

Steroidsaponine mit mehr als einer Zuckerkette, IX<sup>1)</sup>

## Purpureagitosid, ein bisdesmosidisches 22-Hydroxyfurostanol-Glycosid aus den Blättern von *Digitalis purpurea* L.

Rudolf Tschesche\*, Ana Maria Javellana und Günter Wulff

Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität Bonn,  
D-5300 Bonn, Max-Planck-Straße

Eingegangen am 5. April 1974

---

Purpureagitosid wurde als genuines Glycosid aus den Blättern von *Digitalis purpurea* L. isoliert und als bisdesmosidisches 22-Hydroxyfurostanol-Derivat erkannt. Bei der Abspaltung der D-Glucose vom OH an C-26 des Aglyconanteils entstand das schon bekannte Spirostanolsaponin F-Gitonin.

**Steroid Saponins with More than One Sugar Chain, IX<sup>1)</sup>**

**Purpureagitocide, a Bisdesmosidic 22-Hydroxyfurostanol Glycoside from the Leaves of *Digitalis purpurea* L.**

Purpureagitocide was isolated as the genuine glycoside from the leaves of *Digitalis purpurea* L. and shown to be a bisdesmosidic 22-hydroxyfurostanol derivative. Removal of the D-glucose from the OH at C-26 of the aglycon yielded the already known spirostanol saponin F-gitonin.

---

Über die Isolierung und Strukturermittlung der bisdesmosidischen 22-Hydroxyfurostanol-Glycoside Lanatigosid und Lanagitosid aus den Blättern von *Digitalis lanata* Ehrh. haben wir 1972 berichtet<sup>2)</sup>. Schon sieben Jahre früher hatten Kawasaki und Mitarbb.<sup>3)</sup> aus den Blättern von *Digitalis purpurea* L. nach Enzymbehandlung F-Gitonin erhalten, das sie als monodesmosidisches Spirostanol-Derivat mit Gitogenin als Aglycon erkannten. Nach unseren Ergebnissen an den Blättern von *Digitalis lanata*<sup>2)</sup> und bei anderen Steroidsaponinen<sup>1,4,5)</sup> erschien es uns zweifelhaft, ob es sich beim F-Gitonin um das genuine Glycosid handelte, dessen Isolierung wir daher versuchten.

Frische Blätter von *Dig. purpurea* wurden analog wie bei der Untersuchung der Blätter von *Dig. lanata* mit einem Gemisch von Methanol und Wasser (8:2) erschöpfend extrahiert. Nach entsprechender Aufarbeitung konnte durch Chromatographie an Kieselgel eine amorphe Fraktion erhalten werden, die aus einem Gemisch der 22-Hydroxy- und 22-Methoxyfurostanol-Glycoside **1a** und **1b** bestand. Sie wurden

<sup>1)</sup> VIII. Mitteil.: R. Tschesche, A. Harz und J. Petricic, Chem. Ber. 107, 53 (1974).

<sup>2)</sup> R. Tschesche, L. Seidel, S. C. Sharma und G. Wulff, Chem. Ber. 105, 3397 (1972).

<sup>3)</sup> T. Kawasaki, I. Nishioka, T. Komori, T. Yamauchi und K. Miyahara, Tetrahedron 21, 299 (1965).

<sup>4)</sup> R. Tschesche, G. Lüdke und G. Wulff, Chem. Ber. 102, 1253 (1969).

<sup>5)</sup> R. Tschesche, K. Hermann, R. Langlais, B. T. Tjoa und G. Wulff, Chem. Ber. 106, 3010 (1973).

wegen ihrer leichten Umwandlung und schweren Trennbarkeit zusammen weiterverarbeitet. Es lagen also analoge Verhältnisse vor, wie sie zuerst bei der Untersuchung des Sarsaparillosids gefunden wurden<sup>4)</sup>. Daß es sich wirklich beim Purpureagitosid um ein Furostanol- und nicht um ein Spirostanol-Derivat handelte, belegt u. a. das IR-Spektrum in KBr, das keine für Spirostanole charakteristischen Banden aufweist<sup>6,7)</sup>, dagegen zeigte es eine breite Bande bei ca.  $900\text{ cm}^{-1}$ , wie sie für Furostanol-Verbindungen typisch ist.

Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie bei Entwicklung mit einem Methanol-haltigen Lösungsmittelgemisch lieferte 4 Flecke, so eine gegenseitige Umwandlung von **1a** und **1b** anzeigend, während die eindimensionale DC nur zwei Flecke ergab. Stehenlassen des Gemisches in Wasser oder Methanol führte zum Überwiegen der 22-OH- (**1a**) bzw. der 22-OCH<sub>3</sub>-Form (**1b**). Das Gemisch **1a** und **1b** ergab nach Hydrolyse und Gaschromatographie der silylierten Zucker ein Verhältnis Glucose:Galactose : Xylose von 3:1:1. Methylierung und saure Spaltung von **1a/1b** lieferte 2 mol 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-glucose, sowie je 1 mol 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-xylose, 2,3,6-Tri-*O*-methyl-D-galactose und 4,6-Di-*O*-methyl-D-glucose. Mit Ausnahme der 2,3,6-Tri-*O*-methyl-D-galactose wurden die Methylzucker in kristalliner Form erhalten und mit authentischer Substanz identifiziert. Der Galactose-methylzucker ist nicht kristallin beschrieben, er wurde durch Cochromatographie mit authentischer Substanz eindeutig zugeordnet.

Das Vorliegen eines 22-Hydroxyfurostanol-Glycosids im Purpureagitosid wurde weiter bewiesen durch Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> und anschließende Hydrolyse, die zu Dihydrogitogenin (5 $\alpha$ -Furostan-2 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,26-triol) führte, analog der Reduktion und nachfolgenden Hydrolyse von Sarsaparillosid<sup>4)</sup>, wobei Dihydrosarsasapogenin entstand. Das gleiche Dihydrogitogenin konnte auch mit Adams-Katalysator in Methanol bei der katalytischen Hydrierung erhalten werden. Spirostanolglycoside bleiben unter diesen Bedingungen unverändert<sup>4)</sup>.

Die enzymatische Spaltung des Gemisches **1a/1b** mit einer  $\beta$ -Glucosidase aus *Aspergillus wentii* führte zu einer weniger polaren Verbindung als das Ausgangsmaterial; diese lieferte nach Hydrolyse und gaschromatographischer Bestimmung der Silylzucker ein Verhältnis von Glucose : Galactose : Xylose von 2:1:1, womit die Abspaltung von 1 mol  $\beta$ -glycosidisch gebundener Glucose angezeigt und das Vorliegen eines 22-Hydroxyfurostanol-Glycosids in Purpureagitosid bestätigt wird. Die Untersuchung des Desglucopurpureagitosids ergab, daß es sich um das bekannte F-Gitonin (**2**) von *Kawasaki*<sup>3)</sup> handeln müsse. Misch-Schmelzpunkt mit authentischem Material, spezif. Drehung und der chromatographische Vergleich in verschiedenen Lösungsmittelsystemen sicherten die Identität.

Permethylierung, vorgenommen mit Methyljodid und Natriumhydrid in Dimethylsulfoxid<sup>5)</sup>, ergab beim F-Gitonin nach Hydrolyse die methylierten Zucker 4,6-Di-*O*-methyl-D-glucose, 2,3,4,6-Tetra-*O*-methyl-D-glucose, 2,3,6-Tri-*O*-methyl-D-galactose und 2,3,4-Tri-*O*-methyl-D-xylose, wie es auch den Untersuchungen von *Kawasaki* und Mitarbb.<sup>3)</sup> entspricht. Eine Partialhydrolyse mit äthanolischer HCl von **2** lieferte

<sup>6)</sup> H. Hirschmann und F. Hirschmann, *Tetrahedron* **3**, 243 (1958).

