

stehengelassen. Nach einigen Stunden hatte sich erst ein geringer Teil umgesetzt, nach 4 Tagen war aber nur mehr Acetonid nachweisbar. Die Lösung wurde darauf mit Amberlite IRA 410 durch Schütteln entsäuert und anschließend i. Vak. zur Trockne eingedampft. Aus Aceton/Petroläther wurden wenige Kristalle erhalten, die bei 261° schmolzen. Die schlechte Ausbeute scheint durch die Adsorption an den Ionenaustauscher bedingt zu sein.

Zur Verseifung nach Sneed und Turner⁵⁾ löst man XI bzw. X in heißem Eisessig ($t = 0$ Min.) und trägt sofort einen Tropfen auf einen Papierstreifen auf ($t = 1$ Min.), verdünnt kalt mit der gleichen Menge Wasser ($t = 3.5$ Min.), trägt nach 5 Min. nochmals einen Tropfen auf und entwickelt. Das Papierchromatogramm zeigt im ersten Fall etwa 5–10% der Verbindung XII neben unverändertem XI an, aber bereits nach 5 Min. sind nur mehr 5% Acetonid vorhanden, während der Rest hydrolysiert ist. Die Mengen wurden aus der Intensität der Farbflecke im Papierchromatogramm nach dem Einsprühen mit dem Reagens nach Kedde geschätzt. Obwohl nun zum Lösen des Aceton-ouabagenins (X) in Eisessig längeres Kochen erforderlich ist, zeigt das Chromatogramm bei gleicher Arbeitsweise, wie oben angegeben, nach dem Verdünnen mit Wasser noch etwa 50% Acetonid an, erst nach längerem Stehenlassen tritt völlige Hydrolyse ein.

222. Rudolf Tschesche und Gernot Grimmer: Über pflanzliche Herzgifte, XXX. Mittel.¹⁾: Neue Glykoside aus den Blättern von *Digitalis purpurea* und *Digitalis lanata*

[Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg]

(Eingegangen am 27. Juni 1955)

Aus den Blättern von *Digitalis purpurea* und *Dig. lanata* wurde Strosprosid isoliert. Ferner findet sich hier neben dem bekannten Diginin das cardiotonisch unwirksame Digifolein $C_{28}H_{40}O_8$, das ebenfalls D-Diginose enthält. Nur aus *Dig. purpurea* konnte herzunwirkendes Digipurpurin, $C_{39}H_{64}O_{14}$, isoliert werden. Bei der Säurespaltung gab es 3 Moll. D-Digitoxose und ein Anhydrogenin $C_{21}H_{32}O_4$, das durch Verlust einer Oxygruppe aus dem wahren Aglykon Digipurpurogenin $C_{21}H_{34}O_5$ entstanden war. In *Dig. lanata* wurde unter den stärker wasserlöslichen Glykosiden eine weitere Verbindung in Form des Heptaacetates $C_{36}H_{54}O_{14}$ (C_2H_2O)₇ aufgefunden, welche die Bezeichnung Glucogitofucosid erhielt. In ihr ist Gitoxigenin mit Fucose und Glucose verknüpft. Es konnte festgestellt werden, daß sich Digitalinum verum in den Blättern von *Dig. lanata* acetylfrei findet.

Bei Arbeiten, welche die Isolierung des 1948 von japanischer Seite beschriebenen „Digicorin“ zum Ziele hatten²⁾, waren wir in den Blättern von *Dig. lanata* auf mehrere neue Glykoside gestoßen, von denen wir zunächst Gitorin beschrieben haben³⁾. Dieses Glykosid ist inzwischen von M. Ishidate und M. Okada⁴⁾ auch in den Blättern von *Dig. purpurea* nachgewiesen worden. In einer weiteren Arbeit haben diese Autoren die Angaben über die Isolierung von „Digicorin“ widerrufen⁵⁾. Inzwischen erschienen zwei Ar-

¹⁾ XXIX. Mittel.: R. Tschesche u. G. Snatzke, Chem. Ber. 88, 1558 [1955].

²⁾ K. Tamura, Y. Kobayashi u. K. Tokita, Jap. J. med. Sci. 1, 206 [1948].

³⁾ R. Tschesche, G. Grimmer u. F. Neuwald, Chem. Ber. 85, 1103 [1952].

⁴⁾ Pharmac. Bull. Jap. 1, 304 [1953].

