所, 醸酵研究所に深謝します。また, IR スペクトル, 旋光度の測定を施行された武田薬工研究所物理分析研究室の方々に厚く感謝します。比較のための標品をご分与下さったパーゼル大学 Tamm 教授, Upjohn 研究所の Peterson 博士に深謝します。

東京生化学研究所

〔薬 学 雑 誌〕
YAKUGAKU ZASSHI
85 (9) 822 ~ 826 (1965)

UDC 615.711-011 : 547.92

124. 岡田正志, 蓮沼美恵子: アンヒドロカルデノリドのエポキシド合成とその開裂に関する研究 (第1報) 15 α -Hydroxydigitoxigenin の合成^{*1}

Masashi Okada and Mieko Hasunuma: Studies on Syntheses of Epoxides of Anhydrocardenolide and on Their Cleavage. I. Synthesis of 15 α -Hydroxydigitoxigenin.

(Tokyo Biochemical Research Institute^{*2})

14 α ,15 α -Epoxy- and 14 β ,15 β -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin were synthesized. Fission of the former epoxide with sulfuric acid yielded 15 α -hydroxydigitoxigenin. Some observations on the oxidative cleavage of these epoxides and their derivatives are presented.

(Received April 13, 1965)

天然強心ステロイドには cardenolide と bufadienolide の二型があり, ガマ毒の bufadienolide には, 14 β -水酸基をもつゲンニンに対応する 14 β ,15 β -エポキシド数種が知られているが, 植物界からのみ得られている cardenolide については, この型のエポキシドは発見されていない。著者等は, 生合成上, 14,15-エポキシドが天然強心ステロイドの構造上の特長である 14 β -水酸基の導入に関係を有するのではなかろうかと考え, まず cardenolide の基本体である digitoxigenin から容易に得られる β -anhydrodigitoxigenin (Ia) の 14,15-エポキシドの合成とその開裂に関する研究を行なった。著者等とちょうど同じところに, Hofer 等¹⁾ および石井等²⁾ も同様の研究を行ない, その結果をすでに発表しているが, 反応条件, 合成した誘導体において著者等の場合と異なる点があるので, これらに重点をおいて報告する。

純粋な β -anhydrodigitoxigenin (Ia) を好収率で得る目的で, (i) Ia のアセタート (Ib) (digitoxigenin のアセタートをビリジン中チオニルクロライドあるいはオキシン塩化リンで脱水して得られる) の α -トルエンスルホン酸による脱アセチル化,³⁾ (ii) Ib の塩酸による脱アセチル化,⁴⁾ (iii) Δ^{14} -digitoxin acetate の希鉱酸による加水分解, の3法を検討した結果, (ii) がもっとも好収率を与えることを知った。

Ia, Ib に過安息香酸を作用させて 14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (IIa) およびそのアセタート (IIb) を得た。IIa はアセチル化により IIb を与えた。

IIa のエポキシドの酸による開裂を種々の条件下に行ない, 反応生成物を薄層クロマトグラフィー (以下 TL と略) (Table I 参照) を用いて時間的に追跡検討した結果, 実験の部に記述した条件により約 60% の収率で 15 α -hydroxydigitoxigenin (III) を得ることができた。III を常法により室温でビリジン中無水酢酸を用いてアセチル化すると, ジアセタート (IV) とモノアセタート (V) の混合物 (TL; Table I) を与え, 両者はアルミナクロマトグラフィーで分離された。V はアセチル化により IV を与えた。III のアセチル化を 70° で行なうと IV のみが得られ, 無水酢酸の使用量を減じて室温でアセチル化すれば, V が主生成物として得られた。

*1 本研究は日本薬学会第82年年会 (静岡, 1962年11月3日) で発表した。

*2 2-593, Takadaminami-cho, Toshima-ku, Tokyo.

1) P. Hofer, H. Linde, K. Meyer: Helv. Chim. Acta, **45**, 1041 (1962).

