

marin, von dem Emulsin angegriffen. Die wahrscheinliche Ursache dieser Verschiedenheiten soll erst später ausführlich erörtert werden<sup>1)</sup>.

Schließlich sage ich Hrn. Dr. Hartmut Noth für freundliche Hilfe bei den Versuchen besten Dank.

### 27. H. Killiani: Über Digitalis-Stoffe. 39. Mitteilung.

[Aus der medicin. Abtlg. des Univ.-Laborat. Freiburg i. B.]

(Eingegangen am 21. Oktober 1918.)

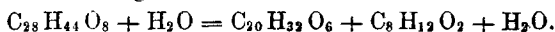
Meine bisherigen Arbeiten auf diesem Gebiete haben zwar vielerlei Aufklärung in Bezug auf Einzelheiten gebracht, es war ihnen aber versagt geblieben, den sicheren experimentellen Anschluß an Verbindungen von schon bekannter Konstitution zu erreichen (abgesehen von dem kleinen Bruchstücke, welches ich kürzlich in einem Falle in Form von Äthyl-bernsteinsäure nachwies), obwohl ich schon vor 25 Jahren die allgemeine Vermutung aussprechen konnte, daß diese Stoffe »in naher Beziehung zu den Terpenen stehen«: Immer wieder hatten die verschiedenartigsten Reaktionen zu bisher unbekanntem Stoffen geführt. Der Gedanke, daß die komplizierten Moleküle der Digitalis-Genine und ihrer nächstliegenden Oxydationsprodukte irgendwie durch Verseifung oder Hydrolyse in kleinere Stücke aufspaltbar sein sollten, hatte mich schon 1893<sup>2)</sup> veranlaßt, die Digitogensäure mit 10-proz. Kalilauge, ferner 1901<sup>3)</sup> in essigsaurer Lösung mit etwa

<sup>1)</sup> Wie früher (A. 383, 84 [1911]) erwähnt, werden die Glucosidoglykolsäure und ihr Calciumsalz von Emulsin nicht angegriffen, während das entsprechende Glucosidoglykolsäureamid leicht hydrolysiert wird. Das letztere trifft auch zu für den Methylester, der neuerdings aus der Säure durch Diazomethan bereitet wurde. Diese etwas überraschende Beobachtung hat ihre Erklärung gefunden in der großen Abhängigkeit der Emulsinwirkung von der Konzentration der Wasserstoff-Ionen, auf die S. P. L. Sörensen bei anderen Enzymen (Bio. Z. 21, 255 [1909]) wieder in sehr gründlicher Weise die Aufmerksamkeit gelenkt hat. Bei richtiger Konzentration, die ungefähr  $p_H = 5$  entspricht, werden auch die Glucosidoglykolsäuren Salze von Emulsin angegriffen. Dasselbe konnte festgestellt werden für die bisher unbekannte Glucosidomandelsäure, die aus dem früher (B. 50, 1052 [1917]) beschriebenen Tetraacetylerster durch Verseifen mit Baryt als Gemisch von 2 Stereoisomeren gewonnen wurde. Aus diesem ließ sich durch Krystallisation des Chininsalzes die einheitliche Glucosidomandelsäure ( $[\alpha]_D^{18} = +51.0^\circ$  in Wasser) bereiten. Näheres darüber wird bald folgen.

<sup>2)</sup> Ar. 231, 457.

<sup>3)</sup> B. 34, 3751 [1901].

