

**152. Die Glykoside der Blätter von *Digitalis canariensis* L.,
var. *isabelliana* (WEBB) LINDINGER**

2. Mitteilung¹⁾

von **S. K. Pavanaram, P. Hofer, Horst Linde und Kuno Meyer**

Herrn Prof. JAKOB BÜCHI zu seinem 60. Geburtstag gewidmet

(22. IV. 63)

In der vorangegangenen Mitteilung¹⁾ haben wir über die glykosidischen Bestandteile des Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extraktes, der die Hauptmenge der herzaktiven Substanzen von *Digitalis canariensis* L., var. *isabelliana* (Kurzbezeichnung *D. isabelliana*) enthält, berichtet. In der vorliegenden Arbeit werden die Ergebnisse der Untersuchung des Äther- und Chloroform-Extraktes mitgeteilt.

I. Äther-Extrakt. – Das zur Verfügung stehende Untersuchungsmaterial war bei der Aufarbeitung einer grösseren Charge von *D. isabelliana*-Blättern erhalten worden²⁾. Es wurde zunächst im Ausschüttelungsverfahren von sauren Bestandteilen befreit und gab dann im Papierchromatogramm (Pchr) 5 KEDDE-positive³⁾ Flecke (rotviolett) neben 2 weiteren gelbgrünen Flecken. Zwischen diesen beiden, die durch relativ kleine Laufstrecken gekennzeichnet waren, lag der kleinste der KEDDE-positiven Flecke, dessen Rf-Wert etwa dem des Strospeids⁴⁾ entsprach, während die übrigen 4 sich auf die untern $\frac{2}{3}$ des Papierbogens verteilten. Diese wiesen dieselben Rf-Werte wie die früher¹⁾ aus dem Chloroform-Alkohol-(4:1)-Extrakt durch enzymatischen Abbau erhaltenen Monoside b + c⁵⁾ und a und wie die diesen zugrundeliegenden Cardenolide Digitoxigenin und Uzarigenin auf. Bei der säulenchromatographischen Aufteilung des entsäuerten Äther-Extraktes an Al₂O₃ wurde zunächst eine grössere Anzahl KEDDE-negativer Fraktionen gewonnen, die reichliche Mengen öligere Bestandteile enthielten. Aus den Eindampfrückständen einiger dieser Fraktionen liessen sich eine «Gelbe Substanz» und eine «Weisse Substanz» in Kristallen gewinnen (siehe weiter unten). Aus den ersten KEDDE-positiven Fraktionen konnte *Uzarigenin* (III) isoliert werden. In den Mutterlaugen dieses Cardenolids liess sich papierchromatographisch eindeutig *Digitoxigenin* (I) nachweisen. Aus den Eindampfrückständen der mit polareren Lösungsmitteln erhaltenen KEDDE-positiven Fraktionen konnten Kristallisate gewonnen werden, die Gemische der Monoside b und c darstellten⁵⁾. Aus diesen Gemischen liess sich das *Monosid c* (IV) leicht durch frak-

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

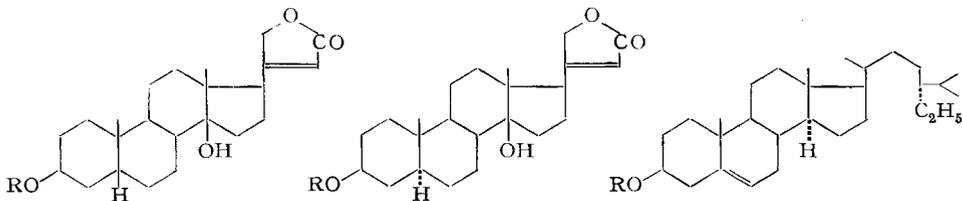
²⁾ Den Herren Dres. A. FÜRST und W. MEIER der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG, Basel, danken wir auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung dieser Extrakte.

³⁾ D. L. KEDDE, *Diss.* Leiden 1946; *Pharmac. Weekblad* **82**, 741 (1947); vgl. auch J. E. BUSH & D. H. TAYLOR, *Biochem. J.* **52**, 643 (1952).

