

Citronellol. 870 mg Citronellol<sup>1)</sup> wurden mit 30 mg Platin-oxyd in 10 cm<sup>3</sup> Eisessig hydriert. Nach 2 Stunden, während denen einmal aktiviert werden musste, betrug die Wasserstoffaufnahme genau 1 Mol.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von den Herren *H. Gubser* und *W. Manser* ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

### 164. Diginin.

2. Mitteilung<sup>2)</sup>.

#### Zur Konstitution der Diginose

von *C. W. Shoppee*<sup>3)</sup> und *T. Reichstein*.

(1. XI. 42.)

Das von *W. Karrer*<sup>4)</sup> aus *Digitalis purpurea* isolierte herzunwirksame<sup>5)</sup> Glukosid „Diginin“ besitzt, wie in der 1. Mitteilung gezeigt wurde, die Formel C<sub>28</sub>H<sub>40</sub>O<sub>7</sub> und wird durch saure Hydrolyse leicht in das Aglucon „Diginigenin“ C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> und einen Zucker, die „Diginose“, gespalten. Diginose besitzt die Bruttoformel C<sub>7</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>, ist also isomer mit der bekannten Cymarose und enthält wie diese eine Methoxylgruppe. Sie schmilzt fast gleich wie Cymarose und zeigt eine fast identische spez. Drehung. Trotz dieser äusserlichen Ähnlichkeit wurden Gründe beigebracht, die dafür sprechen, dass die zwei Zucker nicht identisch sind. Dies hat sich inzwischen bestätigt. Es konnten zwar weder von Diginose noch vom Diginonsäure-lacton mit Hydrazin und Hydrazinderivaten krystallisierte Produkte erhalten werden. Hingegen krystallisierte das S-Benzylthiuroniumsalz<sup>6)</sup> der Diginonsäure gut. Es schmolz bei 137° und zeigte eine spez. Drehung von:  $[\alpha]_D^{12} = -9,2^\circ \pm 2^\circ$  (in Methanol). Zum Vergleich wurde das entsprechende Salz der Cymaronsäure

<sup>1)</sup> Bezogen von der Firma *Firmenich & Co.* in Genf. Handelsbezeichnung: „chimi-queument pur“.

<sup>2)</sup> 1. Mitteilung *C. W. Shoppee, T. Reichstein*, *Helv.* **23**, 975 (1940).

<sup>3)</sup> Rockefeller Research Fellow at the University of Basel.

<sup>4)</sup> Festschrift für *E. C. Borell*, Basel 1936, S. 238.

<sup>5)</sup> Nach einer Privatmitteilung von *K. K. Chen* gaben Dosen bis 98  $\gamma$  per g Körpergewicht am Frosch negative Resultate, während eine Katze die Injektion von 14,725 mg per kg vertrug.

<sup>6)</sup>  $\left[ \text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2 - \text{S} - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{NH}_2 \\ \searrow \text{NH}_2 \end{array} \right]^+ \left\} \text{X}^- : \text{vgl. } J. J. Donleavy, \text{Am. Soc. } \mathbf{58}, 1004 (1936).$

bereitet, das ebenfalls gut krystallisierte. Es schmolz bei 130° und zeigte in Methanol keine messbare Drehung. Die beiden Salze gaben bei der Mischprobe eine geringe, aber deutliche Schmelzpunkts-erniedrigung.

Es sind noch zwei weitere natürliche Methoxyzucker bekannt, die dieselbe Bruttoformel wie Cymarose und Diginose besitzen, nämlich die Sarmantose<sup>1)2)</sup> und die Oleandrose<sup>3)4)5)</sup>. Obwohl diese Zucker im Schmelzpunkt und in der spez. Drehung stärker von Cymarose und Diginose abweichen, wurden sie ebenfalls zu den entsprechenden Säuren oxydiert und diese als S-Benzyl-thiuroniumsalze charakterisiert. Aus einer kleinen Probe frisch bereiteter, syrupsöser Sarmantose<sup>6)</sup> konnte ein ausgezeichnet krystallisierendes Salz vom Smp. 146° gewonnen werden, das nach Mischprobe von den entsprechenden aus Cymarose und Diginose erhaltenen Salzen verschieden war. Syrupöse Oleandrose wurde ebenfalls frisch aus Olean-drin<sup>7)</sup> bereitet. Die daraus durch Oxydation mit Bromwasser hergestellte Säure<sup>8)</sup> lieferte ein S-Benzyl-thiuroniumsalz, das bei 130° schmolz und in Aceton besonders schwer löslich war. Es gab bei der Mischprobe mit allen drei oben genannten isomeren Salzen deutliche Schmelzpunktserniedrigungen.

In der Tabelle S. 1613 sind die bisher bekannten Daten für die vier freien Zucker sowie für die S-Benzyl-thiuroniumsalze der aus ihnen erhältlichen Säuren zusammengestellt.

Diese Salze sind somit zur Identifizierung der vier Zucker gut geeignet, vor allem, wenn Vergleichsmaterial für Mischproben vorhanden ist.

Die Konstitution der Diginose konnte durch Abbau mit Kaliumpermanganat weitgehend gesichert und gleichzeitig die Konfiguration eines Asymmetriezentrums festgelegt werden. Wegen der Kostbarkeit des Materials wurde die Brauchbarkeit der genannten Abbau-methode zunächst an Cymarose geprüft, wobei sich ein zusätzlicher Beweis für die Richtigkeit der heute anerkannten Formel dieses Zuckers ergab.

1) *W. A. Jacobs, M. Heidelberger, J. Biol. Chem.* **81**, 765 (1929).

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

3) *W. Neumann, B.* **70**, 1547 (1937).