2) H. Ishii, T. Tozyo, D. Satoh: Chem. Pharm. Bull. (Tokyo); **10**, 645 (1962); **11**, 576 (1963).

3) E. P. Oliveto, L. Weber, M. M. Pechet, E. B. Hershberg: J. Am. Chem. Soc., **81**, 2833 (1959).

4) N. Danieli, Y. Mazur, F. Sondheimer: J. Am. Chem. Soc., **84**, 875 (1962).

より 3 β -O-acetyl-14 β ,15 β -epoxy-5 β -etianic acid methyl ester より同様の反応条件で得られたものと一致することを認めたが、その後、これが 14 α -hydroxy-15-oxo- 体ではなく、14 β -hydroxy-15-oxo- 体であることを証明し、前の報告を訂正している。⁸⁾ 著者等は IIb のエポキシドを同様の条件で酸化的に開裂し、VI を得ることができた。この事實は、Lardon 等と著者等とは用いた物質の 17 位側鎖の構造は異なるが、VI が 14 β -hydroxy-15-oxo-構造をもつこと、したがって III が 15 α -hydroxydigitoxigenin であることを間接的に支持するものと考えられる。なお、IIa を含水酢酸中無水クロム酸で酸化的に開裂して得られたものは、III の無水クロム酸-ピリジン酸化によって得られた IX に一致し、また、IIa のこの酸化に際し、IX とともに、IIa の無水クロム酸-ピリジン酸化によって得られる VIII をも分離した。

V をピリジン中オキシン塩化リンで処理し、3-O-acetyl-14 β ,15 β -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (VII) と予想されるものを得、Hofer 等¹⁾の方法により合成した標品と比較し、VII であることを確認した。VII を含水酢酸中無水クロム酸で処理し、IIb の場合と同様、VI を得た。

著者等の合成した 15 α -hydroxydigitoxigenin (III) につきその強心作用に関して詳細な薬理学的検討が行なわれた結果、III は従来強力な強心作用の発現に必要であると認められている化学構造上の特性のすべて、すなわち、3 β -水酸基、14 β -水酸基、17 β -配置の α,β -不飽和 5 員環ラクトンを保持するにもかかわらず、まったく強心作用を示さないことが明らかにされた。⁹⁾ この事實は注目に値すると思われる。

実 験 の 部

薄層クロマトグラフィー (TL) アルミナ (Brockmann のアルミナを希 AcOH で洗って調製、活性 III~IV) とシリカゲル (Merck) の混合物 (1:1) を吸着剤、層の厚さは 0.25 mm. 溶媒として A: MeOH-CHCl₃ (4:96), B: MeOH-CHCl₃ (1:9) を使用。検出は、濃 H₂SO₄ 噴霧後 110° に 5 min. 加熱。紫外線 (365 m μ) 下の蛍光による。また、Kedde 試薬も使用。Table I に Rf 値をまとめて示した。

TABLE I. Thin-layer Chromatography of Compounds Derived from Digitoxigenin

Compound	Rf	
	A ^{a)}	B ^{b)}
Digitoxigenin	0.27	0.56
3-O-Acetyl-digitoxigenin	0.55	—
β -Anhydrodigitoxigenin (Ia)	0.60	—
3-O-Acetyl- β -anhydrodigitoxigenin (Ib)	0.87	—
14 α ,15 α -Epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (IIa)	0.47	—
3-O-Acetyl-14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (IIb)	0.74	—
15 α -Hydroxydigitoxigenin (III)	0.01	0.35
3,15-Di-O-acetyl-15 α -hydroxydigitoxigenin (IV)	0.11	0.80
3-O-Acetyl-15 α -hydroxydigitoxigenin (V)	0.02	0.56
3-O-Acetyl-15-oxodigitoxigenin (VI)	0.35	—
3-O-Acetyl-14 β ,15 β -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (VII)	0.77	—
3-Oxo-14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (VIII)	0.52	—
3,15-Dioxo-15 α -digitoxigenin (IX)	0.26	—

a) Solvent A: MeOH-CHCl₃ (4:96)

b) Solvent B: MeOH-CHCl₃ (1:9)