7-proz. Schwefelsäure zu kochen, in beiden Fällen jedoch ohne den gewünschten Erfolg. Weitere hydrolytische Versuche erschienen mir damals ziemlich aussichtslos, namentlich weil die Stammsubstanz, das Digitogenin, ohnedies durch 1½-stündiges Erhitzen des Digitonins mit 7-proz. Salzsäure in kochendem Wasser (und zwar sehr glatt) gewonnen wird, wobei ja schon reichlich Gelegenheit zu einer Säure-Hydrolyse gegeben wäre. Ich habe dann in einer langen Reihe von (nicht veröffentlichten) Versuchen das Verhalten der Digitogensäure zu heißem Permanganat genauer studiert, weil doch gerade hier — nach sonstiger allgemeiner Erfahrung — die Wahrscheinlichkeit, auf schon bekannte Substanzen zu stoßen, besonders groß war. Aber auch diese Mühe blieb trotz allerlei Variationen betreffs Konzentration, Alkaligehalt und Temperatur<sup>1)</sup> und trotz sorgfältigster Einzelarbeit vergeblich: Die durch Oxydation entstandenen Säuren waren durchweg überwiegend harziger Art, weder sie selbst, noch irgend eines ihrer Salze (z. B. auch mit Alkaloiden) waren zum Krystallisieren zu bringen, und so kam ich schließlich zur festen Überzeugung, daß hier komplizierte Gemische vorliegen müssen, deren Entstehung am ehesten verständlich schien, wenn neben der angestrebten Oxydation jeweils eine teilweise Verseifung durch das vorhandene heiße Alkali einsetzt. Diese Erwägung veranlaßte mich in den letzten Wochen zu neuen hydrolytischen Versuchen, und zu meiner eigenen Überraschung hatte ich gleich beim ersten einen vollen Erfolg: Die (zweibasische) Digitogensäure läßt sich durch 2-proz. Salzsäure langsam, aber vollständig hydrolysieren nach der Gleichung: .



Hiervon ist  $C_{20}H_{32}O_6$  eine einbasische Säure,  $C_8H_{12}O_2$  aber ein Lacton, und letzteres ist möglicherweise identisch mit Willstätters Lacton der  $\gamma$ -Oxy-cyclo-heptan-carbonsäure<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Bezüglich der Temperatur erscheint eine von mir gewählte Versuchsanordnung erwähnenswert: Komplizierte Moleküle werden in der Regel an mehreren Stellen angreifbar sein durch Permanganat; benützt man nun bei der Ausführung die zumeist übliche Vorschrift »Erhitzen auf dem Wasserbade« so hat die Mischung bis zum gleichmäßigen Erreichen des Temperatur-Maximums eine große Anzahl von Wärmegraden allmählich zu durchlaufen, was zu allerlei unter sich verschiedenartigen Reaktionen Veranlassung geben kann. Dies wird vermieden, wenn man die Lösung der zu oxydierenden Substanz mit vorher in kochendem Wasser angeheizter Permanganatlösung vermischt und dann sofort in kochendem Wasser weiter erhitzt. Dieses Verfahren dürfte in manchen anderen Fällen gute Dienste leisten.

<sup>2)</sup> A. 317, 242 [1901].

Analog verhält sich die Digitosäure: Sie liefert (nach vorläufigem Versuche) das gleiche Lacton, aber eine andere (prächtig krystallisierende) Säure. Spaltbar ist ferner die Digitsäure, und ich hoffe, solche Hydrolyse namentlich auch beim Digitogenin selbst durchführen zu können, was vielleicht die bisher vergeblich angestrebte Aufklärung über den Verbleib von  $C_3$  (oder  $C_2$ ) bei dem Übergange Digitogenin  $\rightarrow$  Digitogensäure bringt. Weiterhin wird die Säure  $C_{20}H_{32}O_6$ , die eigentliche Stammsubstanz für die Säure  $C_{16}H_{24}O_7$ <sup>1)</sup>, folglich auch diese in guter Ausbeute gewinnbar sein, und ich halte es ferner für höchst wahrscheinlich, daß auch Digitaligenin und Digitoxygenin solcher hydrolytischen Aufspaltung fähig sein dürften, nur werde ich hierbei wesentlich verdünntere Salzsäure anzuwenden haben. Der neue Fund führt also zu einer Fülle von Fragen, welche der experimentellen Beantwortung zugänglich sind; die wichtigsten derselben werde ich sofort in Angriff nehmen.