<sup>7)</sup> R. Tschesche, G. Wulff und G. Balle, *Tetrahedron* **18**, 959 (1962).



während im Purpureagitosid mit 4 Zuckern formal die mittelständige Galactose fehlt. Auch fehlen in den Blättern die in den Samen vorherrschenden Aglycone mit 15 $\alpha$ -OH-Gruppe (Digitogenin, Digalogenin). Da man nach unseren heutigen Kenntnissen der Biogenese annimmt, daß ausgehend vom Cholesterin bisdesmosidische Furostanolglycoside die primär gebildeten Verbindungen sind<sup>9)</sup>, bleibt die Frage offen, ob der Ablagerung als Monodesmosid in den Samen ein Umbau der Zuckerkette an C-3 und z. T. eine zusätzliche Hydroxylierung am C-15 des Aglycons vorangeht oder ob die monodesmosidischen Spirostanolglycoside der Samen unabhängig von den Bisdesmosiden der Blätter entstehen.

Die Prüfung der hämolytischen Aktivität zeigte erwartungsgemäß beim Purpureagitosid selbst bei 400  $\mu$ g/ml keine Aktivität, während F-Gitonin bereits bei einer Konzentration von 1  $\mu$ g/ml vollständige Hämolyse ergab.

Herrn Prof. T. Kawasaki sei vielmals für die Überlassung von F-Gitonin, Herrn Prof. Dr. G. Legler für das Enzympräparat aus *Aspergillus wentii* und Herrn Prof. Dr. E. Schlösser für die Bestimmung der hämolytischen Aktivität gedankt. Ferner danken wir dem *Landesamt für Forschung*, Düsseldorf, für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit, der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* und der *Stiftung Volkswagenwerk* für die zur Verfügung gestellten analytischen Geräte. A. M. Javellana dankt der *Heinrich-Hertz-Stiftung*, Düsseldorf, für die Gewährung eines Stipendiums.

## Experimenteller Teil

Zur Herkunft der verwendeten Apparate vgl. experimenteller Teil von I. c.<sup>1)</sup>

Die Dünnschichtchromatographie wurde in üblicher Weise mit Glasplatten (8  $\times$  12 cm) und Kieselgel G (Merck) ausgeführt<sup>10)</sup>, als Sprühreagenz diente Anilinphthalat in Isobutylalkohol<sup>11)</sup> bzw. 30proz. Schwefelsäure. Die Papierchromatographie erfolgte an Whatman Papier Nr. 1 absteigend, als Sprühreagenz diente wiederum Anilinphthalat in Isobutylalkohol. Die Säulenchromatographie geschah mittels Kieselgel von Woelm (0.063–0.100 mm), dabei wurde ein Verhältnis von 100:1 (Kieselgel zu Substanz) verwendet. Für die Gaschromatographie benutzte man einen Perkin-Elmer-Apparat, Modell 7 F/HF mit einem D2-Integrator und Kienzle-Digitaldrucker, als Detektor diente eine Wärmeleitfähigkeitszelle und ein Flammenionisationsdetektor.

Folgende Lösungsmittelsysteme für Säulen- und Dünnschichtchromatographie wurden benutzt:

A. Chloroform/Methanol/Wasser (65:35:10), untere Phase<sup>12)</sup>; B. Chloroform/Methanol/Wasser (65:25:10), untere Phase; C. Chloroform/Methanol/Wasser (90:9:0.2); D. Benzol/Aceton (10:3); E. Benzol/Aceton (10:2); F. Benzol/Aceton (1:1); G. Chloroform/Methanol (20:1.5); H. Diisopropyläther/Methanol (10:1).

Die folgenden Systeme wurden für die Papierchromatographie verwendet:

<sup>9)</sup> R. Tschesche und G. Wulff, Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe **30**, 562 (1973).

<sup>10)</sup> R. Tschesche, W. Freytag und G. Snatzke, Chem. Ber. **92**, 3053 (1959).

<sup>11)</sup> M. Partridge, Nature (London) **164**, 443 (1949).