⁵⁾ M. Ishidate, M. Okada u. Y. Sasakawa, Pharmac. Bull. Jap. 1, 186 [1953].

beiten von K. B. Jensen⁶⁾ sowie von E. Habermann, W. Müller und A. Schreglmann⁷⁾, in denen darauf hingewiesen wird, daß sowohl in *Dig. purpurea* wie *Dig. lanata* noch weitere unbekannte Glykoside existieren müssen, wie sich aus dem Auftreten von Flecken bei der Papierchromatographie ergibt, die keinen bekannten Verbindungen zugeordnet werden können. Wir hatten solche bei dem von uns beschriebenen Verfahren der „echten Verteilungschromatographie an Papier“ ebenfalls beobachtet¹⁾ und haben begonnen, diese nicht bekannten Inhaltsstoffe zu isolieren. Die Veröffentlichungen von K. B. Jensen⁶⁾ sowie zwei uns soeben zur Kenntnis gekommene Arbeiten von D. Satoh, K. Yoshida, H. Ishii und Y. Nishimura⁸⁾ zwingen uns, diese Ergebnisse schon jetzt bekanntzugeben, obwohl unsere Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind.

Aus dem in Chloroform löslichen Anteil des Glykosid-Gemisches von *Dig. purpurea* gelang es, neben dem schon von W. Karrer⁹⁾ beschriebenen Diginin, $C_{28}H_{40}O_7$, zwei weitere Glykoside zu isolieren, von denen das eine sich als identisch mit Strospezid (*Desglucodigitalinum verum*) (I) erwies.

Strospezid (Gitoxigenin-digitalosid) wurde zuerst von W. Rittel, A. Hunger und T. Reichstein¹⁰⁾ durch enzymatische Hydrolyse von *Digitalinum verum* erhalten und später auch in den Samen von *Strophanthus speciosus*¹¹⁾ und *Stroph. Boivinii* Baill.¹²⁾ beobachtet. Es findet sich in den Blattextrakten in Mengen, die fast die Hälfte des Digitoxingehaltes ausmachen (im Verodigen*) ca. 10%). Ob und in welchen Mengen es sich in Blättern findet, die sicher vor Selbstfermentation bewahrt blieben, ist eine offene Frage. Prof. K. B. Jensen, Oslo, dem wir eine Probe des Glykosides sandten, teilte uns mit, daß es mit seiner Substanz *a* identisch wäre⁸⁾, und daß er die Verbindung in 25 von ihm untersuchten *Digitalis*-Mustern durchschnittlich in einer Menge von etwa 10% des Totalglykosidgehaltes beobachtet hätte. In etwas geringerer Menge fanden wir Strospezid in den Blättern von *Dig. lanata*. In zwei Arbeiten von Satoh und Mitarbb.⁸⁾ wird ebenfalls über ein Glykosid aus den Blättern von *Dig. purpurea* berichtet, daß die Autoren als Strospezid identifizieren.

Wir isolierten ferner aus den Blättern von *Dig. purpurea* und *Dig. lanata* in einer Menge von ca. 1% der Gesamtglykoside ein bisher nicht beschriebenes cardiotonisch unwirksames Glykosid, das sich vom Diginin durch einen Mehrgehalt von einem O-Atom unterscheidet, und dem wir die Bezeichnung Digifolein geben wollen (im Verodigen ca. 2%). Es hat die Zusammensetzung $C_{28}H_{40}O_8$, Schmp. 205–210°, $[\alpha]_D^{20}$: $-189^\circ \pm 8^\circ$ (Methanol). Wie Diginin lieferte es bei der Säurespaltung D-Diginose. Da Digifolein wie auch Diginin eine relativ hohe negative Drehung aufweist, scheint uns ein chemischer Zusammenhang zwischen ihnen außerordentlich wahrscheinlich. Digifolein zeigt im UV eine Absorption bei 309 m μ , $\log \epsilon = 1.94$. Anscheinend die gleiche Verbindung haben Satoh und Mitarbb.⁸⁾ aus den Blättern von *Dig.*

⁶⁾ Acta pharmacol. toxicol. [Köbenhavn] **9**, 275 [1953].

⁷⁾ Arzneimittelforsch. **3**, 30 [1953].

⁸⁾ Pharmac. Bull. Jap. **1**, 305, 396 [1953].

⁹⁾ Festschr. E. C. Barell, Basel 1936, 238.

¹⁰⁾ Helv. chim. Acta **35**, 434 [1952].

¹¹⁾ O. Schindler u. T. Reichstein, Helv. chim. Acta **35**, 442 [1952].

¹²⁾ O. Schindler u. T. Reichstein, Helv. chim. Acta **35**, 673 [1952].

