

RUDOLF TSCHESCHE und GÜNTER WULFF

Über Saponine der Spirostanolreihe, VII¹⁾

Über Digalogenin, ein neues Sapogenin aus den Samen von *Digitalis purpurea* L.

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 16. Januar 1961)

In den Samen von *Digitalis purpurea* L. wurden vier Hauptsaponine festgestellt, eines davon enthielt ein bisher unbekanntes Aglykon, das den Namen Digalogenin erhielt. Für dieses konnte die Formel eines $5\alpha,20\beta,25\alpha$ -Spirostan-diols-($3\beta,15\beta$)*) bewiesen werden.

Die Saponine aus den Samen von *Digitalis purpurea* L. gehören zu den am längsten bekannten Steroidsaponinen. Mit ihrer Strukturaufklärung haben sich vor allem H. KILIANI und A. WINDAUS befaßt. Als Hauptglykosid wurde *Digitonin*²⁾ aufgefunden, das bei der Säurehydrolyse *Digitogenin*³⁾, $C_{27}H_{44}O_5$, 2 Moll. Glucose³⁾, 2 Moll. Galaktose³⁾ und 1 Mol. Xylose⁴⁾ ergibt. Später wurde festgestellt, daß im Rohdigitonin noch ein zweites Saponin, *Gitonin*⁵⁾, enthalten ist, dessen Spaltung *Gitogenin*⁵⁾, $C_{27}H_{44}O_4$, angeblich 3 Moll. Galaktose^{6,7)} sowie ein Mol. Pentose^{6,7)} liefert.

Sowohl von H. KILIANI⁸⁾ als auch von A. WINDAUS⁹⁾ wurde das Vorliegen weiterer Nebensaponine vermutet, ohne daß jedoch definierte Verbindungen isoliert werden konnten. Schon die Trennung von Digitonin und Gitonin machte erhebliche Schwierigkeiten, zumal zu dieser Zeit keine einwandfreie Methode der Reinheitsbestimmung für diese Saponine bekannt war. A. WINDAUS⁹⁾ hatte schon bei der Oxydation des Rohdigitogenins mit Chromsäure aus dem neutralen Anteil des Oxydationsproduktes ein Diketon isoliert; er schloß daraus auf das Vorliegen eines weiteren, dem Gitogenin isomeren Sapogenins.

Die genaue Struktur des Digitogenins und des Gitogenins konnte in zahlreichen, sich über einen langen Zeitraum erstreckenden Arbeiten aufgeklärt werden⁷⁾. Danach ist Digitogenin ein $5\alpha,20\beta,25\alpha$ -Spirostan-triol-($2\alpha,3\beta,15\beta$) und Gitogenin ein $5\alpha,20\beta,25\alpha$ -Spirostandiol-($2\alpha,3\beta$). Von D. L. KLASS, M. FIESER und L. F. FIESER¹⁰⁾ konnte neuerdings auch die 25β -Form des Digitogenins aus Handelsdigitonin isoliert werden.

*) Nomenklatur nach FIESER⁷⁾.

1) VI. Mittell.: R. TSCHESCHE, H. SCHWARZ und G. SNATZKE, Chem. Ber. 94, 1699 [1961].

2) O. SCHMIEDEBERG, Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 3, 16 [1875].

3) H. KILIANI, Ber. dtsh. chem. Ges. 24, 339 [1891].

4) H. KILIANI, Ber. dtsh. chem. Ges. 59, 2463 [1926].

5) A. WINDAUS und H. SCHNECKENBURGER, Ber. dtsh. chem. Ges. 46, 2628 [1913].

6) H. KILIANI, Ber. dtsh. chem. Ges. 51, 1613 [1918].

7) L. F. FIESER, M. FIESER, Steroids, S. 810, Reinhold Publ. Corp., New York 1959.

8) Ber. dtsh. chem. Ges. 49, 706 [1916].

9) Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 150, 205 [1925].

10) J. Amer. chem. Soc. 77, 3829 [1955].

