

Subst. D von HUBER *et al.* = *Uzarigenin*. Aus An farblose Nadeln, Smp. 227–248°, $[\alpha]_D^{25} = +16,6 \pm 3^\circ$ ($c = 0,7$ in Me)⁷⁷). Misch-Smp. mit *Uzarigenin* aus *Xysmalobium undulatum* (Smp. 224–249°, zerrieben) bei 223–247°. Die Farbfolge mit 84-proz. H₂SO₄ und die Laufstrecken im Pchr (System I) waren gleich.

O-Acetylderivat der Subst. D von HUBER *et al.* 9,6 mg Subst. D gaben bei üblicher Acetylierung 10,4 mg farblosen Schaum. Aus An-Ae 7,6 mg feine Nadeln, Smp. 261–269° (zerrieben), Misch-Smp. mit unserem Präparat von *O-Acetyl-uzarigenin* (Smp. 255–260°) aus *Xysmalobium undulatum* bei 258–270°. Die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ war bei beiden Präparaten gleich.

Subst. F von HUBER *et al.* = *Ascleposid*. Aus An-W farblose, feine Nadeln, Smp. 248–252° (Zers.). Das IR.-Spektrum war identisch mit unserem Präparat von *Ascleposid* aus *Xysmalobium undulatum* (Smp. 235–245°) und die Mischprobe (242–252°) zeigte keine Depression. Die Farbreaktion mit 84-proz. H₂SO₄ war bei beiden Präparaten gleich. Die Xanthidrol-Probe²³) war negativ.

Die Mikroanalysen wurden unter der Leitung von Herrn E. THOMMEN im Mikrolabor des Instituts ausgeführt; die UV.- und IR.-Spektren von den Herren R. BÜHRER, G. ROTZLER und A. SIEBER im Spektrollabor des Instituts.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Wurzeln von *Xysmalobium undulatum* sind sehr reich an Cardenolidglykosiden. Sie leiten sich zur Hauptsache von folgenden Geninen ab: *Uzarigenin*, *Xysmalogenin*, wenig 17α -*Uzarigenin*, *Coroglaucigenin* und *Pachygenol*. Diese kommen zum kleinen Teil in freier Form vor, zur Hauptsache jedoch mit (vermutlich 1–3 Mol.) *D-Glucose* verbunden. Daneben ist auch *Ascleposid* (*Uzarigenin-β-D-allomethylsidosid*) darin enthalten sowie Glucosylderivate desselben, ferner mindestens zwei weitere Genine (*D'* und *E*), von denen bisher nur *D'* in Kristallen isoliert werden konnte.

Institut für Organische Chemie der Universität Basel

3. Die Glykoside der Blätter von *Digitalis canariensis* L.

1. Mitteilung

von P. Studer, S. K. Pavanaram, C. R. Gavilanes, Horst Linde und Kuno Meyer

(2. XI. 62)

Vor kurzem haben wir über unsere ersten Ergebnisse bei der Isolierung der Glykoside aus den Blättern von *Digitalis canariensis* L., var. *isabelliana* (WEBB) LINDINGER (Kurzbezeichnung: *D. isabelliana*) berichtet¹⁾. Diese *Digitalis*-Pflanze unterscheidet sich nur wenig von der anderen autochthonen *Digitalis*-Art der Kanarischen Inseln, der *D. canariensis*²⁾, die – soweit sie wild wächst – nur auf der Insel Teneriffa (Tenerife) gefunden wird, während das Vorkommen der *D. isabelliana* auf die Insel Gran Canaria beschränkt ist. Im Zuge von Untersuchungen an weniger gut erforschten *Digitalis*-Arten schien es uns wünschenswert, auch die *D. canariensis* einer erneuten und eingehenderen Bearbeitung zu unterziehen. – Die Blätter dieser

¹⁾ R. REES, C. R. GAVILANES, W. MEIER, A. FÜRST & K. MEYER, *Helv.* 44, 1607 (1961).

²⁾ K. LEUPIN & R. BAUMGARTNER, *Pharmac. Acta Helv.* 36, 56 (1961).

Pflanze sind vor kurzem von GONZÁLEZ und Mitarb.³⁾⁴⁾ untersucht worden, die daraus ein als Canarienglykosid A bezeichnetes Diglykosid der Formel $C_{35}H_{52}O_{12}$ erhalten konnten, das bei der sauren Hydrolyse ein Anhydrogenin gab, das identisch mit 3,5-Dianhydroperiplogenin⁵⁾ war. TSCHESCHE und Mitarb.⁶⁾ haben eine kleine Menge dieses (allerdings unreinen) Glykosids mit *Luizym* abgebaut und dabei ein Geningemisch gewonnen, das sich bei der papierchromatographischen Untersuchung in 3 Substanzen aufteilen liess: 2 davon hatten gleiche Rf-Werte wie Pachygenin⁷⁾ und Xysmalogenin⁸⁾, während die dritte Substanz, die im Papierchromatogramm zwischen den beiden genannten Geninen lag, sich keinem bekannten Genin zuordnen liess. Später berichtete GONZÁLEZ, dass unter den Aglykonen der *D. canariensis* auch Uzariogenin habe aufgefunden werden können⁹⁾. Als Zucker hatten sich auf papierchromatographischem Wege Glucose und Fucose und vermutlich Rhamnose nachweisen lassen⁴⁾.

Extraktion der Blätter und Isolierung der Glykoside

Das zur Verfügung stehende Drogenmaterial, das der eine von uns (C.R.G.) auf der Insel Teneriffa gesammelt hat, wurde wie bei *D. isabelliana* beschrieben¹⁾ extrahiert.

Aus 1 kg Blattpulver konnten im Durchschnitt erhalten werden: 3 g Äther-Extrakt, 3 g Chloroform-Extrakt, 37,5 g Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt, 4 g Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt und 5 g Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt.

Die biologische Prüfung¹⁰⁾ (Methode nach HATCHER-MAGNUS an der Katze) ergab für das Blattpulver (alkoholischer Extrakt) $14,8 \pm 1,1$ mg/kg, für den Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt $0,62 \pm 0,05$ mg/kg, für den Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt $3,15 \pm 0,11$ mg/kg.

Daraus folgt, dass 1 kg Blattpulver 67500 Katzendosen (K.D.) und der Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt 62000 K.D. enthält. Rund 90% der Aktivität ist somit in diesen Teil des Isolierungsverfahrens übergegangen.

Die Ergebnisse der papierchromatographischen Untersuchungen der einzelnen Ausschüttlungen sind aus den Fig. 1–5 ersichtlich.

Aus dem Vergleich des papierchromatographischen Verhaltens der Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakte von *D. isabelliana* und *D. canariensis* (siehe Fig. 5) hätte

³⁾ A. G. GONZÁLEZ, Internationaler Kongress für reine und angewandte Chemie, Zürich 1955, Referatenband XIV, S. 160; A. G. GONZÁLEZ & R. CALERO, Anales real Soc. españ. Física Quím. (Madrid) *51 B*, 283, 341 (1955); Chem. Abstr. *49*, 12783b (1955); *50*, 3482a (1956).

⁴⁾ J. L. BRETÓN, J. DELGADO & A. G. GONZÁLEZ, Chemistry & Ind. *1959*, 513; A. G. GONZÁLEZ, J. L. BRETÓN FUNES & J. DELGADO BENÍTEZ, Anales real Soc. españ. Física Quím. (Madrid) *56 B*, 85 (1960).

⁵⁾ H. MUHR, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. *37*, 403 (1954).

⁶⁾ R. TSCHESCHE, W. FREYTAG & G. SNATZKE, Chem. Ber. *92*, 3053 (1959).

⁷⁾ T. GOLAB, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, Helv. *43*, 2035 (1960); frühere Literatur siehe daselbst.

⁸⁾ J. POLONIA, H. KURITZKES, HERB. JÄGER & T. REICHSTEIN, Helv. *42*, 1437 (1959); frühere Literatur siehe daselbst.

⁹⁾ Privatmitteilung an Prof. R. TSCHESCHE, siehe ⁶⁾ Fussnote 12.

¹⁰⁾ Diese wurde durch die Herren Drs. H. P. BÄCHTOLD und A. HÜRLIMANN in den Pharmakologischen Laboratorien der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, ausgeführt, wofür auch an dieser Stelle bestens gedankt sei.

geschlossen werden können, dass diese beiden *Digitalis*-Arten im grossen und ganzen die nämlichen Glykoside enthalten¹²⁾. Die weiteren Untersuchungen zeigten aber, dass dies nicht der Fall ist.

Da im Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt nahezu die gesamte Menge der herzaktiven Substanzen enthalten ist, haben wir nur diesen Teil des Extraktionsverfahrens einer eingehenderen Untersuchung unterzogen. Wir konnten daraus keine Kristalle erhalten und haben deshalb den rohen Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt mit Strophanthobiase¹³⁾ abgebaut. Danach konnte in einer Ausbeute von rund 34% – auf das Gewicht des eingesetzten Diglykosidgemisches bezogen – durch Ausschüttern mit Chloroform eine «Monosidfraktion» gewonnen werden, die im Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ 5 deutliche und klar abgesetzte Flecke a, b, c, d und «e», und 2 weniger deutliche Flecke f und g (Reihenfolge gemäss steigender Polarität) gab. Beim starken Erhitzen der Platte trat jeweils zwischen c und d noch ein weiterer Fleck in Erscheinung. Die diesem zugrunde liegende Substanz konnte bisher nicht gefasst werden.

Bei der chromatographischen Aufteilung der «Monosidfraktion» an Al_2O_3 war die Reihenfolge der eluierten Produkte: a, c, b, d, «e», f und g. Die 3 ersten erwiesen sich als zuckerfrei. Die *Substanz a*, die nach Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ einheitlich war, färbte sich mit KEDDE-Reagens¹¹⁾ (auf Papier) nur äusserst schwach rosa-violett. UV.- und IR.-Absorptionsspektren liessen eindeutig erkennen, dass ein Butenolid vorlag. Dieses erwies sich als identisch mit der Substanz $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_4$, die bei der Hydrolyse des Monosids d in Methanol-Wasser-Essigsäure entsteht (siehe weiter unten). *Substanz c* konnte hier nicht rein erhalten werden. Ein Versuch, diese Substanz durch präparative Papierchromatographie¹⁵⁾ von Substanz b zu trennen, liess daraus ein Artefact entstehen, das sich als Anhydroperiplogenon (IV) erwies. Über die Konstitution der Substanz c wird weiter unten berichtet (siehe Abbau des Monosids d). – *Substanz b* konnte in Kristallen, die im Dünnschicht¹⁴⁾- und Papier-Chromatogramm nur *einen* Fleck gaben, gewonnen werden. Wie weiter unten gezeigt wird, erwies sich Substanz b als identisch mit dem genuinen Aglykon, das dem *Monosid d* zugrunde liegt. – Das Hauptprodukt der «Monosidfraktion» stellt dieses Glykosid d dar, das durch direkte Kristallisation aus einer grossen Zahl von Fraktionen der Al_2O_3 -Chromatographie dünnschicht¹⁴⁾- und papier-chromatographisch rein gewonnen werden konnte. – Das *Monosid «e»* enthielt immer etwas d, liess sich aber durch präparative Papierchromatographie¹⁵⁾ völlig frei von d erhalten, war aber, wie unten gezeigt wird, ein Gemisch von 2 Monosiden, die wir vorläufig e' und e'' nennen. – Die letzten Eluate der Al_2O_3 -Chromatographie der «Monosidfraktion» enthielten die *Monoside f und g* und eine Reihe weiterer KEDDE-positiver Substanzen. Durch präparative Papierchromatographie liessen sich die *Monoside f, g*

¹¹⁾ D. L. KEDDE, Diss. Leyden 1946; vgl. auch J. E. Busch & D. H. Taylor, *Biochem. J.* 52, 643 (1952).

¹²⁾ Das früher¹⁾ reproduzierte Bild dieser Papierchromatogramme zeigte keine Auftrennung der (am wenigsten polaren) Hauptbestandteile. Dies dürfte auf eine verschiedene Vorbehandlung des Papiers zurückzuführen sein. Wir haben in der vorliegenden Arbeit nach dem Imprägnieren mit der stationären Phase die Papierbogen jeweils mindestens 2 Std. an der Luft hängen lassen.

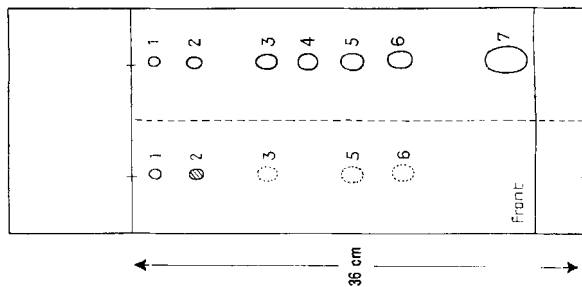
¹³⁾ A. STOLL & J. RENZ, *Enzymologia* 7, 362 (1939).

¹⁴⁾ Auf Linienglas, siehe A. GAMP, P. STUDER, H. LINDE & K. MEYER, *Experientia* 18, 292 (1962).

¹⁵⁾ E. VON ARX & R. NEHER, *Helv.* 39, 1664 (1956).

Papierchromatogramme der einzelnen Extrakte aus *D. canariensis*

Äther-Extrakt



a b

Fig. 1

System: Benzol-Chloroform-(7:3)/Formamid

Laufzeit: 2 1/2 Std.

Legende: a = mit KEDDE-Reagens¹¹⁾ sichtbar gemacht b = mit SbCl₅ in Chloroform sichtbar gemacht

○ = schwacher Fleck

⊗ = mittlerer Fleck

⊗⊗ = intensiver Fleck

Farben der Flecke

Tageslicht: violett 1, 2

blau 1, 2

grün 7

UV.: gelb 1, 2

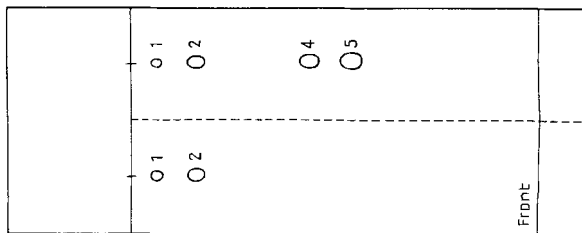
gelbgrün 4, 5

gelborange 3, 6

orange 7

1, 3, 6, 9

Chloroform-Extrakt



a b

Fig. 2

System: Benzol-Chloroform-(7:3)/Formamid

Laufzeit: 2 1/2 Std.