4) *G. Hesse, B.* **70**, 22 (1937).

5) *R. Tschesche, K. Bohle, W. Neumann, B.* **71**, 1927 (1938).

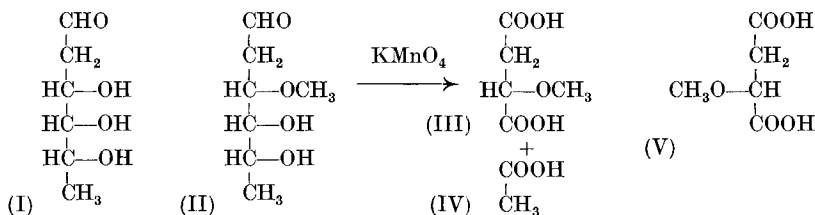
6) Sarmantose wurde von Herrn *A. Katz* im hiesigen Institut aus Sarmantocymarin gewonnen, das er aus einer älteren, als *Semen strophanti hispidi* bezeichneten Droge isolierte.

7) Wir danken Herrn Prof. *W. Schoeller*, Berlin, bestens für die Überlassung dieses Materials.

8) *R. Tschesche, K. Bohle, W. Neumann, B.* **71**, 1927 (1938).

	Freier Zucker		Phenyl- hydrazid der Säure	S-Benzyl-thiuroniumsalz der Säure	
	Smp.	$[\alpha]_D$ (Wasser)	Smp.	Smp.	$[\alpha]_D$ (Methanol)
Cymarose . . .	93° <sup>1)</sup>	+ 52° <sup>1)</sup>	154° <sup>8)</sup>	130° <sup>4)</sup>	0° ± 2° <sup>4)</sup>
Diginose . . .	90—92° <sup>2)</sup>	+ 55° <sup>3)4)</sup>	amorph <sup>2)</sup>	137° <sup>4)</sup>	- 9,2° ± 2° <sup>4)</sup>
Sarmentose . . .	78—79° <sup>5)</sup>	+ 15,8° <sup>5)</sup>	?	146° <sup>4)</sup>	+ 6,5° ± 2° <sup>4)</sup>
Oleandrose . . .	68—70° <sup>6)</sup>	? <sup>7)</sup>	136° <sup>9)</sup>	130° <sup>4)</sup>	+ 5,8° ± 2° <sup>4)</sup>

Für Cymarose wurde von *Windaus* und *Hermanns*<sup>10)</sup> die Konstitution (II) vorgeschlagen. Danach stellt dieser Zucker den 3-Methyläther der Digitoxose (I) dar, deren Konfiguration von *Micheel*<sup>11)</sup> bewiesen wurde. Gestützt auf diese konnte von *Elderfield*<sup>12)</sup> die Formel (II) für Cymarose weitgehend gesichert werden.



Bei der Behandlung von Cymarose (II) mit Kaliumpermanganat in einer Menge, die 4 Mol Sauerstoff entspricht, trat relativ glatte Spaltung ein. Aus dem Oxydationsgemisch liess sich Essigsäure (IV) als p-Phenyl-phenacylester<sup>13)14)</sup> sowie l(-)-Methoxybernsteinsäure(III) als Diamid isolieren. Das letztere erwies sich nach Schmelzpunkt,

<sup>1)</sup> *W. A. Jacobs*, *J. Biol. Chem.* **88**, 519 (1930). Der Schmelzpunkt ist je nach Trocknung und Vorbehandlung verschieden. Vgl. *W. A. Jacobs*, *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **91**, 625 (1931); *M. Hartmann*, *E. Schlittler*, *Helv.* **23**, 548 (1940), sowie weitere Literatur daselbst.

<sup>2)</sup> *C. W. Shoppee*, *T. Reichstein*, *Helv.* **23**, 975 (1940).

<sup>3)</sup> Früher<sup>2)</sup> wurde + 60° gefunden.

<sup>4)</sup> Vgl. Experimenteller Teil dieser Arbeit.

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

<sup>6)</sup> *W. Neumann*, *B.* **70**, 2264 (1937). Die Reinheit des Präparates ist nicht ganz sicher.

<sup>7)</sup> *W. Neumann*<sup>6)</sup> fand für ein amorphes Rohprodukt, das erhebliche Mengen Anhydro-oleandrose enthält,  $[\alpha]_D^{20} = -98^\circ$ .

<sup>8)</sup> *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **111**, 527 (1935).

<sup>9)</sup> *R. Tschesche*, *K. Bohle*, *W. Neumann*, *B.* **71**, 1927 (1938).

<sup>10)</sup> *A. Windaus*, *L. Hermanns*, *B.* **48**, 979 (1915).

<sup>11)</sup> *F. Micheel*, *B.* **63**, 347 (1930).

<sup>12)</sup> *R. C. Elderfield*, *J. Biol. Chem.* **111**, 527 (1935).

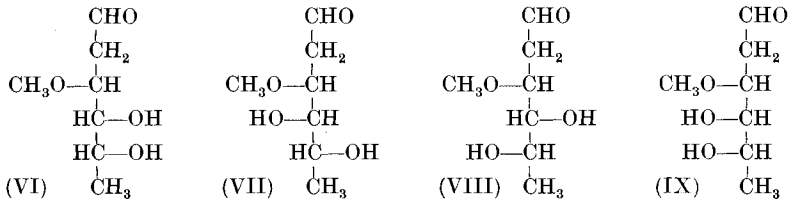
<sup>13)</sup> *N. L. Drake*, *J. Bronitsky*, *Am. Soc.* **52**, 3715 (1930).

<sup>14)</sup> *N. L. Drake*, *J. P. Sweeney*, *Am. Soc.* **54**, 2059 (1932).