A. WINDAUS¹¹⁾ hatte 1910 festgestellt, daß Digitonin mit Cholesterin in äthanolischer Lösung eine fast unlösliche Molekülverbindung bildet. Da sich diese gut zur quantitativen Bestimmung von Cholesterin verwenden ließ, wird seitdem Digitonin von einer Reihe von Firmen hierfür in den Handel gebracht. Besonders im Hinblick auf diese Verwendung wurde wiederholt versucht, vollkommen reines Digitonin herzustellen. Da sich durch Kristallisation^{8,9)} keine vollständige Reinigung erzielen ließ, versuchten 1955 K. MIYATAKE und A. OKANO¹²⁾ sowie fast gleichzeitig G. RUHENSTROTH-BAUER und P. M. BREITENFELD¹³⁾ durch präparative Papierchromatographie Digitonin zu reinigen. Sie benutzten zur präparativen Trennung wie auch zum Reinheitsnachweis Lösungsmittelgemische aus Butanol/Wasser/Eisessig.

Die vorliegende Untersuchung wurde mit dem Ziel begonnen, reines Digitonin herzustellen, um die Natur der Zuckerverknüpfung in ihm aufzuklären. Zu diesem Zweck wurden die über eine Cholesterinfällung gewonnenen Samensaponine zunächst papierchromatographisch untersucht. Als Lösungsmittelsysteme dienten die Gemische von MIYATAKE und OKANO¹²⁾, RUHENSTROTH-BAUER und BREITENFELD¹³⁾, DUTTA¹⁴⁾ und TSUKAMOTO und Mitarbb.¹⁵⁾ sowie andere wasserhaltige Lösungsmittelgemische. Dabei ergab sich, daß die Samensaponine bei nur geringer Belastbarkeit der Systeme bestenfalls in zwei Flecke aufgetrennt werden, wie dies auch schon berichtet wurde^{12,13)}. Dagegen konnten wir mit dem Lösungsmittelsystem A¹⁶⁾ (Chloroform/Tetrahydrofuran/Pyridin (10:10:2), formamidgesättigt auf formamidimprägniertem Papier im Durchlaufverfahren) eine Auftrennung in vier Haupt- und zwei Nebenflecke erzielen. Das System A wurde nunmehr auf eine präparative Celluloseverteilungs-

Tab. 1. Aus den Samen von *Digitalis purpurea* L. isolierte Saponine

| Name | R_S -Wert ^{a)} | Genin | Zucker | % im Saponingemisch |
|------------------------|---------------------------|-------------|--|---------------------|
| Digitonin | 0.06 | Digitogenin | Glucose (2) Galaktose (2) Xylose (1) | 40 |
| Digaloinin | 0.18 | Digalogenin | Glucose (2) Galaktose (2) Xylose (1) | 15 |
| Desgluco- digitonin | 0.37 | Digitogenin | Glucose (1) Galaktose (2) Xylose (1) | 25 |
| Tigonin | 0.70 | Tigogenin | | 3 |
| Gitonin ^{b)} | 1.00 | Gitogenin | Glucose (1) Galaktose (2) Xylose (1) | 15 |
| Dig. d' | 1.40 | | | 2 |

a) Auf Gitonin berechnet.

b) Nach unseren Befunden enthält also Gitonin die genannten Zucker in diesem Verhältnis und nicht 3 Mol. Galaktose und 1 Mol. Pentose.

¹¹⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **65**, 110 [1910].

¹²⁾ J. pharmac. Soc. Japan **75**, 25 [1955]; C. A. **1955**, 6545.

¹³⁾ Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **302**, 111 [1955].

¹⁴⁾ N. L. DUTTA, Nature [London] **175**, 85 [1955].

¹⁵⁾ T. TSUKAMOTO, T. KAWASAKI, A. NARAKI und T. YAMAUCHI, J. pharmac. Soc. Japan **74**, 1097 [1954].

¹⁶⁾ R. TSCESCHE, H. MACHLEIDT und G. WULFF, s. spätere Mitteil.

säule übertragen, und so wurden die vier Hauptkomponenten papierchromatographisch rein und kristallisiert erhalten.

Nach Hydrolyse der vier Glykoside ließen sich die Genine dünnschichtchromatographisch mit authentischen Proben identifizieren, während die Zucker papierchromatographisch im System Essigester/Pyridin/Wasser (3.6:1:1.15)¹⁷⁾ bestimmt wurden, wobei die Menge aus bekannten Konzentrationen der Vergleichszucker geschätzt wurde*).