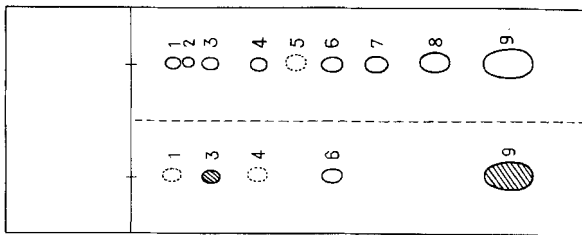
Legende: a = mit KEDDE-Reagens¹¹⁾ sichtbar gemacht b = mit SbCl₅ in Chloroform sichtbar gemacht

○ = schwacher Fleck

⊗ = mittlerer Fleck

⊗⊗ = intensiver Fleck

Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt



a b

Fig. 4

System: Benzol-Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid-(50:50:6:5)/Formamid

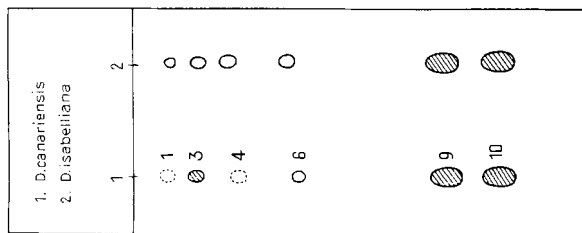
Laufzeit: 20 Std.

Legende: a = mit KEDDE-Reagens¹¹⁾ sichtbar gemacht b = mit SbCl₅ in Chloroform sichtbar gemacht

○ = schwacher Fleck

⊗ = mittlerer Fleck

⊗⊗ = intensiver Fleck



a

Fig. 5

System: Benzol-Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid-(50:50:6:5)/Formamid

Laufzeit: 16 Std.

Legende: a = mit KEDDE-Reagens¹¹⁾ sichtbar gemacht b = mit SbCl₅ in Chloroform sichtbar gemacht

○ = schwacher Fleck

⊗ = mittlerer Fleck

⊗⊗ = intensiver Fleck

Tageslicht: violett 3, 6, 9, 10

blau 1, 2

grün 7

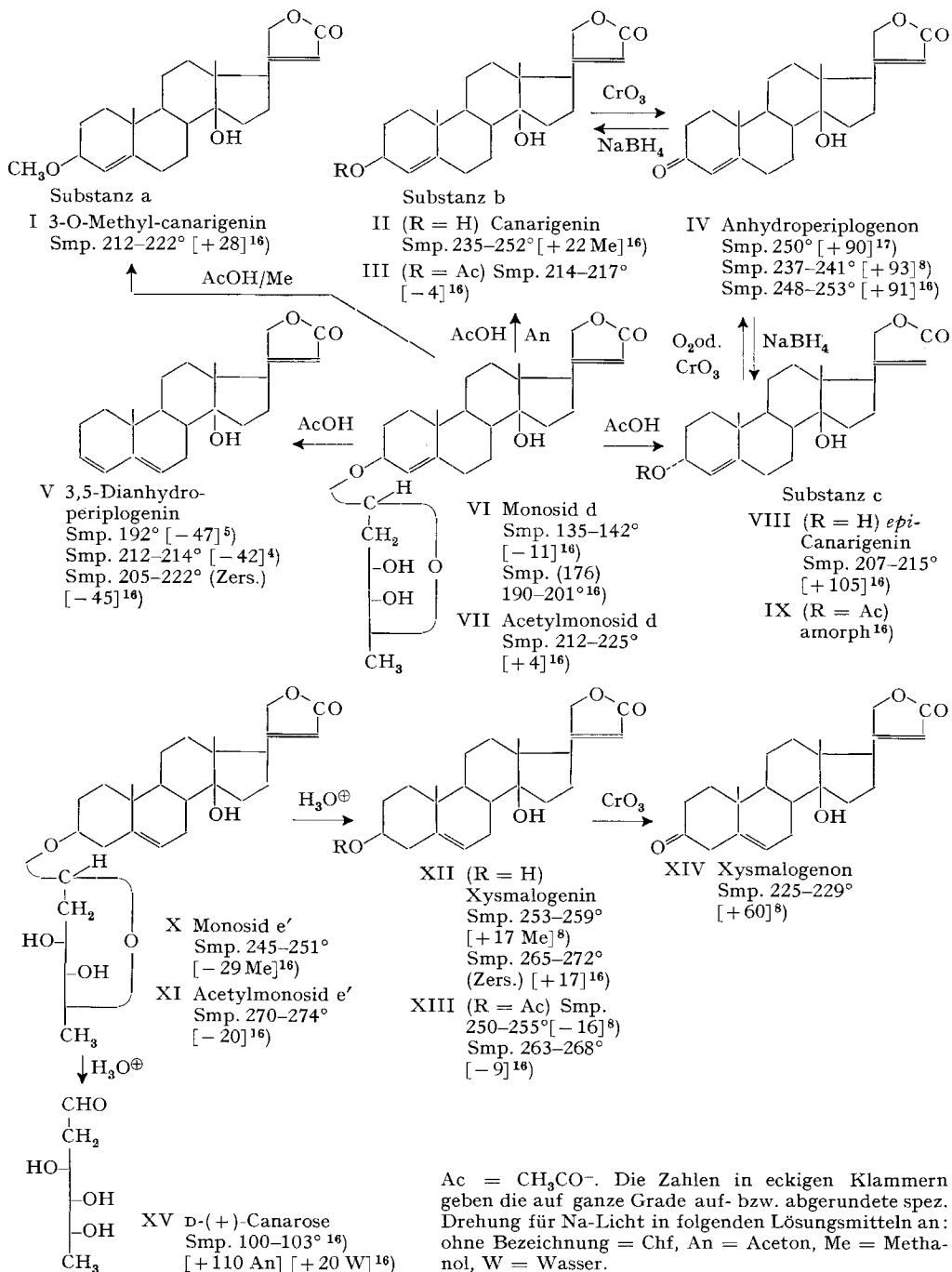
UV.: gelb 1, 2

gelbgrün 4, 5

gelborange 3, 6

orange 7

1, 3, 6, 9



¹⁶⁾ Siehe Exper. Teil dieser Arbeit.

¹⁷⁾ H. HELFENBERGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 35, 1503 (1952).

und ein weiteres, als *Monosid h* bezeichnetes Glykosid in Mengen von einigen mg gewinnen.

Die «Monosidfraktion» setzt sich etwa wie folgt zusammen: a 0,5%, b 8%, c weniger als 1%, d 55%, «e» 15%, polarere Substanzen (f, g, h usw.) 2,5%. Den Rest bilden nicht von der Säule eluierbare Bestandteile. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass die durch Strophanthobiase angegriffenen Glykoside in einem erheblichen Ausmass (zu mehr als 15%) eine Hydrolyse bis zur Genin-Stufe erfahren.

Untersuchung der Monoside

1. *Monosid d (VI)*. Dieses Glykosid kristallisierte aus Methanol-Äther in prismatischen Platten vom Smp. 135–142°, aus Aceton-Äther in feinen Nadelchen (mit $\frac{1}{2}$ Mol. Kristallwasser), Smp. (176) 190–201°; $[\alpha]_D = -11,4^\circ$ (in Chloroform). Die KELLER-KILIANI¹⁸⁾- und Xanthydrol¹⁹⁾-Reaktion auf 2-Desoxyzucker war positiv, ebenso die Tetranitromethanprobe. Die *Acetylverbindung VII* gab aus Aceton-Äther feinste Nadelchen vom Smp. 212–225° und $[\alpha]_D = -4,2^\circ$ (in Chloroform). Die Analysenwerte²⁰⁾ des Monosids d passten sehr gut auf die Bruttoformel $C_{29}H_{42}O_7$, bzw. $C_{33}H_{46}O_9$ für seine Acetylverbindung VII. Bei der Mikrohydrierung mit Pt in Eisessig wurde eine Doppelbindungszahl von 3,5 ermittelt (siehe weiter unten). Die Hydrolyse nach der für die Spaltung von 2-Desoxyglykosiden üblichen Methode und Chromatographie des rohen Geninanteils an Al_2O_3 gab nur eine Substanz, die bei 205–222° schmolz, mit Tetranitromethan sich sehr intensiv braungelb färbte und eine spez. Drehung von -45° (in Chloroform) zeigte. Diese Daten stimmen sehr gut mit den für *3,5-Dianhydroperiplogenin (V)* ermittelten überein. Auch das spektrale Verhalten im UV. zeigte völlige Übereinstimmung mit V.

Aus der Hydrolyselösung des Monosids d konnte in guter Ausbeute kristallisierte D(+)-*Digitoxose* gewonnen werden.

Substanz a = 3-O-Methyl-canarigenin (I). Dem Digitoxosid d muss ein Aglykon zugrunde liegen, das eine isolierte Doppelbindung besitzt (positive Tetranitromethanprobe). Um Xysmalogenin (XII), das ein Δ^5 -Cardenolid darstellt⁸⁾, kann es sich dabei nicht handeln, da ein Xysmalogenin-digitoxosid unter den angewandten Hydrolysebedingungen nicht 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) gibt (siehe weiter unten bei Monosid e'). Die aussergewöhnlich leicht verlaufende Wasserabspaltung im Geninanteil spricht vielmehr dafür – wie dies ja auch beim Scillaren A der Fall ist²¹⁾ – dass die Doppelbindung im genuinen Aglykon von C-4 ausgeht. Auf diese Möglichkeit hat schon TSCHESCHE⁹⁾ hingewiesen. Wir haben deshalb nach milderen Hydrolysebedingungen für die Spaltung dieses Digitoxosids gesucht, um dessen Aglykon möglichst unversehrt zu erhalten. Wir fanden, dass das Monosid d sich in Methanol-Wasser-(1:1), das 1% Eisessig enthält, im Laufe von 10–14 Tagen bei 37° grösstenteils und nur unter geringer Bildung von V hydrolysieren lässt. Das rohe Hydrolysenprodukt erwies sich nach Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ als sehr komplex. Es liessen sich darin mindestens 5 Substanzen nachweisen. Die polarste

¹⁸⁾ J. VON EUW & T. REICHSTEIN, *Helv.* 31, 883 (1948).

¹⁹⁾ V. ARREGUINE & P. E. PASQUALIS, *Rev. Univ. nac. Cordoba* 32, 439 (1945); P. BELLET, *Ann. pharmaceut. franç.* 8, 471 (1950); M. PESEZ, *ibid.* 10, 104 (1952).

²⁰⁾ Wir danken Herrn Dr. A. DIRSCHERL, Mikroanalytisches Laboratorium der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, bestens für die Ausführung der in dieser Arbeit erwähnten Analysen.

²¹⁾ A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, *Helv.* 35, 1934 (1952).

zeigte den gleichen Rf-Wert wie das Ausgangsmaterial (Monosid d), die unpolarste dieselbe Laufstrecke wie 3,5-Dianhydroperiplogenin (V). Das Hauptprodukt war nur wenig polarer als V und liess sich durch Al_2O_3 -Chromatographie rein gewinnen. Es kristallisierte in schön ausgebildeten Prismen vom Smp. 212–222° und $[\alpha]_D = +28^\circ$ (in Chloroform). Die Tetranitromethanprobe war positiv (schwach gelb). Die Analyse passte sehr gut auf die Formel $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_4$ mit 1 Methoxyl, dessen Anwesenheit sich auch aus dem NMR.-Spektrum ergab¹⁶⁾. Dieser Befund lässt sich unter Berücksichtigung der oben erwähnten leichten Bildung von 3,5-Dianhydroperiplogenin bei der milden Hydrolyse des Monosids d nur so deuten, dass die Substanz $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_4$ ein 3-Methoxy- Δ^4 -cardenolid ist, was die weiteren Untersuchungen (siehe später unter Substanz a) vollumfänglich bestätigten. Die übrigen Produkte der Hydrolyse von Monosid d in Methanol-Wasser-Eisessig konnten als Substanzen b und c identifiziert werden.

Um den störenden Einfluss des Methanols bei der Hydrolyse des Monosids d zu vermeiden, haben wir die Spaltung in Aceton-Wasser als Lösungsmittel (während 10–14 Tagen bei 37°) ausgeführt. Das Reaktionsgemisch gab dann im Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ 4 Flecke (in der Reihenfolge steigender Polarität): 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) (wenig), Substanz b (Hauptprodukt), Substanz c (wenig) und Monosid d (wenig). Die Spaltung des Monosids d kann auch in kürzerer Zeit (2 Tage) bewerkstelligt werden, wenn in Aceton-0,1N Schwefelsäure-(1:1) bei 20° hydrolysiert wird; dabei entsteht aber mehr V.

Substanz b = Canarigenin (II). Das dem Monosid d zugrunde liegende genuine Aglykon, dem wir den Namen *Canarigenin* geben und das auch aus der «Monosidfraktion» des mit Strophanthobias abgebauten Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extraktes erhalten wurde (siehe oben), kristallisierte aus Chloroform-Methanol-Aceton in dicken prismatischen Tafeln vom Smp. 235–252° und $[\alpha]_D = +22^\circ$ (in Methanol). Die spez. Drehung ist somit um 6–10° positiver als die des Xysmalogenins (XII). Dieser Befund ist bemerkenswert, beträgt doch die Differenz der spez. Drehung zwischen Allocholesterin (Δ^4 -Cholesten-3 β -ol) und Cholesterin —80–90°. Das 3-O-Acetyl-canarigenin (III) kristallisierte aus Aceton-Äther in langen prismatischen Nadeln vom Smp. 214–217° und $[\alpha]_D = -4^\circ$ (in Chloroform). Das Acetylierungskrement des Canarigenins entspricht somit einerseits demjenigen des Xysmalogenins, stimmt aber andererseits auch recht gut mit dem beim Allocholesterin ermittelten Wert überein. Es lässt sich auch hier, wie dies beim Scillarenin²¹⁾ schon vor längerer Zeit festgestellt worden ist, durch Vergleich von Drehwerten kein Hinweis für die Lage der Doppelbindung gewinnen (siehe Tab. 1; vgl. auch 5)).