*) Handelspräparat der Firma C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim-Waldhof, aus den Blättern von *Dig. purpurea*.

purpurea isoliert. Ihre Angaben stimmen hinsichtlich der Konstanten annähernd mit unseren Befunden überein (Schmp. 196–204°, $[\alpha]_D^{20}$: –169° (Methanol), λ_{\max} 310 m μ , $\log \epsilon = 2.01$), doch nehmen sie eine andere Summenformel, C₃₂H₄₈O₉, an, die unseres Erachtens aber nicht zutreffend sein kann. Der von ihnen angegebene Methoxylgehalt der Verbindung dürfte auf die Diginose zurückgehen*). Mit alkalischer 3.5-Dinitro-benzoesäure (Kedde-Reaktion) gibt Digifolein die gleiche dunkelblauviolette Farbreaktion wie Diginin. Digifolein fanden wir als Verunreinigung (ca. 10–15 %) auch in einem Diginin-Präparat der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, das uns zur Verfügung gestellt worden war**). Nach Abtrennung des Digifoleins erhielten wir aus diesem Präparat Diginin mit einer Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: –172° ± 3° (Methanol), wie sie von W. Karrer⁹⁾ ($[\alpha]_D^{20}$: –176° (Äthanol)) beschrieben worden ist. Dagegen beobachteten C. W. Shoppee und T. Reichstein¹³⁾ $[\alpha]_D^{20}$: –223° ± 4° (Chlf.). Den Schmp. geben diese Autoren für Diginin zu 156–183° an, während wir 193–196° fanden; Karrer gibt keinen Schmp. an. Bei der sauren Hydrolyse liefert Digifolein auch unter vorsichtigsten Bedingungen nur ein amorphes Aglykon, das bisher nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte.

Nur aus den Blättern von *Dig. purpurea* konnten wir als weiteres, nicht beschriebenes Glykosid Digipurpurin der wahrscheinlichen Zusammensetzung C₃₉H₆₄O₁₄ isolieren. Bei der Hydrolyse mit Säuren zerfällt es in 3 Moll. D-Digitoxose und ein kristallines Aglykon Anhydro-digipurpurogenin, C₂₁H₃₂O₄. Die Verbindung dürfte ein Wasserabspaltungsprodukt des wahren Genins Digipurpurogenin, C₂₁H₃₄O₅, sein. Digipurpurin zeigt einen Schmp. von 277–281°, $[\alpha]_D^{20}$: +25°, das Anhydrogenin den Schmp. 228–235°, $[\alpha]_D^{20}$: +8° (Methanol). Auch dieses Glykosid ruft an der Katze bis 4.572 mg/kg keine cardiotonische Wirkung hervor***). Es reduziert Triphenyl-tetrazoliumchlorid wie Diginin und Digifolein und zeigt eine sehr schwache Reaktion mit alkalischer 3.5-Dinitro-benzoesäure. Auf dem Papier entsteht beim Besprühen mit Antimontrichlorid-Lösung eine blauviolette Färbung, die vor allem auf den Digitoxose-Teil der Molekel zurückgeht. Der Gehalt in den Blättern von *Dig. purpurea* dürfte etwa 6–10 % des Gesamtglykosidgehaltes (etwa die Hälfte vom Digitoxin) ausmachen (im Verodigen ca. 8 %). Digipurpurin ist dem Digitoxin im chromatographischen Verhalten ähnlich, und es scheint nicht ausgeschlossen,

*) Anm. b. d. Korr.: Wir sandten Herrn Dr. Satoh eine Probe unseres Digifoleins, und er teilte uns mit, daß die Verbindung mit seinem Kristallinat A identisch wäre. Er konnte inzwischen ebenfalls die D-Diginose in dem Glykosid nachweisen und schließt sich unserer Formel an. Er machte uns darauf aufmerksam, daß T. Reichstein und K. Mohs (Pharmac. Acta Helvetiae 24, 246 [1949]) schon ein sehr ähnliches Glykosid der angeblichen Zusammensetzung C₃₂H₄₈O₉ aus Samen von *Dig. purpurea* isolierten, aber nicht eingehender untersuchten. Mit seiner Antwort erhielten wir die Probe eines neu aus Blättern gewonnenen Kristallisates D, das sich beim Vergleich als ein noch geringförmig verunreinigtes Digipurpurin erwies.

