

119. Diginin

1. Mitteilung

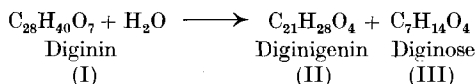
von C. W. Shoppee¹⁾ und T. Reichstein.

(3. VII. 40.)

Vor etwa drei Jahren beschrieb *W. Karrer*²⁾ die Isolierung eines neuen, gut krystallisierten Glykosids aus *Digitalis purpurea*, das er Diginin nannte. Es besitzt allerdings in den üblichen Dosen keine Wirksamkeit auf das Froeschherz.

Wir berichten im Nachfolgenden über einige chemische Untersuchungen an diesem Stoff, die dadurch ermöglicht wurden, dass uns die Firma *F. Hoffmann-La Roche* ca. 13 g davon zur Verfügung stellte³⁾.

Es ergab sich dabei die Tatsache, dass Diginin von den bisher bekannten *Digitalis*-glykosiden ziemlich stark verschieden ist. Vor allem ist es trotz positiver *Legal*-Probe kein Lacton, oder wenigstens besitzt es keinen leicht verseifbaren Lactonring, denn unter den Bedingungen der Lactontitration nach *Windaus*⁴⁾ verbraucht es kein Alkali. Schon durch sehr verdünnte Mineralsäuren wird es in die Komponenten, das Diginigenin (II) und einen Zucker (III) gespalten, die beide in krystallisiertem Zustand erhalten wurden. Nach den analytischen Ergebnissen ist die folgende Spaltgleichung weitgehend gesichert:



Der Zucker ist ätherlöslich und im Hochvakuum leicht destillierbar. Er krystallisiert aus Äther in Nadeln vom Smp. 90—92°, zeigt eine spezifische Drehung von $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +60^\circ \pm 1^\circ$ (Endwert in Wasser) und gibt die für 2-Desoxyzucker charakteristische *Keller-Kiliani*-Reaktion. Er besitzt die Bruttoformel $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}_4$ und enthält eine Methoxylgruppe. Es sind heute 3 Desoxyzucker dieser Formel bekannt, die *Cymarose*⁴⁾, die *Sarmentose*⁵⁾ und die *Oleandrose*⁶⁾. Von diesen schmelzen die beiden letzteren tiefer und zeigen stark abweichende Drehungswerte. Dagegen zeigt *Cymarose*, in gleicher

¹⁾ Rockefeller Research Fellow at the University of Basel.

²⁾ Festschrift für *E. C. Borell*, Basel 1936, S. 238.

³⁾ Wir danken auch hier bestens für die Überlassung dieses Materials.

⁴⁾ *A. Windaus, L. Hermanns*, B. **48**, 979 (1915); vgl. *Smith, Soc.* **1930**, 2479.

⁵⁾ *W. A. Jacobs, N. M. Bigelow*, J. Biol. Chem. **96**, 355 (1932).

⁶⁾ *W. Neumann*, B. **70**, 1547 (1937); *G. Hesse*, B. **70**, 2264 (1937); *R. Tschesche, K. Bohle, W. Neumann*, B. **71**, 1927 (1938).

Weise gereinigt, einen Schmelzpunkt von ca. 93° sowie eine spezifische Drehung von $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +52^{\circ}$ ($c = 2,01$ in Wasser, Endwert¹⁾). Ausserdem ist Cymarose nach *Elderfield*²⁾ ein Digitoxose-3-methyläther, so dass ihr Vorkommen in einem Digitalis-glykosid gut verständlich gewesen wäre. Wir waren daher ziemlich überrascht, als die Mischprobe mit authentischer Cymarose³⁾ eine deutliche Schmelzpunkts-Erniedrigung ergab. Es handelt sich in unserem Falle somit um einen neuen Zucker, der „Diginose“ genannt werden soll. Um die Verschiedenheit von Cymarose weiter zu sichern, wurde die Diginose noch mit Brom oxydiert und das erhaltene syrupöse Lacton ins Phenylhydrazid übergeführt. Cymarose liefert, analog behandelt, das gut krystallisierende Cymaronsäure-phenylhydrazid⁴⁾, das auch bei Anwendung von relativ kleinen Mengen Cymarose glatt erhalten wird. Diginose gab jedoch trotz Anwendung genau derselben Bedingungen kein krystallisiertes Phenylhydrazid. Wir sehen darin einen weiteren Beweis für die Verschiedenheit der sonst schwer zu differenzierenden Zucker.

Das zuckerfreie Spaltstück (II), das als Diginigenin zu bezeichnen ist, besitzt die Bruttoformel $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$ (oder $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$) und verbraucht wie (I) bei der Lactontitration kein Alkali, obwohl es durch das Erhitzen mit Alkali teilweise verändert wird und trotzdem die *Legal*-Probe, wie bei (I), stark positiv ist. Wir glauben, dass seine Konstitution durch die Teilformel (IV) dargestellt werden kann, wofür die folgenden Gründe sprechen (s. Schema S. 977).

Diginigenin enthält eine reaktive Carbonylgruppe und gibt leicht ein Mono-semicarbazon und ein Monoxim. Da es alkalische Silberdiammin-Lösung bei Zimmertemperatur stark reduziert und auch mit 1,4-Dioxy-naphtalin nach *Raudnitz* und *Puluj*⁵⁾ eine stark positive Reaktion gibt, glauben wir, dass die reaktive Carbonylgruppe in Form einer Aldehydgruppe vorliegt. Ein Sauerstoffatom muss ferner als reaktionsfähiges Hydroxyl vorhanden sein, denn durch milde Acetylierung wird ein krystallisiertes Mono-acetat (V) erhalten, dessen Aldehydgruppe intakt ist, da es immer noch ein Mono-semicarbazon liefert. Weitere primäre oder sekundäre Hydroxyle sind

¹⁾ *J. Biol. Chem.* **38**, 519 (1930). In dieser Arbeit gibt *Jacobs* den Schmelzpunkt der Cymarose mit 93° an. *W. A. Jacobs, R. C. Elderfield, J. Biol. Chem.* **91**, 625 (1931) fanden dann, dass Cymarose durch langes Trocknen bis auf einen Schmelzpunkt von $100\text{--}102^{\circ}$ gebracht werden kann, der aber an der Luft durch Wasseraufnahme rasch wieder sinkt.