Aus der Tab. 1 ist ersichtlich¹⁸⁾, daß neben den schon bekannten Saponinen Digitonin und Gitonin, die hier erstmalig rein dargestellt wurden¹⁹⁾, noch zwei weitere Hauptglykoside vorhanden sind. Das eine enthält 1 Mol. Glucose weniger als Digitonin, während das andere ein bisher unbekanntes Genin enthält. Über die Isolierung und Charakterisierung der Saponine soll in einer späteren Arbeit ausführlich berichtet werden. Hier wird zunächst nur über die Isolierung und Strukturaufklärung des neuen, als *Digalogenin* bezeichneten, Aglykons berichtet.

Da die Isolierung des Digalogenins über das zugehörige Glykosid (Digalolin) sich als zu umständlich erwies, wurden die ungetrennten Samensaponine nach M. E. WALL und Mitarbb.²⁰⁾ hydrolysiert. Das Rohhydrolysat enthielt, wie die Dünnschichtchromatographie zeigte, Digitogenin, Gitogenin, Digalogenin und wenig Tigogenin. Nach Chromatographie an Al_2O_3 konnte aus einigen Fraktionen durch mehrfaches Umkristallisieren Digalogenin isoliert werden. Wesentlich günstiger war es allerdings, die Genine an Al_2O_3 zunächst in Gruppen zu trennen und nach der Acetylierung der Digalogenin enthaltenden Fraktionen die Acetate erneut an Al_2O_3 zu chromatographieren. Hierdurch konnte eine Verunreinigung, die sich dünnschichtchromatographisch nur in Form des Acetats vom Hauptprodukt unterscheidet, abgetrennt werden. Bei dieser Verunreinigung handelt es sich nach dem IR-Spektrum um 25β -Digalogenin. Durch Verseifung des Digalogeninacetats konnte Digalogenin, $C_{27}H_{44}O_4$, rein erhalten werden (Schmp. $218-219^\circ$; $[\alpha]_D^{20}$: -75.5° (in Chf.)). Das IR-Spektrum zeigt keine Carbonylbande, dagegen eine deutliche OH-Bande, sonst liegt das typische Bild eines 25α -Sapogenins mit 2 Hydroxylgruppen vor. Von den OH-Gruppen des Digalogenins ist eine schwer acetylierbar. Bei der Oxydation mit Chromsäure in Aceton²¹⁾

*) Inzwischen wurden die Zucker quantitativ bestimmt, wobei sich die angegebenen Werte bestätigten.

¹⁷⁾ P. COLOMBO, D. CORBETTA, A. PIRROTTA, G. RUFFINI und A. SARTORI, J. Chromatogr. 3, 343 [1960].

¹⁸⁾ Die gleiche Zusammensetzung zeigte käufliches Digitonin der Firmen Hoffmann-La Roche, Basel, E. Merck, Darmstadt, sowie eine Probe vom National Institute of Health, Bethesda, USA. Für die Cholesterinbestimmung ist das Vorliegen einer Mischung von Saponinen ohne Belang, da alle vier Hauptsaponine in gleichem Umfang durch Cholesterin gefällt werden. Lediglich das Mol.-Gewicht von 1229.4 müßte auf ein Durchschnitts-Mol.-Gewicht von etwa 1150 reduziert werden, übereinstimmend mit den experimentell bestimmten Werten von A. WINDAUS und K. WEIL, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 121, 63 [1922], Mol.-Gew. 1158, und A. EDINGER, Ber. dtsh. chem. Ges. 32, 341 [1899], Mol.-Gew. 1159 und 1179.

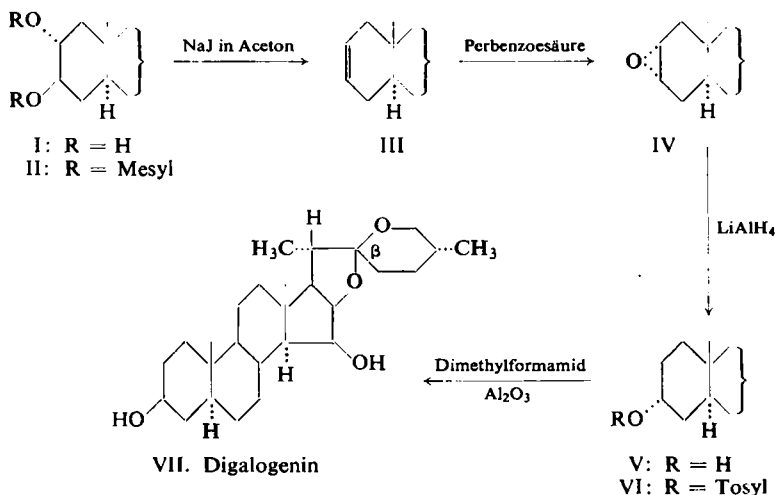
¹⁹⁾ Die papierchromatographische Untersuchung des Digitonins von K. MIYATAKE und A. OKANO im System A zeigte, daß in ihm alle vier Hauptsaponine enthalten sind. Lediglich Gitonin war nur in geringerer Menge vorhanden. Herrn Dr. A. OKANO danken wir sehr für die Über sendung der Vergleichsprobe.