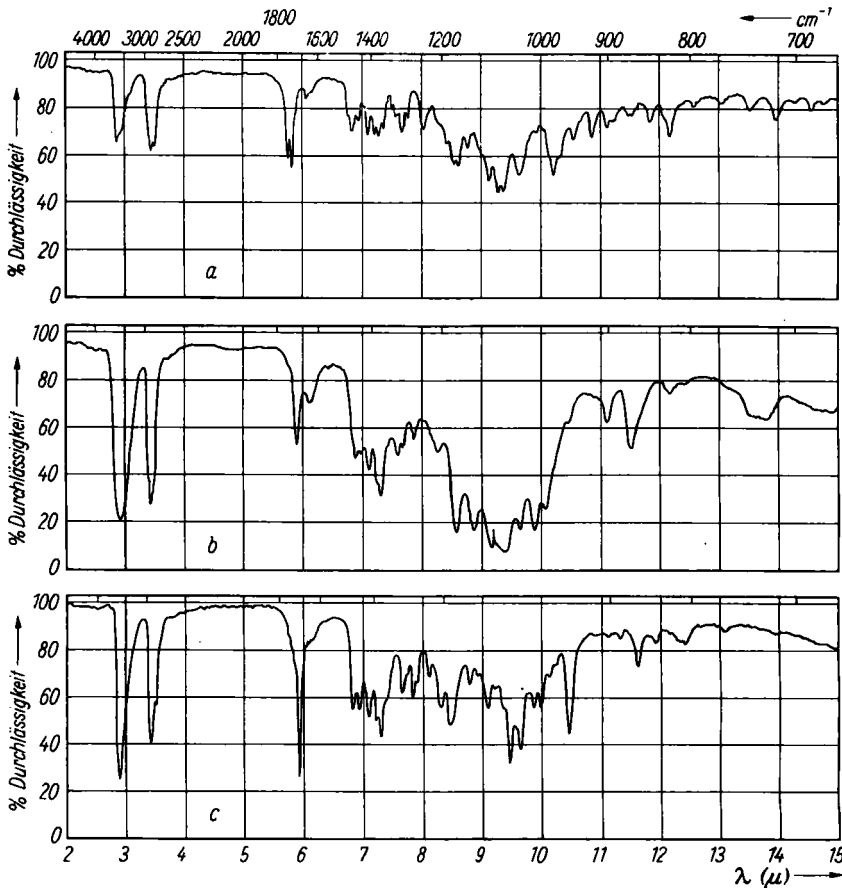
***) Wir möchten der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, dafür auch hier unseren Dank ausdrücken.

¹³⁾ Helv. chim. Acta 23, 975 [1940].

***) Wir danken Hrn. Dr. K. K. Chen, Indianapolis, vielfach auch an dieser Stelle für seine Untersuchung.

daß die unterschiedliche cardiotonische Aktivität von Digitoxinpräparaten des Handels nicht allein auf eine Beimischung von Gitoxin, sondern auch von Digipurpurin zurückgeht*).

Es ergibt sich somit, daß sich in Digitalis-Blättern neben dem bekannten C_{21} -Genin Diginigenin, $C_{21}H_{28}O_4$, noch wenigstens zwei weitere Aglykone dieses Typs in Form von Glykosiden finden, nämlich Digifologenin $C_{21}H_{28}O_5$ und Digipurpurogenin $C_{21}H_{34}O_5$. Sie dürften sich ebenfalls vom Pregnan oder Allopregnan ableiten, wie dies für Diginigenin nachgewiesen worden ist¹⁴). Alle drei Verbindungen scheinen eine Ketogruppierung zu enthalten, wie sich aus dem positiven Ausfall der TTC-Reaktion schließen läßt, die auch mit Pregnantrion-(3.12.20)-ol-(21)-acetat positiv ist. Eine Ketogruppe läßt sich in ihnen auch aus dem IR-Spektrum entnehmen (s. Abbild.). Auffällig bleibt jedoch, daß Digipurpurogenin nur



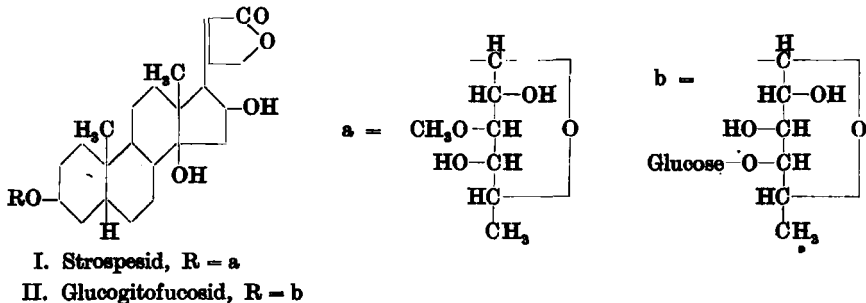
IR-Spektren. a) Digifolein, b) Digipurpurin, c) Anhydro-digipurpurogenin; gemessen in Kaliumbromid

*) Vergl. Z. Kanda u. A. Sekiya, Jap. J. Pharmacol. 4, 10 [1954].