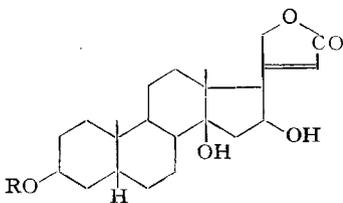
⁴⁾ Für das Vorliegen eines Gitoxigenin-Derivates sprach auch die nach Besprühen mit SbCl₃ im UV.-Licht auftretende leuchtend blaue Fluoreszenz. Vgl. hierzu C. JUSLÉN, W. WEHRLI & T. REICHSTEIN, *Helv.* **46**, 117 (1963), Fussn. 21.

⁵⁾ Die Monoside b und c lassen sich in dem benützten System¹⁾ nicht aufteilen und erscheinen deshalb als ein Fleck. Im Dünnschichtchromatogramm dagegen unterscheiden sie sich deutlich in ihren Rf-Werten.

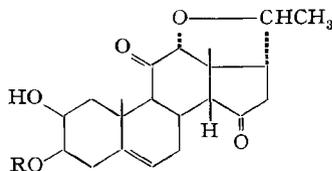
tionierte Kristallisation rein gewinnen. Dabei reicherte sich das Monosid **b** wohl stark in den Mutterlaugen an, konnte daraus aber nie völlig rein erhalten werden. Hingegen glückte es einmal, durch Umlösen eines Mischkristallisates von **b** und **c** das *Monosid b* (*II*) dünn-schichtchromatographisch rein zu gewinnen. Die letzten Eluate des präparativen Chromatogramms enthielten zunächst Monosid **a** als einzige KEDDE-positive Substanz und zum Schluss das oben erwähnte, dem Strosposid ähnelnde Glykosid hoher Polarität = *Substanz J*. Monosid **a** und Substanz *J* konnten durch präparative Pchr von den KEDDE-negativen Begleitstoffen weitgehend abgetrennt werden, wobei es schliesslich gelang, das *Monosid a* (*V*) in Kristallen zu gewinnen, während Substanz *J* amorph blieb.



- I (R = H) Digitoxigenin
Smp. 250° [+19 Me]⁷⁾
- II (R = Digitoxosido-Rest)
= Monosid **b** (Ervatromonosid)
Smp. 210–214° [–15 Me]¹⁾
- III (R = H) Uzarigenin
Smp. 230–246° [+14 Me]⁸⁾
- IV (R = Digitoxosido-Rest)
= Monosid **c**
Smp. 241–244° [–17 Me]¹⁾
- V (R = 2-Desoxosido-Rest)
= Monosid **a**
Smp. 241–244° [–29 Me]¹⁾
- VI (R = H) γ -Sitosterin
Smp. 145–146° [–42]⁹⁾
- VII (R = Ac)
Smp. 143–144° [–46]⁹⁾
- VIII (R = PhCO)
Smp. 152° [–20]¹⁰⁾



- IX (R = H) Gitoxigenin
Smp. 224°⁷⁾ [+35 Al]¹¹⁾
- X (R = Digitalosido-Rest) Strosposid
Smp. 252° [+19 Me]¹²⁾
- XI Tri-O-acetyl-strosposid
Smp. 147° bzw. 227° [–2]¹²⁾



- XII (R = Diginosido-Rest) Digifolein¹³⁾
Smp. 202–204° [–189 Me]¹⁴⁾
Smp. 198–202° [–220]¹³⁾
Smp. 184–203° [–209]^{*}
- XIII (R = D-Oleandrosido-Rest)
Lanafolein¹³⁾
Smp. 178–181° [–204]¹⁵⁾

⁷⁾ A. WINDAUS & G. STEIN, Ber. deutsch. chem. Ges. 61, 2436 (1928).

⁸⁾ S. RANGASWAMI & T. REICHSTEIN, Helv. 32, 939 (1949).

⁹⁾ R. J. ANDERSON & R. L. SHRINER, J. Amer. chem. Soc. 48, 2976 (1926). Zur Konstitution siehe W. BERGMANN & E. W. LOW, J. org. Chemistry 12, 67 (1947).