Tabelle 1. *Molekulare Drehungen in Chloroform*

	M_D	M_D	
Cholesterin	– 151	+ 62	Xysmalogenin ²²⁾
Acetylcholesterin ²³⁾	– 202	– 66	O-Acetyl-xysmalogenin ²²⁾
Allocholesterin ²⁴⁾	+ 170	+ 82	Canarigenin ¹⁶⁾
Acetyl-allocholesterin ¹⁸⁾	+ 37	– 17	O-Acetyl-canarigenin ¹⁶⁾

²²⁾ J. POLONIA, A. KURITZKES, H. JÄGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* 42, 1437 (1959).

²³⁾ A. WINDAUS, *Z. physiol. Chem.* 101, 276 (1918).

²⁴⁾ R. SCHOENHEIMER & E. A. EVANS, *J. biol. Chemistry* 114, 567 (1936).

Dass Canarigenin (II) einerseits wirklich das Δ^4 -Analogon des strukturell gesicherten Xysmalogenins und andererseits das Butenolid-Analogon des ebenfalls in seiner Konstitution abgeklärten Scillarenins ist und somit Formel II besitzt, ergab sich schon aus dem oben erwähnten chemischen Verhalten des Monosids d: Doppelbindungszahl von 3,5 bei der Hydrierung, äusserst leichte Spaltbarkeit unter Anhydrierung zum 3,5-Dianhydroperiplogenin und Bildung eines Methyläthers (Substanz a) bei der Hydrolyse in Methanol-Wasser-Essigsäure oder bei der enzymatischen Spaltung in Wasser, das etwa 1–2% Methanol enthält. In Ergänzung hierzu haben sich noch die folgenden weiteren Beweise für die Konstitution des Canarigenins entsprechend II erbringen lassen. Canarigenin geht bei der vorsichtigen Dehydrierung mit CrO_3 (in Wasser-Aceton-Schwefelsäure)²⁵⁾ in *Anhydroperiplogenon* (IV) über. Analoge Dehydrierung von Xysmalogenin gibt dagegen das Δ^5 -Keton Xysmalogenon⁸⁾ 26). Auch die ROSENHEIM'sche Farbreaktion²⁷⁾, die als spezifisch für diejenigen Steroide angesehen wird, die ein Diensystem enthalten oder bei welchen sich ein solches durch saure Dehydratisierung auszubilden vermag, war positiv (rosa \rightarrow rotblau \rightarrow blau), während Cholesterin und Epicholesterin (auch in der Wärme) völlig farblos blieben. – Das aus Anhydroperiplogenon (IV) mit NaBH_4 bereitete Reduktionsprodukt gab im Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ 2 Flecke, deren Rf-Werte mit denjenigen der Substanzen b und c übereinstimmten. Eine Auftrennung dieses Gemisches liess sich hier nur durch präparative Papierchromatographie erzielen. Die danach in einheitlichen Kristallen gewonnene Substanz b, die mindestens $\frac{4}{5}$ des rohen Reduktionsproduktes ausmachte, war identisch mit natürlichem Canarigenin. Die Substanz c ging infolge Autoxydation grösstenteils in IV über und konnte nicht in einheitlichen Kristallen gefasst werden. – Mit Hilfe der Protonen-Resonanzspektroskopie liess sich schliesslich noch zeigen (siehe weiter unten unter Substanz c), dass Canarigenin ein 3β -Hydroxysteroid ist, was u. a. auch aus dem Verlauf der Reduktion von IV mit NaBH_4 abgeleitet werden konnte.

Substanz c = 3-epi-Canarigenin (VIII). Dieses Genin verhält sich im Al_2O_3 -Chromatogramm etwas weniger polar wie Substanz b und wird demzufolge unmittelbar vor bzw. mit dieser eluiert. Durch sorgfältige und wiederholte Chromatographie der Fraktionen (aus der präparativen Spaltung von Monosid d in Aceton-Wasser-Essigsäure), die nach Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ die Substanzen b und c enthielten, liess sich letztere rein gewinnen. Sie gab aus Aceton-Äther grobe, zu Drusen vereinigte Prismen. Smp. 207–215°; $[\alpha]_D = +105^\circ$ (in Chloroform). Bei der Acety-

²⁵⁾ K. BOWDEN, I. M. HEILBRON, E. R. H. JONES & B. C. L. WEEDON, J. chem. Soc. 1946, 39; R. G. CURTIS, Sir I. HEILBRON, E. R. H. JONES & G. F. WOODS, *ibid.* 1953, 457; vgl. auch H. HEUSSER, M. ROTH, O. ROHR & R. ANLIKER, Helv. 38, 1178 (1955).

²⁶⁾ Die sicherste und rascheste Identifizierung der beiden Genine II und XII lässt sich mit Hilfe des «Hydrolysentests»¹⁶⁾ erzielen. Dabei wird Canarigenin (II) in das 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) übergeführt, während Xysmalogenin (XII) unverändert bleibt. XII und V zeigen im Dünnschichtchromatogramm¹⁴⁾ auf Silicagel ganz verschiedene Rf-Werte. Demgegenüber sind die beiden Genine II und XII nur schwer voneinander trennbar: bei der Dünnschichtchromatographie¹⁴⁾ an Silicagel kann mit den üblichen Lösungsmittelsystemen keine Aufteilung erzielt werden, und im Papierchromatogramm (siehe weiter unten unter Substanz e') ist die Trennung unvollständig. Einzig im präparativen Al_2O_3 -Chromatogramm kommt es zu einer Aufteilung, da das Xysmalogenin sich dabei etwas polarer als Canarigenin verhält.

²⁷⁾ O. ROSENHEIM, Biochem. J. 23, 47 (1929).

lierung in Pyridin-Acetanhydrid entstand neben der amorphen *Acetylverbindung IX* infolge teilweiser Autoxydation Anhydroperiplogenon (IV). Das gleiche Verhalten zeigte Epiallocholesterin (Δ^4 -Cholesten-3 α -ol), das wir nach den Angaben von PLATTNER und Mitarb.²⁸⁾ bzw. MCKENNIS und Mitarb.²⁹⁾ durch Reduktion von Cholestenon (Δ^4 -Cholesten-3-on) mit LiAlH_4 bereiteten³⁰⁾³¹⁾.

Vorsichtige Dehydrierung von Substanz c mit CrO_3 ³²⁾ gab einheitliches IV. Diese Befunde sprechen dafür, dass es sich bei der Substanz c um das 3-Epimere des Canarigenins gemäss Formel VIII handeln muss, was auch mit Hilfe der Protonen-Resonanzspektroskopie³²⁾ eindeutig bewiesen werden konnte: aus DREIDING-Raummodellen ergibt sich nämlich, dass der Winkel zwischen den beiden Wasserstoffatomen an C-3 und C-4 bei Canarigenin (II) etwa 85° und bei VIII etwa 35° beträgt. Die Kopplungskonstante sollte demnach bei II etwa 0 cps und bei VIII etwa 4 cps sein³³⁾. VIII zeigte nun u. a. tatsächlich bei 5,5 ppm ein aufgespaltenes Signal mit einer Kopplungskonstanten von etwa 4,5 cps. Diese dem Vinylproton an C-4 zukommende Bande liegt beim 3-O-Acetyl-canarigenin (III)³⁴⁾ bei 5,27 ppm. Sie ist hier nicht aufgespalten (Kopplungskonstante 0 cps). Allocholesterin bzw. Acetyl-epiallocholesterin³⁵⁾ zeigten das gleiche Verhalten wie III bzw. VIII. Die NMR.-Spektren der Substanz a (I) und des Monosids d (VI) wiesen bei etwa 5,39 bzw. 5,37 ppm die dem Vinylproton an C-4 zukommende, unaufgespaltene Bande auf. II, I und VI sind somit 3 α H- Δ^4 -Steroide, VIII stellt dagegen ein 3 β H- Δ^4 -Steroid dar.

2. *Monosid «e»*. Das durch präparative Papierchromatographie¹⁵⁾ vom Monosid d befreite Glykosid «e» erwies sich sowohl bei der Papier- als auch bei der Dünnschicht-Chromatographie als einheitlich. Es zeigte den Doppel-Smp. 228°/235–239°, gab Analysenwerte, die auf $\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_7$ passten und eine Acetylverbindung der Formel $\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{O}_9$ vom Smp. 265–270°. Auf Grund des «Hydrolysentests»¹⁶⁾ liess sich vermuten, dass die Substanz «e» Canarigenin (II) als Aglykon und einen 2-Desoxy-

²⁸⁾ PL. A. PLATTNER, H. HEUSSER & A. B. KULKARNI, *Helv. 32*, 265 (1949).

²⁹⁾ H. MCKENNIS JR. & G. W. GAFFNEY, *J. biol. Chemistry 175*, 217 (1948).

³⁰⁾ Die amerikanischen Autoren²⁹⁾ fanden, dass das Verhältnis der beiden durch Reduktion von Cholestenon erhaltenen in 3-Stellung epimeren Carbinole etwa 1:1 beträgt. Unser rohes Reduktionsprodukt bestand demgegenüber und in Übereinstimmung mit den Befunden von W. C. DAUBEN, R. A. MICHELI & J. F. EASTHAM (*J. Amer. chem. Soc. 74*, 3852 (1952)) zum überwiegenden Teil aus Allocholesterin. Durch Chromatographie an Al_2O_3 gelang es, das 3 α -Isomere vom Allocholesterin zu trennen, da sich letzteres dabei etwas polarer verhält.

³¹⁾ Allocholesterin, Epiallocholesterin und Cholestenon lassen sich – wie wir fanden – leicht mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie¹⁴⁾ im System Essigester-Petroläther-(1:4) unterscheiden. – Nach Abschluss dieser Arbeiten hat uns Herr Prof. CH. TAMM, Basel, mitgeteilt, dass sich die beiden an C-3 epimeren Δ^4 -Cholestenole auch im System Benzol-Äther-(3:2) trennen lassen (siehe Diss. G. JUHASZ, Basel 1961). Bei der Nachprüfung fanden wir, dass dieses System eine eher noch bessere Trennwirkung besitzt. Wir danken Herrn Prof. TAMM bestens für diese Information.

³²⁾ Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN A 60-Spektrographen in CDCl_3 mit Tetramethylsilan als interner Bezugssubstanz aufgenommen. Wir danken Herrn Dr. C. VON PLANTA, Forschungslaboratorien der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, bestens für seine Hilfe bei der Aufnahme und der Interpretation der Spektren.

³³⁾ L. M. JACKMAN: *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, Pergamon Press, 1959, S. 83 ff.

³⁴⁾ Die Löslichkeit des Canarigenins in CDCl_3 ist zu gering.

³⁵⁾ Für die Aufnahme des NMR.-Spektrums haben wir die Acetylverbindung gewählt, weil diese im Unterschied zum freien Carbinol leicht rein gewonnen werden kann und stabil ist.

zucker (positive KELLER-KILIANI¹⁸)- und Xanthhydrol¹⁹)-Reaktion) enthält, der in den von uns benützten Systemen gleiches papierchromatographisches Verhalten aufwies wie Boivinose. Die Hydrolyse des Glykosids «e» im präparativen Maßstab, die zunächst wie beim Monosid d in Aceton-Wasser-Eisessig durchgeführt wurde, verlief äusserst langsam. Wir haben deshalb durch Zusatz von verd. H_2SO_4 ¹⁶) die Glykosidspaltung beschleunigt. Nach üblicher Aufarbeitung wurde der rohe Geninteil – über den isolierten Zucker wird weiter unten berichtet – an Al_2O_3 chromatographiert. Dabei liessen sich zunächst reichliche Mengen 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) eluieren. Die späteren Fraktionen enthielten auf Grund der Dünnschichtchromatographie¹⁴) zunächst c und b, später reines b. Die Kristalle, die aus den letzten b enthaltenden Fraktionen gewonnen wurden, zeigten im Dünnschichtchromatogramm¹⁴) gleiche Rf-Werte wie Canarigenin (II), gaben aber beim Besprühen mit $SbCl_3$ in Chloroform und Erhitzen keine blaue, sondern eine *rosarote* Färbung. Kristallisate, die sich mit $SbCl_3$ auf Silicagel rosa färbten, wiesen ausserdem einen höheren Schmelzpunkt auf, als er für Canarigenin (II) gefunden worden war. Im Unterschied zu II blieben Proben dieser Kristallisate im «Hydrolysentest»²⁶) unverändert oder gaben neben Ausgangsmaterial nur wenig 3,5-Dianhydroperiplogenin (V). Der direkte Vergleich mit authentischem *Xysmalogenin* (XII)³⁶) ergab dann, dass diese höher als II schmelzende Substanz mit diesem Genin identisch ist (Mischprobe, spez. Drehung und Verhalten bei der Dünnschichtchromatographie¹⁴) des freien Genins wie auch seiner Acetylverbindung). Bei der Papierchromatographie (System Benzol-Chloroform(1:3)/Formamid⁶)) konnte zunächst kein signifikanter Unterschied in den Rf-Werten von Canarigenin und Xysmalogenin festgestellt werden. Wird das Chromatogramm aber so lange entwickelt, dass die Front des Fliessmittels eben den Papierrand erreicht, dann wird der Unterschied in den Rf-Werten deutlich: Canarigenin (II) 0,83, Xysmalogenin (XII) 0,75 (siehe Fig. 6). Der geringe Unterschied in den Rf-Werten von II und XII lässt vermuten, dass das von TSCHESCHE und Mitarb.⁶) aus rohem Canarienglykosid durch enzymatische Hydrolyse gewonnene «dritte Genin» (Rf-Wert 0,79 im oben erwähnten System) gar nicht Xysmalogenin, sondern Canarigenin gewesen ist. Dafür spricht die Tatsache, dass einerseits Xysmalogenin im Vergleich zu Canarigenin nur einen Bruchteil der Geninkomponenten der enzymatisch spaltbaren *D. canariensis*-Glykoside ausmacht, und andererseits kein freies Xysmalogenin in der «Monosidfraktion» der vorliegenden Arbeit, sondern u. a. nur Canarigenin aufgefunden werden konnte.