Mischprobe und spez. Drehung als identisch mit einem nach *Purdie* und *Neave*<sup>1)</sup> aus *l*-Äpfelsäure gewonnenen Vergleichspräparat.

<i>l</i> (-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid	aus Cymarose	aus <i>l</i> (-)-Äpfelsäure <sup>2)</sup>
Schmelzpunkt. . .	183—184°	183—184°
spez. Drehung in Methanol . . . .	$[\alpha]_D^{18} = -57,2^\circ \pm 2^\circ$	$[\alpha]_D^{15} = -57,5^\circ \pm 2^\circ$

Dieses Resultat stellt, wie erwähnt, einen zusätzlichen Beweis für die Richtigkeit des oberen Teiles der Formel (II) für Cymarose dar und beweist die Brauchbarkeit der Methode, die mit relativ kleinen Substanzmengen durchführbar ist, zur Konstitutionsaufklärung ähnlich gebauter Zucker. Bei der Anwendung auf Diginose wurde auch gleich ein aufschlussreiches Resultat erhalten. Der genannte Abbau gab ebenfalls Essigsäure sowie eine nicht flüchtige Säure, die wiederum als Diamid charakterisiert wurde. Dieses zeigte denselben Schmelzpunkt wie das Diamid von (III), jedoch eine genau entgegengesetzt hohe Drehung. Die Abscheidung aus übersättigter Lösung liess sich durch Animpfen mit dem Diamid von (III) sofort einleiten. Eine Mischung möglichst gleicher Teile der beiden Diamide schmolz bei 177°, also so wie das racemische Diamid<sup>3)</sup>. Es liegt somit zweifelsohne das noch unbekannte Diamid der *d*(+)-Methoxy-bernsteinsäure (V) vor. Diginose hat also dieselbe Struktur wie Cymarose, unterscheidet sich von ihr jedoch zumindest durch die räumliche Lage der Methoxylgruppe an C<sub>3</sub>. Von den theoretisch möglichen vier Formeln (VI), (VII), (VIII) und (IX) scheidet die letzte aus, da diese *l*-Cymarose darstellen würde, einen Zucker, der die spez. Drehung  $[\alpha]_D = -54^\circ$  aufweisen müsste, während Diginose eine fast mit *d*-Cymarose identische Enddrehung von  $[\alpha]_D = +55^\circ$  zeigt<sup>4)</sup>. Von den drei verbleibenden Formeln (VI), (VII) und (VIII) scheint (VI) die grösste Wahrscheinlichkeit zu besitzen, weshalb versucht werden soll, sie durch Synthese zu stützen.



<sup>1)</sup> *T. Purdie, G. W. Neave, Soc. 97, 1519 (1910).*

<sup>2)</sup> *Purdie und Neave* fanden: Smp. 178—179° (nicht korrigiert) und  $[\alpha]_D^{20} = -56,8^\circ$  (Methanol).

<sup>3)</sup> *T. Purdie, W. Marshall, Soc. 59, 470 (1891).*

<sup>4)</sup> Vgl. Experimenteller Teil dieser Arbeit.

Vor Durchführung dieses Abbaus wollten wir durch Einwirkung von Perjodsäure und quantitative Messung der eingetretenen Glykolspaltung einen ersten Einblick in die Konstitution der Diginose erhalten. Titrationsen dieser Art sind für Zucker verschiedentlich beschrieben; eine für kleine Mengen geeignete Ausführungsform ist von *Rappaport* und Mitarbeitern<sup>1)</sup> publiziert worden. Die Reaktion kann bei normalen Zuckern sowohl in saurer als auch in schwach alkalischer Lösung quantitativ gestaltet werden, wobei in saurem Medium die Anwendung etwas höherer Temperaturen nötig ist. Eigenartigerweise zeigte es sich, dass die Methode bei diesen 2-Desoxy-Zuckern versagt. Cymarose reagiert in saurem Medium relativ langsam, und ein brauchbarer Endwert wird nicht erreicht. Diginose wird etwas rascher oxydiert, aber auch hier schreitet der Verbrauch an Oxydationsmittel über das erwartete eine Äquivalent hinaus. In leicht alkalischer Lösung ( $K_2CO_3$ ) geht die Oxydation bedeutend rascher vor sich. Cymarose verbraucht zunächst gleichmässig Sauerstoff, bis die einem Äquivalent entsprechende Menge aufgezehrt ist, dann ist der Verbrauch etwas verlangsamt, aber zu wenig, um einen brauchbaren Endwert zu ergeben. Diginose verbraucht unter diesen Bedingungen sogar ziemlich gleichmässig eine Menge, die zwei Sauerstoff-Äquivalenten entspricht, und erst hierauf tritt eine geringe Verlangsamung ein. Diese Titrationsmethode ist möglicherweise überhaupt für alle 2-Desoxy-Zucker nicht brauchbar.

### Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem *Kofler*-Block bestimmt und korrigiert. (Fehlergrenze ca.  $\pm 2^\circ$ .)

#### Diginonsäure-lacton.

180 mg kryst. Diginose<sup>2)</sup> vom Smp.  $88-92^\circ$  wurden wie früher beschrieben ins Diginonsäure-lacton übergeführt und dieses im Molekularkolben bei 0,03 mm und  $90^\circ$  Badtemperatur destilliert. Erhalten wurden 160 mg rohes Lacton als dicker, farbloser Syrup, der nicht krystallisierte. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{14} = -29,8^\circ \pm 1^\circ$  ( $c = 1,915$  in Aceton).