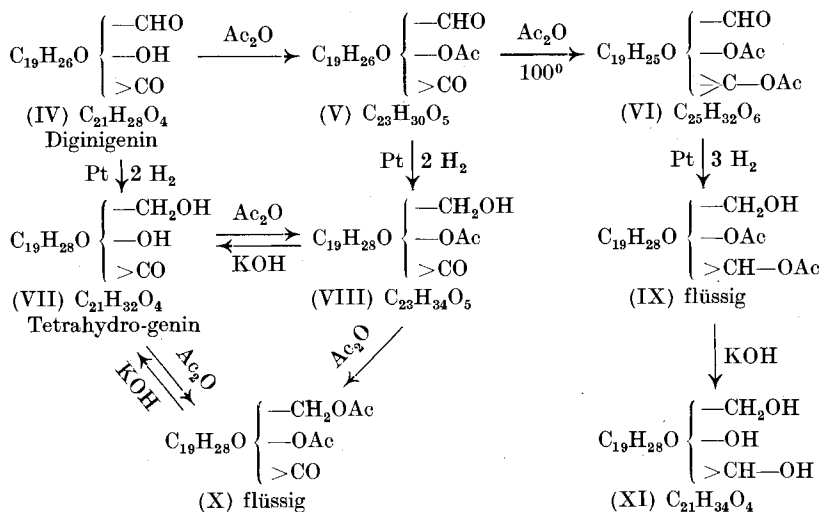
²⁾ *R. C. Elderfield, J. Biol. Chem.* **111**, 527 (1935). Schon *Windaus, B.* **48**, 985 (1915), hatte diese Formel vermutet.

³⁾ Wir danken Hrn. Prof. *Stoll* bestens für die Überlassung einer Probe krystalliner Cymarose.

⁴⁾ *R. C. Elderfield, J. Biol. Chem.* **111**, 527 (1935).

⁵⁾ *H. Raudnitz, G. Puluj, B.* **64**, 2212 (1931), vgl. *K. Miescher, A. Wettstein, C. Scholz, Helv.* **22**, 894 (1939), insbes. 902.

nicht vorhanden, denn das Mono-acetat (V) ist gegen Chromsäure bei Zimmertemperatur relativ beständig. Durch energische Acetylierung wird aus (IV) und (V) ein krystallisiertes Diacetat (VI) erhalten.



Hierbei ist entweder eine tertiäre Hydroxylgruppe acetyliert worden, oder es liegt ein Enolacetat vor, bei dem eine träge Ketogruppe in Reaktion getreten ist, wie dies in Formel (VI) zum Ausdruck gebracht ist. Diese Formulierung wurde bevorzugt, u. a. darum, weil Diginigenin beim Erwärmen mit starker Säure nicht verändert wird, während tertiäre Hydroxylgruppen bei einer solchen Behandlung meist abgespalten werden. Ein wirklicher Beweis liegt natürlich nicht vor. Dies Diacetat (VI) gibt noch ein krystallisiertes Mono-semicarbazon, enthält also offenbar noch die intakte Aldehydgruppe.

Diginigenin enthält ferner eine Kohlenstoff-Doppelbindung, denn sowohl (VI) wie (V) geben mit Tetranitromethan eine deutliche Gelbfärbung. Diese Doppelbindung ist jedoch nicht mit einer Carbonylgruppe konjugiert, denn im U.V.-Absorptionsspektrum wird in der Gegend von 240 μ keine selektive Absorption beobachtet¹⁾. Auch das Diacetat (VI) zeigt keine solche U.V.-Absorption, sodass auch dieser Stoff keine konjugierten Doppelbindungen enthält.

Wird Diginigenin mit Platinoxid in Eisessig hydriert, so werden 2 Mol Wasserstoff aufgenommen. Es resultiert ein gut krystallisiertes Tetrahydro-diginigenin (VII). Dieses gibt mit Tetranitromethan keine Gelbfärbung mehr und zeigt keine reduzierenden Eigenschaften. Ferner tritt mit Semicarbazid keine Reaktion ein. Wir folgern daraus, dass eine Doppelbindung sowie die Aldehydgruppen

¹⁾ Wir danken Hrn. Priv.-Doz. Dr. H. Mohler, Zürich, für die Ausführung dieser Bestimmung.

reduziert worden sind. Unter energischen Bedingungen wird dagegen aus (VII) ein amorphes Oxim erhalten, sodass offenbar ein drittes Sauerstoffatom in Form einer reaktionsträgen Ketogruppe vorgelegen hat, die unter den angewandten Bedingungen nicht hydriert wurde. Das Mono-acetat (V) gibt bei der Hydrierung unter den obigen Bedingungen das Mono-acetat (VIII). (VII) und (VIII) lassen sich durch milde Acetylierung und Verseifung ineinander überführen. Durch energische Acetylierung bei 100° in Gegenwart von Pyridin wird aus (VII) und (VIII) eine ölige Verbindung erhalten, die nach dem Ergebnis der Titration ein Diacetat (X) darstellt und die bei alkalischer Verseifung das Tetrahydro-genin (VII) zurückliefert. Dagegen wurde durch Hydrierung des Diacetylgenins (VI) ein flüssiges Hydrierungsprodukt (IX) erhalten, das bei alkalischer Verseifung einen krystallisierten Stoff lieferte, der sich als verschieden vom Tetrahydro-genin (VII) erwiesen hat und dessen Analysenwerte darauf deuten, dass ein Hexahydro-diginigenin (XI) vorliegt.

Beim Versuch zur partiellen Reduktion von (V) mit Palladium in Alkohol fand keine Wasserstoffaufnahme statt. Hingegen konnte durch milde Oxydation von (VIII) mit Chromsäure ein amorpher Neutralstoff erhalten werden, der positive Aldehyd-Reaktionen gab. Versuche zur Oxydation des Genins (IV) sowie des Tetrahydrogenins (VII) mit Chromsäure gaben weitgehenden Abbau unter Bildung neutraler und saurer Bestandteile, aus denen sich nur geringe Mengen einheitlicher Produkte gewinnen liessen. Bei der Oxydation des Genins (IV) mit Hypojodit in Methanol¹⁾ konnte eine kleine Menge Jodoform gefasst werden. Gegen Perjodsäure ist sowohl das Genin (IV) wie das Tetrahydro-Derivat (VII) beständig, das starke Reduktionsvermögen des Genins ist also wahrscheinlich nicht auf eine α -Ketolgruppierung, sondern auf eine wirkliche Aldehydgruppe zurückzuführen.

Eine eindeutige Konstitutionsformel lässt sich auf Grund der bisherigen Ergebnisse nicht aufstellen und muss weiteren Versuchen vorbehalten bleiben. Die naheliegendste Annahme wäre, dass Diginigenin ein Pregnan-Abkömmling ist. Falls dies der Fall ist und die reaktive Hydroxylgruppe sich dabei in 3-Stellung befindet, so muss sie epi-Konfiguration besitzen, denn der Stoff gibt mit Digitonin keine Fällung. Falls ausserdem die aufgestellte Bruttoformel in bezug auf den Wasserstoffgehalt richtig ist, so muss das vierte Sauerstoffatom, dessen Funktion nicht direkt ermittelt wurde, in Form einer sehr trägen Ketogruppe oder in Ätherbindung vorliegen.

Wir danken der *F. Hoffmann-La Roche A. G.* Basel für die Überlassung von Material und für die Ausführung von Mikroanalysen.

¹⁾ Ausführung nach *H. Köster*, J. pr. [2] **143**, 249 (1935).

Experimenteller Teil.

(Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.)