Wie oben bereits ausgeführt²⁶), lässt sich mit Hilfe des «Hydrolysentests» (Erhitzen in sehr schwach saurer Lösung) auf einfache und zuverlässige Weise prüfen, ob Kristallisate von II noch XII enthalten oder umgekehrt. Dieses Verfahren lässt sich auch für die präparative Trennung von Mischfraktionen (aus Al_2O_3 -Chromatogrammen), die II und XII enthalten, mit Erfolg anwenden. Dabei geht II allerdings verloren, da es in 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) übergeht. Dafür ist aber XII dann sehr leicht durch Chromatographie an Al_2O_3 von V zu trennen und somit auf einfache Weise völlig rein zu gewinnen.

Die Ergebnisse der hydrolytischen Spaltung zeigten, dass das Monosid «e» aus zwei Glykosiden besteht, die wir vorläufig als Monosid e' und Monosid e'' bezeichnen.

³⁶) Wir danken Herrn Prof. T. REICHSTEIN bestens für die Überlassung von Xysmalogenin.

Beiden Glykosiden muss nach Papierchromatographie derselbe 2-Desoxyzucker zugrunde liegen. Während e'' unter den gewählten Hydrolysebedingungen¹⁶⁾ vollständig gespalten wurde und dabei neben *epi*-Canarigenin (VIII) und Canarigenin (II) grösstenteils 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) gab, verlief die Spaltung des Monosids e' (siehe weiter unten), wobei das genuine Aglykon Xysmalogenin (XII) freigelegt wurde, wesentlich schwerer. Das noch unbekannte Monosid e'' ist somit ein Canarigeninglykosid, während das Monosid e' ein Xysmalogeninglykosid darstellt.

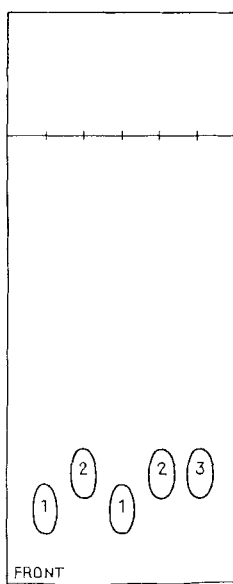


Fig. 6. *Papierchromatographische Unterscheidung von Canarigenin und Xysmalogenin*

- 1 = Canarigenin
 2 = Xysmalogenin (authentisch³⁵⁾)
 3 = Xysmalogenin (aus Monosiden « e'' » und e')
 [Benzol-Chloroform-(1:3)/Formamid 3 Std.]

Farben (mit $SbCl_3$):

	nach 10 Sek.	nach 4 Min.
1	= rotviolett	= blauviolett
2	= gelborange	= grünblau
3	= ebenso	= ebenso

3. *Monosid e' (X)*. Nachdem bei der chromatographischen Aufteilung des rohen durch Hydrolyse des Monosids « e » gewonnenen Geninteils alles Xysmalogenin von der Säule eluiert worden war, liess sich mit polareren Gemischen eine kleine Menge einer Substanz vom Smp. 245–251° und $[\alpha]_D = -29^\circ$ (in Methanol) gewinnen = Monosid e' . Dieses gab eine positive KELLER-KILIANI¹⁸⁾- und Xanthydrol¹⁹⁾-Reaktion. Die *Acetylverbindung XI* gab aus Aceton-Äther feine Nadelchen vom Smp. 270–274° und $[\alpha]_D = -19,9^\circ$ (in Chloroform). Wegen Substanzmangels konnte keine Hydrolyse des Monosids e' im präparativen Maßstab durchgeführt werden. Durch Papier- und Dünnschicht-Chromatographie liess sich aber zeigen, dass dem Monosid e' Xysmalogenin (XII) und ein 2-Desoxyzucker zugrunde liegt. In dem durch Hydrolyse von e' gewonnenen Geninanteil konnte 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) auch nicht in Spuren nachgewiesen werden. Bei der sauren Spaltung des Monosids « e » wurde somit der aus e'' bestehende Anteil (= Canarigenin-2-desoxosid) völlig hydrolysiert, während das Monosid e' z. T. intakt blieb und damit rein gewonnen werden konnte.

D-(+)-Canarose = 2-Desoxy-D-glucomethylose (2-Desoxy-D-rhamnose) (XV). Der bei der Hydrolyse des Monosids « e » gewonnene Zucker, den wir *Canarose* nennen, gab positive KELLER-KILIANI¹⁸⁾- und Xanthydrol¹⁹⁾-Reaktion und konnte nur

zum Teil in Kristallen erhalten werden. Aus Aceton-Äther wurden farblose, flache, sehr hygroskopische Prismen vom Smp. 100–103° und $[\alpha]_D = +110^\circ \pm 2^\circ$ (in Aceton) bzw. $+20^\circ \pm 2^\circ$ (in Wasser, Endwert) erhalten. Das Gemisch mit 2-Desoxy-L-rhamnose³⁷⁾ schmolz teilweise schon bei etwa 70°. Bei etwa 90° kristallisierte ein Teil wieder aus, der dann bei 120–122° endgültig schmolz. Im Papierchromatogramm³⁸⁾ gaben sowohl die kristallisierte Canarose als auch ihre Mutterlaugenrückstände nur *einen* Fleck, der denselben Rf-Wert wie die bisher amorph gebliebene 2-Desoxymethylpentose, die bei der Spaltung des Monosids a aus *D. isabelliana*¹⁾ erhalten worden war. Canarose unterschied sich auch nicht in den Laufstrecken von Boivinose³⁹⁾ und 2-Desoxy-L-rhamnose⁴⁰⁾. Auf Grund der spez. Drehung der beiden zuletzt genannten Zucker dürfte Canarose die D-Form der synthetisch erhaltenen 2-Desoxy-L-rhamnose³⁷⁾ sein.

Diskussion der Ergebnisse

Die bisherigen Resultate zeigen, dass auch die Blätter von *D. canariensis* reichliche Mengen von Cardenoliden enthalten, die praktisch vollständig in die Ausschüttelung mit Chloroform-Alkohol-(4:1) übergehen. Durch partiellen Abbau dieses Extraktes – der in erster Linie Diglykoside enthalten haben dürfte – mit Strophanthobiasse liess sich ein Teil in ein Gemenge glucosefreier Monoside überführen, denen – von eventuellen Spuren anderer Stoffe abgesehen – zum weitaus kleinsten Teil das bekannte Xysmalogenin (XII) und zur Hauptsache das bisher noch unbekannte Canarigenin (II) zugrunde liegen.

II ist als 3-Hydroxy- Δ^4 -Steroid sehr empfindlich gegen Säuren, die es unter Eliminierung von Wasser in ein $\Delta^{3,5}$ -Dien überführen. Dies geschieht schon durch die an sich sehr schonende bei 2-Desoxyglykosiden übliche Spaltungsmethode (mit 0,05N Mineralsäuren). Hydrolyse in 1-proz. Essigsäure (in Aceton-Wasser) dagegen bewirkt nur eine geringfügige Anhydrierung und setzt das genuine Aglykon Canarigenin in Freiheit. Aber auch unter diesen Bedingungen ist Canarigenin noch instabil: es erfährt eine teilweise Epimerisierung an C-3. Dieser Konfigurationswechsel muss über das intermediär sich ausbildende Allylcarbonium-Ion verlaufen^{40a)}. – Bemerkenswert und auffallend ist der Befund, dass sich dieses 3-*epi*-Canarigenin mit *axial* orientierter HO-Gruppe an C-3 bei der Dünnschicht- und Papier-Chromatographie polarer verhält als Canarigenin (mit *äquatoriale* OH an C-3). Dieses abnormale Verhalten kann nur durch die 14-ständige Hydroxygruppe bedingt sein,

³⁷⁾ B. ISELIN & T. REICHSTEIN, Helv. 27, 1146 (1944). Wir danken Herrn Prof. T. REICHSTEIN bestens für die Überlassung einer Vergleichsprobe dieser 2-Desoxymethylpentose.

³⁸⁾ O. RENKONEN & O. SCHINDLER, Helv. 39, 1490 (1956).

³⁹⁾ O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 730 (1952); H. R. BOLLIGER & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 302 (1953).

⁴⁰⁾ Nach S. E. WRIGHT³⁹⁾ soll 2-Desoxy-L-rhamnose schneller als Boivinose laufen.

^{40a)} Wir haben in diesem Zusammenhang auch den Verlauf dieser Umlagerung an den Strukturanalogen Allocholesterin und Epiallocholesterin als Modellen etwas studiert. Allocholesterin geht in schwach saurer Lösung in eine Reihe von Substanzen über, die wir im einzelnen zwar nicht isoliert haben, unter denen wir aber mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie¹⁴⁾³¹⁾ wenig Epiallocholesterin und – je nach den Bedingungen – mehr oder weniger an $\Delta^{3,5}$ -Cholestadien nachweisen konnten. Epiallocholesterin zeigt analoges Verhalten. Die Epimerisierung zu Allocholesterin verläuft aber erwartungsgemäss viel leichter und in erheblich grösserem Umfang. Das gleiche wurde auch bei *epi*-Canarigenin beobachtet.

denn Epiallocholesterin (*axial*) ist unter gleichen Bedingungen erwartungsgemäss unpolarer als Allocholesterin (*äquatorial*).

Die den Allylalkoholen eigene hohe Reaktivität manifestiert sich beim Canarigenin u. a. auch dadurch, dass dieses Genin in Methanol-Wasser schon unter dem Einfluss sehr schwacher Säuren in den 3-Methoxyäther (I) = Substanz a übergeht⁴¹⁾. Der Methyläther I wird – allerdings in kleinen Mengen – sogar in einer wässrigen Lösung, die nur etwa 1–2% Methanol enthält, gebildet, wie bei der enzymatischen Hydrolyse der «Monosidfraktion» gefunden wurde.

Canarigenin, das in der vorliegenden Arbeit zum ersten Mal als neues digitaloides Aglykon beschrieben wird, dürfte mit grösster Wahrscheinlichkeit dem von REICHSTEIN und Mitarb.⁵⁾ aufgefundenen Monosid *Acofriosid L* zugrunde liegen. Da dieses Δ^4 -3 β ,14-Dihydroxy-card-20(22)-enolid aber bisher nur aus *D. canariensis* in genuiner Form erhalten werden konnte, erscheint uns die Bezeichnung «Canarigenin» als gerechtfertigt.

Canarigenin konnte seiner geringen Löslichkeit wegen noch nicht pharmakologisch geprüft werden. Es ist aber anzunehmen, dass es, wie sein Pentadienolid-Analogon Scillarenin, eine relativ hohe Toxizität besitzt⁴²⁾.

Auf Grund der molekularen Drehung des Monosids d muss auch bei diesem Glykosid, wie dies für fast alle natürlichen digitaloiden Glykoside von D-Zuckern gefunden wurde, β -glykosidische Verknüpfung angenommen werden⁴⁴⁾. Dasselbe gilt auch für das Monosid e' (X).

Von der den Monosiden e'' und e' als Zuckerkomponente zugrunde liegenden Canarose konnte keine Elementaranalyse ausgeführt werden, da die zur Verfügung stehende Menge an Kristallen für diese Bestimmung nicht ausreichte. Auf Grund der Analysenergebnisse des Gemisches dieser isomeren Monoside (= Monosid «e») und seiner Acetylverbindung ergab sich aber, dass Canarose eine 2-Desoxymethylpentose sein muss. Von den 4 theoretisch möglichen Paaren von 2-Desoxy-methylpentosen (2,6-Bisdesoxyhexosen) ist jeweils mindestens ein Antipode bekannt. Davon sind in der Natur bisher nur zwei Vertreter, nämlich die D-Digitoxose und die D-Boivinoase aufgefunden worden. Mit D-Canarose ist nun ein weiterer Zucker dieses Typs in Naturprodukten nachgewiesen worden, so dass nur eine der 2-Desoxy-fucose entsprechende natürliche 2-Desoxy-methylpentose noch fehlt. – D-Canarose, die – wie oben bereits erwähnt – auch dem Monosid a aus *D. isabelliana* zugrunde liegen dürfte¹⁾, ist chemisch als eine 2-Desoxy-glucomethylose zu bezeichnen. Die ihr entsprechende um 1 Sauerstoff reichere D-(+)-Glucomethylose war in der zuletzt erwähnten *Digitalis*-Art als Zuckerkomponente des Monosids e eindeutig nachgewiesen und damals zum ersten Mal in einem Herzgift aufgefunden worden^{1) 45)}.

⁴¹⁾ Das analoge 3-*epi*-Produkt ist bisher nicht aufgefunden worden, obwohl zu erwarten ist, dass sich dieses ebenfalls bei der Hydrolyse des Monosids d in Methanol-Wasser-Essigsäure bildet.

⁴²⁾ Für das Monosid d wurde eine Toxizität von $0,34 \pm 0,05$ mg/kg (Methode nach HATCHER-MAGNUS an der Katze) ermittelt¹⁰⁾. Diese entspricht somit ungefähr den bei Digitoxigenin-Monosiden gefundenen Werten⁴³⁾.

⁴³⁾ Vgl. CH. TAMM, «Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der glykosidischen Herzgifte: Grundlagen und die Aglykone», in Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe *XIII*, 137 (1956).

⁴⁴⁾ Vgl. CH. TAMM, «Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der glykosidischen Herzgifte: Zucker und Glykoside», in Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe *XIV*, 71 (1957).

Es ist sehr wohl möglich, dass diese Glucomethylose, die nicht nur mit der D-(+)-Canarose strukturell so nahe verwandt ist, sondern ohne Zweifel mit diesem natürlichen 2-Desoxyzucker auch in engster biogenetischer Beziehung steht, noch als Bestandteil von Glykosiden der *D. canariensis* aufgefunden wird. Im Moment stellt die D-Canarose das signifikante phytochemische Bindeglied zwischen den beiden kanarischen *Digitalis*-Arten dar.

Wir danken der Direktion der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, bestens für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert.

Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: AcOH = Eisessig, (Ac)₂O = Acetanhydrid, Ä = Äther, Al = Äthanol, An = Aceton, Bz = Benzol, Bu = *n*-Butanol, Chf = Chloroform, E = Essigester, Fmd = Formamid, Me = Methanol, Mäk = Methyläthylketon, Pe = Petroläther, Pgl = Propylenglykol, Pn = Pentan, Py = Pyridin, Thf = Tetrahydrofuran, To = Toluol, W = Wasser, ML = Mutterlaugenrückstände, Pchr = Papierchromatographie bzw. Papierchromatogramm, Dchr = Dünnschichtchromatographie bzw. Dünnschichtchromatogramm (wenn nichts anderes vermerkt im System E-Pe-(4:1)).

Die Pchr wurde bei 20° ± 2° auf WHATMAN-Nr. 1-Papier ausgeführt. Zur Sichtbarmachung der gewanderten Substanzen wurden die Papierbogen mit 20-proz. SbCl₃ in Chf besprüht und hierauf auf etwa 100° erhitzt. Zum spezifischen Nachweis von Butenoliden diente KEDDE-Reagens⁴⁵⁾, von Zuckern Anilinphtalat⁴⁶⁾.

Für die Ausführung der Dchr benützten wir die Linienglas-Methode¹⁴⁾. Die Sichtbarmachung der gewanderten Substanzen geschah durch Besprühen mit 20-proz. SbCl₃ in Chf und Erhitzen auf 80–120°.

I. Extraktion der Blätter. – Beispiel: 1,2 kg luftgetrocknete Blätter, die in der Kugelmühle staubfein gemahlen worden waren, wurden mit 2 l warmem W gut durchgearbeitet, anschliessend mit 2 l Me versetzt und 1½ Std. unter häufigem Rühren im Wasserbad von 60° gehalten. Hierauf wurde etwas Hyflo-Supercel in die schlammige Aufschwemmung eingetragen, das Ganze noch warm über eine mit Hyflo-Supercel gedichtete Nutsche filtriert und der Rückstand in derselben Weise noch ein weiteres Mal mit 2 l 50-proz. Me sowie 2mal mit je 2 l 70-proz. Me und 2mal mit je 2 l reinem Me extrahiert. Danach war der Drogenrückstand nur noch wenig bitter.

Die vereinigten Auszüge – mit Ausnahme des letzten Auszuges mit reinem Me – wurden bei 50° (Badtemp.) im Vakuum bis zu einem Totalvolumen von etwa 1,2 l eingengt und mit dem letzten Me-Auszug, der separat im Vakuum auf ein Volumen von etwa 1,2 l gebracht worden war, versetzt. Diese etwa 50-proz. Me-Lösung wurde mit frisch aus 1,2 kg Bleidiacetat-trihydrat bereitetem und neutral gewaschenem Pb(OH)₂ 30 Min. auf der Maschine geschüttelt, durch ein mit Hyflo-Supercel gedichtetes Filter genutscht, der Rückstand mit 500 ml 50-proz. Me aufgeschlemmt, wieder abgenutscht und mit wenig 50-proz. Me nachgewaschen. Das Filtrat gab mit wässriger, basischer Bleiacetat-Lösung nur noch eine geringe Trübung. Es wurde mit 2 N H₂SO₄ auf pH 6 gestellt und unter Einhalten eines pH von etwa 6 auf 1 l eingengt. Diese Lösung wurde im Scheidetrichter 4mal mit je 2 l Ä, dann 4mal mit je 1 l Chf, 8mal mit je 1 l Chf-Al-(4:1), 3mal mit je 1 l Chf-Al-(2:1) und schliesslich noch 3mal mit je 1 l Chf-Al-(3:2) extrahiert. Alle Auszüge passierten der Reihe nach noch zwei Schütteltrichter, die je 150 ml Wasser enthielten – die Ätherauszüge wurden als einzige noch zusätzlich mit verd. Sodalösung gewaschen – und wurden über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft.

1. *Äther-Extrakt*: 3,6 g dunkelgrünbraunes Öl. Im Pchr [Bz-Chf-(7:3)/Fmd, 2½ Std.]: a) mit KEDDE-Reagens: 5 Flecke, Hauptfleck mit Rf-Wert von 0,16; b) mit SbCl₃: 7 Flecke, Hauptfleck mit Rf-Wert von 0,16 (siehe Theoret. Teil, Fig. 1).

2. *Chloroform-Extrakt*: 3,6 g dunkelgrünbraunes Harz. Im Pchr (System siehe Äther-Extrakt): a) mit KEDDE-Reagens: 2 Flecke; b) mit SbCl₃: 4 Flecke (siehe Theoret. Teil, Fig. 2).

⁴⁵⁾ F. KAISER, E. HAACK & H. SPINGLER, Naturwiss. 49, 159 (1962), haben dieses Monosid inzwischen auch aus den Blättern von *D. lanata* EHRH. isolieren können.

⁴⁶⁾ S. M. PARTRIDGE, Nature 164, 443 (1949).

3. *Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt*: 45 g grünbraun gefärbter schaumiger Rückstand. Im Pchr [Chf-Thf-Fmd-(50:50:6,5)/Fmd, 8 Std. bzw. 20 Std.]: a) mit KEDDE-Reagens: 6 Flecke, wovon 3 Hauptfleck; b) mit SbCl_3 : 12 Flecke (Kombination aus 2 Pchr) (siehe Theoret. Teil, Fig. 3–5).

4. *Chloroform-Alkohol-(2:1)-Extrakt*: 4,8 g dunkelbraungrüner Rückstand. Im Pchr (System siehe Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt): mit KEDDE-Reagens 3 Flecke.

5. *Chloroform-Alkohol-(3:2)-Extrakt*: 6 g dunkelbraungrüner Rückstand. Im Pchr gleich wie Chloroform-Alkohol-(2:1)Extrakt-.

II. Abbau des Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extraktes mit Strophanthobiase

Gewinnung der «Monosidfraktion». 84,5 g gepulverter Extrakt wurden in 1200 ml Me-W-(1:1) unter leichtem Erwärmen gelöst. Zu der honigbraunen, klaren Lösung (schäumt leicht!) wurden unter Umschwenken allmählich und abwechselnd total 600 ml Me und 18 l warmes W gegeben. Die so gewonnene leicht trübe Lösung wurde im Dünnschichtverdampfer in 80 Portionen zu je rund 250 ml bei 50° vom Me befreit und dabei soweit konzentriert, dass schliesslich gesamthaft 12 l einer trüben Lösung resultierten. Nun wurde unter Umrühren eine Lösung von 100 g roher Strophanthobiase in 1 l W in dünnem Strahl zugegeben. Nach Zufügen von 10–15 ml To wurde die Fermentierungslösung unter gelegentlichem Umschwenken 10 Tage bei 37° stehengelassen. Dabei bildete sich ein gelbweisser, lockerer Niederschlag. Dieser wurde durch Abnutschen über ein mit Hyflo-Supercel gedichtetes Filter isoliert. (Aufarbeitung des Filtrates siehe weiter unten.) Der Filterkuchen wurde trockengesaugt, in 150 ml Me (unter Erwärmen) suspendiert und abgenutscht. Das gelbe Filtrat wurde im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand betrug 5,6 g (gelbweisser Schaum). Dieser wurde im Scheidetrichter zwischen 25 ml W und 250 ml Chf verteilt. Nach Ablassen des Chf wurde die wässerige Phase noch 3mal mit je 150 ml Chf extrahiert. Die Chf-Auszüge gaben nach dem Waschen mit W, Trocknen über Na-Sulfat und Eindampfen im Vakuum total 4,8 g Monosidfraktion. Aus der wässrigen Lösung (25 ml) konnte durch Ausziehen mit Chf-Al-(2:1) 0,8 g Ausgangsmaterial (Diglykosidgemisch) zurückgewonnen werden. – Die vom Niederschlag befreite Fermentierungslösung (siehe oben) wurde unter vermindertem Druck bei 50° auf 2 l konzentriert, mit 12 l 96-proz. Al versetzt, auf dem Dampfbad bis zum Sieden erhitzt und hierauf durch ein mit Hyflo-Supercel gedichtetes Filter genutscht. Das klare, gelb gefärbte Filtrat (14 l) wurde im Dünnschichtverdampfer bei 50° auf 1,5 l eingengt, mit 1,5 l W versetzt und am Rotationsverdampfer (starkes Schäumen) auf 1 l konzentriert, wobei ein orangebrauner, zäher Niederschlag ausfiel. Lösung und Niederschlag wurden in einem 3-l-Scheidetrichter 10mal mit je 1 l Chf extrahiert. Die Chf-Auszüge passierten der Reihe nach 2 Scheidetrichter mit je 200 ml W und wurden dann wie üblich aufgearbeitet. Es wurden erhalten 23,7 g «Monosidfraktion». Mit den 4,8 g des oben aus den Niederschlägen der Fermentierungslösungen isolierten Monosidgemisches somit total 28,5 g.

Tabelle 2. *Chromatographie des Monosidgemisches*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 500 ml pro Fraktion	Eindampfrückstände	
		Menge in mg	Dchr
1–5	Bz-Chf-(4:1)	125	–
6–7	„ „ -(3:2)	160	–
8–9	„ „ -(3:2)	150	a
10–11	„ „ -(3:7)	195	a, b, c
12	„ „ -(3:7)	655	b, c
13–15	Chf	1100	b, c, (d)
16–17	„	1030	b, (c), d
18–35	„	10445	d
36–40	Chf-Me-(99,5:0,5)	645	d, «e»
41–47	„ „ -(99:1)	1665	«e», f, g
48–56	„ „ -(49:1)	2030	«c», f, g
57–67	„ „ -(19:1)	4500	«e», f, g
68–72	„ „ -(9:1)	435	«e», f, g
73–77	„ „ -(7:3)	130	

Aus der mit Chf extrahierten Fermentierungslösung wurde durch Ausziehen mit Chf-Al-(4:1) 32 g nicht fermentierbares Ausgangsmaterial zurückgewonnen.

Eine Nachfermentierung gab – bezogen auf das Gewicht des Ausgangsmaterials – höchstens noch etwa 10% «Monosidfraktion».

Chromatographische Aufteilung der «Monosidfraktion». 28 g der «Monosidfraktion» (siehe oben) wurden an 600 g Al₂O₃ chromatographiert; Ergebnisse s. Tabelle 2.

Die Eindampfrückstände der Fraktionen 8 und 9 (= 150 mg) gaben aus An 36 mg Kristalle vom Smp. 200–217°: *Substanz a*. Diese färbt sich mit KEDDE-Reagens¹¹⁾ (auf Papier) nur sehr schwach rosaviolett. Das IR.-Absorptionsspektrum ist identisch mit demjenigen des 3-O-Methylcanarigenins (I) (siehe weiter unten). – Aus den Fraktionen 10–17 konnten nach Dchr nur Mischkristallisate erhalten werden: 31 mg vom Smp. 242–254° (b + wenig d), 130 mg vom Smp. 211–256° (b + wenig d), 290 mg vom Smp. 200–237° (b und c) und 245 mg vom Smp. 180–235° (b + c). (Rechromatographie dieser Gemische s. Tab. 3.) – Aus den Fraktionen 18–35 wurden 7,75 g reines *Monosid d* vom Smp. 135–142° erhalten (im Dchr einheitlich) sowie 1,3 g weniger reines d (enthält nach Dchr noch wenig «e»). – Die Eluate 36–77 enthielten alle Gemische.

Tabelle 3. *Rechromatographie der b und c enthaltenden Mischkristallisate*

Fraktions-Nr.	Lösungsmittel je 100 ml pro Fraktion	Menge (roh) in mg	Dchr
1–5	Bz-Chf-(4:1)	65	
6–15	„ „ -(4:1)	280	b + c
16–18	„ „ -(7:3)	65	b + c
19–21	„ „ -(7:3)	35	b
22–25	„ „ -(3:2)	40	b
26–31	„ „ -(1:1)	75	b
32–34	„ „ -(2:3)	32	b
35–36	„ „ -(1:4)	16	b
37–38	Chf	70	b

Substanz b = Canarigenin (II). Die aus Fraktionen 19–38 gewonnenen Eindampfrückstände wurden mit An zusammengespült, eingengt und die ausgeschiedenen Kristalle mehrmals aus An umgelöst: 120 mg reine Substanz b vom Smp. 235–252°. Identisch mit dem durch saure Hydrolyse des Monosids d gewonnenen Canarigenin (II) (siehe weiter unten).

Präparative Papierchromatographie der b und c enthaltenden Fraktionen. 190 mg Gemisch der Substanzen b und c wurden auf 27 Bogen WHATMAN-Nr. 1-Papier (18 × 42 cm) im System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1) aufgetrennt. Die Laufzeit betrug 4 Std., wobei c nahezu den untern Papierrand erreichte. Die c enthaltenden Zonen wurden rasch ausgeschnitten, kurze Zeit mit 50 ml W geweicht, hierauf mit gleicher Menge Me versetzt, 30 Min. auf 50° erwärmt, abgesaugt und der Papierrückstand mit warmem Me nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum vom Me befreit, die wässrige Lösung mit Chf extrahiert und dieses wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand (50 mg) wurde über 10 g Al₂O₃ chromatographiert. Mit Chf wurden in 5 Fraktionen 35 mg Substanz isoliert. Aus An-Ä Kristalle vom Smp. 222–243°: Anhydropiriplogenon (IV) (aus Substanz c entstanden!). Die aus den Fraktionen Chf-Me-(99:1) gewonnene Substanz war nach Dchr ein Gemisch von c und b, wobei c stark überwog.