¹⁴) J. Press u. T. Reichstein, Helv. chim. Acta 30, 2127 [1947].

eine sehr schwache Kedde-Reaktion gibt, auch reagiert es nicht mit Perjodsäure und zeigt nicht die hohe negative Drehung der anderen beiden C_{21} -Derivate. Bemerkenswert ist weiter die UV-Absorption des Digifoleins bei 309 μ (Methanol), die möglicherweise einen Hinweis auf eine Aldehydgruppe in der Molekel darstellt. Strophanthidin (Ring A/B *cis*) absorbiert bei 303 μ , $\log \epsilon = 1.45^{15}$), während Gofrusid (Ring A/B *trans*) bei 310 μ , $\log \epsilon = 1.51$, ein Maximum aufweist¹⁶⁾.

Aus den stark wasserlöslichen Fraktionen der Glykoside der Blätter von *Dig. lanata* konnten wir in den Kammern der Gegenstromverteilung, die zur Hauptsache Digitalinum verum ergeben hatten³⁾, in geringer Menge ein ähnlich gebautes Glykosid isolieren, dem wir die Bezeichnung Glucogitofucosid (II) geben wollen. Die Verbindung liefert ein gut kristallisiertes Heptaacetat $C_{35}H_{54}O_{14}$ ($7C_2H_2O$), Schmp. 153–154°, $[\alpha]_D^{20} = -2^\circ$. Bei der Hydrolyse zerfällt II in Dianhydro-gitoxigenin, Fucose und Glucose. Im Papierchromatogramm läßt es sich im Gemisch Octanol-Pentanol-Wasser-Formamid 6:2:1:4 nicht vom Digitalinum verum unterscheiden. Jedoch ist das Acetat im Gemisch Benzol-Äther löslicher als das vom Digitalinum verum. Die Reinigung durch fraktionierte Kristallisation wurde durch Bestimmung der bei der Hydrolyse mit Säure anfallenden Zucker kontrolliert und in dem genannten Lösungsmittel solange fortgesetzt, bis ein Gehalt an Digitalose im Präparat nicht mehr nachzuweisen war. Die Zucker wurden nach einer Variation der Methode von O. Lüderitz und O. Westphal¹⁷⁾ bestimmt (siehe Versuchsteil).



Die Anordnung der Glucose im Glucogitofucosid ist nicht gesichert, die Formulierung II erfolgt in Analogie zur Konstitution des Digitalinum verum, wie sie von Ritter, Hunger und Reichstein¹⁰⁾ angenommen wird.

In einer früheren Arbeit haben R. Tschesche, G. Grimmer und F. Neuwald³⁾ berichtet, daß Digitalinum verum in den Blättern von *Dig. lanata* teilweise als Monoacetat vorliegen soll. Diese Frage wurde erneut untersucht, da Zweifel an der Richtigkeit der damaligen Acetylbestimmung aufgetaucht waren, nachdem sich Acetylbestimmungen eines Mikroanalytischen Laboratoriums in einem anderen Falle als falsch herausgestellt hatten. Die Unrichtigkeit der Analyse bestätigte sich auch in diesem Fall, so daß sich Digitalinum verum als solches und nicht acetyliert in den Blättern findet.

¹⁵⁾ W. D. Paist, E. R. Blout, F. C. Uhle u. R. C. Elderfield, *J. org. Chemistry* **6**, 273 [1941]; J. Fried, R. G. Linville u. R. C. Elderfield, *J. org. Chemistry* **7**, 362 [1942].

¹⁶⁾ A. Hunger u. T. Reichstein, *Helv. chim. Acta* **35**, 1073 [1952].

¹⁷⁾ *Z. Naturforsch.* **7 b**, 548 [1952].

R_F -Werte der Glykoside in Octanol-Pentanol-
Wasser-Formamid¹⁸⁾

	6:2:1:4	6:2:8:2
1. Digitoxin	0.27	
2. Digipurpurin	0.46	
3. Lanatosid	mit der Front	0.66
4. Strospesid	„ „ „	0.70
5. Diginin	„ „ „	0.45
6. Digifolein	„ „ „	0.88

Die R_F -Werte der Glykoside 1–4 wurden auf dem Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043a bestimmt und sind direkt vergleichbar, nicht jedoch von 5 und 6, die mit dem Papier Schleicher & Schüll Nr. 2043b ermittelt wurden. Angefärbt wurden die Glykoside mit Antimontrichlorid-Lösung (20-proz.) in Chloroform.