Diginin. (I)

Das erhaltene Glykosid wurde mehrmals aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert. Die dicken, farblosen Prismen (vgl. ¹⁾) schmolzen aber immer unscharf bei 155—183°. Sie waren leicht löslich in Chloroform, schwerer in Äther, Aceton, Essigester und Tetrachlorkohlenstoff, fast unlöslich in Wasser. Die spezifische Drehung betrug: $[\alpha]_D^{14} = -223^0 \pm 4^0$ ($c = 2,292$ in Chloroform).

23,2 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{14} = -5,11^0 \pm 0,03^0$

Das luftgetrocknete Präparat zeigte beim Trocknen im Hochvakuum bei 75° nur einen sehr geringen Gewichtsverlust. Zur Analyse wurden zwei Proben verwendet: a) luftgetrocknet, b) hochvakuumgetrocknet.

a)	3,556 mg Subst. gaben 8,951 mg CO ₂ und 2,653 mg H ₂ O (H)
b)	3,822 mg Subst. gaben 9,582 mg CO ₂ und 2,873 mg H ₂ O (H)
	3,960 mg Subst. gaben 1,880 mg AgJ (Zeisel) (S)
	C ₂₈ H ₄₀ O ₇ (488,60) Ber. C 68,83 H 8,25 —OCH ₃ 6,35%
	a) Gef. „ 68,69 „ 8,35%
	b) Gef. „ 68,42 „ 8,41 —OCH ₃ 6,27%

Das Glykosid gibt eine starke Rotfärbung bei der *Legal'schen* Probe in Pyridin mit Natriumnitroprussiat und Alkali. Es verbraucht aber bei der Lactontitration nach *Windaus*²⁾ kein Alkali.

10,3 mg \pm 0,2 mg Subst. verbrauchten 0,06 cm³ 0,02-n. Lauge
für 1 Äquiv. Ber. 1,05 „ „

Diese Lactontitration und die später beschriebenen Bestimmungen von Verseifungszahlen wurden stets wie folgt ausgeführt: In ein tariertes Hartglasrundkölbchen mit Schliff wurden ca. 0,1 cm³ 2-n. wässrige Kalilauge genau eingewogen. Dann wurde die vorher in einem Schiffchen eingewogene Substanz eingeworfen sowie 1 cm³ reiner Methylalkohol zugegeben. Hierauf wurde sofort der oben mit einem Natronkalkrohr verschlossene, aufgeschliffene Rückflusskühler aufgesetzt und die Mischung 1½—3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wurde geöffnet, mit einem Tropfen Phenolphthalein-Lösung versetzt und mit 0,02-n. Salzsäure zurücktitriert. Ein gleicher Ansatz, aber ohne Substanz, wurde genau ebenso behandelt. Er diente zur Bestimmung des Säureverbrauchs der gewogenen Kalilaugemenge, die auf das für die Verseifung der Substanz verwendete Gewicht umgerechnet wurde. Die Differenz stellt den Effektivverbrauch dar.

Hydrolytische Spaltung.

Diginin wird durch 24-stündiges Stehen seiner Lösung in einer Mischung gleicher Teile Wasser und Äthylalkohol, die 7,5% Schwefelsäure enthält, bei Zimmertemperatur³⁾ oder bei ½-stündigem Kochen

¹⁾ Festschrift für *E. C. Barell*, Basel 1936, S. 238.

²⁾ *A. Windaus*, *L. Hermanns*, B. **48**, 979 (1915); vgl. *Smith*, Soc. **1930**, 2479.

³⁾ Vgl. *M. Cloetta*, Arch. exptl. Path. Pharmakol. **88**, 115 (1920).

der Lösung in gleichen Teilen Wasser und Methanol, die 0,13% Salzsäure enthält¹⁾, teilweise gespalten. Die neben unverändertem Ausgangsmaterial unter diesen Bedingungen erhaltenen Spaltprodukte wurden isoliert, und es wurde festgestellt, dass beide auch unter energischeren Spaltbedingungen stabil sind. Daher konnte im Hauptversuch wie folgt verfahren werden.

1 g Diginin wurde in 30 cm³ Methanol gelöst, mit der Lösung von 3 g konz. Schwefelsäure in 30 cm³ Wasser versetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde unter Rückfluss gekocht. Durch Einengen im Vakuum auf ca. 30 cm³ wurde das Methanol entfernt und die wässrige Suspension mehrmals mit reinem Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wurde mit verdünnter Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. (Die ersten Natronlauge-Auszüge färbten sich gelb, gaben aber nach dem Ansäuern und Ausschütteln mit Chloroform nur Spuren öliger, saurer Produkte). Der Rückstand des neutralen Chloroformextrakts wurde im Hochvakuum gründlich getrocknet, da er die letzten Chloroformreste sehr stark zurückhält. Er wog dann 820 mg und gab nach Umkrystallisieren aus Methanol-Äther (1:2,5) 600 mg krystallisiertes Diginigenin vom Smp. 108—110°.

Die schwefelsauren, wässrigen Anteile wurden im Hochvakuum von Chloroformresten befreit und mit frisch aus Bariumhydroxyd mit Kohlendioxyd gefälltem und gut mit Wasser gewaschenem Bariumcarbonat bei etwa 60° neutralisiert. Der Niederschlag wurde über eine Spur gewaschener Kohle abgenutscht, das klare Filtrat mit einigen Tropfen Sodalösung bis zur eben alkalischen Reaktion und dann mit so viel wässriger Bariumchloridlösung versetzt, bis kein weiterer Niederschlag mehr entstand. Ohne zu filtrieren wurde die Mischung, die nun fein verteiltes Bariumcarbonat enthielt, im Vakuum ganz zur Trockne gedampft. Der Rückstand wurde mehrmals mit kleinen Portionen Aceton ausgezogen, die Auszüge filtriert, das Filtrat eingedampft und im Vakuum gut getrocknet. Der syropöse Rückstand wurde in absolutem Äther aufgenommen, wobei nur eine kleine Menge Harz ungelöst blieb. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Stehen wurde die klare Ätherlösung abdekantiert und der Rückstand noch mehrmals mit absolutem Äther ausgezogen. Die vereinigten Ätherlösungen wurden eingedampft. Sie hinterliessen einen farblosen Syrup, der nach dem Trocknen im Vakuum 102 mg wog und der nach mehrwöchigem Stehen im Exsikkator über Calciumchlorid (ohne Vakuum) krystallin erstarrte. Die so erhaltene rohe Diginose schmolz bei 75—80°.

Theoretisch sind nach der angegebenen Spaltgleichung aus 1 g Glykosid 704 mg Genin und 330 mg Zucker zu erwarten. Ein weiterer

¹⁾ *S. Smith, Soc. 1930, 508.*

Versuch mit 5 g Diginin gab 2,802 g umkrystallisiertes Genin und 1,02 g rohen, sowie daraus 858 mg analysenreinen, umkrystallisierten Zucker. Theoretisch wären aus 5 g Glykosid 3,52 g Genin und 1,657 g Zucker zu erwarten gewesen.

Diginigenin (IV).