¹⁰⁾ A. ICHIBA, Scient. Pap. Inst. physic. chem. Res. (Tokyo) 28, 112 (1935).

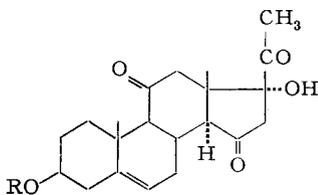
¹¹⁾ M. CLOETTA, Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 112, 261 (1926).

¹²⁾ W. RITTEL, A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 35, 434 (1952); vgl. auch A. HUNGER & T. REICHSTEIN, Helv. 33, 76 und 1993 (1950).

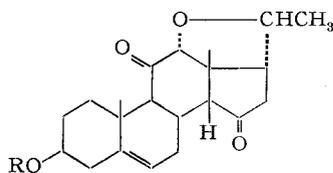
¹³⁾ C. W. SHOPPEE, R. E. LACK & A. V. ROBERTSON, J. chem. Soc. 1962, 3610.

¹⁴⁾ R. TSCHESCHE & G. GRIMMER, Chem. Ber. 88, 1569 (1955).

¹⁵⁾ R. TSCHESCHE & G. BUSCHAUER, Liebigs Ann. Chem. 603, 59 (1957).



XIV (R = Digitalosido-Rest)
14 α -Digipronin¹⁶⁾
Smp. 236–241° [–73 Py]¹⁷⁾ [–43]*)



XV (R = Diginosido-Rest) Diginin¹³⁾
Smp. 155–183° [–172 Me]¹⁴⁾
Smp. 165–185° [–224] [–167 Me]*)

Ac = CH₃–CO–; PhCO = –CO–. Die Zahlen in eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- bzw. abgerundete spez. Drehung für Na-Licht in folgenden Lösungsmitteln an: ohne Bezeichnung = Chloroform, Al = Äthanol, Me = Methanol, Py = Pyridin.

*) Siehe Exp. Teil.

Beschreibung der bisher in D. isabelliana neu aufgefundenen Stoffe. – Gelbe Substanz. Aus *Digitalis*-Arten (vor allem *D. purpurea* und *D. lanata*) sind eine Reihe von gelben Pigmenten isoliert worden⁶⁾, die, soweit uns bekannt, alle mit einer Ausnahme Flavone darstellen. Der von uns aus *D. isabelliana* isolierte gelbe Farbstoff (einige mg pro kg Trockendroge) vom Smp. 190–191° ist mit keinem der bisher in *Digitalis*-Arten aufgefundenen und beschriebenen gelben Pigmente identisch¹⁷⁾. Die Analyse passte sehr gut auf die Formel C₁₆H₁₂O₃. Die neue gelbe Verbindung ist optisch inaktiv, unlöslich in Alkalien, gibt einen negativen Farbttest auf Anthoxanthine (Flavone usw.), färbt sich nicht mit Ferrichlorid und enthält keinen Stickstoff. Ein Zusatz von Zinkpulver zu einer Suspension in 25-proz. wässrigem NH₃ lässt den wasserunlöslichen Farbstoff allmählich mit gelber bis oranger Farbe in Lösung gehen. Wird ausserdem noch wenig verd. NaOH zugefügt, so wird die Lösung tieferangerot gefärbt, verblasst beim kräftigen Durchschütteln, um beim Stehenlassen wieder orangerot zu werden. Dieses Verhalten spricht für das Vorliegen eines Anthrachinons. Das NMR.-Spektrum¹⁸⁾ zeigt die folgenden Signale: 1 Methyl bei ca. 2,45 ppm; 1 Methoxyl bei

¹⁶⁾ D. SATOH, H. ISHII, Y. OYAMA & T. OKUMURA, J. pharmac. Soc. Japan 75, 1573 (1955); D. SATOH, Chem. pharmaceut. Bull. 8, 270 (1960). Zur Konstitution siehe D. SATOH, *ibid.* 10, 43 (1962).