19,141 mg Subst. zu  $0,9994 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ dm}$ ;  $\alpha_D^{14} = -0,57^\circ \pm 0,02^\circ$

Die Umsetzung mit p-Bromphenylhydrazin sowie mit asymmetrischem Diphenylhydrazin bei  $100^\circ$  (30 Minuten) gab keine krystallisierbaren Derivate.

#### S-Benzyl-thiuroniumsalz der Diginonsäure.

35 mg Diginonsäure-lacton wurden mit  $3 \text{ cm}^3$  0,1-n. Bariumhydroxydlösung  $\frac{1}{2}$  Stunde auf dem siedenden Wasserbad erhitzt.

<sup>1)</sup> *F. Rappaport, J. Reifer, H. Weinmann, Mikrochim. Acta 1937, I, 290.*

<sup>2)</sup> Eine erneute Bestimmung der spez. Drehung gab als Endwert  $[\alpha]_D^{15} = +55^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 1,675$  in Wasser). 16,740 mg Subst. zu  $0,9994 \text{ cm}^3$ ;  $l = 1 \text{ dm}$ ;  $\alpha_D^{15} = +0,92^\circ \pm 0,02^\circ$ .

Nach dem Erkalten wurde mit Kohlendioxyd vollständig neutralisiert, zwei Minuten gekocht, filtriert und das Filtrat im Vakuum zur Trockne gedampft. Das als Rückstand erhaltene amorphe Bariumsalz wurde mit 4 cm<sup>3</sup> Methanol in ein Zentrifugenglas gespült und heiss mit der heissen Lösung von 48 mg S-Benzyl-thiuroniumsulfat<sup>1)</sup> in 1 cm<sup>3</sup> Methanol versetzt. Nach Auszentrifugieren des Bariumsulfats wurde die klare Lösung eingedampft. Der Rückstand krystallisierte beim Anfeuchten mit Aceton. Zur Reinigung wurde in wenig Methanol gelöst, mit 3 Volumen heissem Aceton versetzt, filtriert, eingeengt, wenn nötig noch mit etwas Aceton versetzt und gimpft. Das Salz krystallisierte in farblosen, zu Drusen vereinigten Blättchen und schmolz nach nochmaligem, analogem Umkrystallisieren bei 137—138°. Es wurde im Hochvakuum bei 85° getrocknet. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{12} = -9,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 1,087$  in Methanol).

10,861 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{12} = -0,10^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

3,708 mg Subst. gaben 7,134 mg CO<sub>2</sub> und 2,369 mg H<sub>2</sub>O

3,402 mg Subst. gaben 0,241 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (14°, 725 mm)

C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S (344,42)	Ber. C 52,30	H 7,02	N 8,13%
	Gef. ,, 52,50	„ 7,15	„ 8,03%

#### S-Benzyl-thiuroniumsals der Cymaronsäure.

22,5 mg Cymaronsäure-lacton wurden analog ins S-Benzyl-thiuroniumsals übergeführt und dieses zweimal aus Aceton umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 60° getrocknet. Es stellte farblose Prismen dar, die bei 130—130,5° schmolzen. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{12} = 0^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,890$  in Methanol).

8,899 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{12} = 0^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

4,028 mg Subst. gaben 7,707 mg CO<sub>2</sub> und 2,511 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S (344,42)	Ber. C 52,30	H 7,02%
	Gef. ,, 52,22	„ 6,98%

Die Mischprobe mit ungefähr der gleichen Menge des S-Benzyl-thiuroniumsalses der Diginonsäure schmolz bei etwa 122°.

#### S-Benzyl-thiuroniumsals der Sarmentonsäure.

30 mg Sarmentose (Syrup, frisch aus Sarmentocymarin bereitet) wurden in 0,5 cm<sup>3</sup> Wasser mit 15 mm<sup>3</sup> Brom oxydiert und wie bei Cymarose beschrieben<sup>2)</sup> aufgearbeitet. Das im Molekularkolben bei 0,02 mm und 90° Badtemperatur destillierte rohe Lacton wog 27 mg und stellte einen farblosen Syrup dar. Die wie oben beschrieben

<sup>1)</sup> Das Sulfat wurde aus S-Benzyl-thiuroniumchlorid durch Umsetzung seiner wässrigen Lösung mit der berechneten Menge Silbersulfat bereitet. Nach Eindampfen der filtrierten Lösung im Vakuum wurde es aus Methanol-Äther unkrystallisiert. Es schmolz bei 188—190° und war in Aceton sehr schwer löslich.

<sup>2)</sup> C. W. Shoppee, T. Reichstein, Helv. **23**, 975 (1940).

durchgeführte Umsetzung gab nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Methanol-Aceton 40 mg reines Salz in Form farbloser irisierender Blättchen, die bei 146° schmolzen. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{18} = +6,5^0 \pm 2^0$ ;  $[\alpha]_{5461}^{18} = +10,6^0 \pm 2^0$  ( $c = 1,227$  in Methanol). 12,266 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = +0,08^0 \pm 0,02^0$ ;  $\alpha_{5461}^{18} = +0,13^0 \pm 0,02^0$ .

3,563 mg Subst. gaben 6,817 mg CO<sub>2</sub> und 2,221 mg H<sub>2</sub>O

3,730 mg Subst. gaben 0,270 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (22°, 729 mm)

C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>S Ber. C 52,30 H 7,02 N 8,13%

Gef. „ 52,21 „ 6,98 „ 8,03%

Die Mischprobe mit dem bei 137° schmelzenden Salz der Diginonsäure schmolz bei ca. 131°, diejenige mit dem bei 130° schmelzenden Salz der Cymaronsäure bei etwa 124°.