<sup>12)</sup> T. Kawasaki und K. Miyahara, Chem. Pharm. Bull. **11**, 1546 (1963) [C. A. **60**, 11850 (1964)].

I. Butanon, gesättigt mit 2proz. wäbr. Ammoniak<sup>13)</sup>; J. n-Butanol/Äthanol/Wasser/Ammoniak (40:10:49:1), obere Phase<sup>13)</sup>; K. Benzol/Äthanol/Wasser/Ammoniak (200:47:14:1), obere Phase<sup>14)</sup>.

*Isolierung von Purpureagitosid (Mischung von 1a/1b):* Frische *Digitalis purpurea*-Blätter (5.3 kg) wurden unter Zerkleinerung mit einem Ultra-Turrax mit 80proz. Methanol erschöpfend extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden i. Vak. eingengt und das Konzentrat mehrmals mit  $\text{HCCl}_3$  und dann mit Essigester ausgeschüttelt. Anschließend wurde die wäßrige Phase wiederholt mit n-Butanol extrahiert. Die vereinigten Butanolphasen, i. Vak. zur Trockene eingedampft, ergaben 65 g einer Mischung von Saponinen.

Sie wurden in möglichst wenig Lösungsmittel vom System A gelöst und nach Filtration über eine Kieselgel-Säule (1.3 kg) mit dem System A chromatographiert. Es wurde eine Hauptfraktion von 46 g erhalten und der Prozeß ein zweites Mal über 1 kg Kieselgel mit dem System B wiederholt (30 g). Um noch vorhandene Verunreinigungen zu entfernen, wurde die Chromatographie mit dem Lösungsmittelgemisch B mehrmals durchgeführt und zuletzt durch Gelfiltration an Sephadex G 25 eine weitgehend einheitliche Mischung von 1a/1b erhalten.

*Zweidimensionale Dünnschichtchromatographie von 1a/1b:* Sie wurde an Platten (20 × 20 cm) und 10 g, bzw. (8 × 8 cm) und 0.8 g Kieselgel ausgeführt<sup>4)</sup>. Die Probe wurde in einer Ecke der Platte 1 cm vom Rand aufgebracht und mit dem System A entwickelt. Nach schnellem Trocknen der Platte mit einem Fön erfolgte eine zweite Entwicklung rechtwinklig zur ersten. Dann wurde die Platte getrocknet und mit 30proz. Schwefelsäure besprüht. Es zeigten sich 4 Flecke, angeordnet im Quadrat.

*Quantitative Bestimmung der Zucker im Gemisch 1a/1b:* Die quantitative Bestimmung der Zucker<sup>15)</sup> im Gemisch 1a/1b wurde mit ca. 40 mg in folgender Weise ausgeführt: Die Probe wurde in 5proz. methanol. HCl 5 h auf 95°C erhitzt. Nach Abkühlung verdünnte man die Reaktionsmischung auf das doppelte Vol. mit Wasser. Das dabei z. T. sich abscheidende Sapogenin wurde durch Extraktion mit  $\text{HCCl}_3$  entfernt. Man neutralisierte die wäßrige Phase mit Dowex 3 und dampfte zur Trockne ein. Der Rückstand wurde durch viermaliges Behandeln mit trockenem Benzol und jeweiliges Abdampfen des Lösungsmittels von Wasser befreit. Danach wurde er in 0.4 ml wasserfreiem Pyridin gelöst, mit 0.4 ml Trimethylchlorsilan und 0.4 ml Hexamethyldisilazan versetzt und das Gemisch 1 h auf 95°C erhitzt. Man dampfte bei 60°C zur Trockne, fügte wasserfreies Benzol hinzu, dampfte das Lösungsmittel ab und wiederholte zur Wasserentfernung diesen Prozeß zweimal. Der Rückstand wurde in 2 ml wasserfreiem Benzol aufgenommen und die Lösung filtriert. Aus der eingeeengten Benzolphase wurden die silylierten Zucker mittels Gaschromatographie analysiert. 2 Proben lieferten folgende Ergebnisse:

Probe A: Glucose/Galactose/Xylose (2.97:1:0.84), Probe B: dgl. (2.95:1:0.84) (2 m Kolonne,  $\varnothing$  4 mm, 15% Silikon DC auf Celite 545 (Korngröße 40:100), Kolonnentemp. 185°C, Flammenionisationsdetektor, Heliumfluß 30 ml/min).