¹⁷⁾ R. TSCHESCHE, G. LIPP & G. GRIMMER, Liebigs Ann. Chem. 606, 160 (1957).

⁶⁾ **Flavone:** *Luteolin*: F. FLEISCHER & E. FROMM, Ber. deutsch. chem. Ges. 32, 1184 (1899); *7-Glucosido-luteolin*: H. NAKAMURA, T. OHTA & G. HUKUTI, J. pharmac. Soc. Japan 56, 107 (1936); *Calycopterin*: W. KARRER, Helv. 17, 1560 (1934); W. KARRER & K. VENKATARAMAN, Nature 135, 878 (1935); *Scutellarein* und *Dinatin*: S. RANGASWAMI & E. V. RAO, Proc. Indian Acad. Sci. 54A, 51 (1961); *Digicitrin*: W. MEIER & A. FÜRST, Helv. 45, 232 (1962). – **Anthrachinon:** *Digitolutein*: ADRIAN & A. TRILLAT, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 129, 889 (1899); R. A. PARIS, *ibid.* 238, 932 (1954); vgl. auch M.-M. JANOT, J. CHABASSE-MASSONNEAU, P. DE GRAEVE & R. GOUTAREL, Bull. Soc. chim. France 1955, 108, und J. C. LOVIE & R. H. THOMSON, J. chem. Soc. 1959, 4139.

¹⁷⁾ Herr Prof. T. REICHSTEIN hatte die Freundlichkeit, uns Proben von zwei aus *D. purpurea* isolierten gelben Pigmenten für Vergleichszwecke zu überlassen, wofür wir auch an dieser Stelle bestens danken möchten. Es ergab sich, dass der eine dieser beiden Farbstoffe (Smp. 184–188°) identisch mit der von uns aus *D. isabelliana* isolierten neuen gelben Verbindung ist.

¹⁸⁾ Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-A-60-Spektrographen in CDCl₃ 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 dieses Spektrums.

ca. 4,02 ppm; 6 aromatische Protonen: bei 7,12 ppm 1 Proton (Singl.), bei 7,75 ppm 3 Protonen (Multipl.) und bei 8,2 ppm 2 Protonen (Multipl.). Diese Fakten deuten darauf hin, dass die gelbe Verbindung die Konstitution eines Methyl-methoxy-anthrachinons haben könnte. Für Vergleichszwecke haben wir durch Methylierung des 2-Methyl-3-hydroxy-anthrachinons¹⁹⁾ eines der möglichen isomeren Analoga der neuen gelben Substanz bereitet. Dieses hatte den Smp. 195–197°²⁰⁾ und war nicht identisch mit der neuen, gelben Substanz. Im Farbttest auf Anthrachinone mit Zn-Pulver und konz. NH₃-Lösung trat bei der Modellschubstanz rascher eine Färbung (dunkelorange) ein, die auf Zusatz von wenig verd. NaOH ebenfalls eine Vertiefung (in Orangerot) erfuhr. Es besteht somit ein deutlicher Unterschied zwischen dem neuen gelben Digitalispigment und der Modellschubstanz, was die Intensität der Färbung betrifft und die Geschwindigkeit, mit der die Farbreaktion ihren höchsten Wert erreicht. Ein Vergleich des UV.-Spektrums des neuen Farbstoffes mit demjenigen der Modellschubstanz zeigt ebenfalls deutliche Unterschiede (siehe Fig. 1). Trotzdem glauben wir, dass dieser neue in *D. isabelliana* aufgefundene Farbstoff in die Anthrachinonreihe gehört, und hoffen, dessen Konstitution klären zu können, sobald ausreichende Mengen davon für weitere Versuche zur Verfügung stehen.