#### Hydrolyse der Digitogensäure.

1 Tl. reiner Digitogensäure (Schmp. ca. 180°) + 10 Vol.-Tle. »Spaltungssäure«<sup>2)</sup> wurden am Rückfluß in kochendem Wasser erhitzt (wobei anfangs mehrmals umzuschwenken ist behufs völliger Auflösung); nach 3 Stdn. wurde das gleiche Volumen Wasser zugegeben und nach mehrstündigem Erkaltenlassen festgestellt, daß die über dem entstandenen zähklebrigen Niederschlage befindliche Flüssigkeit nur mehr Spuren von organischer Substanz enthielt. Der Niederschlag, mehrmals mit Wasser durchgeknetet und dadurch von noch anhaftendem Alkohol (nebenbei auch von Salzsäure) befreit, löst sich nicht klar in verdünnter kalter Kalilauge (ber. auf die verarbeitete Digitogensäure nebst mäßigem Überschusse). Durch mehrmaliges direktes Schütteln der trüben Mischung mit Äther trennt man das Lacton ab; dann wird zur Kaliumsalzlösung die berechnete Menge Salzsäure (mit kleinem Überschusse) gegeben und nun die Säure in Äther aufgenommen. Die Destillationsrückstände beider Äther-Auszüge sind zunächst ganz amorph, und anfänglich schien es wieder, als ob nichts krystallisieren wollte, bis ich fand, daß beide Spaltstücke prächtig krystallisieren: Das Lacton aus 85-proz. Äthyl-, die Säure aus 85-proz. Methylalkohol (letztere aber auch aus Essigsäure nach untenstehender Vorschrift).

I. Lacton. Der dick sirupöse Äther-Rückstand, mit wenig 85-proz. Äthylalkohol (direkt im Destillationskolben) übergossen, löst

<sup>1)</sup> B. 49, 713 [1916].

<sup>2)</sup> 50 ccm 50-proz. Alkohol, vermischt mit 2 ccm konz. Salzsäure (1.19).

sich rasch ganz auf, beginnt aber (unter Schutz vor Verdunstung) bald, sehr schöne, stark glänzende, derbe Säulen zu bilden, die sich in 12—24 Stunden wesentlich vermehren und schließlich eine feste Kruste bilden, so daß einfaches Abgießen der Mutterlauge möglich ist, wobei jedoch zum Nachspülen nur das gerade nötige Minimum von 85-proz. Alkohol genommen werden darf<sup>1)</sup>; die völlig reine Substanz krystallisiert dann auch aus 94-proz. Alkohol bei langsamer Verdunstung; die lufttrocknen Krystalle behalten im Vakuum über Schwefelsäure ihren Glanz ohne Gewichtsverlust; Schmp. 93°.

0.1517 g vak.-tr. Sbst.: 0.3828 g CO<sub>2</sub>, 0.1206 g H<sub>2</sub>O.

C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 68.53, H 8.63.

Gef. » 68.84, » 8.90.

Da die Digitogensäure ein mit Hydroxylamin reagierendes Carbynyl enthält, vermutete ich anfänglich das Vorliegen eines Ketons; das neue Produkt liefert aber kein Oxim. Dagegen wird es durch längeres Erhitzen mit 20 Vol.-Tln. 85-proz. Alkohol nebst berechneter Menge *n*-Kalilauge (am Rückfluß) glatt verwandelt in ein Kaliumsalz, dessen entsprechend konzentrierte wäßrige Lösung<sup>2)</sup> (nach Verjagung des Alkohols) mit Chlorbarium einen Gallert-Niederschlag gibt, der sich über Nacht in dicke kugelige Massen (ohne sicher erkennbare Einzelstruktur) umwandelt und dann leicht filtrierbar ist, während der analog erzeugte Magnesium-Niederschlag (ursprünglich ebenfalls Gallerte) sich langsam zu dichten Nadelwäzchen umformt. Die Verbindung C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub> ist demnach ein Lacton; sie ist sehr leicht löslich in Aceton, Benzol, Essigäther, sehr schwer in Petroläther, mit Wasserdampf nicht leicht, aber merklich flüchtig und der gefundene Schmp. 93° weicht von Willstätters Angabe 103° für das Lacton der  $\gamma$ -Oxy-cyclo-heptan-carbonsäure (l. c.) deshalb nicht allzusehr ab, weil Willstätter ausdrücklich beifügt »zuvor erweichend«. Mißlungen ist mir nur das l. c. empfohlene »Umkrystallisieren aus Gemischen von Benzol und Ligroin durch starkes Abkühlen«, was aber an dem Mangel bestimmter Verhältnis-Angaben liegen mag. Willstätter besitzt leider kein Vergleichsmaterial mehr, so daß sein Lacton jetzt neu aus Anhydro-ekgonin darzustellen ist. Von besonderem Interesse war mir