#### *Permethylierung von 1a/1b und Bestimmung der Methylzucker*

Die Permethylierung wurde nach Kuhn<sup>16)</sup> ausgeführt. Das Gemisch 1a/1b (1.3 g) wurde in 20.8 ml Dimethylformamid gelöst und 5.2 g frisch hergestelltes Silberoxid und 4 ml Methyljodid unter dauerndem Rühren zugefügt. Die Reaktion lief unter wasserfreien Bedingungen 48 h bei Raumtemperatur. Danach wurde mit Chloroform verdünnt, die ausgefallenen

<sup>13)</sup> S. C. Williams und J. K. N. Jones, Can. J. Chem. **45**, 275 (1966).

<sup>14)</sup> H. C. Srivastawa und G. Adams, Can. J. Chem. **40**, 1515 (1962).

<sup>15)</sup> G. Wulff, J. Chromatogr. **18**, 285 (1965).

<sup>16)</sup> R. Kuhn, I. Löw und H. Trischmann, Chem. Ber. **90**, 203 (1957).

Silbersalze abfiltriert und die Lösung i. Vak. zur Trockne eingedampft. Mit dem verbleibenden Rückstand wurde die Methylierung noch 4 mal wiederholt. Das erhaltene, mit  $\text{HCCl}_3$  verdünnte Filtrat wusch man mit verd. wäbr. Kaliumcyanidlösung und filtrierte die entstandenen Ag-Salze ab. Die lipide Phase wurde mit Wasser mehrmals gewaschen, mit  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und schließlich zu einem Sirup (1.3 g) eingedampft. Er wurde an 30 g Kieselgel mit dem Lösungsmittelgemisch D chromatographiert. Die laut DC im System F unpolare Hauptfraktion erwies sich als das permethylierte Bisdesmosid (394 mg).

*Hydrolyse des Permethyllats:* 350 mg Permethyllat wurden mit 10 ml 5proz. methanol. HCl 6 h bei  $80^\circ\text{C}$  unter Rückfluß hydrolysiert. Anschließend verdünnte man mit dem gleichen Volumen Wasser und engte ein, um das Methanol zu entfernen. Dabei fiel das Aglycon aus und konnte durch Filtration entfernt werden. Das Filtrat wurde mit 2 ml 2 N HCl versetzt und die Lösung 5 h auf  $105^\circ\text{C}$  erhitzt. Nach dem Abkühlen neutralisierte man mit Dowex 3, dampfte zur Trockne und erhielt 292 mg einer Mischung der methylierten Zucker.

*Isolierung und Identifizierung der Methylzucker:* Sie erfolgte durch Chromatographie an 40 g Kieselgel. Die Elution von der Säule geschah mit Benzol/Aceton-Gemischen 7:1, 6:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2:1 und 1:1. In der Reihenfolge der Elution wurden erhalten: 2,3,4-Tri-O-methyl-D-xylose (27 mg), 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose (78 mg), 2,3,6-Tri-O-methyl-D-galactose (30 mg) und 4,6-Di-O-methyl-D-glucose (15 mg).

*2,3,4-Tri-O-methyl-D-xylose:* Schmp.  $88-90^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{20} = +42^\circ \rightarrow +17^\circ$  (10 h),  $c = 0.5$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ), Prismen aus Äther/Petroläther ( $60-90^\circ\text{C}$ ). Lit.<sup>3)</sup> Schmp.  $88-89^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +48^\circ$  (10 min)  $\rightarrow +18^\circ$  (4 h),  $c = 0.5$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Der Misch-Schmp. mit authent. Material ergab keine Depression, die Cochromatographie in den Systemen C, D und H lieferte nur einen Fleck.