Das oben erwähnte Rohprodukt wurde aus Methanol-Äther umkrystallisiert und lieferte farblose Prismen vom Smp. 115⁰, der durch weiteres Umkrystallisieren nicht mehr erhöht wurde. Das Produkt war frei von Methoxyl und zeigte eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{15} = -226^0 \pm 3,5^0$ ($c = 2,084$ in Aceton).

21,1 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -4,71^0 \pm 0,03^0$

Unmittelbar vor der Analyse wurde im Platinschiffchen 1 Stunde im Hochvakuum bei 90⁰ getrocknet, dann weiter im Hochvakuum noch 5—10 Minuten auf 120⁰ zum ruhigen Schmelzen erhitzt. Nach dem Abkühlen und Einlassen trockener Luft wurde sofort in ein tariertes Schweinchen gefüllt und dieses verschlossen gewogen.

3,070; 4,087 mg Subst. gaben 8,211; 10,90 mg CO₂ und 2,301; 2,96 mg H₂O (*H*) (*S*)

C ₂₁ H ₂₈ O ₄ (344,43)	Ber. C 73,20	H 8,19%
	Gef. „ 73,08; 72,80	„ 8,39; 8,11%

11,3 mg \pm 0,2 mg Subst. verbrauchten 0,08 cm³ 0,02-n. Lauge (Lactontitration). Dies entspricht nur etwa 0,05 Äquivalenten; es liegt somit kein Lacton vor.

Diginigenin lässt sich im Molekularkolben bei 0,01 mm und etwa 200⁰ Badtemperatur unzersetzt sublimieren. Es gibt, in wenig Chloroform gelöst, bei Zusatz von Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung. Die *Legal*-Probe ist positiv. Es reduziert, in wenig Methanol gelöst, alkalische Silber-diammin-Lösung bei Zimmertemperatur rasch. Mit Eisessig, Salzsäure und einer Spur 1,4-Dioxy-naphtalin tritt beim Erwärmen (vgl. *Raudnitz* und *Puluj*¹⁾) eine starke Rotfärbung auf. Beim Ausschütteln der Chloroform-Äther-Lösung mit wässriger Natronlauge verbleibt das Genin in der Chloroform-Äther-Phase, es besitzt also keine sauren oder phenolischen Eigenschaften. Beim Stehen oder Erwärmen der Lösung in methylalkoholischer Kalilauge färbt sich diese gelb, doch konnten nach einer solchen Behandlung keine definierten Produkte isoliert werden. Nach einstündigem Kochen in einer Mischung gleicher Teile von Methanol und Wasser, die 5% Schwefelsäure enthielt, blieb die Hauptmenge des Genins unverändert, ein kleiner Teil von laugelösllicher Substanz hatte sich gebildet, der aus Aceton farblose Krystalle vom Smp. 280—282⁰ (*Zers.*) lieferte. Die Menge reichte für eine Analyse nicht aus.

¹⁾ *H. Raudnitz, G. Puluj, B. 64, 2212 (1931)*, vgl. *K. Miescher, A. Wettstein, C. Scholz, Helv. 22, 894 (1939)*, insbes. 902.

Semicarbazon. 0,5 g Semicarbazid-chlorhydrat und 0,75 g kryst. Natriumacetat wurden gut verrieben, die verflüssigte Masse mit 5 cm³ Methanol aufgenommen und zur Entfernung von Kochsalz durch ein trockenes Filter filtriert. 20 mg Diginigenin wurden in 0,5 cm³ dieses Filtrats aufgelöst und 36 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Nach Zusatz von Wasser wurde im Vakuum von Methanol befreit, abgenutscht, mit Wasser gewaschen und aus Methanol umkrystallisiert. Es wurden farblose Nadeln erhalten, die bei 290—292° (Zers.) schmolzen. Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet; trotzdem scheint ein Hydrat vorzuliegen.

5,048 mg Subst. gaben	11,785 mg CO ₂ und	3,48 mg H ₂ O (S)
2,424 mg Subst. gaben	0,209 cm ³ N ₂ (23,5°; 755 mm)	(S)
C ₂₂ H ₃₁ O ₄ N ₃ (401,46)	Ber. C 65,81 H 7,78 N 10,46%	
C ₂₂ H ₃₃ O ₅ N ₃ (419,48)	„ „ 63,00 „ 7,93 „ 10,01%	
	Gef. „ 63,65 „ 7,71 „ 9,86%	

Oxim. 50 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 70 mg kryst. Natriumacetat wurden in 0,1 cm³ warmen Wassers gelöst, mit der Lösung von 20 mg Diginigenin in 1 cm³ Methanol vermischt und 3 Stunden unter Rückfluss gekocht. Dann wurde etwas Wasser zugegeben und im Vakuum von Methanol befreit. Das gut mit Wasser gewaschene Rohprodukt wurde aus Alkohol umkrystallisiert. Es wurden farblose, dünne Prismen erhalten, die bei 219—220° (Zers.) schmolzen. Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

4,888 mg Subst. gaben	12,56 mg CO ₂ und	3,53 mg H ₂ O (S)
3,699 mg Subst. gaben	0,125 cm ³ N ₂ (25°; 755 mm)	(S)
0,221; 0,200 mg Subst. in	3,331; 3,364 mg Campher gaben	Δ = 7,2°; 6,9° (Rast) (S)
C ₂₁ H ₂₉ O ₄ N	Ber. C 70,17 H 8,13 N 3,89%	Mol.-Gew. 359,44
	Gef. „ 70,12 „ 8,08 „ 3,85%	„ 369; 372

Bei einem zweiten analogen Versuch verwandelten sich die zuerst wieder erhaltenen dünnen Prismen beim Stehen mit der Lösung in Oktaeder vom Smp. 235—236° (Zers.), die aber dieselbe Zusammensetzung aufwiesen.

4,804 mg Subst. gaben	12,32 mg CO ₂ und	3,51 mg H ₂ O (S)
	Gef. C 70,00 H 8,17%	

Eine Probe des Oxims wurde mit Essigsäure-anhydrid 10 Minuten gekocht, wobei starke Gelbfärbung eintrat. Nach dem Eindampfen im Vakuum, Aufnehmen in Äther, Neutralwaschen und Eindampfen verblieb ein amorpher Rückstand, der sich im Hochvakuum bei einer Badtemperatur von bis 230° nicht destillieren liess.

Oxydationsversuch mit Perjodsäure. 35 mg Diginigenin wurden in 1 cm³ reinstem Methanol gelöst, mit der Lösung von 70 mg kryst. Perjodsäure (entspr. 3 Mol H₅IO₆) in 0,5 cm³ Wasser versetzt und 18 Stunden bei 20° stehen gelassen. Nach Entfernung des Methanols im Vakuum wurde mit Chloroform-Äther ausgeschüttelt und der

Auszug mit Sodalösung gewaschen. Die Soda enthielt keine nachweisbaren Mengen saurer Bestandteile. Aus der Chloroform-Äther-Lösung wurden 27 mg unverändertes Diginigenin zurückerhalten.