β -Anhydrodigitoxigenin (Ia) (i) Ib の β -トルエンスルホン酸による脱アセチル³⁾: Ib 380 mg. を 80% EtOH 24 ml. に溶解、 β -トルエンスルホン酸 120 mg. を加え、還流下 22 hr. 加熱。少量の水を加え、5% Na₂CO₃ により pH 6.0 とした後、減圧下 EtOH をできるだけ留去。エーテル-CHCl₃ (3:1) で抽出。抽出液を水洗乾燥。溶媒留去残渣を中性アルミナ (10 g.) クロマトグラフィーを用いて分離。石油エーテル-ベンゼン (1:1) で溶出するフラクションより Ib 120 mg. を回収。ベンゼン、ベンゼン-CHCl₃ (9:1, 4:1) で溶出するフラクションより Ia 165 mg. を得。MeOH-エーテル-石油エーテルより再結。m.p. 198~204°。

8) A. Lardon, T. Reichstein: Helv. Chim. Acta, 45, 943 (1962).

9) T. Shigei, M. Katori, H. Murase, S. Imai: Experientia, 20, 572 (1964).

(ii) Ib の HCl による脱アセチル⁴⁾: Ib 420 mg. を MeOH 170 ml., 35% HCl 30 ml., 水 10 ml. よりなる混液に溶解. 室温に 20 hr. 放置. (i) の場合と同様に処理して得られたエーテル-CHCl₃ (3:1) 抽出残渣を直接再結晶し, m.p. 196~202° の Ia 320 mg. を得.

(iii) Δ^{14} -digitoxin acetate の希硫酸による加水分解: digitoxin 1 g. をアセチル化¹⁰⁾ して得た粗製アセタート 1.25 g. をピリジン 9.6 ml. に溶解, 冷却下 POCl₃ 6.4 ml. および水 0.08 ml. を加え, 室温に 20 hr. 放置. 氷水に投入, AcOEt で抽出, 水洗後乾燥. 溶媒留去残渣約 1.1 g. を MeOH 100 ml., 0.1N H₂SO₄ 100 ml. 混液に溶解, 還流下 1 hr. 加水分解. 以下 (i) の場合に準じて処理し, アルミナクロマトグラフィーで分離し, m.p. 195~203° の Ia 152 mg. を得.

以上 3 法で得た Ia は TL, 混融により一致し, また, アセチル化により Ib を与えた.

14 α ,15 α -Epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (IIa) Ia 500 mg. を CHCl₃ 7 ml. に溶解, 10 ml. の過安息香酸ベンゼン溶液 (37 mg./ml.) を加え, 室温に 18 hr. 放置. CHCl₃ 30 ml. を加え, 水, 5% Na₂CO₃ ついで水で洗浄, 乾燥後溶媒留去. 残渣を MeOH-エーテルより再結し, m.p. 223~229° の IIa 310 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} +12.3^\circ$ (CHCl₃), $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 217 (4.16), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 3516, 1782, 1750, 1734, 1631. C₂₃H₃₂O₄ Anal. Calcd.: C, 74.16; H, 8.66. Found: C, 74.22; H, 8.43.

3-O-Acetyl-14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (IIb) (i) Ib 200 mg. を上述の Ia の場合に準じて処理. アセトン-石油エーテルより再結し, m.p. 220~226° の IIb 105 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} +6.6^\circ$ (CHCl₃), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 216 (4.23), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1781, 1753, 1730, 1630. C₂₅H₃₄O₅ Anal. Calcd.: C, 72.43; H, 8.27. Found: C, 72.74; H, 8.31.

(ii) IIa 5 mg. をピリジン中 Ac₂O でアセチル化. アセトン-石油エーテルより再結. m.p. 219~224°. (i) で得た IIb と混融により融点降下せず, TL, IR で一致.