²⁰⁾ E. S. ROTHMAN, M. E. WALL und H. A. WALENS, J. Amer. chem. Soc. 74, 5791 [1952].

²¹⁾ K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES und B. C. L. WEEDON, J. chem. Soc. [London] 1946, 39.

entsteht ein Diketon, das im IR-Spektrum zwei deutliche Carbonylbanden bei 1714/cm und 1747/cm und keine OH-Bande zeigt. Hieraus ist auf je eine Ketogruppe in einem Sechs- und im Fünfring zu schließen. Es handelt sich wahrscheinlich um ein 3.15-Dihydroxy-sapogenin²²⁾, da im Fünfring der Spirostanole nur die 15-Stellung frei ist und alle bekannten Sapogenine in Stellung 3 eine Hydroxylgruppe tragen.

Zur Sicherstellung dieser Struktur und zur Klärung der Konfiguration wurde versucht, 5 α .20 β .25 α -Spirostan-diol-(3 β .15 β) (VII) partialsynthetisch darzustellen. Dabei wurde Digitogenin (I) nach C. DJERASSI, T. T. GROSSNICKLE und L. B. HIGH²³⁾ zunächst in das 3 α .15 β -Diol V übergeführt. Die einzelnen Stufen dieser Reaktion konnten vorteilhaft mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. Der Einfachheit halber wurde von einer Mischung von Digitogenin und Gitogenin ausgegangen, die partiell in 2- und 3-Stellung mesyliert wurde. Nach Abspaltung der Mesylreste mit NaJ in Aceton zu den Δ^2 -Derivaten wurde das Gemisch an Al₂O₃ getrennt, wobei die Verbindung III erhalten werden konnte. Sie ließ sich mit Perbenzoesäure in das Epoxyd IV überführen, welches mit LiAlH₄ zum 5 α .20 β .25 α -Spirostan-diol-(3 α .15 β) (V) reduziert wurde. Die bei der Reaktion entstehenden Nebenprodukte (u. a. etwa 15% eines Stoffes, der dünn-schichtchromatographisch sich wie die 3 β -Verbindung verhielt) wurden an Al₂O₃ abgetrennt. Die Umwandlung der 3 α - in die 3 β -Form wurde nach F. C. CHANG und R. T. BLICKENSTAFF²⁴⁾ durchgeführt.



Hierbei wird das Tosylat längere Zeit in Dimethylformamid auf 78° erwärmt und das gebildete epimere Formiat an Al₂O₃ in den freien Alkohol verwandelt. Schwierig war in unserem Falle die vollständige Tosylierung der 3 α -OH-Gruppe, denn es trat

²²⁾ Wie uns Dr. T. T. GROSSNICKLE und Dr. H. JENSSEN, Bridgewater College, Virginia, USA, mitteilen, konnten auch sie das neue Genin aus hydrolysiertem Handelsdigitonin isolieren, sie nehmen dafür ebenfalls die Struktur eines 15-Hydroxy-tigogenins an. Diese Verbindung erwies sich beim direkten Vergleich als identisch mit dem von uns erhaltenen Digalogenin. Wir danken ihnen vielmals für die Überlassung der Vergleichsprobe.

²³⁾ J. Amer. chem. Soc. **78**, 3166 [1956].