Diginigenin-monoacetat (V).

a) 20 mg Diginigenin wurden mit 0,5 cm³ Essigsäure-anhydrid 10 Minuten gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft und der sofort krystallisierende Rückstand zunächst mit etwas Äther gewaschen und dann aus Benzol-Pentan umkrystallisiert. Es wurden Prismen erhalten, die bei 169—176° trüb schmolzen. Sie wurden im Molekularkolben bei 0,0001 mm und 150° Badtemperatur sublimiert und nochmals aus Benzol-Pentan umkrystallisiert. Das Produkt schmolz jetzt bei 178—180° zu einer trüben Schmelze, die bei 195—200° klar wurde, die Ausbeute betrug 14 mg. Die Mutterlauge lieferte noch 4 mg vom Smp. 175—177° (trüb). Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{15} = -210^{\circ} \pm 4^{\circ}$ ($c = 0,523$ in Aceton).

5,300 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{15} = -1,10^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,694 mg Subst. gaben 9,692 mg CO₂ und 2,646 mg H₂O (*H*)

7,0 mg \pm 0,2 mg Subst. verbrauchten 1,05 cm³ 0,02-n. Lauge („Lacton-Titration“)

C ₂₃ H ₃₀ O ₅ (386,47)	Ber. C 71,46	H 7,82	—COCH ₃ 11,2%
	Gef. „ 71,59	„ 8,01	„ 12,9%

Ein zweites, analog bereitetes Präparat schmolz bei 180—181° wiederum trüb unter Klarwerden der Schmelze bei etwa 195—200°. Es hatte dieselbe Zusammensetzung.

3,66 mg Subst. gaben 9,582 mg CO₂ und 2,624 mg H₂O (*H*)

Gef. C 71,40 H 8,02%

b) 100 mg Diginigenin wurden mit 0,5 cm³ Essigsäure-anhydrid und 0,6 cm³ abs. Pyridin 22 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Chloroform-Äther gelöst und diese Lösung mit verdünnter Salzsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der gelbliche Rückstand wurde in wenig Äther gelöst und krystallisierte sofort. Die mit etwas Äther gewaschenen Krystalle waren farblos und wurden zweimal aus Aceton-Pentan umkrystallisiert, wobei farblose Blättchen erhalten wurden, die sich bei 178° zu einer trüben Schmelze verflüssigten, die bei 195—200° klar wurde. Die Mischprobe mit dem oben ohne Pyridinzusatz erhaltenen Produkt gab keine Schmelzpunkt-Erniedrigung. Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum getrocknet.

3,822 mg Subst. gaben 9,974 mg CO₂ und 2,775 mg H₂O (*H*)

C ₂₃ H ₃₀ O ₅	Ber. C 71,46	H 7,82%
	Gef. „ 71,21	„ 8,12%

Wegen der unscharfen Schmelzpunkte wurde eine grössere Menge des in Gegenwart von Pyridin bereiteten Mono-acetates zuerst im Molekularkolben bei 0,01 mm und 185° Badtemperatur sublimiert und dann über Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch nach der Durchlaufmethode gereinigt. Es wurde dabei aus den mit absolutem Benzol sowie Benzol-Äther gewonnenen Eluaten erhalten. Ein auf diesem Wege und durch anschliessende mehrmalige Krystallisation gereinigtes Produkt schmolz bei 181° trüb unter Klarwerden bei ca. 185—200°. Zur Sicherheit wurde nochmals analysiert.

3,685 mg Subst. gaben 9,595 mg CO₂ und 2,54 mg H₂O (*S*)
 Gef. C 71,06 H 7,71%

Das Mono-acetat reduziert, in wenig Methanol gelöst, alkalische Silber-diammin-Lösung bei Zimmertemperatur rasch. Die *Legal*-Probe fällt positiv aus. In wenig Chloroform gelöst wird mit Tetranitromethan eine starke Gelbfärbung erhalten.

Semicarbazon. Dieses wurde, wie beim freien Genin beschrieben, hergestellt. Es krystallisierte aus Methanol in dünnen, zu Büscheln vereinigten Prismen vom Smp. 262—263° (*Zers.*). Zur Analyse wurde $\frac{1}{2}$ Stunde im Hochvakuum bei 90° getrocknet.

1,925 mg Subst. gaben 0,163 cm³ N₂ (22°; 773 mm) (*S*)
 C₂₄H₃₃O₅N₃ (443,5) Ber. N 9,47 Gef. N 9,96%

Oxydationsversuch. 25 mg Diginigenin-monoacetat wurden in 0,7 cm³ 1-proz. Chromtrioxyd-Eisessig-Lösung (= 7 mg CrO₃) gelöst und 16 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde im Vakuum bei 20° Badtemperatur fast zur Trockne gebracht, mit wenig Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die wässrige Lösung enthielt noch unverbrauchtes Chromtrioxyd. Die Ätherlösung wurde mit wässriger Schwefelsäure, Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Durch Umkrystallisieren aus Aceton-Pentan wurden farblose Blättchen erhalten, die sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwiesen. Sie schmolzen bei 180° trüb unter Klarwerden der Schmelze bei 200—202°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 1 Stunde bei 100° getrocknet.

3,285 mg Subst. gaben 8,555 mg CO₂ und 2,32 mg H₂O (*S*)
 C₂₃H₃₀O₅ (386,47) Ber. C 71,47 H 7,82%
 Gef. „ 71,07 „ 7,90%

Aus der soda-alkalischen Waschlösung konnten keine sauren Oxydationsprodukte erhalten werden. Das Monoacetat ist somit gegen Chromsäure unter den angewandten Bedingungen weitgehend stabil.

Diginigenin-diacetat (VI).

100 mg Diginigenin wurden mit 0,5 cm³ Essigsäure-anhydrid und 0,6 cm³ absolutem Pyridin in einem Röhrchen eingeschmolzen

und 2 Stunden auf 100° erhitzt. Nach dem Aufschneiden des Röhrchens wurde der Inhalt mit etwas Äther herausgespült, im Vakuum eingedampft, der Rückstand in Äther gelöst, mit Salzsäure, Sodaauflösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, stark eingengt und mit Pentan versetzt. Beim Stehen schieden sich gelbliche Krystalle aus, die aber schwer von einer klebrigen Verunreinigung zu trennen waren. Daher wurde die ganze Menge (Krystalle und Mutterlaugen) im Molekularkolben bei 0,02 mm und 130° Badtemperatur sublimiert. Durch Umkrystallisieren aus Äther-Pentan wurden farblose Drusen kleiner Nadeln erhalten, die bei 168—170° schmolzen. Nach der Acetylbestimmung (es wurde dabei wie bei der Lactontitration verfahren) liegt ein Diacetat vor.