15 α -Hydroxydigitoxigenin (III) IIa 200 mg. をアセトン 60 ml., 1N H₂SO₄ 5.4 ml., 水 1.6 ml. からなる混液に溶解, 34° で 72 hr. 放置. 水 50 ml. を加え, 5% Na₂CO₃ を用いて pH 6.0 とし, アセトンを減圧下留去. AcOEt で抽出. 水洗乾燥後溶媒留去. 残渣をアセトン-エーテルより再結. m.p. 237~242°, $[\alpha]_D^{25} +36.1^\circ$ (MeOH), UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 218 (4.20). C₂₃H₃₄O₅ Anal. Calcd.: C, 70.74; H, 8.78. Found: C, 70.78; H, 8.95. 再結母液のアルミナクロマトグラフィーでさらに III を得. III の収量は計 125 mg.

3,15-Di-O-acetyl-15 α -hydroxydigitoxigenin (IV) (i) III 50 mg. を常法によりピリジン中過剰の Ac₂O を用い, 室温で 48 hr. 放置してアセチル化. アセチル体 60 mg. を中性アルミナ 3 g. をつめたカラムでクロマトグラフィーを行なう. ベンゼン-CHCl₃ (9:1, 4:1) で溶出するフラクションを合わせ, アセトン-エーテル-石油エーテルより再結し, m.p. 221~226° の IV 18 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} +43.2^\circ$ (CHCl₃), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{CHCl}_3}$ cm⁻¹: 3575, 1782, 1740, 1628. C₂₇H₃₈O₇ Anal. Calcd.: C, 68.33; H, 8.07. Found: C, 68.56; H, 8.05.

(ii) V 10 mg. をピリジン中 Ac₂O で 70°, 3 hr. ついで室温, 20 hr. 放置してアセチル化. アセトン-エーテル-石油エーテルより再結. m.p. 192~196°. 本物質は TL, IR で (i) により得られた IV と一致. なお, IV は多形で, 上述の m.p. 221~226°, 192~196° の標品以外に m.p. 232~237° を示すものも得られた.

3-O-Acetyl-15 α -digitoxigenin (V) (i) 上述の IV 合成の (i) の項のアルミナカラムよりベンゼン-CHCl₃ (7:3, 3:2, 1:1) で溶出するフラクションを合わせ, アセトン-エーテルから再結し, m.p. 245~253° の V 20 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} +31.6^\circ$ (CHCl₃). C₂₅H₃₆O₆ Anal. Calcd.: C, 69.42; H, 8.37. Found: C, 69.30; H, 8.31.

(ii) III 150 mg. をピリジン 2 ml. に溶解, Ac₂O 0.1 ml. を加え 20 hr. 室温に放置. アセチル体をアルミナクロマトグラフィーで分離し, m.p. 236~251° の V 103 mg. と m.p. 218~224° の IV 13 mg. を得.

3-O-Acetyl-15-oxodigitoxigenin (VI) (i) V より: V 75 mg. をピリジン 0.8 ml. に溶解. CrO₃ (60 mg.)-ピリジン (0.6 ml.) を用い室温で 21 hr. 酸化. アセトン-エーテル-石油エーテルより再結し, m.p. 238~245° の VI 63 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} -3.2^\circ$ (CHCl₃), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1783, 1735, 1722, 1627. C₂₅H₃₄O₆ Anal. Calcd.: C, 69.47; H, 7.96. Found: C, 69.60; H, 7.87. 本物質の旋光分散曲線を Fig. 1 に示した.