Gewinnung des Monosids «e». Die «e» enthaltenden Mischfraktionen (s. Tab. 2) wurden erneut an Al₂O₃ aufgeteilt. «e» liess sich dabei in einer Reihe von Fraktionen [Chf-Me-(99:1) bis Chf-Me-(19:1)] soweit anreichern, dass rund 1,5 g Kristalle, die nur noch wenig d enthielten, gewonnen werden konnten. 1,0 g davon wurde auf 180 Bogen WHATMAN-Nr. 1-Papier (18 × 42 cm) im System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1) im Schlitzrog¹⁵⁾ aufgetrennt. Die «e»-Zonen wurden ausgeschnitten, mit 500 ml W bei 40° geweicht, hierauf 1000 ml Me zugegeben, auf 50° erwärmt und abgesaugt. Der Filterpapierrückstand wurde nochmals mit 500 ml Me extrahiert und abgesaugt. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum vom Me befreit, wobei das Monosid «e» z. T. kristallin ausfiel und abgenutzt werden konnte. Das wässrige Filtrat wurde noch mit Chf erschöpfend

extrahiert. Kristalle und Chf-Extrakt wurden vereinigt und an Al_2O_3 chromatographiert. Mit Chf-Me-(99:1) bis Chf-Me-(19:1) wurde die Hauptmenge des Monosids «e» eluiert: aus Me rund 600 mg Kristalle vom Doppel-Smp. 150–155°/218–235°, die nach Dchr und Pchr einheitlich waren.

Gewinnung der Monoside f, g und h. Die Mutterlaugen der oben erwähnten Fraktionen, aus denen 1,5 g rohes Monosid «e» abgeschieden werden konnte, sowie die diesen Fraktionen folgenden Eluate des Al_2O_3 -Chromatogramms (s. Tab. 2), die die polaren Substanzen enthielten, wurden vereinigt. Sie gaben im Pchr System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1), Laufzeit 24 Std., 6 SbCl_3 -positive Flecke, von welchen 3 KEDDE-positiv waren: Substanzen f, g und h (Reihenfolge entsprechend steigender Polarität). 1,0 g dieses Gemisches wurde, wie bei der Gewinnung des Monosids «e» beschrieben, auf Papierbogen präparativ (24–30 Std. Laufzeit) im Schlitztrogl¹⁵) getrennt. Aus allen Papieren wurden Kontrollstreifen herausgeschnitten und mit KEDDE-Reagens besprüht, wobei nur die Zonen «e» und h sich anfärben ließen. Die dazwischen liegenden Substanzen f und g konnten auf diese Weise nicht sichtbar gemacht werden, da deren Konzentration zu gering war. Die Papierstreifen zwischen den Zonen «e» und h wurden wie üblich (siehe oben) extrahiert und nochmals auf Papierbogen aufgetrennt. Auf herausgeschnittenen Kontrollstreifen ließen sich nun die Substanzen f und g mit KEDDE-Reagens sichtbar machen. Die Extraktion der herausgeschnittenen Zonen erfolgte wie oben beim Monosid «e» beschrieben. Es wurden erhalten: 10 mg amorphes f, 6 mg amorphes g und 7 mg kristallisiertes h. Alle 3 Substanzen waren nach Dchr und Pchr einheitlich.

III. Beschreibung und chemische Untersuchung der isolierten Monoside

Monosid d = Canarigenin-digitoxosid (VI). – Aus Me-Ä prismatische Platten vom Smp. 135–142° bzw. feine Kristallnadelchen (mit $\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) aus An-Ä, Smp. (176)–190–201°; $[\alpha]_D^{25} = -11,4^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf).

Bei der Mikrohydrierung mit Pt in AcOH war die Wasserstoffaufnahme auch nach 20 Std. noch nicht ganz beendet. Sie entsprach nach dieser Zeit einer Doppelbindungszahl von 3,5. Das Monosid d gibt, in wenig Chf gelöst, mit Tetranitromethan eine sehr schwache Gelbfärbung. Die ROSENHEIM'sche Reaktion ist positiv (rosa, rosaviolett, blau), ebenso die KELLER-KILIANI¹⁸- und Xanthydrol¹⁹-Reaktion auf 2-Desoxyzucker-Glykoside. Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : dunkelbraun (nach 1–2 Min.), dunkelbraunrot (nach 45 Min.), violettschwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : zuerst gleich, nach $2\frac{1}{2}$ Std. grauschwarz.

$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_7$ (502,63)	Ber. C 69,29	H 8,42	O 22,28%	Gef. C 69,30	H 8,29	O 22,46%
$\text{C}_{29}\text{H}_{42}\text{O}_7, \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	Ber. C 68,10	H 8,47	O 23,47	H_2O 1,76%		
(511,64)	Gef. „ 68,09	„ 8,64	„ 24,01	„ 1,74%		

Di-O-acetyl-canarigenin-digitoxosid (VII). Durch Acetylierung in $(\text{Ac})_2\text{O}$ -Py. Aus An-Ä verfilzte, feinste Kristallnadelchen. Smp. nach mehrmaligem Umlösen aus An-Ä 212–225°; $[\alpha]_D^{25} = +4,2^\circ \pm 2^\circ$ (in Chf). Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : fast schwarz (nach 1–2 Min.), blauviolett (nach 45 Min.), violettschwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : schwarzviolett (nach 1–2 Min.), dunkelviolett (nach 45 Min.), schwarzviolett (nach $2\frac{1}{2}$ Std.).

$\text{C}_{33}\text{H}_{46}\text{O}_9$ (586,70)	Ber. C 67,55	H 7,90	O 24,54%	Gef. C 67,50	H 7,79	O 24,61%
---	--------------	--------	----------	--------------	--------	----------

Hydrolyse des Monosids d. – a) In Methanol-Wasser- H_2SO_4 : 3,5-Dianhydroperiplogenin (V). 1 g Monosid d vom Smp. 135–142° wurde in 50 ml Me gelöst, mit 50 ml 0,1N H_2SO_4 versetzt und auf dem Dampfbad $\frac{3}{4}$ Std. unter Rückfluss gekocht. Nach etwa 20 Min. begann sich ein kristalliner, voluminöser Niederschlag auszuscheiden. Dieser wurde nach dem Erkalten der Lösung durch Absaugen isoliert. Er stellte glänzende Plättchen dar, Smp. 193–210° (unter Zers. und Tröpfchenbildung ab 186°). Das klare Filtrat wurde im Vakuum vom Me befreit und der dabei ausfallende kristalline Niederschlag durch Ausschütteln mit Chf abgetrennt. (Aufarbeitung der wässrigen Phase siehe weiter unten unter Digitoxose.) Die im Vakuum zur Trockne gebrachten Chf-Auszüge wurden mit den durch Absaugen isolierten Kristallplättchen vereinigt: 645 mg. Aus An dicke prismatische Platten, Smp. 195–215° (Zers.). Nach Chromatographie dieser Kristalle an Al_2O_3 liess sich durch mehrmaliges Umlösen aus An eine Kristallfraktion gewinnen, die bei 205–222° schmolz; $[\alpha]_D^{25} = -44,9^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,956 in Chf): 3,5-Dianhydroperiplogenin (V). V gab, in wenig Chf gelöst, auf Zusatz von Tetranitromethan eine braune Färbung. Das UV.-Spektrum (in Äthanol) zeigte 2 Maxima bei 224 $m\mu$ (log $\epsilon = 4,57$) und 232 $m\mu$ (log $\epsilon = 4,44$)⁴⁷.

⁴⁷) Vgl. hierzu H. MUHR, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 403 (1954).

D-(+)-*Digitoxose*. Die wässrige mit Chf extrahierte Phase (siehe oben) wurde mit einem Überschuss an frisch gefälltem neutralem BaCO_3 versetzt, kurz aufgekocht und durch ein mit BaCO_3 gedichtetes Filter abgesaugt. Nach Zufügen einer kleinen Spatelspitze frisch gefällten BaCO_3 wurde im Vakuum bei etwa 40° eingedampft, der Rückstand in An aufgenommen, filtriert und im Vakuum wieder zur Trockne gebracht (226 mg). Nach erneutem Aufnehmen in An wurde durch eine kleine Schicht neutral gewaschenes Al_2O_3 filtriert, das Filtrat stark eingengt und mit trockenem Ä versetzt. Es trat spontan Kristallisation ein, die durch allmählichen Zusatz von Ä vervollständigt wurde: 130 mg Kristalle vom Smp. $96\text{--}108^\circ$. Nach dem Umlösen aus An-Ä dicke Kristallprismen vom Smp. $108\text{--}120^\circ$. Eine analog umkristallisierte Probe von authentischer D-(+)-*Digitoxose* schmolz ebenso und gab bei der Mischprobe keine Depression. Auch das Verhalten im Pch³⁸) entsprach demjenigen authentischer D-(+)-*Digitoxose*.

b) In *Methanol-Wasser-Eisessig*: *Substanz a = 3-O-Methyl-canarigenin (I)*. 1 g Monosid d vom Smp. $135\text{--}142^\circ$ wurde in 100 ml Me gelöst, mit 100 ml W und 2 ml AcOH versetzt und 10 Tage bei 37° stehengelassen, wobei sich im Laufe dieser Zeit ein kristalliner Niederschlag bildete. Im Dchr gaben Lösung und Kristalle Flecke, die neben wenig Monosid d noch 4 weiteren, weniger polaren Substanzen zukamen. Nach Verdampfen des Me im Vakuum wurde mit Chf extrahiert und dieses mit verd. Na_2CO_3 -Lösung und W gewaschen, über Na-Sulfat getrocknet und eingedampft: 800 mg Rückstand. Dieser wurde an 30 g Al_2O_3 chromatographiert. Die ersten Fraktionen mit Bz-Chf-(3:2) enthielten ein Gemisch (316 mg) von I und V. I und V lassen sich im Dchr gut voneinander unterscheiden, wenn die Menge des aufgetragenen Gemisches so klein gewählt wird, dass I (polarer) nicht in V hineinläuft. Aus den weiteren Fraktionen mit Bz-Chf-(3:2) und -(3:7) konnten 240 mg einheitliches I gewonnen werden. Aus An 175 mg glänzende, dicke Rhomben vom Smp. $212\text{--}222^\circ$; $[\alpha]_D^{20} = +27,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,3$ in Chf). Die Tetranitromethanprobe (in wenig Chf) war sehr schwach gelb. Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : rotviolett (nach 1–2 Min.), dunkelviolett (nach 20 Min.), blauviolett (nach $1\frac{1}{2}$ Std.), graugrün (nach $2\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : ebenso. Das IR.-Spektrum von I zeigte die für Butenolide typischen Banden. Das NMR.-Spektrum wies u. a. bei 3,38 ppm ein scharfes Signal auf, das auf Grund der Integrationsauswertung 3 Protonen entspricht, die der Methoxygruppe zuzuordnen sind.

$\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_4$	Ber. C 74,57	H 8,87	O 16,56	$-\text{OCH}_3$ 8,03%
(386,51)	Gef. „ 74,66	„ 8,79	„ 16,82	„ 7,80%

Chf löste 32 mg von der Säule, die nach Dchr zur Hauptsache aus Substanz a bestanden. – Mit Chf-Me-(99:1) und -(49:1) wurden rund 100 mg Substanz eluiert. Aus An-Ä prismat. Tafeln vom Smp. $228\text{--}244^\circ$: Canarigenin (II) (siehe weiter unten). – Das aus den Fraktionen mit Chf-Me-(19:1) und -(9:1) gewonnene Material (50 mg) stellte etwas b enthaltendes Ausgangsmaterial (Monosid d) dar.

c) In *Aceton-Wasser-Eisessig*: *Canarigenin (II) (Substanz b)*. 1 g Monosid d vom Smp. $135\text{--}142^\circ$ wurde in 100 ml An gelöst, mit 100 ml W und 2 ml AcOH versetzt und 10 Tage bei 37° stehengelassen, wobei sich im Laufe dieser Zeit ein kristalliner Niederschlag bildete. In der Reaktionslösung und den Kristallen liessen sich mit Hilfe der Dchr neben Ausgangsmaterial 3 Substanzen nachweisen, die gleiche Rf-Werte (Reihenfolge entsprechend steigender Polarität) wie 3,5-Dianhydroperiplogenin (V), Substanz b und Substanz c (siehe oben unter Chromatographische Aufteilung der «Monosidfraktion») gaben. Nach dem Neutralisieren der Reaktionslösung mit verd. Na_2CO_3 -Lösung wurde das An im Vakuum abdestilliert und die verbliebene wässrige Phase mit Chf erschöpfend ausgezogen. Die Chf-Auszüge wurden der Reihe nach mit verd. Na_2CO_3 -Lösung und W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft: 830 mg Rückstand. Dieser wurde an 30 g Al_2O_3 chromatographiert. Es wurden zunächst 2 Fraktionen mit Bz-Chf-(19:1), 6 Fraktionen mit Bz-Chf-(9:1) und 3 Fraktionen mit Bz-Chf-(4:1) gewonnen, die alle keinen Eindampfrückstand gaben. Die folgenden 5 Fraktionen mit Bz-Chf-(4:1) eluierten total 42 mg, die nach Dchr zur Hauptsache aus Dianhydroperiplogenin (V) neben wenig Substanz c bestanden. Mit Bz-Chf-(3:7) wurde in 7 Fraktionen total 120 mg Gemisch der Substanzen c und b eluiert. Chf (1 Fraktion) löste 290 mg rohe Substanz b = Canarigenin (II) von der Säule. Aus An prismatische Tafeln vom Smp. $228\text{--}245^\circ$. Die nächstfolgende Fraktion mit Chf lieferte 45 mg II. Aus An prismat. Tafeln vom Smp. $238\text{--}248^\circ$. Der Smp. konnte auch durch weiteres Umlösen nicht erhöht werden. $[\alpha]_D^{20} = +22^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,22$ in Chf). Die Tetranitromethanprobe (in wenig Chf) war sehr schwach gelb. Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : kirschrot (nach 1–2 Min.), dunkelkirschrot (nach 1 Std.), violett-schwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : rotviolett (nach 1–2 Min.),

dunkelviolett (nach 1 Std.), dunkelblaugrün (nach $2\frac{1}{2}$ Std.). ROSENHEIM'sche Farbreaktion²⁷): rosa \rightarrow rotblau \rightarrow blau.

$C_{23}H_{32}O_4$ (372,49) Ber. C 74,16 H 8,66 O 17,18% Gef. C 74,35 H 8,56 O 17,23%

Die in üblicher Weise durch Stehenlassen (während 16 Std.) in Py-(Ac)₂O bei 20° bereitete Acetylverbindung III gab aus An-Ä lange prismatische Nadeln vom Smp. 214–217°; $[\alpha]_D^{20} = -4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,08$ in Chf). Färbungen: a) mit konz. H₂SO₄: dunkelbraun (nach 1–2 Min.), kirschrotviolett (nach 45 Min.), violettschwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.); mit 84-proz. H₂SO₄: braunrot-kirschrot (nach 1–2 Min.), kirschrot (nach 1 Std.), violettschwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.).