²⁴⁾ J. Amer. chem. Soc. **80**, 2906 [1958].

bereits Dehydratisierung zur Δ^2 -Verbindung ein, bevor noch das gesamte Material tosyliert worden war. Das Tosylierungsprodukt, das noch Δ^2 -Verbindung und freien Alkohol enthielt, wurde direkt der Reaktion in Dimethylformamid unterworfen. Das erhaltene Gemisch wurde anschließend an Al_2O_3 chromatographiert; aus 130 mg $3\alpha.15\beta$ -Diol wurden insgesamt 43 mg Δ^2 -Verbindung (III), 25 mg 3β -OH-Verbindung (VII) und 8 mg 3α -OH-Verbindung (V) erhalten. *Das so gewonnene 5 $\alpha.20\beta.25\alpha$ -Spirostan-diol-(3 $\beta.15\beta$) (VII) erwies sich in allen Eigenschaften (Schmp., Misch-Schmp., Drehung, IR-Spektrum sowie R_F -Wert und Anfärbung bei der Dünnschichtchromatographie) als mit Digalogenin identisch.*

Mit dieser Struktur steht in Einklang, daß bei der Oxydation aus Digalogenin ein Diketon (Schmp. 200–202°) erhalten wird, das durch vorsichtiges Erwärmen mit $n/10$ KOH in Methanol in eine isomere Diketo-Verbindung vom Schmp. 224–227° umgelagert wird. Dabei dürfte die C–D-*trans*- in eine C–D-*cis*-Ringverknüpfung übergegangen sein, wie dies bei analogen Derivaten des Digitogenins bekannt ist²³). Die beiden Ketone zeigten eine Differenz der Molrotationen von 189°, welche in der gleichen Größenordnung liegt wie bei den entsprechenden Diacetyldigitogenonen (250°)²³).

Die so dargestellten Ketone sind offenbar mit denen identisch, die A. WINDAUS⁹⁾ bei der Oxydation der Rohgenine aus Handelsdigitonin mit Chromsäure erhalten hat. Da A. WINDAUS das Reaktionsprodukt mehrfach mit Alkali ausschüttelte, um Digitogensäure und Gitogensäure zu entfernen, erhielt er im neutralen Anteil vorwiegend das Diketon vom Schmp. 227°, gelegentlich konnte er jedoch auch ein Diketon vom Schmp. 199° fassen, das sich mit Alkali in das Keton vom Schmp. 227° umlagerte.

Den Herren Dr. H. MACHLEIDT und Dr. G. SNATZKE danken wir für wertvolle Ratschläge. Insbesondere danken wir der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem FONDS DER CHEMIE vielmals für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Der Fa. E. MERCK AG, Darmstadt, sind wir für die Überlassung von Ausgangsmaterial zu besonderem Dank verpflichtet. Desgleichen danken wir Herrn Dr. E. S. ROTHMAN, Eastern Regional Research Laboratory, Philadelphia, Pennsylvania, USA, für die Übersendung von Vergleichssubstanzen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte wurden nach KOFLER in der Anordnung nach WEYGAND bestimmt, die IR-Spektren in KBr mit dem Gerät Perkin-Elmer, Modell 21, gemessen. Die CH-Analysen führte Herr Dr. Ing. A. SCHOELLER, Kronach, durch. Das Al_2O_3 (Woelm, neutral) wurde durch Sieben auf einheitliche Korngröße gebracht (63 und 71 μ).

An Abkürzungen werden verwendet: Chlf = Chloroform; THF = Tetrahydrofuran; Py = Pyridin; Fo = Formamid; MeOH = Methanol; Bz = Benzol.

Zur Papierchromatographie¹⁶⁾ wurde das Papier von Schleicher & Schüll, 2043 b, benutzt. Die Chromatogramme wurden absteigend entwickelt. Für Saponin-Trennungen bewährte sich Gemisch A (Chlf/THF/Py 10:10:2, formamidgesättigt). Die Papiere wurden vorher mit 15% Fo in Aceton imprägniert. Da die R_F -Werte der Saponine in diesem System klein sind, mußte im Durchlaufverfahren etwa 12–24 Stdn. entwickelt werden. Um gute Trennungen zu erzielen, war es wichtig, jeweils frisch angesetzte mobile Phase zu benutzen. Gegen Temperaturschwankungen ist das System empfindlich.

Angefärbt wurde durch Einsprühen mit 20-proz. Lösung von SbCl_3 in Chlf und nachfolgendes Erhitzen auf 110° während 80 Sek. Je nach Art des Saponins traten gelbe, gelbbraune

oder rötlichgelbe Färbungen auf. Auch unter der UV-Lampe zeigten die einzelnen Saponine charakteristische Fluoreszenzen.