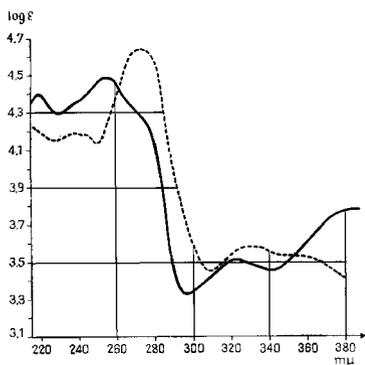


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektrum in Alkohol
Gelbe Substanz; $\log \epsilon$ ber. auf $C_{16}H_{12}O_3 = 252,27$.
2-Methyl-3-methoxy-anthrachinon²⁰⁾; $\log \epsilon$ ber. auf
 $C_{16}H_{12}O_3 = 252,27$.

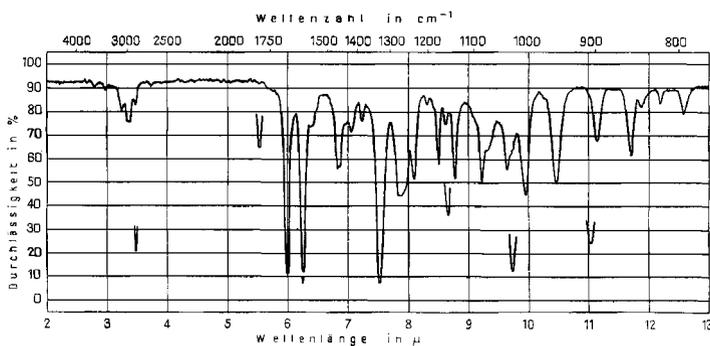


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum der gelben Substanz, $C_{16}H_{12}O_3$ (252,27), Smp. 190–191°, in CH_2Cl_2 .
 $c = 6$ mg in 0,13 ml, $d = 0,1$ mm

¹⁹⁾ S. K. PAVANARAM & L. R. ROW, J. sci. industr. Res. (India) 16 B, 409 (1957).

²⁰⁾ L. H. BRIGGS, G. A. NICHOLLS, J. chem. Soc. 1949, 1241.

Weisse Substanz. Diese in Äther und Petroläther leicht lösliche Verbindung (etwa 100 mg pro kg Trockendroge) kristallisierte aus Methanol oder Aceton nach mehrmaligem Umlösen in feinen Blättchen vom Smp. 142–150° und $[\alpha]_D = -42^\circ$ (in Chloroform); Misch-Smp. mit authentischem γ -Sitosterin²¹⁾ ohne Depression. Das IR.-Spektrum zeigte völlige Übereinstimmung mit demjenigen des Vergleichspräparates. Auch die Acetyl- bzw. Benzoyl-Verbindung war nach Smp., spez. Drehung und IR.-Spektrum mit den entsprechenden Estern des γ -Sitosterins identisch.

Substanz J. Dieses Glykosid, das nicht kristallin erhalten werden konnte, gab eine positive KELLER-KILIANI-Reaktion²²⁾ (auf 2-Desoxyzucker-Glykoside) und liess sich demzufolge leicht schon durch kurzes Erwärmen mit wässrig-alkoholischer 0,05N H₂SO₄ spalten. Die Zuckerkomponente konnte nicht abgeklärt werden, hingegen liess sich das Aglykon durch Pchr als Gitoxigenin (IX) identifizieren. Aus diesen Fakten ergibt sich somit, dass Substanz J nicht identisch mit Strosposid (X) sein kann. Eine erneute Prüfung in der Pchr mit dem von Ballaststoffen weitgehend befreiten Glykosid J ergab, dass dieses sich etwas polarer als Gitoxin verhält, welches seinerseits wiederum deutlich polarer als Strosposid ist²³⁾.