<sup>1)</sup> 50-proz. Alkohol ist zum Nachspülen unbrauchbar, er erzeugt in der Mutterlauge sofort einen amorphen Niederschlag; er leistet aber sehr gute Dienste, um aus der Mutterlauge noch eine weitere Krystallisation zu gewinnen: Die Mutterlauge liefert nämlich bei freiwilliger Verdunstung immer neben relativ wenig Krystallen viel amorphes Material; sättigt man sie aber allmählich (recht vorsichtig!) mit 50-proz. Alkohol, so entsteht in 12—24 Stunden (namentlich nach Impfung) eine reichliche zweite Krystallisation.

<sup>2)</sup> Genauere Angaben werden später folgen.

(auch wegen des Vergleichs mit der Digitogensäure) vorläufig die Feststellung, daß mein Lacton stark linksdrehend ist: 0.3574 g Sbst. in 14 ccm 94-proz. Alkohol im 2-dm-Rohr,  $\alpha = -4.06^\circ$ , folglich  $[\alpha]_D = -79.5^\circ$ ; in Willstätters Substanz werden ja die beiden am Lactonring beteiligten  $>C-H$  asymmetrischen Charakter haben<sup>1)</sup>.

II. Säure. Der nach obiger Angabe gewonnene Äther-Rückstand wird in nur 1.5 Tln. 85-proz. Methylalkohol durch schwaches Erwärmen (am Rückfluß) gelöst, worauf sich bald Krystallkörner zeigen, die sich über Nacht (unter Schutz vor Verdunstung) zu einem dicken Brei von derben Nadeln oder dünnen Säulen vermehren; man saugt ab und wäscht mit dem Minimum von 85-proz. Methylalkohol nach. Die Mutterlauge liefert nach vorsichtiger Sättigung mit 50-proz. Methylalkohol in 2 Tagen noch eine starke 2. Krystallisation. Noch besser scheint aber folgendes Verfahren zu sein (welches noch der zahlenmäßigen Ausarbeitung bedarf): Der ursprüngliche amorphe Ätherrückstand wird in Eisessig aufgenommen (kalt) und diese Lösung langsam mit 30-proz. Essigsäure gesättigt, wodurch sehr hübsche und namentlich ausgiebige Krystallisation, wenn auch langsam (in mehreren Tagen), erzielt wird. Die amorphe vakuumtrockene Säure (der rohe Äther-Rückstand) wird beim Reiben in sehr unangenehmer Weise stark elektrisch, die krystallisierte, reine dagegen nicht.

0.7056 g lufttr. Sbst. im Vakuum über Schwefelsäure langsam 0.0206 g  $H_2O$ . — 0.1391 g vak.-tr. Sbst.: 0.3347 g  $CO_2$ , 0.1051 g  $H_2O$ .

$C_{20}H_{32}O_6 + \frac{1}{2}H_2O$ . Ber.  $H_2O$  2.39. Gef.  $H_2O$  2.92.

$C_{20}H_{32}O_6$ . Ber. C 65.18, H 8.76.

Gef. » 65.64, » 8.45<sup>2)</sup>.