6,7 mg ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 1,60 cm³ 0,02-n. Lauge
 $C_{25}H_{32}O_6$ (428,5) Ber. —COCH₃ 20,1 Gef. —COCH₃ 20,5%

Die Substanz zeigte im U.V.-Absorptionsspektrum¹⁾ in alkoholischer Lösung eine allgemeine Endabsorption (bei 260 m μ log ϵ = 2,6; bei 200 m μ log ϵ = 4,3) mit einer kleinen Bande bei 238 m μ (log ϵ = 3,14). Es wurde daher vermutet, dass sie noch eine kleine Menge einer stark absorbierenden Verunreinigung enthält. Daher wurde das ganze noch vorhandene sublimierte Produkt (inkl. Mutterlaugen 85 mg) in Benzol-Pentan (1:1) gelöst und über eine mit Pentan bereitete Säule von 2,5 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Aus den 10 mit je 20 cm³ Benzol-Pentan (1:1) eluierten Fraktionen wurden durch Eindampfen und Umkrystallisieren aus Äther-Pentan lange, feine Nadeln erhalten, die bei 177—178° schmolzen. Die Mischprobe mit dem ähnlich schmelzenden Monoacetat schmolz bei etwa 152°. Insgesamt wurden 55 mg reines Diacetat erhalten. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

2,941 mg Subst. gaben 7,535 mg CO₂ und 2,00 mg H₂O (S)
 $C_{25}H_{32}O_6$ (428,5) Ber. C 70,07 H 7,52%
 Gef. „ 69,92 „ 7,60%

Die so gereinigte Substanz zeigte in Alkohol gelöst im U.V.-Absorptionsspektrum keine selektive, sondern nur noch eine Endabsorption (bei 240 m μ war log ϵ = 3,06; bei 220 m μ war log ϵ = 3,5). Das Diacetat reduzierte alkalische Silber-diammin-Lösung bei Zimmertemperatur stark. Der *Legal*-Test war negativ. Mit Tetranitromethan wurde eine deutliche Gelbfärbung erhalten.

Semicarbazon. 20 mg Diacetat wurden mit 0,5 cm³ einer 10-proz. Lösung von Semicarbazid-acetat in Methanol, die wie weiter oben beschrieben bereitet war, 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hierauf wurde im Vakuum eingedampft, mit Wasser

¹⁾ Wir danken Hrn. Priv.-Doz. Dr. H. Mohler, Zürich, für die Ausführung dieser und der folgenden Bestimmung.

versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherlösung wurde mit Sodalösung und Wasser gewaschen, mit wenig Natriumsulfat getrocknet und stark eingeengt. Beim Stehen schieden sich Krystalle aus, die nach dem Waschen mit Äther-Pentan bei 168—172° schmolzen. Einmaliges Umkrystallisieren aus einer Spur Essigester unter Zusatz von Äther gab farblose Krystalle vom Smp. 177—178°. Die Mischprobe mit dem gleich schmelzenden Ausgangsmaterial gab keine Schmelzpunktserniedrigung. Das Produkt war jedoch zum Unterschied von diesem im Hochvakuum nicht sublimierbar. Nach der Analyse liegt ein Monosemicarbazon vor.

1,276 mg Subst. gaben 0,097 cm³ N₂ (21,5°, 765 mm) (S)
 C₂₆H₃₅O₆N₃ (485,54) Ber. N 8,65 Gef. N 8,86%

Tetrahydro-diginigenin (VII).

150 mg Diginigenin wurden in 3 cm³ reinstem Eisessig gelöst und in Gegenwart von 50 mg Platinoxid hydriert. Nach 5-stündigem Schütteln waren 28,6 cm³ Wasserstoff aufgenommen und die Hydrierung stand still. (Ber. für den Katalysator 9,1 cm³, für 150 mg Subst. und zwei Doppelbindungen 19,2 cm³, total 28,3 cm³). Es wurde filtriert, im Vakuum eingedampft, in Chloroform-Äther gelöst, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der farblose Rückstand wurde zweimal aus Methanol umkrystallisiert und gab 100 mg verfilzte Nadeln vom Smp. 229—231° korr. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = +36,6^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ (c = 1,995 in Chloroform).

20,2 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{16} = +0,73^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Die Mutterlaugen gaben beim Einengen eine weitere Menge etwas tiefer schmelzenden Materials. Zur Analyse wurde eine bei 229—231° schmelzende Probe 1 Stunde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,769 mg Subst. gaben 9,985 mg CO₂ und 3,030 mg H₂O (S)
 C₂₁H₃₂O₄ (348,46) Ber. C 72,38 H 9,25%
 Gef. „ 72,30 „ 9,00%

8,2 mg \pm 0,2 mg Subst. verbrauchten 0,15 cm³ 0,02-n. Lauge (Lacton-Titration). Für 1 Äquiv. würde sich ein Verbrauch von 1,18 cm³ 0,02-n. Lauge berechnen; es liegt somit kein Lacton vor.

Das Tetrahydro-genin ist im Hochvakuum bei 135—140° leicht sublimierbar. Es gab, in wenig 80-proz. Methanol gelöst, mit einer heissen 2-proz. Digitonin-Lösung in 80-proz. Methanol keine Fällung. Es reduzierte alkalische Silber-diammin-Lösung nicht und gab beim Erwärmen mit 1,4-Dioxy-naphtalin in Eisessig und Salzsäure keine Färbung. Der *Legal*-Test war negativ und die Lösung in wenig Chloroform wurde durch Zusatz von Tetranitromethan nicht gefärbt.

Beim Stehen mit methylalkoholischer Semicarbazid-acetat-Lösung trat keine Reaktion ein.

Oxim. 50 mg Hydroxylamin-chlorhydrat und 70 mg kryst. Natriumacetat wurden in möglichst wenig heissem Wasser gelöst und nach Zusatz der Lösung von 30 mg Tetrahydro-genin in 1 cm³ Methanol 5 Stunden unter Rückfluss gekocht. Nach Zusatz von etwas Wasser wurde im Vakuum eingeeengt, das amorph ausgefallene Produkt abgenutscht, mit Wasser gewaschen und an der Luft getrocknet. Es schmolz ganz unscharf gegen 130⁰ und war in allen Lösungsmitteln ausser Wasser und Pentan (oder Petroläther) sehr leicht löslich. Es konnte nicht krystallisiert erhalten werden und wurde daher aus wenig Methanol mit Wasser umgefällt und zur Analyse im Hochvakuum bei 50⁰ bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es schmolz hierauf bei etwa 132⁰.

3,541 mg Subst. gaben 0,114 cm³ N₂ (21,5⁰; 759 mm) (S)
 $C_{21}H_{33}O_4N$ (363,47) Ber. N 3,85 Gef. N 3,72%

Oxydationsversuch mit Perjodsäure. 20 mg Tetrahydro-genin wurden in 1 cm³ reinstem Methanol gelöst, mit der Lösung von 27 mg Perjodsäure (2 Mol) in wenig Wasser versetzt und 16 Stunden bei 20⁰ stehen gelassen. Nach Zusatz von Wasser und Einengen im Vakuum wurden Krystalle vom Smp. 228⁰ erhalten, die sich als unverändertes Ausgangsmaterial erwiesen (Mischprobe). Das Produkt wurde hierauf nochmals analog, aber mit 50 mg Perjodsäure 24 Stunden bei 15⁰ stehen gelassen und anschliessend noch 2 Stunden auf 40⁰ erwärmt. Die Aufarbeitung ergab 16 mg Krystalle vom Smp. 226⁰, die sich wiederum als unverändertes Ausgangsmaterial erwiesen.