II. Chloroform-Extrakt. – Eine orientierende Prüfung im Pchr gab nur 2 KEDDE-positive Flecke kleiner Rf-Werte, die am besten auf die Monoside a und Strosposid passten. Entwicklung des Pchr mit SbCl₃ liess etwa 8 Flecke in Erscheinung treten, die sich nur z. T. zuordnen liessen (Strosposid, Monoside a und b, 14 α -Digipronin). Im Dchr wurden lediglich 3 blaugraue Flecke erhalten – im übrigen waren die Kieselgel-Bahnen²⁴⁾ von der Start- bis zur Frontlinie gelbbraun gefärbt –, die durch die Monoside a, b und c hervorgerufen worden sein dürften²³⁾. Bei der säulenchromatographischen Aufteilung an Al₂O₃ wurden die folgenden Substanzen in Kristallen erhalten (in der Reihenfolge der Eluierung): *Digifolein* (XII), *14 α -Digipronin* (XIV) und *Strosposid* (X). Die Digifolein-Kristallisate waren nicht einheitlich. Im Pchr und auch im Dchr liessen sich noch zwei weitere Substanzen sichtbar machen, die eine nur wenig unpolare = *Lanafolein* (XIII), die andere wesentlich unpolare als Digifolein = *Diginin* (XV). Wir haben deshalb die uneinheitlichen Digifoleinkristallisate an Sili-cagel («MERCK» für säulenchromatographische Zwecke), welches eine sehr gute Auftrennung von Diginin und Digifolein gestattet, nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Dabei liess sich das Diginin in einheitlichen Kristallen gewinnen. Eine präparative Herausarbeitung des Lanafoleins erschien uns nicht lohnend genug, da dieses Digitanolglykosid²⁵⁾ nur in sehr geringer Menge anwesend war. In den Mutterlaugen von Digifolein, 14 α -Digipronin und Strosposid waren nach Dchr noch die Monoside c und a, möglicherweise auch die früher¹⁾ beschriebenen Monoside f und h,

²¹⁾ K. MEYER, Pharm. Acta Helv. 24, 222 (1949), aus *Ch'an Su* gewonnen (Smp. 150–152°; $[\alpha]_D = -40^\circ$ in Chloroform).

²²⁾ Vgl. hierzu J. VON EUW & T. REICHSTEIN, Helv. 37, 883 (1948).

²³⁾ Je nach der Menge und der Art der Begleitstoffe können sich beim direkten Vergleich eines Rohextraktes mit den Reinsubstanzen recht unterschiedliche Rf-Werte ergeben. Dies trifft vor allem für die Dünnschichtchromatographie (Dchr) zu. Identifizierungen durch papierchromatographischen oder dünn-schichtchromatographischen Vergleich können nur dann ein hohes Mass von Sicherheit gewährleisten, wenn die zu identifizierenden Stoffe eines Extraktes vor ihrer Prüfung im Pchr oder Dchr weitgehend von Begleitstoffen befreit werden konnten.

²⁴⁾ Auf Linienglas, siehe A. GAMP, P. STUDER, H. LINDE & K. MEYER, Experientia 18, 292 (1962).

²⁵⁾ R. TSCHESCHE, Angew. Chemie 73, 727 (1961).

enthalten. Aus den Eindampfrückständen einer Chromatographiefraktion, die im Anschluss an die Eluierung des Strospeids gewonnen worden war, konnte eine kleine Menge eines neuen KEDDE-positiven Glykosids vom Smp. 257–264° und $[\alpha]_D = -38^\circ$ (in Pyridin) erhalten werden, das auf Grund seines UV.-Spektrums ein Butenolid darstellt = *Substanz K*. Das daraus durch Hydrolyse im Mikromaßstab gewonnene Genin war nach Pchr wesentlich polarer als Gitoxigenin und konnte bisher nicht mit einem bekannten Cardenolid identifiziert werden. Die Zuckerkomponente zeigte im Dchr gleiches Verhalten wie Digitalose.

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

Experimenteller Teil

Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt und sind korrigiert. – Es werden die folgenden Abkürzungen benützt: (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, Py = Pyridin, To = Toluol, W = Wasser, ML = Mutterlaugenrückstände, Pchr = Papierchromatographie bzw. Papierchromatogramm, Dchr = Dünnschichtchromatographie bzw. Dünnschichtchromatogramm.

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-Reagens³⁾.

Für die Ausführung der Dchr benützten wir die Linienglas-Methode²⁴⁾. Die Sichtbarmachung der gewanderten Substanzen geschah durch Besprühen mit 20-proz. SbCl₃ in Chf und Erhitzen auf 80–120°.