*2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose:* Schmp.  $90-92^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +92^\circ \rightarrow +79^\circ$  (10 h),  $c = 0.5$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ), Nadeln aus Petroläther ( $60-90^\circ\text{C}$ ), Lit.<sup>13)</sup> Schmp.  $96^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D = +92^\circ \rightarrow +84^\circ$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Der Misch-Schmp. mit authent. Material zeigte keine Depression, die Cochromatographie in den Systemen C, D und H offenbarte nur einen Fleck.

*2,3,6-Tri-O-methyl-D-galactose:* Sie wurde nur als Sirup erhalten, in der Lit. finden sich keine Angaben über Kristallinität.  $[\alpha]_D^{25} = +104^\circ$  (10 h),  $c = 0.95$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ), Lit.<sup>12)</sup>  $[\alpha]_D^{25} = +88^\circ$  (15 min)  $\rightarrow +103^\circ$  (100 min),  $c = 0.5$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Die Cochromatographie mit einer authent. Probe von 2,3,6-Tri-O-methyl-D-galactose auf DC und Papier in den Systemen C, D, H, J und K lieferte nur einen Fleck.

*4,6-Di-O-methyl-D-glucose:* Schmp.  $160-162^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +104^\circ \rightarrow +67.5^\circ$  (10 h),  $c = 0.4$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ), Nadeln aus Äthylacetat, Lit.<sup>8)</sup> Schmp.  $156-158^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +110^\circ \rightarrow +64^\circ$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ), Lit.<sup>16)</sup> Schmp.  $163-164^\circ\text{C}$ ,  $[\alpha]_D^{25} = +118^\circ$  (3 min)  $\rightarrow +67.5^\circ$  (15 h),  $c = 0.66$  ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Misch-Schmp. und Cochromatographie mit authent. Material in den Systemen C, D und H bewiesen die Identität.

*Katalytische Hydrierung:* 157 mg von **1a/1b** wurden in 15 ml Methanol gelöst, 80 mg Adams-Katalysator (81.3% Pt) zugegeben und die Mischung mehrere Tage unter  $\text{H}_2$ -Einleiten gerührt. Dann wurde der Katalysator abfiltriert und die Lösung zur Trockne eingedampft. Den Rückstand erhitze man mit 5proz. methanol. HCl 3 h auf  $80^\circ\text{C}$ . Anschließend verdünnte man die Lösung mit Wasser und vertrieb das Methanol durch Konzentrieren. Das in Freiheit gesetzte Aglycon bzw. Derivate davon wurde durch Ausschütteln mit Chloroform der wäbr. Lösung entzogen. Nach Waschen der Chloroformlösung mit Wasser dampfte man zur Trockne (20 mg) und chromatographierte den Rückstand nach Lösung im System D an Kieselgel (5 g). Es wurden 3 mg Gitogenin (nicht hydriert) und 2 mg *Dihydrogitogenin* erhalten; Schmp.  $184-185^\circ\text{C}$  (aus Benzol/Petroläther ( $60-90^\circ\text{C}$ )), Lit.<sup>2)</sup>  $188.5-190.5^\circ\text{C}$ . Der Misch-Schmp. mit authent. Material, sowie die Chromatographie in den Systemen D und G bestätigten die Identität.

**Reduktion von 1a/1b mit Natriumborhydrid:** 500 mg 1a/1b wurden in 70 ml Wasser gelöst und 300 mg NaBH<sub>4</sub> zugegeben. Nach Stehenlassen der Mischung bei Raumtemp. über Nacht fügte man konz. Salzsäure bis zur 3 N Acidität hinzu. Nach Zugabe von 80 ml Benzol erhitze man den Ansatz 5 h zum Sieden. Dann wurde die Benzolphase abgetrennt und die wäbr. Schicht mit HCCl<sub>3</sub> extrahiert. Die vereinigten Chloroform-Auszüge wurden nach Waschen mit Wasser zur Trockne eingedampft. Chromatographie des Rückstandes an Kieselgel nach Lösen im System D lieferte 21 mg *Dihydrogitogenin* und 65 mg *Gitogenin*, sowie kleine Mengen nicht identifizierter Produkte.