$C_{25}H_{34}O_5$ (414,52) Ber. C 72,43 H 8,27 O 19,30% Gef. C 72,54 H 8,08 O 19,18%

Die weiteren (7) Fraktionen mit Chf und Chf-Me-(99:1) hinterliessen nach dem Verdampfen total nur noch 8 mg Rückstand. Chf-Me-(49:1), -(19:1) und -(9:1) eluierten 180 mg Ausgangsmaterial (Monosid d).

d) In Aceton-Wasser-H₂SO₄, 600 mg Monosid d vom Smp. 135–142° wurden in 54 ml An gelöst und mit 66 ml W versetzt, das 12 ml 0,5 N H₂SO₄ enthielt. Nach etwa 10 Min. fiel ein feiner, kristalliner Niederschlag aus. Er wurde durch Hinzufügen von 12 ml An in Lösung gebracht. Das klare Reaktionsgemisch wurde 48 Std. bei 20° stehengelassen, hierauf mit verd. Na₂CO₃-Lösung neutralisiert, im Vakuum vom An befreit, mit Chf extrahiert und der Chf-Extrakt wie üblich aufgearbeitet. Es wurde 500 mg rohes Genin erhalten. Die chromatographische Aufteilung an 30 g Al₂O₃ (analog Versuch c) gab rund 70 mg V, 56 mg rohes VIII (bzw. 34 mg reines VIII), rund 100 mg Gemisch von VIII und II, 136 mg einheitliches rohes II (bzw. rund 100 mg II vom Smp. 229–246°) und rund 100 mg Ausgangsmaterial (VI).

Anhydroperiplogenon (IV). Eine Probe Canarigenin (II) wurde nach JONES und Mitarb.²⁵) mit CrO₃/H₂SO₄ in An dehydriert (Procedere siehe z. B. ²²). Das rohe Keton IV gab nach 2maligem Umlösen aus An prismatische Plättchen vom Smp. 238–248°; $[\alpha]_D^{22} = +91^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,33$ in Chf).

Canarigenin (II) aus IV durch Reduktion mit NaBH₄. 50 mg IV vom Smp. 247–259° und 190 mg IV vom Smp. 235–244° wurden in 14 ml Isopropanol gelöst, mit 6 ml einer gesättigten NaBH₄-Isopropanol-Lösung (= 4 mg/ml) versetzt und 15 Std. bei 20° stehengelassen. Hierauf wurde das Reaktionsgemisch auf feinerstossenes Eis gegossen, etwas verd. HCl zugegeben und mit Chf extrahiert. Die Chf-Lösungen wurden mit W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und eingedampft. Das rohe Reduktionsprodukt gab im Dchr einen sehr kräftigen Fleck von gleichem Rf-Wert, wie ihn Canarigenin aufweist, und einen schwachen Fleck, der dem 3-*epi*-Canarigenin entspricht. Chromatographie an Al₂O₃ gab keine Auftrennung. 100 mg des rohen Reduktionsproduktes wurden deshalb auf 15 Papierbogen (WHATMAN-Nr. 1-Papier) im System Pgl-W-(4:1)/Bz-Chf-(1:1) aufgeteilt. Die Aufarbeitung der Canarigenin enthaltenden Zonen geschah wie oben beschrieben. Das rohe Genin wurde über eine kleine Säule von Al₂O₃ filtriert. Es konnten 40 mg Canarigenin (II) vom Smp. 225–245° erhalten werden. Auf eine Isolierung des *epi*-Canarigenins wurde verzichtet.

3-*epi*-Canarigenin (VIII) (Substanz c). 285 mg Gemische von b und c, die bei der Al₂O₃-Chromatographie des rohen Genins [aus Hydrolyse von Monosid d (in An-W-AcOH)] gewonnen worden waren, wurden erneut an 15 g Al₂O₃ aufgeteilt. Die ersten 9 Fraktionen [2 mit Bz-Chf-(9:1), 2 mit Bz-Chf-(4:1) und 5 mit Bz-Chf-(3:2)] hinterliessen nach dem Eindampfen keinen Rückstand. Die ersten beiden der folgenden Fraktionen mit Bz-Chf-(1:1) enthielten nach Dchr nur Substanz c (total 80 mg). Aus An-Ä 65 mg VIII: kompakte Kristalldrüsen vom Smp. 207–215°; $[\alpha]_D^{23} = +105^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,38$ in Chf). Die Tetranitromethanprobe (in wenig Chf) war ganz schwach gelb. Färbungen: a) mit konz. H₂SO₄: dunkelbraun (nach 1–2 Min.), kirschrot (nach 45 Min.), violettschwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H₂SO₄: rotviolett (nach 1–2 Min. und 1 Std.), violettschwarz (nach $2\frac{1}{2}$ Std.). – Vorsichtige Dehydrierung einer Probe von VIII (wie oben bei II beschrieben) gab einheitliches Anhydroperiplogenon (IV): aus An-Ä flache Prismen vom Smp. 248–253°, Misch-Smp. mit dem aus II bereiteten IV (Smp. 238–248°) 237–250°. Im Dchr gaben beide Dehydrierungsprodukte nur im UV. mit gelber Farbe erscheinende Flecke identischer Rf-Werte; auch UV.- und IR.-Spektren waren völlig gleich. – Die Geneine II und VIII können auch durch präparative Papierchromatographie im System Pgl-W-(4:1)/Bz-Chf-(1:1) getrennt werden. Dabei geht aber das Genin VIII durch Autoxydation grösstenteils in IV über. – Die späteren Fraktionen des obigen Chromatogramms eluierten Gemische von II und VIII. Aus den Endfraktionen mit Bz-Chf-(1:9) und Chf konnte reines II gewonnen werden.

«Hydrolysentest». – Etwa 0,5–1 mg Substanz wird im Glühröhrchen in 0,04 ml An (oder Me) gelöst, mit 0,04 ml 0,1N H_2SO_4 versetzt und 1 Std. im Ölbad auf 80° erwärmt, wobei mit einer feinen Pipette von Zeit zu Zeit etwas An (oder Me) zugegeben wird. Im Laufe von 30 Min. scheidet sich – wenn 3,5-Dianhydroperiplogenin (V) als Reaktionsprodukt entsteht – ein feiner kristalliner Niederschlag aus. Nach dem Erkalten wird das Reaktionsgemisch mit 0,06 ml Chf versetzt und kräftig durchgeschüttelt. Nach Trennung der Schichten wird die obere, wässrige, abgehoben und auf Zucker geprüft. Die im Röhrchen verbliebene Chf-Lösung wird in eine Kapillare aufgesogen und direkt im Dchr untersucht.

Monosid «e» = Gemisch der Monoside e' und e''. – Das durch präparative Pchr gereinigte Monosid «e» gab aus Me prismat. Nadeln vom Doppel-Smp. 150–155°/218–235°; $[\alpha]_D^{24} = -31,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,45$ in Me). ROSENHEIM-Test²⁷) positiv. Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : dunkelkirschrot (nach 1–2 Min.), dunkelviolet (nach 70 Min.), schwarzviolett (nach 2 $\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : wie bei a). Nach «Hydrolysentest» (siehe oben) u. a. 3,5-Dianhydroperiplogenin (V).

$C_{29}H_{42}O_7$ (502,63) Ber. C 69,29 H 8,42 OCH_3 0,00% Gef. C 69,43 H 8,17 OCH_3 0,00%

Die in üblicher Weise (in Py-(Ac)₂O) bereitete *Acetylverbindung* gab aus An prismat. Nadeln vom Smp. 264–270°; $[\alpha]_D^{24} = -20,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,24$ in Chf). Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : grünschwarz, blauschwarz (nach 1–2 Min.), blauschwarz (nach 45 Min.), blauschwarz (nach 2 $\frac{1}{2}$ Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : blau (nach 1–2 Min.), blauviolett (nach 45 Min.), grauschwarz (nach 2 $\frac{1}{2}$ Std.). Nach «Hydrolysentest» (siehe oben) u. a. 3,5-Dianhydroperiplogenin (V).

$C_{33}H_{46}O_9$ (586,70) Ber. C 67,55 H 7,90 O 24,54% Gef. C 67,42 H 7,78 O 24,57%

Hydrolyse von «e». – a) *Vorversuch*: 50 mg Monosid «e» wurden in 5 ml An gelöst, mit 5 ml W versetzt und 0,1 ml AcOH zugegeben. Nach 3 Tagen hatte sich ein kristalliner Niederschlag gebildet. Dieser wurde abfiltriert. Er enthielt nach Dchr die Substanzen b, c und «e». Nach weiteren 4 Tagen hatte sich wieder ein Niederschlag gebildet. Dieser enthielt nach Dchr b, c, «e» und V. Nach weiteren 4 Tagen bestand der Niederschlag praktisch nur aus V. Nun wurde aufgearbeitet. Es resultierten 12 mg Chf-Lösliches. Im Dchr: b, c, «e» und V.

b) *Hauptversuch*: *Xysmalogenin* (XII). 590 mg Monosid «e» vom Doppel-Smp. 150–155°/218–235° (nach Pchr einheitlich) wurden in 80 ml An gelöst, mit 40 ml W und 1,2 ml AcOH versetzt und bei 37° stehengelassen. Nach 3 Tagen wurde mit einer Kapillare eine kleine Probe entnommen und direkt im Dchr geprüft: sehr wenig b und c, Hauptmenge «e». Es wurde deshalb nochmals 1,2 ml AcOH zugegeben. Nach weiteren 3 Tagen ergab die Kontrolle im Dchr, dass wiederum nur sehr wenig hydrolysiert worden war. Es wurden deshalb 6 ml 1N H_2SO_4 zugegeben und 16 Std. bei 37° stehengelassen. Danach wurde im Vakuum vom An befreit, die wässrige Phase erschöpfend mit Chf extrahiert, dieses mit W gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft: 450 mg Rückstand (roher Geninteil). (Aufarbeitung der mit Chf extrahierten wässrigen Phase – zur Gewinnung des Zuckers – siehe weiter unten.) – Der rohe Geninanteil (450 mg) wurde an 16 g Al_2O_3 chromatographiert. Bz (1 Fraktion), Bz-Chf-(9:1) (2 Fraktionen) und Bz-Chf-(4:1) (3 Fraktionen) eluierten keine Substanz. Die folgenden 19 Fraktionen mit Bz-Chf-(3:2) und -(3:7) hinterliessen nach dem Verdampfen im Vakuum total 165 mg rohes 3,5-Dianhydroperiplogenin (V). Die mit Bz-Chf-(3:7) (1 Fraktion) und Chf (2 Fraktionen) eluierte Substanz (31 mg) war nach Dchr ein Gemisch der Substanzen c und b: im «Hydrolysentest» (siehe oben) nur V. Die folgenden Eluate mit Chf (7 Fraktionen) lieferten total 112 mg eines Gemisches von XII und b; dieses ging beim «Hydrolysentest» (auf Grund der Dchr) nur z. T. in V über und blieb zur Hauptsache unverändert. Im Dchr *rosaroter* Fleck mit gleichem Rf-Wert wie Canarigenin (II). Chf (2 Fraktionen) sowie Me-Chf-(0,5:99,5) (4 Fraktionen) und Me-Chf (1:99) eluierten 74 mg. Aus An feine Kristallnadelchen vom Smp. 240–258° (Zers.), die im «Hydrolysentest» kein V gaben und somit reines Xysmalogenin (XII) darstellten; $[\alpha]_D^{20} = +17,6^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,74$ in Chf). Me-Chf-(1:49) (2 Fraktionen) eluierten noch 6 mg XII; aus Me-An Kristalle vom Smp. 265–272°. Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : orange (nach 1–2 Min.), blaugrün (nach 40 Min.), blau (nach 1 Std.), marineblau (nach 2 Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : orange (nach 1–2 Min.), blaugrau (nach 40 Min.), blaugrün (nach 1 Std.), hellsmaragdgrün (nach 2 Std.). Authentisches Xysmalogenin³⁰) gab dieselben Färbungen, zeigte dasselbe Verhalten im Dchr und im Pchr (siehe Theoret. Teil). – Die in üblicher Weise bereitete *Acetylverbindung XIII* gab aus An-Ä feine Prismen vom Smp. 263–268° (Sint. ab 255°); $[\alpha]_D^{22} = -9,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,08$ in Chf). Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 :

orange (nach 1–2 Min.), graugrün (nach 1 Std.), blau (nach 2 Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : rosa (nach 1–2 Min.), hellviolett (nach 1 Std.), violett (nach 2 Std.).

Mit Chf-Me-(199:1) und -(99:1) wurden noch 60 mg reines XII eluiert. Chf-Me-(49:1) und -(19:1) gaben 24 mg XII: aus An-Ä Kristalle vom Smp. 268–276°.

Monosid e' (X). In Fortsetzung des obigen Chromatogramms wurden in 3 Fraktionen mit Chf-Me-(9:1) 62 mg rohe Substanz eluiert, die aus Me-Ä Kristalle gab. Diese wurden vereinigt und aus Me-Ä umkristallisiert: feine Nadelchen von X vom Smp. 245–251°; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -28,7^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,22$ in Me). Färbungen: a) mit konz. H_2SO_4 : braungelb (nach 1–2 Min.), braun (nach 10 Min.), dunkelgrün (nach 70 Min.), dunkelgrün (nach 2 Std.); b) mit 84-proz. H_2SO_4 : braungelb (nach 1–2 Min.), braun (nach 10 Min.), grauschwarz (nach 70 Min.), grauschwarz (nach 2 Std.). Tetranitromethanprobe schwach gelb, KELLER-KILIANI¹⁸⁾- und Xanthhydrol¹⁹⁾-Reaktion positiv. X verhält sich im Dchr wie das Monosid «e». Im Pchr [System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1), Laufzeit 8 Std.] ist X etwas polarer als «e», lässt sich aber im Gemisch mit diesem nicht erkennen, da nur ein Fleck entsteht. Während *e'* im Dchr mit SbCl_5 -Chf besprüht und auf 80–100° erhitzt eine rotviolette bis blauviolette Färbung gibt, wird «e» dabei graublau bis hellblau. Die in üblicher Weise durch 16stdg. Stehenlassen in $\text{Py}-(\text{Ac})_2\text{O}$ bereitete *Acetylverbindung XI* gab aus An-Ä feine Nadelchen, die bei 270–274° schmolzen; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -19,9^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,11$ in Chf).