I. Äther-Extrakt. – 1) *Auftrennung in die Bestandteile.* Die dunkel-braungrün gefärbten, schmierig-pastenförmigen Eindampfrückstände der Ätherausschüttelungen aus einem Extraktionsansatz, der entsprechend den früher gemachten Angaben¹⁾ aus 21 kg *D. isabelliana*-Blättern gewonnen worden war und rund 240 g wog, wurden in 1000 ml Ä-Chf-(4:1) gelöst und erschöpfend mit jeweils 100 ml verd. Sodalösung ausgeschüttelt. Die organischen Phasen wurden hierauf mit W neutral gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft: rund 100 g dunkel gefärbter Rückstand. Ergebnis der Pchr [System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)] siehe Theoret. Teil. Im Dchr [System E-Pe-(4:1)] 3 Flecke der Monoside a, b und c. Das vorgereinigte Untersuchungsmaterial wurde in Portionen von etwa 35 g jeweils an 500 g regeneriertem Al₂O₃ «MERCK»²⁶⁾ nach der Durchlaufmethode chromatographiert. Die im Folgenden gemachten Angaben beziehen sich jeweils auf die bei einer solchen Chromatographie gewonnenen Ergebnisse. Pe-Bz-(1:1) und -(1:3) eluierten reichliche Mengen eines dunkel-braungrün gefärbten Öls, das verworfen wurde. Die mit Bz gewonnenen Fraktionen waren braunorange gefärbt und gaben (aus An) etwa 15–20 mg gelb gefärbte, feine Kristallnadelchen vom Smp. 180–187° = *Gelbe Substanz*. Die Eindampfrückstände der ersten Fraktionen mit Bz-Chf-(9:1) waren ebenfalls gelb gefärbt. Auf Zusatz von Me bildeten sich Kristalle vom Smp. 128–132°, die leicht in Ä und Pe löslich waren = *Weisse Substanz*. Aus den Eindampfrückständen der Fraktionen mit Bz-Chf-(4:1) liessen sich keine Kristalle gewinnen; sie waren auch wie alle vorangegangenen Fraktionen KEDDE-negativ. Die späteren Eluate enthielten demgegenüber alle KEDDE-positive Substanzen. Durch Pchr [System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)] bzw. Dchr [E-Pe-(4:1)] liessen sich in den Fraktionen mit Bz-Chf-(3:2) und -(7:3) Digitoxigenin und Uzaringenin nachweisen. Aus den Eindampfrückständen der Chf-Fraktionen konnten 200–300 mg kristallisiertes Uzaringenin (aus Me-Ä) gewonnen werden. Die Eluate mit Chf-Me-(199:1) enthielten nach Pchr bzw. Dchr (siehe oben) Uzaringenin und wenig der Monoside b und c. Die Fraktionen mit Chf-Me-(99:1) und -(49:1) waren frei von Uzaringenin und enthielten nach Pchr bzw. Dchr die Monoside b und c. Aus Me-Ä wurden rund 200 mg feine Nadelchen erhalten, die ein Gemisch von b und c darstellten. Wird dieses Gemisch in Aceton gelöst und die konzentrierte Lösung mit reinem Monosid c geimpft, dann scheiden sich

²⁶⁾ J. P. RUCKSTUHL & K. MEYER, *Helv.* 40, 1270 (1957), siehe Anm. 26, S. 1285.