Die *Dünnschichtchromatographie* an Kieselgel G erwies sich für die Untersuchung der Saponine und der Reaktionsprodukte der Synthese als sehr günstig. Sie wurde nach I. c.²⁵⁾ ausgeführt. Zum Entwickeln dienten Gemische von Chlf und Aceton. Anfärbt wurde durch Einsprühen mit einer Lösung von 30% Chlorsulfonsäure in Eisessig. Dabei wurde zunächst auf die vom Trocknen heiße Platte aufgesprüht, wobei einzelne Stoffe (vor allem pflanzliche Sterine, aber auch z. B. Tigogenin) bereits mit leuchtenden Farben reagierten. Nach Erhitzen auf 110° während 3 Min. traten im Sichtbaren und im UV-Licht charakteristische, intensive Färbungen auf.

Tab. 2. Trennung der Saponine durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel G, entwickelt mit Chlf + 20% Aceton
Die R_F -Werte sind aus mehreren Chromatogrammen gemittelt; die Anfärbungen wurden mit Chlorsulfonsäure in Eisessig bewirkt

| Substanz | R_F | Färbung nach Erhitzen während 3 Min. auf 110° im Sichtbaren | im UV-Licht |
|--|-------|--|-------------|
| Genin h | 0.03 | gelbbraun | hellblau |
| Digitogenin | 0.14 | gelbbraun | hellblau |
| Gitogenin | 0.18 | blauviolett | hellblau |
| Digalogenin | 0.45 | grün | rötlichgelb |
| Tigogenin | 0.50 | graublau | gelbbraun |
| 5 α -Spirostan-diol- (3 α .15 β) | 0.56 | grün | rötlichgelb |

Gewinnung von Digalogenin: a) Die Lösung von 5 g Handelsdigitonin in 125 ccm Äthanol und 42 ccm Wasser wurde mit 83 ccm konz. Salzsäure versetzt und nach Übersichten mit 100 ccm Bz 3 Stdn. auf 90° erhitzt. Anschließend wurden die Schichten getrennt und die wäßrige Phase dreimal mit Chlf extrahiert. Nach Waschen der vereinigten organischen Extrakte mit Wasser hinterblieben beim Einengen dieser Lösung i. Vak. 1.8 g einer gelben Substanz. Diese wurde an 66 g Al₂O₃ chromatographiert. Hierbei fielen durch Eluieren mit Chlf + 0.5% MeOH etwa 140 mg rohes, mit Tigogenin verunreinigtes Digalogenin an. Durch mehrfaches Umkristallisieren konnte das Digalogenin fast rein mit dem Schmp. 205–207° gewonnen werden.

b) Die Mutterlaugen der Digitonindarstellung aus den Samen von *Digitalis purpurea* (Merck) ergaben durch Fällung mit Cholesterin¹¹⁾ und nachfolgende Spaltung der Molekülverbindung in Pyridin/Äther²⁶⁾ das Rohsaponin. 9.9 g davon wurden gemeinsam mit 10.1 g Handelsdigitonin in der unter a) beschriebenen Weise hydrolysiert. Es hinterblieben nach Eindampfen der Chlf-Bz-Lösung 7.85 g Substanz, die an 360 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Chlf eluierte nur ölige Anteile, die pflanzliche Sterine enthielten; mit Chlf + 1% MeOH kamen insgesamt 680 mg von der Säule, die, wie die Dünnschichtchromatographie zeigte, Digalogenin und wenig Tigogenin enthielten. Chlf mit 5% MeOH ergab insgesamt 5.85 g eines Gemisches von Gitogenin und Digitogenin, wobei besonders die letzten Fraktionen einen in der Dünnschichtchromatographie kürzer laufenden Stoff (Genin h)²⁷⁾ angereichert enthielten. Dieses Gemisch von Digitogenin und Gitogenin wurde für die spätere Partialsynthese des Digalogenins benutzt.

25) R. TSCHESCHE, W. FREITAG und G. SNATZKE, Chem. Ber. **92**, 3053 [1959].

26) R. SCHÖNHEIMER und H. DAM, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **215**, 59 [1933].

27) Das Genin h wird z. Zt. untersucht.