Die Säure schmilzt bei  $112^\circ$ , sie ist in Wasser auch beim Erhitzen fast unlöslich, gemäß Titration einbasisch, ferner linksdrehend, auffallender Weise gleich dem Lacton (I): 0.2457 g vak.-tr. Säure + ber. *n*-KOH, verdünnt auf 16 ccm im 1-dm-Rohr,  $\alpha = -1.225^\circ$ , gef.  $[\alpha]_D = -79.8^\circ$ . Die Alkalisalzlösungen in Verdünnung 1:40 geben mit Chlorbarium einen voluminösen amorphen Niederschlag, desgleichen mit Zinksulfat, eine schwächere aber ebenfalls amorphe Fällung mit Chlorcalcium; diese Niederschläge bleiben innerhalb

<sup>1)</sup> Anmerkung bei der Korrektur (16. Dez.): Ganz neue Beobachtungen lassen es möglich erscheinen, daß die Formel des Lactons etwas abzuändern ist, so daß obige Identitätsfrage in Wegfall käme; die experimentelle Erledigung macht aber noch einige Schwierigkeiten.

<sup>2)</sup> Die gefundenen Werte würden besser stimmen auf  $C_{20}H_{30}O_6$  mit C 65.54, H 8.25; dann müßte aber die Digitogensäure wohl auch 2 H weniger enthalten, was noch geprüft werden soll.

24 Stunden unverändert; im Gegensatze hierzu ballt sich der zuerst ebenfalls gallertartige Magnesium-Niederschlag rasch zusammen, indem anscheinend sternförmig angeordnete Blätter entstehen; in weit schönerer Form erhält man aber das Magnesiumsalz nach dem kürzlich<sup>1)</sup> für digitogensaures Magnesium festgelegten Verfahren: 1 Tl. trockenes Magnesiumsalz (der neuen Säure) in 10 Vol.-Tln. Methylalkohol kalt gelöst, dann allmählich mit etwa 12 Tln. Wasser vermischt liefert langsam Warzen von breiten Blättern; diese abgesaugt, mit etwas 30-proz. Methylalkohol gewaschen, nehmen an der Luft sehr langsam (in 2—3 Tagen) konstantes Gewicht an.

0.2014 g lufttr. Subst. bei 100° rasch 0.0245 g H<sub>2</sub>O, dann 0.0095 g MgO.

(C<sub>20</sub>H<sub>31</sub>O<sub>6</sub>)<sub>2</sub>Mg + 6H<sub>2</sub>O. Ber. H<sub>2</sub>O 12.46, Mg 2.80.

Gef. » 12.16, » 2.84.

Da die Ausbeute an reiner krystallisierter Säure ursprünglich nicht recht stimmte zu der oben gegebenen Spaltungsgleichung, habe ich die bei der Reinigung anfallende Mutterlauge nochmals 3 Stunden mit 2-proz. Salzsäure (wie ursprünglich) erhitzt und gefunden, daß hierbei tatsächlich neuerdings ein gewisser Prozentsatz von Lacton abgespalten wird; es dürfte also gleich anfänglich eine Erhitzungsdauer von 5—6 Stunden zu nehmen sein. Die Hydrolyse erfolgt also ziemlich langsam. Mancher frühere Mißerfolg wird aber jetzt recht gut begreiflich; so z. B. muß das Verfahren von Clemmensen bei direkter Anwendung auf die Digitogensäure nach obigen Erfahrungen unbedingt zu einem schwer entwirrbaren Gemenge führen, während es vielleicht gut anwendbar sein wird auf die Säuren C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>O<sub>6</sub>.

Möglich wäre endlich noch, daß diesen neuen Erfahrungen eine allgemeinere Bedeutung zukommt. Bei manchem anderen Glykosid-Genin, das sich bisher einer genaueren Aufklärung schwer zugänglich erwies, dürfte vielleicht eine analoge Verarbeitung angezeigt sein. Freilich wird dabei andererseits mit der Möglichkeit zu rechnen sein, daß in einzelnen Fällen bei langem Erhitzen mit starken Säuren, selbst wenn diese ziemlich verdünnt sind, Umlagerungen innerhalb der Moleküle eintreten können — ein Nachteil, der aber vorläufig gering einzuschätzen ist gegenüber dem großen Vorteile, solchen »verschmutzten«<sup>2)</sup> Substanzen beikommen zu können.

<sup>1)</sup> B. 51, 1620 [1918].

<sup>2)</sup> Vergl. Ar. 251, 582 Anm. [1913].