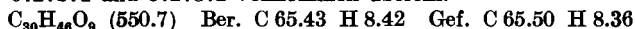
Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft auch an dieser Stelle für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit und der eine von uns (G. Grimmer) für das gewährte Stipendium. Von der Firma P. Beiersdorf & Co., Hamburg, erhielten wir Mutterlaugen der Pandigal-Fabrikation, die für die Isolierung der erwähnten Glykoside aus *Dig. lanata* verwendet wurden. Von der Firma C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim-Waldhof, wurde uns Verodigen zur Verfügung gestellt, das aus den Blättern von *Dig. purpurea* gewonnen wird. Beiden Firmen sei auch hier vielmals für die gewährte Hilfe gedankt.

Beschreibung der Versuche

Strospesid aus *Digitalis lanata*: Als Ausgangsmaterial dienten die Ablaugen der Pandigal-Fabrikation der Firma P. Beiersdorf & Co., Hamburg, und zwar der bevorzugt chloroformlösliche Teil³⁾. Er wurde i. Vak. getrocknet und enthielt nach einer kolorimetrischen Bestimmung mit alkalischer 3,5-Dinitro-benzoesäure (Reagens nach Kedde) ca. 30% an Cardenolid-Derivaten.

11 g dieses Rückstandes wurden mit 150 ccm Pyridin und 250 ccm Acetanhydrid 4 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung konnten 15 g säurefreien Trockenrückstandes erhalten werden. Sie wurden in 90 ccm Benzol gelöst und an einer Säule, gefüllt mit 300 g Aluminiumoxyd (stand., Teilchengröße 0.085 bis 0.10 mm), chromatographiert. Als Lösungsmittel wurden benutzt: Benzol, Benzol-Chloroform (1:1), Chloroform und Chloroform + 1% Methanol. Jedes Lösungsmittel wurde in 3 Fraktionen zu je 750 ccm angewendet. Alle unten ablaufenden Fraktionen wurden papierchromatographisch untersucht¹⁸⁾.

Die Fraktionen 3 und 4 (1.051 g) wurden zusammengefaßt und in der üblichen Weise mit Hydrogencarbonat verseift. 0.464 g des entacetylierten Produktes wurden erneut an 14 g Aluminiumoxyd der oben angegebenen Teilchengröße chromatographiert. Eluiert wurde mit reinem Chloroform. Die ablaufenden Fraktionen 1–4 (je 50 ccm) enthielten als einziges Herzgift Strospesid vom Schmp. 249–252°, das aus Aceton-Äther-Petrol-äther leicht kristallisierte; $[\alpha]_D^{20}$: +18° ± 2° (Methanol); Ausb. aus den eingesetzten 0.464 g etwa 150 mg. Der Misch-Schmp. mit authent. Strospesid zeigte keine Depression, ferner stimmten die R_F -Werte in den Lösungsmittelgemischen Octanol-Pentanol-Formamid-Wasser 6:2:1:4 und 6:2:8:2 vollkommen überein.



Strospesid aus *Digitalis purpurea*: 5 g Verodigen (Digitalispräparat der Firma C. F. Boehringer & Söhne) wurden in 50 ccm Benzol-Chloroform (1:1) gelöst und an 100 g Aluminiumoxyd der Korngröße 0.085–0.10 mm chromatographiert. Das Al_2O_3 wurde mit dem gleichen Lösungsmittel-Gemisch in die Säule eingeschlämmt. Aufgefangen wurden je 250 ccm Durchlauf. Die nachfolgende Tafel gibt die Mengen der erhaltenen Glykoside in den einzelnen Fraktionen wieder:

¹⁸⁾ R. Tschesche, G. Grimmer u. F. Seehofer, Chem. Ber. 86, 1235 [1953].

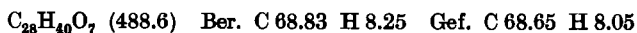
1. Benzol-Chloroform 1:1	100 mg	Sirup, Rückstand, Reaktion nach Kedde, sehr schwach positiv
2. „	1:1	370 mg Kedde-Reaktion, negativ
3. „	1:1	278 mg Gitoxigenin, Diginin
4. „	1:1	220 mg 10 Tle. Gitoxigenin, 1 Tl. Strospesid, 1 Tl. Digifolein
5. Chloroform	800 mg	4 Tle. Gitoxigenin, 3 Tle. Strospesid, 3 Tle. Digitoxin
6. „	269 mg	1 Tl. Gitoxigenin, 5 Tle. Strospesid, 8 Tle. Digitoxin
7. „	116 mg	5 Tle. Strospesid, 7 Tle. Digitoxin
8. „	97 mg	5 Tle. Strospesid, 4 Tle. Digitoxin
9. „	74 mg	8 Tle. Strospesid, 1 Tl. Digitoxin
10. Chloroform + 1% Methanol		386 mg	1 Tl. Strospesid, 8 Tle. Gitoxin
11.-13. Chloroform + 1% Methanol		532 mg	Gitoxin, neben Digipurpurin
14.-17. Chloroform + 2% Methanol		1181 mg	Gitoxin
18.-21. Chloroform + 10% Methanol		322 mg	Gitoxin

Die erhaltenen Mischfraktionen wurden in geeigneter Weise zusammengefaßt und erneut in gleicher Weise chromatographiert, bis die einzelnen Komponenten einheitlich waren.