### S-Benzyl-thiuroniumsalz der Oleandronsäure.

60 mg Oleandrose (Syrup)<sup>1)</sup> wurden analog mit Bromwasser oxydiert und das rohe Lacton im Molekularkolben bei 0,02 mm und 100° Badtemperatur destilliert, wobei 47 mg eines farblosen dicken Syrups resultierten. Dieses Lacton wurde mit 3 cm<sup>3</sup> 0,1-n. Bariumhydroxydlösung 10 Minuten auf 65° erwärmt und schliesslich 1 Minute gekocht. Nach dem Erkalten wurde neutralisiert, 2 Minuten gekocht, über eine Spur Kohle filtriert und das Filtrat im Vakuum bei 30° völlig eingedampft. Der fast farblose, amorphe Rückstand wurde in wenig heissem Methanol gelöst und mit Aceton ausgefällt. Nach Zugabe von absolutem Äther wurde abgenutscht, mit Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet. Erhalten wurden 55 mg fast farbloses, pulveriges Bariumsalz. Dieses wurde in einem Zentrifugenglas in 2 cm<sup>3</sup> absolutem Methanol gelöst und mit der heissen Lösung von 48 mg S-Benzyl-thiuroniumsulfat in 1 cm<sup>3</sup> absolutem Methanol versetzt und hierauf das Bariumsulfat auszentrifugiert. Die überstehende klare Lösung war frei von Barium- und Sulfat-ionen. Sie wurde eingedampft und der Rückstand mit etwas Aceton befeuchtet, wobei sofort Krystallisation eintrat. Das Salz ist in Aceton erheblich schwerer löslich als die oben beschriebenen drei Isomeren. Es wurde zunächst aus viel heissem Aceton durch Einengen umkrystallisiert und stellte farblose, dünne Blättchen dar, die bei 130—130,5° schmolzen. Zur Analyse wurde nochmals aus wenig Methanol durch Zusatz von Aceton umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

<sup>1)</sup> Zur Bereitung des Zuckers wurden 2 g Oleandrin mit einer Mischung von 50 cm<sup>3</sup> Methanol und 50 cm<sup>3</sup> 0,1-n. wässriger Salzsäure eine Stunde auf dem siedenden Wasserbad unter Rückfluss erhitzt, vgl. *W. Neumann*, B. **70**, 1547 (1937). Anschliessend wurde das Oleandrin abfiltriert, die Mutterlauge mit Chloroform ausgeschüttelt und hierauf wie üblich mit Silbercarbonat von Chlor- und dann mit Schwefelwasserstoff von Silberionen befreit, über eine Spur Kohle filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in absolutem Äther aufgenommen, die Lösung von wenig unlöslichen Verunreinigungen durch Filtration befreit und eingedampft, wobei 157 mg Oleandrose als farbloser Syrup zurückblieben.

Die Krystallform und der Schmelzpunkt waren unverändert. Nach sehr starkem Zerreiben schmolzen die Krystalle bei 128<sup>0</sup>—130<sup>0</sup>. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{14} = +5,8^0 \pm 2^0$  ( $c = 1,036$  in Methanol).

10,349 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{14} = +0,06^0 \pm 0,02^0$

3,842 mg Subst. gaben 7,347 mg CO<sub>2</sub> und 2,371 mg H<sub>2</sub>O

2,230 mg Subst. gaben 0,160 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (16<sup>0</sup>;  $c = 5$  mm)

C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub> N <sub>2</sub> S (344,42)	Ber. C 52,31	H 7,02	N 8,13%
	Gef. „ 52,19	„ 6,91	„ 8,09%

Die Mischprobe mit dem S-Benzyl-thiuroniumsalz

der Cymaronsäure schmolz bei etwa 120<sup>0</sup>

der Diginonsäure „ „ „ 126<sup>0</sup>

der Sarmontonsäure „ „ „ 124<sup>0</sup> <sup>1)</sup>.

Abbau der Cymarose mit Kaliumpermanganat.

486 mg Cymarose<sup>2)</sup> vom Smp. 88—90<sup>0</sup> wurden in 3,5 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst und unter Durchleiten von Kohlendioxyd innerhalb 2 Stunden die Lösung von 1,265 g Kaliumpermanganat in 25 cm<sup>3</sup> Wasser zugetropft. Die noch stark rote Mischung wurde 16 Stunden bei 18<sup>0</sup> stehen gelassen, wobei Entfärbung eintrat, hierauf tropfenweise mit Kaliumcarbonatlösung bis zur eben alkalischen Reaktion auf Phenolphthalein versetzt und zur Koagulation des Braunsteins 15 Minuten auf 50<sup>0</sup> erhitzt. Es wurde abgenutscht, der Braunstein noch zweimal mit wenig Wasser ausgekocht und dann verworfen.

Die vereinigten Filtrate wurden mit konz. Salzsäure bis zur eben rein blauen Reaktion auf Kongo versetzt und zur Abtrennung flüchtiger Säure unter Vorschaltung eines guten Kühlers im Vakuum bei 60 mm und 70<sup>0</sup> Badtemperatur vollständig eingedampft. Der Rückstand wurde mit 3 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt, erneut eingedampft und dieses Verfahren nochmals wiederholt. (Verarbeitung der Rückstandes vgl. weiter unten.)

#### Isolierung der Essigsäure.

Die vereinigten Destillate wurden zur Isolierung der flüchtigen Säure mit 0.1-n. Natronlauge in Gegenwart von Phenolphthalein genau neutralisiert (der Verbrauch entsprach 74 mg Essigsäure, ber. 180 mg) und hierauf im Vakuum eingedampft und bei 50<sup>0</sup> getrocknet. Zur Entfernung des Phenolphthaleins wurde der trockene Rückstand mehrmals mit Äther ausgezogen und hierauf mit 330 mg p-Phenylphenacylbromid<sup>3)</sup> (p-Phenyl- $\omega$ -bromacetophenon) in 7,5 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol eine Stunde unter Rückfluss gekocht. Es wurde eingedampft, der Rückstand mit etwas Wasser versetzt und mit Benzol ausge-

<sup>1)</sup> Bei Verwendung von ca. 2—3 Teilen Oleandronsäuresalz auf 1 Teil Sarmontonsäuresalz. Die Mischung gleicher Teile der beiden Salze schmolz bei etwa 129<sup>0</sup>.