**Enzymatische Hydrolyse von 1a/1b zu F-Gitonin:** 500 mg 1a/1b wurden in 25 ml Wasser gelöst und mit verd. Salzsäure ein pH von 4 eingestellt. Zu dieser Lösung gab man 2 ml einer Lösung von  $\beta$ -Glucosidase aus *Aspergillus wentii*, sowie einige Tropfen Xylol. Nach Stehenlassen des Ansatzes 48 h bei 39°C wurde etwas Methanol hinzugefügt und 30 min zum Sieden erhitzt. Der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert, in Wasser suspendiert und dreimal mit n-Butanol ausgezogen. Das Filtrat vom denaturierten Eiweiß wurde durch Einengen konzentriert, um das Methanol zu entfernen, und dann ebenfalls mit n-Butanol extrahiert. Die vereinigten Butanolextrakte dampfte man zur Trockne und chromatographierte sie an Kieselgel, wie vorstehend beschrieben. Aus Methanol wurden Prismen erhalten mit einem Schmp. 260–265°C,  $[\alpha]_D^{20} = -56.6^\circ$ ,  $c = 0.4$  (Pyridin). Lit.<sup>3)</sup> Schmp. 251–255°C (Zers.),  $[\alpha]_D^{20} = -66^\circ$ , Lit.<sup>17)</sup> Schmp. 252–255°C,  $[\alpha]_D^{20} = -58.5^\circ$ . Der Misch-Schmp. mit authent. Material zeigte keine Depression.

IR: 860, 892, 924, 977 (892 > 924) cm<sup>-1</sup>; Lit.<sup>3)</sup> 860, 898, 924, 982 (898 > 924) cm<sup>-1</sup>.

Die quantitative Bestimmung der Zucker im F-Gitonin lieferte gaschromatographisch unter vorstehend angegebenen Bedingungen ein Verhältnis von Glucose, Galactose und Xylose von 1.97:1.00:0.94.

Die Permethylierung wie angegeben lieferte bei nachfolgender Hydrolyse 2,3,4-Tri-O-methyl-D-xylose, 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose, 2,3,6-Tri-O-methyl-D-galactose und 4,6-Di-O-methyl-D-glucose.

**Partialhydrolyse von F-Gitonin:** 60 mg F-Gitonin wurden in 12 ml 1 N HCl in 50proz. wäbr. Äthanol<sup>3)</sup> suspendiert und die Mischung 3 h unter Rückfluß erhitzt. Dann wurde mit dem doppelten Vol. Wasser verdünnt und die Lösung konzentriert, um das Äthanol zu entfernen. Nach Neutralisation mit Dowex 3 dampfte man zur Trockne (56 mg). Der Rückstand wurde an Kieselgel mit Chloroform und steigenden Anteilen Methanol chromatographiert. Die folgenden Substanzen in der Reihenfolge ihrer Elution wurden erhalten: *Gitogenin*, ein Monoglycosid (2 mg), Schmp. 220–222°C, ein Diglycosid (4 mg), Schmp. 271–275°C, und ein Triglycosid (11 mg), Schmp. 227–232°C, sowie etwas Ausgangsmaterial.

Durch Permethylierung nach *Kuhn*<sup>16)</sup> und Hydrolyse erhielt man folgende Methylderivate: Monoglycosid: 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-galactose;

Diglycosid: 2,3,6-Tri-O-methyl-D-galactose und 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose;

Triglycosid: 2,3,6-Tri-O-methyl-D-galactose; 3,4,6-Tri-O-methyl-D-glucose und 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose.

Die Methylzucker wurden zusammen mit authent. Material in den Systemen C, D, E, F, K und L durch Chromatographie identifiziert.

<sup>17)</sup> T. Kawasaki und I. Nishioka, Chem. Pharm. Bull. **12**, 1311 (1964) [C. A. **62**, 9391 f (1965)].