Tetrahydro-diginigenin-monoacetat (VIII).

a) Aus Tetrahydro-diginigenin (VII). 20 mg Tetrahydro-diginigenin (VII) wurden mit 0,5 cm³ Essigsäure-anhydrid 10 Min. gekocht. Dann wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Es resultierten 12 mg farblose Prismen vom Smp. 170—172⁰. Die Mutterlauge gab noch 8 mg vom Smp. 162—168⁰. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Äther-Pentan wurden zugespitzte Prismen erhalten, die bei 174—175⁰ schmolzen. Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 100⁰ getrocknet.

4,78 mg Subst. gaben 12,39 mg CO₂ und 3,74 mg H₂O (S)
 5,0 mg ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 0,65 cm³ 0,02-n. Lauge
 $C_{23}H_{34}O_5$ (390,50) Ber. C 70,75 H 8,78 —COCH₃ 11,1%
 Gef. „ 70,73 „ 8,75 „ 11,2%

Die Aufarbeitung des Verseifungsansatzes gab das oben beschriebene Tetrahydro-diginigenin vom Smp. 226⁰ zurück.

b) Durch Hydrierung von Diginigenin-monoacetat (V). 300 mg Diginigenin-monoacetat wurden in 15 cm³ reinstem Eisessig gelöst und in Gegenwart von 100 mg Platinoxid hydriert. Nach 15 Stunden waren 52 cm³ Gas aufgenommen und die Hydrierung

stand still (ber. für den Katalysator 18,3 cm³; für 300 mg Substanz und 2 Mol Wasserstoff 34,8 cm³; total 53,1 cm³). Es wurde filtriert, im Vakuum eingedampft und aus Äther durch Einengen umkrystallisiert. Erhalten wurden 260 mg zugespitzte Prismen vom Smp. 173—174°. Die Mischprobe mit dem nach a) bereiteten Präparat gab keine Schmelzpunktniedrigung. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

5,236 mg Subst. gaben 13,57 mg CO₂ und 4,01 mg H₂O (S)

C₂₃H₃₄O₅ Ber. C 70,75 H 8,78%
Gef. „ 70,73 „ 8,60%

Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{14} = +38,8^{\circ} \pm 1,5^{\circ}$ (c = 2,194 in Aceton).

22,2 mg \pm 0,2 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{14} = +0,85^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Tetrahydro-diginigenin-diacetat (X).

20 mg Tetrahydro-diginigenin (VII) wurden mit 0,25 cm³ Essigsäure-anhydrid und 0,3 cm³ absolutem Pyridin im evakuierten Röhrchen eingeschmolzen 11 Stunden auf 100° erhitzt. Die Aufarbeitung gab ein farbloses Öl, das in allen üblichen organischen Lösungsmitteln leicht löslich war und nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Es wurde im Molekularkolben bei 0,02 mm Druck und 120—130° Badtemperatur destilliert und gab dann noch eine schwache Gelbfärbung mit Tetranitromethan. Aus diesem Grunde wurde die ganze Menge (23 mg) in 1,5 cm³ Eisessig gelöst, mit 10 mg Platinoxid versetzt und in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Es fand aber keine merkbare Gasaufnahme statt. Nach üblicher Aufarbeitung wurde nochmals im Molekularkolben bei 0,015 mm Druck und 130° Badtemperatur destilliert. Das farblose dicke Öl zeigte jetzt keine Färbung mit Tetranitromethan mehr; es wurde für eine Acetylbestimmung benützt.

17,5 mg Subst. verbrauchten 3,60 cm³ 0,02-n. Lauge

C₂₅H₃₆O₆ für 2 Äquiv. Ber. 4,04 cm³

Das aus dem Verseifungsansatz wie beim folgenden Hexahydro-Derivat regenerierte Produkt schmolz roh bei 224° und gab bei der Mischprobe mit Tetrahydro-diginigenin keine Schmelzpunktniedrigung. Ein gleiches öliges Produkt mit analogen Eigenschaften und ganz ähnlichem Acetylgehalt wurde bei einstündigem Kochen des kryst. Tetrahydro-diginigenin-monoacetats mit Pyridin-Essigsäure-anhydrid erhalten. Es gab bei der Verseifung unter Verbrauch von knapp 2 Äquivalenten Lauge das kryst. Tetrahydro-diginigenin vom Smp. 228° (roh) zurück.

Hexahydro-diginigenin (XI) (?).

50 mg Diginigenin-diacetat (VI) vom Smp. 176—177° wurden in 2 cm³ reinstem Eisessig gelöst, mit 23 mg Platinoxid versetzt

und in Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. Nach 2 Stunden waren etwa 9 cm³ Gas aufgenommen; doch ist dieser Wert unsicher, da wegen zu niedriger Aussentemperatur die Mischung öfters einfrohr und aufgetaut werden musste (ber.: für Katalysator 4,2 cm³; für Substanz bei zwei Doppelbindungen 5,2 cm³; bei drei Doppelbindungen 7,8 cm³). Es wurde anschliessend noch mehrmals durch Schütteln mit Luft aktiviert und wieder hydriert, wobei die Gasaufnahme nicht mehr genau abgelesen werden konnte. Nach insgesamt 5 Stunden wurde in üblicher Weise aufgearbeitet. Erhalten wurden etwa 50 mg farbloses, dickes Öl, das im Molekularkolben bei 0,01 mm Druck und 130° Badtemperatur destillierte und nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte. Nach der Acetylbestimmung handelt es sich um ein Diacetat.

9,7 ± 0,2 mg Subst. verbrauchten 2,06 cm³ 0,02-n. KOH
 C₂₅H₃₈O₆ (434,54) Ber. —COCH₃ 19,8 Gef. —COCH₃ 18,3%

Zur Isolierung des Verseifungsproduktes wurde die bei der Titration erhaltene Lösung mit Wasser verdünnt, wobei nichts ausfiel. Es wurde daher mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung zur Entfernung von Phenolphthalein mehrmals mit Sodalösung, dann mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und stark eingengt. Die beim Stehen ausgeschiedenen Krystalle wurden mit etwas Äther gewaschen und schmolzen bei 202—205°. Zur Analyse wurde aus Äther-Pentan umkrystallisiert. Es wurden zu Büscheln vereinigte Nadeln erhalten, die bei 207° schmolzen. Sie wurden im Hochvakuum bei 100° getrocknet.

3,159 mg Subst. gaben 8,305 mg CO₂ und 2,720 mg H₂O (S)
 C₂₁H₃₄O₄ (350,51) Ber. C 71,95 H 9,77%
 Gef. „ 71,74 „ 9,63%

Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{18} = -13,6^{\circ} \pm 2^{\circ}$ (c = 0,883 in Chloroform).