<sup>2)</sup> Wir danken Herrn Prof. A. Stoll bestens für die Überlassung dieses Materials.

<sup>3)</sup> N. L. Drake, J. Bronitzky, Am. Soc. 52, 3715 (1930).



schüttelt. Die mit etwas Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Benzollösung wurde eingedampft und der Rückstand über eine mit Pentan bereitete Säule aus 9 g Aluminiumoxyd (*Merck*, standardisiert nach *Brockmann*) chromatographisch getrennt. Zum Nachwaschen dienten je 30 cm<sup>3</sup> der in der Tabelle genannten Lösungsmittel.

Fraktions-No.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand	Beilsteinprobe
1	Pentan	---	
2	Benzol-Pentan (1:10)	—	
3—4	„ „ (2:10)	—	
5	„ „ (3:10)	Nadeln, Smp. 124—126°	+
6	„ „ (3:10)	wenig Platten, „ 105—110°	+
7	„ „ (4:10)	viel „ „ 107—110°	—
8—11	„ „ (4:10)	wenig „ „ 107—110°	—
12	„ „ (5:10)	wenig „ „ 107—110°	—
13—15	absolutes Benzol	Spur „ „ 107—110°	—
16	Äther	Spur Öl	

Die Fraktion 5 lieferte beim Umkrystallisieren aus Äthanol farblose Nadeln vom Smp. 124—126°, die sich als p-Phenyl-phenacylbromid erwiesen. Die Fraktionen 7—12 wurden zusammen aus Äther-Pentan umkrystallisiert und gaben 130 mg farblose Platten vom Smp. 110—111°. Reines p-Phenyl-phenacylacetat<sup>1)</sup> sowie die Mischprobe schmolzen genau gleich.

Diese Methode ist zum Nachweis kleiner Mengen Essigsäure sehr geeignet. Aus einem Versuchsansatz mit 150 mg Cymarose wurden 18 mg Essigsäure (titrimetrisch bestimmt) erhalten und daraus 54 mg reines p-Phenyl-phenacylacetat.

#### Isolierung der l(-)-Methoxy-bernsteinsäure.

Der im Hochvakuum bei 45° getrocknete Kolbenrückstand wurde 7mal mit je 3 cm<sup>3</sup> 1-proz. methylalkoholischer Salzsäure extrahiert, die vereinigten Extrakte mit 20 cm<sup>3</sup> absolutem Äther versetzt und nach 2-stündigem Stehen filtriert. Das Filtrat wurde eingedampft, der Rückstand mit überschüssiger ätherischer Diazomethanolösung versetzt, die Lösung nach 10 Minuten eingengt und der ätherlösliche Teil im Molekularkolben bei 20 mm destilliert, wobei die folgenden drei Fraktionen aufgefangen wurden.

Fraktion 1:	Badtemperatur	30—50°	23 mg
„ 2:	„	50—70°	35 mg
„ 3:	„	70—90°	8 mg

<sup>1)</sup> N. L. Drake, J. Bronitzky, Am. Soc. 52, 3715 (1930).

Im Kolben verblieb ein beträchtlicher, teilweise anorganischer Rückstand. Jede der drei Fraktionen wurde mit der 10-fachen Menge bei 0° mit trockenem Ammoniak gesättigtem Methanol versetzt und 48 Stunden gut verschlossen bei 20° stehen gelassen.

Im Ansatz aus Fraktion 1 waren nach dieser Zeit ca. 1 mg Prismen auskrystallisiert. Sie schmolzen über 350° und waren sublimierbar, möglicherweise handelt es sich um Oxamid (Smp. 450°). Eindampfen der von diesen Krystallen abgegossenen Lösung gab 10 mg grosse farblose Prismen, die nach Waschen mit Methanol-Äther (1:3), Äther und Pentan bei 184° schmolzen. Fraktion 2 gab noch 12 mg desselben Amids, Fraktion 3 lieferte nur 4 mg unreine Krystalle vom Smp. 160—170°. Zur Analyse wurde aus Methanol-Äther umkrystallisiert und im Hochvakuum bei 85° getrocknet. Die Krystalle schmolzen bei 183—184°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{15} = -57,2^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,979$  in Methanol).

9,910 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = -0,56^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

4,129 mg Subst. gaben 6,22 mg CO<sub>2</sub> und 2,46 mg H<sub>2</sub>O

3,005 mg Subst. verbr. 5,985 cm<sup>3</sup> 0,02-n. Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Zeisel)

C<sub>3</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (146,13) Ber. C 41,10 H 6,89 —OCH<sub>3</sub> 21,2%

Gef. „ 41,11 „ 6,67 „ 20,6%

Die Mischprobe mit dem nachfolgend beschriebenen, bei 183° bis 184° schmelzenden *l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid aus *l*(-)-Äpfelsäure gab keine Schmelzpunktserniedrigung.