Hydrolyse des Monosids e'. 2 mg Monosid *e'* wurden in einem Glühröhrchen in einigen Tropfen Me gelöst, mit der gleichen Menge 0,1N H_2SO_4 versetzt und 30 Min. im Dampfbad erhitzt. Hierauf wurden einige Tropfen Chf zugegeben und kräftig durchgeschüttelt. Die wässrige Phase gab im Pchr [System To-Bu-W-(1:9:2)] einen Fleck, der denselben Rf-Wert aufwies wie Canarose (siehe weiter unten). Die Chf-Phase gab im Dchr und im Pchr (siehe Fig. 6) nur einen markanten Fleck, der auch bezüglich der Färbung mit SbCl_5 demjenigen des Xysmalogenins (XII) entsprach.

D-(+)-*Canarose = 2-Desoxy-D-rhamnose (XV)*. Die zur Gewinnung des rohen Geninanteils mit Chf extrahierte wässrige Phase aus der Hydrolyse von «e» (siehe oben), die den 2-Desoxyzucker enthielt, wurde mit soviel frisch bereitetem und neutral gewaschenem BaCO_3 versetzt, dass die Lösung eben noch schwach lackmussauer reagierte. Nach Abfiltrieren vom BaCO_3 wurde im Vakuum bei 30° auf einige ml eingedampft, mit BaCO_3 im Überschuss versetzt, filtriert und das Filtrat im Vakuum völlig eingedampft. Der Rückstand wurde in An aufgenommen, vom gebildeten Niederschlag abfiltriert und wieder im Vakuum zur Trockne gebracht. Letzteres wurde so oft wiederholt, bis der Zuckersirup in An klar löslich war. Zur weiteren Reinigung wurde der rohe, gelb gefärbte Zucker in An gelöst und durch eine kleine Säule von Al_2O_3 filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und hinterliess einen farblosen Sirup; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +57,7^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,988$ in An)⁴⁸⁾. Beim Stehenlassen im evakuierten Exsiccator trat nach mehreren Wochen Kristallisation ein. Nach Entnahme einer kleinen Kristallprobe wurde das Ganze in wenig An unter Erwärmen gelöst, einige Tropfen Ä zugegeben und geimpft. Es schieden sich rasch feine Kristallprismen aus, die durch Absaugen isoliert wurden (20 mg): Smp. 90–95°. Nach einmaligem Umlösen wurden 14 mg farblose, flache, sehr hygroskopische Prismen vom Smp. 100–103° erhalten; $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +110^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,14$ in An). Der (von der Bestimmung der spez. Drehung) regenerierte Zucker wurde, da er nicht mehr kristallisierte, als Sirup für die Bestimmung der spez. Drehung in W verwendet: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +19,6^\circ \pm 2^\circ$ (Endwert) ($c = 1,48$ in W)⁴⁹⁾.

IV. Allocholesterin und Epiallocholesterin. – Das aus Δ^4 -Cholesten-3-on mit LiAlH_4 nach den Angaben von PLATNER und Mitarb.²⁸⁾ bereitete rohe Reduktionsprodukt wurde an Al_2O_3 chromatographiert. Das Chromatogramm wurde zunächst mit je 3 Fraktionen Pe, Pe-Bz-(3:1), Pe-Bz-(1:1) und 5 Fraktionen Pe-Bz-(1:3) entwickelt, die nach dem Verdampfen keinen Rückstand hinterliessen. Die folgenden 7 Fraktionen mit Pe-Bz-(1:9) eluierten nach Dchr (siehe weiter unten) ein Gemisch von Cholestenon und Epiallocholesterin. Bz löste hierauf praktisch einheitliches *Epiallocholesterin* von der Säule, das nach mehrmaligem Umlösen aus An-Me oder An-W in feinen Nadelchen kristallisierte. Smp. 83–85°; $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +120^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,12$ in Chf). Die *Acetylverbindung* (in $\text{Py}-(\text{Ac})_2\text{O}$ unter N_2 -Begasung bereitet) gab aus Me flache Prismen vom Smp. 82–84°; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +177^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,39$ in Chf). – Mit Bz-Chf-(19:1) wurde zunächst ein Gemisch

⁴⁸⁾ REES und Mitarb.¹⁾ fanden für den aus Substanz a (aus *D. isabelliana*) gewonnenen 2-Desoxyzucker +50° (in An).

⁴⁹⁾ Die für 2-Desoxy-L-rhamnose gefundenen Werte sind: $[\alpha]_{\text{D}} = -104^\circ$ (in An) bzw. -18° (in W)³⁷⁾.

von Epiallocholesterin und Allocholesterin eluiert. Die späteren Fraktionen (bis Chf) enthielten reines *Allocholesterin*. Aus Me lange, dünne Kristallprismen vom Smp. 132–133°; $[\alpha]_D^{24} = +50^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,66$ in Chf). Die *Acetylverbindung* (15 Std. in Py-(Ac)₂O bei 20°) gab aus Me dünne Kristallnadeln vom Smp. 85–86°; $[\alpha]_D^{24} = +8,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,37$ in Chf).

Dünnschichtchromatographie von Allocholesterin, Epiallocholesterin und Cholesterin. Die drei genannten Sterine lassen sich im Dchr¹⁴) auf Silicagel G («MERCK») im System E-Pe-(1:4) oder Bz-Ä-(3:2)³¹) sehr gut nebeneinander nachweisen. Epiallocholesterin läuft rascher als Allocholesterin; es entstehen zwei etwa 8–10 mm voneinander getrennte Flecke. Allocholesterin und Cholesterin geben demgegenüber keine Einzelflocke. Allocholesterin läuft aber soviel rascher, dass nach Besprühen mit SbCl₃-Lösung und Erhitzen der Platte auf etwa 100° ein langgezogener Fleck sichtbar wird, der im oberen Teil rosarot (Allocholesterin) und im unteren Teil orange (Cholesterin) gefärbt ist. Cholesterin lässt sich im Allocholesterin auf diese Weise noch in einer Menge von 2–3% nachweisen.

V. Isomerisierungsversuche. – 1. *Allocholesterin.* – a) *mit Schwefelsäure.* 10 mg Allocholesterin vom Smp. 132–133° wurden in 5,0 ml An gelöst, mit 1,25 ml 0,3N H₂SO₄ versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 4 Std. wurde aus der klaren Reaktionslösung eine kleine Probe entnommen und direkt im Dchr [Bz-Ä-(3:2)] untersucht: viel Allocholesterin, wenig Epiallocholesterin. Im Laufe von weiteren 16 Std. hatten sich feine, lange Nadeln ausgeschieden. Sie wurden durch Absaugen isoliert; im Dchr: Allocholesterin und Epiallocholesterin 1:1. Aus dem klaren Filtrat schied sich nach wenigen Sekunden ein flockiger, kristalliner Niederschlag aus. Dieser wurde durch Absaugen isoliert; im Dchr: neben sehr wenig Allocholesterin und Epiallocholesterin 2 starke und grosse Flecke: Δ^{3,5}-Cholestadien und eine etwas weniger polare Substanz. Im klaren Filtrat nach Dchr: viel Allocholesterin, wenig Epiallocholesterin und Δ^{3,5}-Cholestadien. Nach 3 Tagen enthielt die klare Lösung etwas mehr Epiallocholesterin, nach 20 Tagen zur Hauptsache Δ^{3,5}-Cholestadien.

b) *mit Essigsäure.* 10 mg Allocholesterin wurden in 5 ml An gelöst, mit 1,3 ml AcOH-W-(1:6) versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 4 Std. wurde der klaren Reaktionslösung eine kleine Probe entnommen und direkt im Dchr untersucht: nur Allocholesterin. Nach weiteren 16 Std. ebenso. Nach 3 Tagen enthielt die klare Lösung neben Allocholesterin sehr wenig Epiallocholesterin, nach 20 Tagen neben Allocholesterin wenig Δ^{3,5}-Cholestadien und etwas mehr Epiallocholesterin.

2. *Epiallocholesterin.* – a) *mit Schwefelsäure.* 5 mg Epiallocholesterin vom Smp. 75–85° wurden in 2,5 ml An gelöst, mit 0,6 ml 0,3N H₂SO₄ versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 4 Std. wurde aus der klaren Lösung eine Probe entnommen: im Dchr Allocholesterin und Epiallocholesterin 1:1. Nach weiteren 16 Std. hatte sich ein kristalliner Niederschlag gebildet, der durch Absaugen isoliert wurde. Im Dchr: Allocholesterin und Epiallocholesterin 1:1. Klares Filtrat im Dchr: Allocholesterin, Epiallocholesterin und Δ^{3,5}-Cholestadien, etwa 1:1:1. Nach 3 Tagen enthielt die klare Lösung als Hauptprodukt Allocholesterin, daneben Epiallocholesterin und Δ^{3,5}-Cholestadien. Nach 20 Tagen zur Hauptsache Δ^{3,5}-Cholestadien neben sehr wenig Epiallocholesterin und wenig Allocholesterin.

b) *mit Essigsäure.* 5 mg Epiallocholesterin vom Smp. 75–85° wurden in 2,5 ml An gelöst, mit 0,6 ml AcOH-W-(1:6) versetzt und bei 20° stehengelassen. Nach 4 Std. wurde aus der klaren Reaktionslösung eine kleine Probe entnommen und direkt im Dchr untersucht: nur Epiallocholesterin. Nach weiteren 16 Std. ebenso. Nach 3 Tagen sehr wenig Allocholesterin neben Epiallocholesterin als Hauptprodukt. Nach 20 Tagen wenig Allocholesterin, Epiallocholesterin (Hauptprodukt), wenig Δ^{3,5}-Cholestadien und 2 weitere Substanzen, die etwas polarer waren als dieses.

3. *Canarigenin (II) und epi-Canarigenin (VIII).* Je 1 mg II und VIII wurden in 0,1 ml An gelöst, mit 0,1 ml 2-proz. wässriger AcOH-Lösung versetzt und 6 Tage bei 37° stehengelassen. Vom 3. Tag an schieden sich in beiden Ansätzen Kristalle aus. Die Kristalle enthielten nach Dchr bei II: wenig VIII, viel II und wenig V; bei VIII: zur Hauptsache II, etwas weniger VIII und V. Die Lösungen enthielten nach Dchr bei II: neben sehr wenig V wenig II und VIII (etwa zu gleichen Teilen); bei VIII: nur wenig V.

ZUSAMMENFASSUNG

Einem aus getrockneten Blättern von *Digitalis canariensis* L. bereiteten wässrigen Extrakt liessen sich die Glykoside praktisch vollständig durch Ausschütteln

mit Chloroform-Alkohol-(4:1) entziehen. Da keine Kristalle aus dem so erhaltenen Glykosidgemisch gewonnen werden konnten, wurde dieses dem partiellen Abbau mit Strophanthobiase zur Monosidstufe unterworfen, wobei $\frac{2}{5}$ unverändert blieben. Das Gemisch der Monoside bestand zu etwa 15% aus freien Geninen.

Aus dem Monosidgemisch liess sich unter anderen zuckerfreien Abbauprodukten ein neues, als *Canarigenin* bezeichnetes Aglykon der Formel $C_{23}H_{32}O_4$ gewinnen, das das Δ^4 -Isomere des Xysmalogenins darstellt. Den Hauptanteil der Monoside machen die Glykoside d, e' und e'' aus. Das Monosid d, das stark überwiegt, ist Canarigenin-digitoxosid. Den Monosiden e' und e'' liegt ein bisher unbekannter 2-Desoxyzucker, die D-(+)-*Canarose* (2-Desoxy-D-rhamnose), zugrunde, die in Kristallen erhalten werden konnte. Das Monosid e' stellt Xysmalogenin-canarosid dar, während das bisher nicht rein erhaltene Monosid e'' höchstwahrscheinlich Canarigenin-canarosid sein dürfte. *D. canariensis* unterscheidet sich phytochemisch von seiner Varietät *isabelliana* in erster Linie durch den Geninanteil seiner Glykoside: hier sind es Digitoxigenin und Uzarigenin, dort Canarigenin und Xysmalogenin.

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel und
 Instituto Canario de Medicina Regional,
 Las Palmas de Gran Canaria

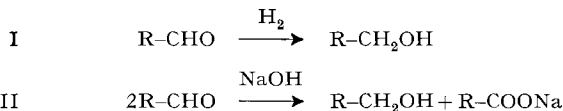
4. Étude de l'hydrogénation du glucose en présence d'un échangeur d'anions

par A. Jacot-Guillarmod, A. von Bézard¹⁾ et C. H. Haselbach

(31 X 62)

La vitesse de la réduction de la fonction carbonyle par l'hydrogène dépend souvent du pH du milieu dans lequel s'effectue la réaction. Dans le cas des sucres, cette vitesse est fortement augmentée quand le milieu est alcalin²⁾. Toutefois, la présence de bases, que ce soit la soude caustique, l'oxyde de calcium ou l'ammoniaque, provoque la dismutation de la fonction carbonyle, dismutation qui est souvent encore accélérée par le catalyseur, tel le nickel de RANEY³⁾.

Dans l'ensemble, les réactions I et II se superposent, si bien que les alcools obtenus sont toujours accompagnés d'une certaine quantité de l'acide.



L'hydrogénation du glucose en milieu aqueux basique donne donc un mélange de sorbitol et d'un sel de l'acide gluconique. La proportion d'acide gluconique varie selon la nature de l'agent alcalin et selon les conditions de pression et de température.

¹⁾ Adresse actuelle: E. I. DU PONT DE NEMOURS & CIE, Genève.

²⁾ U.S.P. 2546103; U.S.P. 2609399; U.S.P. 2642462.

³⁾ P. A. LEVENE & C. CHRISTMANN, J. biol. Chemistry 120, 575 (1937).