8,936 mg Subst. zu 1,0125 cm³; l = 1 dm; $\alpha_D^{18} = -0,12^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Diginose (III).

Die rohe Diginose wurde zunächst im Molekularkolben bei 0,02 mm Druck und 80° Badtemperatur sublimiert, wobei nur ein ganz geringer Kolbenrückstand verblieb. Dann wurde sie aus absolutem Äther durch Einengen unter Feuchtigkeitsausschluss umkrystallisiert und die Abscheidung schliesslich durch vorsichtigen Zusatz von Pentan möglichst vervollständigt. Die farblosen Nadeln wurden mit Äther-Pentan, dann mit Pentan gewaschen und sofort im Exsikator getrocknet; sie schmolzen bei 87—88°. Zur Analyse wurde nochmals aus Äther durch Einengen umkrystallisiert und mit Äther, dann mit Pentan gewaschen. Nach zweitägigem Trocknen über Calcium-

chlorid (ohne Vakuum) lag der Smp. bei 88—89°. Die spez. Drehung betrug: $[\alpha]_D^{16} = +64,5^\circ \pm 1^\circ$ (nach 10 Min.; $c = 0,8466$ in Wasser) und $= +59,8^\circ \pm 1^\circ$ (nach 24 Stunden).

8,466 mg Subst. zu 1,0125 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{16} = +0,50^\circ \pm 0,01^\circ$ (Endwert)

Zur Analyse wurde der Zucker im Hochvakuum über Phosphor-pentoxyd bei Zimmertemperatur getrocknet und im Schweinchen gewogen.

5,209 mg Subst. gaben 9,895 mg CO₂ und 4,02 mg H₂O (S)

3,349 mg Subst. gaben 4,92 mg AgJ (Zeisel) (S)

C₇H₁₄O₄ (162,18) Ber. C 51,82 H 8,70 OCH₃ 19,14%

Gef. „ 51,82 „ 8,64 „ 19,39%

In einem Fall konnte der Schmelzpunkt der Krystalle bis auf 90—92° gebracht werden. Die Mischprobe mit Cymarose¹⁾, die einen ganz ähnlichen Schmelzpunkt zeigte, schmolz bei etwa 76—80°. Der Zucker gibt eine positive *Keller-Kiliani*-Reaktion. Er reduziert *Fehling'sche* Lösung beim Kochen rasch, bei Zimmertemperatur ist nach 10 Minuten noch keine Reaktion zu beobachten. Er ist sehr leicht löslich in Wasser, Alkohol und Aceton, in syrupöser Form auch in Äther, während die Krystalle in Äther nur mässig löslich sind, fast unlöslich ist er in Pentan. Er ist der Cymarose ausserordentlich ähnlich, und die Mischprobe muss wegen der Hygroskopizität mit grösster Vorsicht ausgeführt werden, falls sie zuverlässig sein soll, da längeres Reiben an der Luft den Schmelzpunkt auch ohne Zusatz rasch herabdrückt. Cymarose lässt sich nach *Elderfield*²⁾ gut als Cymaronsäure-phenylhydrazid charakterisieren, das ausgezeichnet krystallisiert. Wir geben nachstehend eine Vorschrift, die es gestattet, die Reaktion mit kleinen Mengen krystallisierter Cymarose sicher auszuführen. Ein analoger Versuch mit Diginose gab kein krystallisiertes Phenylhydrazid.

Cymaronsäure-phenylhydrazid (vgl. *Elderfield*²⁾). In einem Rundkölbchen mit aufgeschliffenem Glasstopfen wurden 100 mg Cymarose³⁾ in 1,7 cm³ Wasser gelöst und mit 45,7 mm³ (= 143 mg) Brom versetzt. Es wurde einige Minuten geschüttelt, bis das flüssige Brom in Lösung gegangen war und dann 20 Stunden verschlossen im Dunkeln bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde bei 20° Badtemperatur so lange evakuiert, bis die Lösung vollständig entfärbt war, und anschliessend unter Schütteln reinstes, frisch ausgefälltes und erschöpfend gewaschenes Silbercarbonat in kleinen Portionen eingetragen, bis die Mischung Kongopapier nicht mehr

¹⁾ Wir danken Hrn. Prof. *Stoll* bestens für die Überlassung einer Probe kristalliner Cymarose.

²⁾ *R. C. Elderfield*, J. Biol. Chem. **111**, 527 (1935).

³⁾ Aus Cymarin bereitet. Wir danken Hrn. Dr. *W. A. Jacobs*, New York, für die freundliche Überlassung einer Probe dieses Glykosids.

verfärbte. Der Niederschlag wurde über einen *Willstätter*-Nagel filtriert, mit wenig Wasser nachgewaschen und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff gefällt. Das Silbersulfid wurde abgenutscht und die hellbraune Lösung über einer Spur gewaschener Kohle klar filtriert. Das wasserhelle Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit etwas Methanol und Äther in einem Molekularkolben gespült und bei 0,03 mm und 80—90° Badtemperatur destilliert, wobei nur ein geringer Rückstand verblieb. Das farblose, syrupöse Destillat (91 mg) wurde mit etwas absolutem Äther in ein Reagensgläschen gespült, mit 57 mm³ Phenylhydrazin versetzt und nach Abdestillieren des Äthers 30 Min. auf 100° erwärmt. Nach dem Erkalten wurde mit wenig absolutem Äther versetzt, wobei rasch Krystallisation eintrat. Es wurde abgenutscht und mit absolutem Äther gewaschen. Die Ausbeute betrug 65 mg gelbliches Produkt vom Smp. 147—149°. Die Mutterlauge gab nach Einengen und nochmaligem ½-stündigem Wärmen noch 24 mg derselben Reinheit. Durch Umkrystallisieren aus Methanol-Äther wurden farblose Nadelchen vom Smp. 153,5—154° erhalten. Eine Probe des Rohproduktes wurde im Molekularkolben bei 0,01 mm Druck und 170° Badtemperatur destilliert. Das glasige Destillat krystallisierte aus Methanol-Äther sofort in farblosen Nadeln vom Smp. 150—152°.

Versuch zur Herstellung des Diginonsäure-phenylhydrazids. 100 mg Diginose wurden genau wie oben beschrieben behandelt. Das rohe Phenylhydrazid krystallisierte auch nach längerem Stehen bei -15° nicht und wurde daher im Molekularkolben destilliert. Nach Entfernung eines Vorlaufs bei 0,01 mm und 90° Badtemperatur wurde die Hauptmenge bei 170° Badtemperatur übergetrieben. Es verblieb nur ein sehr geringer Rückstand. Das Destillat war ein gelblicher, dicker Syrup, der bisher nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

Die Mikroanalysen wurden teilweise von Hrn. Dr. *A. Schoeller*, Berlin (*S*), teilweise im Laboratorium der *F. Hoffmann-La Roche & Cie. A.-G.*, Basel (*H*) (Leitung P.D. Dr. *M. Furter*), ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität, Basel.