#### *l*(-)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid aus *l*(-)-Äpfelsäure.

50 mg *l*(-)-Äpfelsäure<sup>1)</sup> wurden mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert und der Dimethylester weiter nach *Purdie* und *Neave*<sup>2)</sup> mit Methyljodid und Silberoxyd<sup>3)</sup> methyliert. Das so erhaltene Material destillierte im Molekularkolben bei 13 mm und 55—75° Badtemperatur. Das wie oben bereitete Diamid krystallisierte aus Methanol in Prismen vom Smp. 183—184°. Die spez. Drehung betrug:  $[\alpha]_D^{15} = -40,9^{\circ} \pm 4^{\circ}$  ( $c = 0,538$  in Wasser);  $[\alpha]_D^{18} = -57,5^{\circ} \pm 2^{\circ}$  ( $c = 0,903$  in Methanol).

5,445 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup> (Wasser);  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = -0,22^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

9,147 mg Subst. zu 1,0125 cm<sup>3</sup> (Methanol);  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{18} = -0,52^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Das Diamid ist in kleinen Mengen im Hochvakuum bei 145° Badtemperatur unzersetzt sublimierbar.

In einem Vorversuch wurde *l*(-)-Äpfelsäure-dimethylester nach der Methode von *Schmidt* und *Zeiser*<sup>4)</sup> mit einem grösseren Überschuss

<sup>1)</sup> Wir danken Herrn Prof. *L. Ruzicka* für die Überlassung dieses Materials.

<sup>2)</sup> *T. Purdie, G. W. Neave, Soc. 97, 1519 (1910).*

<sup>3)</sup> *B. Helferich, W. Klein, A. 450, 219 (1926).*

<sup>4)</sup> *O. Schmidt, H. Zeiser, B. 67, 2122 (1934).*

von Diazomethan in trockenem Äther 48 Stunden bei Zimmer-temperatur stehen gelassen. Eine Methylierung der Hydroxylgruppe trat aber offenbar nicht ein oder nur in untergeordnetem Masse. Das Reaktionsprodukt lieferte bei zweitägigem Stehen mit methylalkoholischem Ammoniak *l*(-)-Äpfelsäure-diamid, das aus Methanol in farblosen Prismen vom Smp. 162° krystallisierte. Dabei wurde zuerst eine labile Krystallmodifikation beobachtet; sie schied sich aus Methanol in Drusen ab, die nach vorherigem Opakwerden bei 149—150° schmolzen. Die Schmelze erstarrte bei weiterem Wärmen unter Bildung von Prismen, die bei 162° schmolzen. Die neue Krystallmodifikation zeigte eine spez. Drehung:  $[\alpha]_D^{15} = -37^\circ \pm 2^\circ$  ( $c = 0,9405$  in Wasser), was mit dem bekannten Wert für die bei 162° schmelzende Form<sup>1)</sup> übereinstimmt.

9,519 mg zu 1,0125 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{15} = -0,35^\circ \pm 0,02^\circ$   
 5,128 mg Subst. gaben 6,850 mg CO<sub>2</sub> und 2,840 mg H<sub>2</sub>O  
 C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub> (132,10) Ber. C 36,37 H 6,10%  
 Gef. „ 36,45 „ 6,19%

#### Oxydation der Diginose mit Kaliumpermanganat.

250 mg kryst. Diginose vom Smp. 88—92° wurden in 2 cm<sup>3</sup> Wasser mit 650 mg Kaliumpermanganat in 13 cm<sup>3</sup> Wasser genau gleich wie Cymarose oxydiert und analog aufgearbeitet.

Die flüchtigen Säuren lieferten reines *p*-Phenyl-phenacylacetat vom Smp. 110—111° (Mischprobe).

Der die nicht flüchtigen Säuren enthaltende Eindampfrückstand wurde wiederum mit Hilfe von methylalkoholischer Salzsäure und Äther möglichst von anorganischem Material befreit, mit Diazomethan verestert und der rohe Methylester im Molekularkolben bei 20 mm destilliert, wobei die folgenden drei Fraktionen gewonnen wurden.

Fraktion 1: farblos, Badtemperatur 30—50°	46 mg
Fraktion 2: farblos, „ 50—70°	43 mg
Fraktion 3: gelb, „ 70—100°	30 mg

Im Kolben verblieben 92 mg undestillierbarer Rückstand.

Bei der Umsetzung mit methylalkoholischem Ammoniak gab Fraktion 1 wieder wenig in Methanol fast unlösliches Material (Oxamid?), das über 350° schmolz. Die Mutterlauge lieferte 5 mg nicht ganz reines Diamid vom Smp. 175—180°. Die Fraktion 2 lieferte bei analoger Behandlung 6 mg reines Diamid vom Smp. 183—184°. Aus Fraktion 3 wurde überhaupt kein krystallisiertes Diamid erhalten.

Die spez. Drehung der reinsten bei 183—184° schmelzenden Krystalle betrug:  $[\alpha]_D^{17} = +56,8^\circ \pm 4^\circ$  ( $c = 0,475$  in Methanol).

4,747 mg Subst. zu 0,9994 cm<sup>3</sup>;  $l = 1$  dm;  $\alpha_D^{17} = +0,27^\circ \pm 0,02^\circ$

<sup>1)</sup> P. Walden, Z. physiol. Ch. **17**, 249 (1895).

<sup>2)</sup> O. Lutz, Diss. Rostock (1899).

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 85° getrocknet.

2,280 mg Subst. gaben	3,503 mg CO <sub>2</sub>	und	1,331 mg H <sub>2</sub> O
2,502 mg Subst. verbr.	4,618 cm <sup>3</sup> 0,02-n. Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ( <i>Zeisel</i> )		
C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub> (146,13)	Ber. C 41,10	H 6,89	—OCH <sub>3</sub> 21,2%
	Gef. „ 41,93	„ 6,53	„ 19,1%

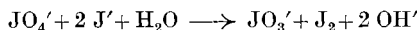
Die Mischprobe mit einer möglichst gleichen Menge von *l*(—)-Methoxy-bernsteinsäure-diamid schmolz bei 178—179°, in guter Übereinstimmung mit dem für das *d,l*-Diamid von *Purdie* und *Marshall*<sup>1)</sup> angegebenen Schmelzpunkt von 175° (unkorr.). Leicht übersättigte Lösungen des rechtsdrehenden Amids konnten durch Impfen mit der *l*-Form sofort zur Krystallisation angeregt werden. Auch die Krystallform war gleich.