Säurespaltung des Strospesids: 0.25 mg Substanz wurden in 0.5 ccm Methanol gelöst und mit dem gleichen Volumen 0.2 n HCl versetzt. Es wurde 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde der Alkohol i. Vak. bei Raumtemperatur entfernt, zum Rückstand 1 ccm Wasser hinzugegeben und $\frac{1}{4}$ Stde. nachhydrolysiert. Nach Neutralisation mit Natriumhydrogencarbonat wurde das entstandene Genin mit zweimal 1 ccm Chloroform ausgeschüttelt und die verbliebene Lösung i. Vak. zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit 1 ccm Äthanol extrahiert und diese Operation wiederholt. Der Extrakt ergab nach Entfernung des Alkohols einen Rückstand, der aus Aceton/Äther in Nadeln kristallisierte. Die Kristalle schmolzen bei 115–120° und zeigten in Butanol-Wasser-Pyridin (3:3:1) auf dem Papier Schleicher & Schüll 2043a den gleichen R_F -Wert wie authentische Digitalose.

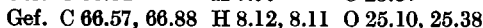
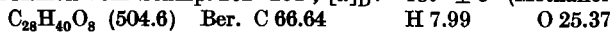
Der Chloroformextrakt der Spaltung lieferte beim Eindampfen einen Rückstand, der das charakteristische UV-Spektrum des Dianhydro-gitoxigenins zeigte. Bei der Papierchromatographie in Octanol-Pentanol-Wasser-Formamid (6:2:1:4) wurde der R_F -Wert des Dianhydro-gitoxigenins erhalten, daneben ließ sich auch noch etwas Gitoxigenin nachweisen.

Diginin: Dieses Glykosid wurde aus der Fraktion 3 durch weitere Reinigung mit Hilfe der Chromatographie an Aluminiumoxyd (vergl. Strospesid aus *Dig. purpurea*) erhalten. Es bildete aus Methanol/Äther kurze Prismen vom Schmp. 193–196°, $[\alpha]_D^{20}$: $-172 \pm 10^\circ$ (Methanol).



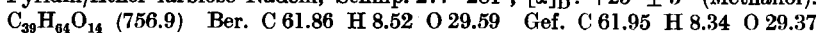
Bei der Spaltung mit Säure (0.05 n HCl) (5 Min. bei 80°) entstand als einziger Zucker Diginose, die papierchromatographisch durch Vergleich mit authent. Diginose (aus Adynerin) identifiziert wurde (Lösungsmittel Butanol-Pyridin-Wasser 3:1:2 und Essigester-Pyridin-Wasser 2:1:2).

Digifolein: Dieses Glykosid wurde aus der Fraktion 4 durch mehrmalige sorgfältige Chromatographie an Aluminiumoxyd der oben angegebenen Korngröße erhalten. Es bildete breite Prismen vom Schmp. 202–204°, $[\alpha]_D^{20}$: $-189 \pm 8^\circ$ (Methanol).



Bei der Spaltung mit 0.05 n HCl, 15 Min. bei 75°, ließ sich als einziger Spaltzucker Diginose papierchromatographisch nachweisen. Es gelang nicht, das Genin selbst oder sein Acetat oder Benzoat zu kristallisieren.

Digipurpurin: Dieses Glykosid wurde aus den Fraktionen 11–13 durch mehrmalige Chromatographie an Aluminiumoxyd der erwähnten Korngröße rein erhalten. Es bildet aus Pyridin/Äther farblose Nadeln, Schmp. 277–281°, $[\alpha]_D^{20}$: $+25 \pm 3^\circ$ (Methanol).



Bei der Spaltung mit 5 ccm 0.2 *n* HCl (15 Min. bei 75°) ließ sich als einziger Zucker D-Digitoxose papierchromatographisch nachweisen. Aus einem Ansatz von 62 mg Glykosid ließ sich nach Ausschütteln des Aglykons mit Chloroform und Neutralisation der wäßrigen Lösung die Digitoxose kristallisiert erhalten, Schmp. 101–106°, $[\alpha]_D^{25}$: +44° (Wasser). Die Anzahl der Digitoxose-Moleküle im Glykosid wurde quantitativ mit der Keller-Kiliani-Reaktion im Vergleich mit Digitoxin, Gitoxin und Somalin kolorimetrisch bestimmt und zu 3 Digitoxose-Molekeln ermittelt.