(ii) IIb より: IIb 30 mg. を AcOH 0.3 ml. に溶解. 0.5 ml. の 2% CrO₃-AcOH 溶液 (8% の水含有) を加えて 20 hr. 室温に放置. MeOH 1 ml. を加えて 2 hr. 室温に放置後 AcOEt 50 ml. を加える. この溶液を水, 2% Na₂CO₃ ついで水で洗浄. 乾燥後溶媒留去. 残渣 24 mg. を 2 g. の中性アルミナを用い

Fig. 1. Rotatory Dispersion Curve of 3-O-Acetyl-15-oxodigitoxigenin in Dioxane

Trough 341 m μ $[\alpha] -4.20^\circ$
Peak 260 m μ $[\alpha] +8.00^\circ$

るクロマトグラフィーで分離し, m.p. 234~241° の VI 5 mg. を得. (i) により得た VI と混融により融点降下せず, TL, IR で一致.

(iii) VII より: VII 30 mg. を (ii) における IIb と同様に酸化し, m.p. 235~240° の VI 4 mg. を得. (i) により得た VI と混融して融点降下せず, TL, IR で一致.

3-O-Acetyl-14 β ,15 β -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (VII) V 25 mg. をピリジン 0.7 ml. に溶解, 0° 以下に冷却下 POCl₃ 0.15 ml. を加え, 0~5° に 24 hr. 放置. 氷水中に投入. エーテル-CHCl₃ (3:1) で抽出, 水洗乾燥後溶媒留去. 残渣 21 mg. を中性アルミナクロマトグラフィーで分離. アセトン-エーテル-石油エーテルより再結し, m.p. 169~177° の VII 14 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} + 32.4^\circ$ (CHCl₃), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1787, 1746, 1725, 1624. C₂₅H₃₄O₅ Anal. Calcd.: C, 72.43; H, 8.27. Found: C, 72.59; H, 8.28. 本物質は Hofer 等¹⁾の方法で合成した標品と混融により融点降下せず, TL, IR も一致.

3-Oxo-14 α ,15 α -epoxy- β -anhydrodigitoxigenin (VIII) IIa 45 mg. をピリジン 0.5 ml. に溶解. CrO₃ (40 mg.)-ピリジン (0.4 ml.) で酸化. アセトン-石油エーテルより再結し, m.p. 218~224° の VIII 30 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} + 20.2^\circ$ (CHCl₃), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1784, 1753, 1713, 1634. C₂₃H₃₀O₄ Anal. Calcd.: C, 74.56; H, 8.16. Found: C, 74.41; H, 8.07. なお, 本物質はつぎに述べる IIa の CrO₃-AcOH (H₂O) 酸化でも得られた.

3,15-Dioxo-15 α -digitoxigenin (IX) (i) III より: III 60 mg. をピリジン 0.6 ml. に溶解, CrO₃ (80 mg.)-ピリジン (0.8 ml.) で酸化. アセトン-エーテルより再結し, m.p. 253~258° の IX 45 mg. を得. $[\alpha]_D^{25} + 36.1^\circ$ (MeOH), IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm⁻¹: 1780, 1735, 1706, 1635. C₂₃H₃₀O₅ Anal. Calcd.: C, 71.48; H, 7.82. Found: C, 71.77; H, 7.87.

(ii) IIa より: IIa 41 mg. を AcOH 0.4 ml. に溶解, 2% CrO₃-AcOH 溶液 (8% の水含有) で酸化. 生成物を中性アルミナクロマトグラフィーで分離. ペンゼン-CHCl₃ (9:1, 4:1) で溶出するフラクションより m.p. 216~223° の VIII 13 mg. を得. 上述の VIII の標品と混融して融点降下せず, TL, IR で一致. ペンゼン-CHCl₃ (3:2, 1:1) で溶出するフラクションを合わせ, アセトン-エーテルより再結し, m.p. 249~256° の IX 15 mg. を得. 上記 (i) で得た標品と混融により融点降下せず, TL, IR で一致.

本研究に当たり, 終始ご鞭撻を賜わった石館守三所長に厚く感謝します. 元素分析, IR スペクトルの測定を施行された中外製薬総合研究所分析研究室の方々に感謝します.

東京生化学研究所