Die letzten Mutterlaugen des Diamids aus den Fraktionen 1 und 2 gaben etwas Öl und kleine Mengen eines Stoffes, der nach Umkrystallisieren aus wenig Methanol bei 140—142° und nach Sublimation im Hochvakuum bei 145—150° Badtemperatur bei 142—146° schmolz und bei der Analyse die folgenden Werte gab.

2,472 mg Subst. gaben	0,502 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (15°, 726 mm)
0,672 mg Subst. verbr.	0,854 cm <sup>3</sup> 0,02-n. Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ( <i>Zeisel</i> )
	Gef. N = 23,0%, —OCH <sub>3</sub> = ca. 12,8%

### Oxydation der Cymarose und Diginose mit Kaliumperjodat.

Zur titrimetrischen Bestimmung des Verbrauchs an Perjodat benützten wir das Verfahren von *Rappaport* und Mitarbeitern<sup>2)</sup> unter Verwendung des Acetatpuffers<sup>3)</sup> (20 g kryst. Natriumacetat + 3H<sub>2</sub>O und 0,58 cm<sup>3</sup> konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zu 100 cm<sup>3</sup> Wasser, entsprechend einem p<sub>H</sub> = ca. 5,5). Unter diesen Bedingungen verläuft die Reaktion



augenblicklich, und nur das Perjodat wird mit scharfem Endpunkt erfasst.

Für die Bestimmung der Oxydationsgeschwindigkeit wurden 5,00 cm<sup>3</sup> Kaliumperjodatlösung (1,96 mg pro cm<sup>3</sup>) in einem *Erlenmeyer*-Kolben mit eingeschliffenem Zapfen mit 2,5 cm<sup>3</sup> 0,55-n. Kaliumcarbonatlösung vermischt und im Thermostaten auf 37,3° vorgewärmt. Dann wurde 1,00 cm<sup>3</sup> Zuckerlösung (2,50 mg pro cm<sup>3</sup>) zugegeben und bei 37,3° gehalten.

Nach den in der Tabelle angegebenen Zeiten wurde abgekühlt, mit 3,5 cm<sup>3</sup> 0,54-n. Schwefelsäure und hierauf mit 2,5 cm<sup>3</sup> einer

<sup>1)</sup> *T. Purdie, W. Marshall, Soc. 59, 470 (1891).*

<sup>2)</sup> *F. Rappaport, J. Reifer, H. Weinmann, Mikrochim. Acta 1937, I, 290.*

<sup>3)</sup> Der daselbst angegebene Phosphatpuffer (bestehend aus 12 g Dikaliumphosphat und 1,16 cm<sup>3</sup> konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zu 100 cm<sup>3</sup> Wasser) gab ein p<sub>H</sub> = 3—4, was ausserhalb des für die Reaktion richtigen Gebietes von p<sub>H</sub> = 4,4—7 liegt.

Lösung von 20 g kryst. Natriumacetat-trihydrat zu 100 cm<sup>3</sup> Wasser vermisch, mit einem Körnchen Kaliumjodid versetzt und mit 0,01-n. Natriumthiosulfatlösung titriert, wobei am Schluss ein Tropfen Stärkelösung zugegeben wurde. Eine Blindprobe ohne Zuckerzusatz wurde gleich behandelt. Es ergab sich, dass Diginose viel rascher oxydiert wird als Cymarose, doch wurde ein brauchbarer Endwert in keinem Falle erreicht.

Cymarose.

Zeit in Stunden	1	1,5	2	2,5	3	4	5
Verbrauch an KJO <sub>4</sub> in cm <sup>3</sup> . . . . .	0,47	0,76	1,17	1,43	1,65	1,85	2,01
Verbr. O-Atome . .	0,26	0,42	0,64	0,79	0,91	1,02	1,11

Diginose.

Zeit in Stunden	0,5	1	2	2,5	4
Verbrauch an KJO <sub>4</sub> in cm <sup>3</sup> . . . . .	0,56	1,25	2,53	3,08	4,10
Verbr. O-Atome . .	0,31	0,69	1,40	1,80	2,27

In schwefelsaurer Lösung war unter den von *Rappaport* und Mitarbeitern angegebenen Bedingungen bei 95° bei Cymarose nach 2 Stunden 1 Sauerstoff-Atom verbraucht; die Reaktion schritt jedoch auch hier ohne brauchbaren Haltepunkt weiter. Bei Diginose war unter diesen Bedingungen schon nach 15 Minuten 1 Sauerstoffatom verbraucht; jedoch auch in diesem Fall schritt die Oxydation rasch weiter.

Wurde die Oxydation mit Perjodsäure in saurer Lösung bei 95° in leichtem Stickstoffstrom ausgeführt und das abziehende Gas in wässrige p-Nitrophenylhydrazin-hydrochloridlösung eingeleitet, so wurde aus beiden Zuckern in fast quantitativer Ausbeute Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon erhalten, das nach Umkrystallisieren aus Hexan bei 126—128° schmolz und bei der Mischprobe mit einem gleich schmelzenden authentischen Vergleichspräparat keine Schmelzpunkts-erniedrigung gab.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich (Leitung *H. Gubser*) ausgeführt.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.