Anhydro-digipurpurogenin: Nach dem Abdampfen des Chloroformauszuges der Säurespaltung von Digipurpurin wurde ein Kristalliat erhalten, das zunächst aus Aceton/Äther, später nur aus Aceton umkristallisiert werden konnte. Es wurden große Prismen vom Schmp. 228–235° erhalten, in einer Menge von 29 mg aus 90 mg Glykosid; $[\alpha]_D^{25}$ = +8° ± 3° (Methanol).

$C_{21}H_{32}O_4$ (348.5) Ber. C 72.38 H 9.26 Gef. C 72.68 H 9.39

Glucogitofucosid-heptaacetat aus *Digitalis lanata*: Aus den Kammern der Gegenstromverteilung³), in denen als Hauptkomponente Digitalinum verum papierchromatographisch feststellbar war, konnte Glucogitofucosid auf folgende Weise gewonnen werden:

Das Glykosidgemisch wurde in üblicher Weise mit Pyridin/Acetanhydrid acetyliert und durch Chromatographie an einer Säule von Aluminiumoxyd (Korngröße 0.08–1 mm) in eine Reihe von Fraktionen zerlegt. Diese wurden mit dem Gemisch Octanol-Pentanol-Formamid-Wasser (6:2:1:4) papierchromatographisch untersucht und alle diejenigen zusammengefaßt, in denen vorwiegend Digitalinum verum-hexaacetat nachweisbar war. Das Heptaacetat des Glucogitofucosids zeigt in diesem Gemisch einen R_F -Wert, der mit dem des Digitalinum verum-hexaacetates zusammenfällt. Das Gemisch der kristallisierten Acetate wurde durch Kristallisation aus Benzol/Äther nach dem Dreieckschema fraktioniert. In den leichter löslichen Anteilen sammelte sich das Glucogitofucosid-heptaacetat an. Seine Reinheit wurde durch Hydrolyse mit Säure kontrolliert (mit 1–2 mg) und die Reinigung solange fortgesetzt, bis in dem Kristalliat Digitalose papierchromatographisch nicht mehr nachweisbar war. Das Heptaacetat kristallisiert aus Benzol/Äther in Nadeln vom Schmp. 153–154°, $[\alpha]_D^{25}$: –2° ± 2° (Methanol).

$C_{49}H_{68}O_{21}$ (993.0) Ber. C 59.26 H 6.90 Gef. C 58.93 H 6.86

Das mit Hydrogencarbonat daraus erhaltene entacetylierte Glykosid konnte wie Digitalinum verum nicht in deutlichen Kristallen gewonnen werden.

Bei der Spaltung von 15 mg mit 0.1 *n* HCl (1 ccm Methanol und 1 ccm 0.2 *n* HCl), 60 Min. bei 85°, wurde nach Ausschütteln mit Chloroform Dianhydro-gitoxigenin erhalten, das durch Schmp. (211–213°), Misch-Schmp. und UV-Spektrum, λ_{max} 221 und 338 μ , als solches identifiziert wurde.

Der entstandene Zuckeranteil wurde papierchromatographisch untersucht und in ihm Glucose und Fucose im Verhältnis 1:1 nachgewiesen (Lösungsmittelgemisch *n*-Butanol-Pyridin-Wasser (3:1:3)). Die quantitative Bestimmung beider Zucker erfolgte mit Tetrazoliumchlorid in Anlehnung an das von O. Lüderitz und O. Westphal¹⁷⁾ angegebene Verfahren.

In Abänderung wurde zur Entwicklung der Farbflecke der mit einer Mischung von 2-proz. Tetrazoliumchlorid in Butanol und mit 1 *n* methanol. Kalilauge im Verhältnis 1:1 besprühte Papierstreifen in einen bei 80° mit Wasserdampf gesättigten Vak.-Trockenschrank eingebracht. Nach 1/2 Stde. zeigten sowohl Aldohexosen (Mannose, Galaktose, Glucose), Aldomethylosen (Rhamnose, Fucose), Pentosen (Ribose, Xylose, Arabinose) sowie Digitoxose praktisch die gleichen molaren Reduktionsäquivalente. Die Flecke wurden in gleicher Größe herausgeschnitten, die Papierstücke in eine Mischung von 4 ccm Pyridin-Salzsäure (9:1) gelegt und die erhaltene Lösung im Spektrophotometer bei 490 $m\mu$ gemessen. Empfindlichkeit: 0.018 mg Glucose (10⁻⁷ Mol) gaben so eine Extinktion von $\log_{10}^{1/1} = 0.700$, Fehlergrenze ca. 5%.