Aus den 680 mg ließen sich durch mehrfaches Umkristallisieren etwa 350 mg farblose Kristalle erhalten, die aber noch Tigogenin enthielten. Hiervon wurden 300 mg in 8 ccm Py mit 2 ccm Acetanhydrid 30 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach Ausfällen der Acetate mit Eiswasser wurde der isolierte Niederschlag an 42 g Al_2O_3 chromatographiert. Zunächst eluierte Bz + 10% Chlf etwa 60 mg einer Mischung von Tigogeninacetat mit 25 β -Tigogeninacetat. Darauf ließen sich mit Bz/Chlf 1:1 150 mg reines *Digalogenin-monoacetat* isolieren, anschließend an dieses trat eine auf der Dünnschicht kürzer laufende Substanz auf, bei der es sich um 25 β -Digalogeninacetat handeln könnte, da im IR-Spektrum der fast reinen Substanz im Gegensatz zum Digalogeninacetat die Bande bei 915/cm doppelt so stark wie die bei 895/cm ist⁷⁾.

Das Digalogeninacetat schmolz nach Umkristallisieren aus verd. Methanol bei 235–236°; $[\alpha]_D^{25}$: -82° ($c = 1.0$, in Chlf).

$\text{C}_{29}\text{H}_{46}\text{O}_5$ (474.7) Ber. C 73.38 H 9.77 Gef. C 73.29 H 10.00

Die Lösung von 70 mg Digalogeninacetat in 40 ccm 1-proz. methanol. Kalilauge wurde 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt, mit Wasser verdünnt und mit Chlf ausgeschüttelt. Nach Eindampfen der gewaschenen Chlf-Schicht wurde der Rückstand aus MeOH umkristallisiert. Schmp. 218–219°; $[\alpha]_D^{25}$: -75.5° ($c = 1.0$, in Chlf).

$\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_4$ (432.6) Ber. C 74.95 H 10.25 Gef. C 74.85 H 10.02

Im IR-Spektrum von Digalogenin ist die Bande bei 895/cm dreimal so stark wie die bei 915/cm, wie es für ein 25 α -Sapogenin typisch ist⁷⁾.

*Digitogenin- und Gitogenin-dimesylat*²³⁾: 1 g eines Gemisches von *Digitogenin* (I) und *Gitogenin* (10%) wurde in 8.5 ccm Py gelöst, mit 0.5 ccm *Mesylchlorid* versetzt und 2 $\frac{1}{2}$ Tage bei 0–5° stehengelassen. Darauf wurde in Eiswasser gegossen, der Niederschlag abgesaugt, gewaschen und getrocknet. Er ergab nach Umkristallisieren aus Chlf/MeOH 1.04 g *Dimesylat* (R_F -Werte an Kieselgel, entwickelt mit Chlf + 5% Aceton, für *Digitogenin-dimesylat* 0.37 und *Gitogenin-dimesylat* 0.51).

*12.5 α .20 β .25 α -Spirostenol-(15 β) (III)*²³⁾: Das *Dimesylat* (1.04 g) wurde in der Lösung von 4 g NaJ in 40 ccm Aceton suspendiert und in einem Bombenrohr 48 Stdn. auf 110° erhitzt. Nach Aufarbeitung der Lösung²⁸⁾ wurde die erhaltene Substanz (700 mg) an 42 g Al_2O_3 chromatographiert. Elution mit Pentan/Bz. 3:1 ergab 70 mg Δ^2 -Spirosten. Mit Pentan/Bz 1:1 wurden 489 mg fast einheitliches III abgelöst. Nach Umkristallisation einer Probe aus Bz/MeOH schmolz das reine Produkt bei 204–206° (Lit.²³⁾: 203–205°). Die folgenden Fraktionen enthielten eine auf der Dünnschicht kürzer laufende Substanz angereichert (R_F -Werte an Kieselgel, entwickelt mit Chlf + 1% Aceton, für Δ^2 -Spirosten 0.68, für III 0.58 und für das Nebenprodukt 0.52).

*5 α .20 β .25 α -Spirostan-diol-(3 α .15 β) (V)*²³⁾: 480 mg III in 15 ccm Chlf wurden mit 15 ccm einer Chlf-Lösung von Perbenzoesäure (50 mg/ccm) 72 Stdn. bei Raumtemperatur stehengelassen. Die Aufarbeitung ergab 557 mg eines rohen, benzoesäurehaltigen Epoxyds (IV) (R_F -Wert an Kieselgel mit Chlf + 10% Aceton: 0.61). Das *Epoxyd IV* (557 mg) wurde in 25 ccm Äther mit 500 mg LiAlH_4 durch Kochen unter Rückfluß reduziert und ergab 560 mg Rohprodukt. Dieses wurde an 42 g Al_2O_3 chromatographiert. Chlf eluierte wenig Öl, Chlf mit 1% MeOH ergab 329 mg reines V, während in den folgenden Fraktionen eine auf der Dünnschicht wie VII laufende Substanz in Mischung mit V anfiel (148 mg). Schmp. 212.5–214° (Lit.²³⁾: 209–211°/238–240°); $[\alpha]_D^{25}$: -76.5° ($c = 1.0$, in Chlf) (Lit.²³⁾: $[\alpha]_D^{25}$: -74°); R_F -Werte siehe Tab. 2.

²⁸⁾ N. L. WENDLER, H. L. SLATES und M. TISHLER, J. Amer. chem. Soc. 74, 4894 [1952].

5 α .20 β .25 α -Spirostan-diol-(3 β .15 β) (VII): 130 mg reines V wurden in 5 ccm Py gelöst und in der Kälte mit 125 mg *p*-Toluolsulfochlorid versetzt. Nach 15 Stdn. bei 37° hatte sich erst weniger als die Hälfte der Substanz in das Tosylat umgewandelt. Nach weiteren 15 Stdn. bei 45° war nur noch wenig freies V vorhanden, dagegen hatte sich neben dem *Tosylat VI* eine unpolare Substanz gebildet, die sich auf der Dünnschicht wie III verhielt. Die Lösung wurde in Eiswasser gegossen, der Niederschlag abgesaugt, gewaschen und getrocknet (139.6 mg) (R_F -Werte auf Kieselgel mit Chlf + 2% Aceton für VI 0.53 und für III 0.64). Das Rohprodukt VI wurde in 5.5 ccm Dimethylformamid gelöst und 43 Stdn. auf 77–78° erwärmt. Darauf wurde i. Vak. eingeengt, die Substanz auf Al₂O₃ aufgezogen und an 7.5 g Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Chlf + 2% MeOH erhaltenen 96.5 mg mußten erneut an 8.5 g Al₂O₃ chromatographiert werden. Hierbei eluierten Chlf + 20% Bz 42.8 mg einer unpolaren Substanz (III), mit Chlf + 0.6% MeOH ergaben sich anfangs Mischfraktionen von V und VII (17 mg) und darauf 15.8 mg reines VII. Nach Umkristallisation aus MeOH schmolz VII bei 218.5–220.5°. $[\alpha]_D^{25}$: –75.0° ($c = 1.0$, in Chlf).

C₂₇H₄₄O₄ (432.6) Ber. C 74.95 H 10.25 Gef. C 74.49 H 9.89

Oxydation des Digalogenins: 64 mg Digalogenin in 20 ccm Aceton wurden mit 0.30 ccm CrO₃-Lösung²¹⁾ bei 5° versetzt und 30 Min. bei Raumtemperatur stehengelassen. Dann wurde mit Wasser verdünnt und mit Chlf mehrfach ausgeschüttelt. Nach Eindampfen der gewaschenen Chlf-Phase ergab Umkristallisieren aus MeOH und Äther/Petroläther 35 mg dünn-schichtchromatographisch reines *trans*-Diketon vom Schmp. 200–202°. $[\alpha]_D^{25}$: –41° ($c = 1.0$, in Chlf).

C₂₇H₄₀O₄ (428.6) Ber. C 75.66 H 9.41 Gef. C 76.20 H 9.40

Das Diketon zeigte im IR-Spektrum zwei scharfe Banden bei 1714/cm und 1747/cm.

25 mg des obigen Ketons wurden in 15 ccm MeOH gelöst, unter N₂ mit 1.6 ccm 1 *n* KOH in MeOH versetzt und 30 Min. unter N₂ auf 40° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung ergab 23 mg Rohprodukt, aus dem durch Umkristallisieren aus Äther/Petroläther und Äther/Methanol 15 mg reines *cis*-Diketon erhalten werden konnten. Schmp. 224–227°; $[\alpha]_D^{25}$: –85° ($c = 1.0$, in Chlf).

C₂₇H₄₀O₄ (428.6) Ber. C 75.66 H 9.41 Gef. C 75.44 H 9.40

R_F -Werte für das *cis*-Diketon: 0.30, für das *trans*-Diketon: 0.24 (mit Chlf + 2% Aceton auf der Dünnschicht entwickelt).