einheitliche Kristalle von c aus, Smp. 225–230°. Aus den konzentrierten Mutterlaugen lässt sich durch Animpfen mit b kein einheitliches Kristallinat erhalten. Aus einem Gemisch etwa gleicher Teile Monosid b und c, gelöst in An, liess sich einmal durch Animpfen mit reinem Monosid b eine einheitliche Kristallfraktion dieser Substanz vom Smp. 211–216° gewinnen. Das mit Chf-Me (19:1) eluierte Material gab im Pchr nur *einen* KEDDE-positiven Fleck, der den gleichen Rf-Wert wie das Monosid a aufwies. Es konnten auch nach Animpfen mit Monosid a keine Kristalle erhalten werden. Durch präparative Papierchromatographie (vgl. 1)) [System Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)] liess sich schliesslich eine kleine Menge des Monosids a in einheitlichen Kristallen vom Smp. 240–246° gewinnen. – Das mit Chf-Me (9:1) von der Säule gelöste Material enthielt nach Pchr das dem Strosesid ähnelnde Glykosid = *Substanz J* (siehe Theoret. Teil). Da auch nach erneuter chromatographischer Aufteilung diese unbekannt Substanz nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte, wurde durch präparative Pchr (System wie bei Monosid a) eine weitere Reinigung versucht. Infolge unerklärbarer Umstände enthielt das aus den Papierbogen eluierte Material neben der gesuchten KEDDE-positiven Substanz grosse Mengen einer nicht mehr abtrennbaren Verunreinigung. KELLER-KILIANI-Reaktion²⁵⁾ blau (blaugrün). Hydrolyse einer Probe in wässrig-äthanolischer-(1:1) 0,05N H₂SO₄. Verdampfen des Al im Vakuum und Extraktion der wässrigen Lösung mit Chf gab ein amorphes Genin, das im Pchr [Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)] sich gleich wie Gitoxigenin (IX) verhielt und wie dieses nach dem Besprühen mit SbCl₃ im UV.-Licht eine leuchtend blaue Fluoreszenz gab⁴⁾. Die wässrige, vom Aglykon befreite Hydrolysenlösung, die den Zucker enthielt, wurde im Pchr [To-Bu-W-(8:2:1), Laufzeit 21 Std., Entwicklung mit Anilinphthalat²⁷⁾] geprüft und gab einen über das ganze Pchr laufenden dunkeln Streifen.

2) *Beschreibung der neu in D. isabelliana aufgefundenen Substanzen.* – *Gelbe Substanz.* Aus An umkristallisiert, feine, hellgelbe Nadelchen, Smp. 190–191°. Sublimiert bei 100–120° und 0,02 Torr. Smp. unverändert. Zeigt keine optische Aktivität. Die gelbe Substanz ist unlöslich in W und 50-proz. KOH, leicht dagegen in Al, An, Ä usw. Sie gibt einen negativen LASSAIGNE-Test auf Stickstoff. – *Farbreaktionen:* in wenig Al gelöst, mit Mg-Pulver und konz. HCl versetzt, keine Färbung (Probe auf Pyrone wie Flavone und verwandte Stoffe²⁸⁾). In wenig Al gelöst auf Zusatz von wässriger Ferrichloridlösung keine Färbung. Wird die Substanz in 25-proz. wässrigem NH₃ suspendiert, so bleibt die Lösung auch nach Erwärmen völlig farblos. Nach Zusatz von Zn-Pulver vergehen die Kristalle allmählich und die Lösung färbt sich gelb, unmittelbar über dem Zn-Pulver tiefgelb bis gelborange. Wird eine kleine Probe der gelben Substanz im Glühröhrchen in 1 Tropfen 1N NaOH suspendiert, mit etwas Zn-Pulver versetzt, kräftig durchgeschüttelt und gut verschlossen stehengelassen, so beginnt sich die Lösung vom Zn-Pulver her nach einigen Minuten rotorange zu färben. Kräftiges Durchschütteln bewirkt Aufhellung der Farbe und kurze Trübung der Lösung infolge Rückoxydation zu der in W unlöslichen gelben Substanz (positive Anthrachinon-Probe). Methylierungsversuch: 4 mg gelbe Substanz wurden in 5 ml An, das über geglühtem K₂CO₃ getrocknet worden war, gelöst, mit 200 mg frisch geglühtem K₂CO₃ und 5 Tropfen Dimethylsulfat²⁹⁾ versetzt und 44 Std. auf dem Dampfbad unter Rückfluss gekocht. Hierauf wurde filtriert und im Vakuum zur Trockne gebracht. Nach Destillation bei 0,02 Torr und 100–120° Badtemperatur wurde das Sublimat aus An umgelöst: feine, gelbe Kristallnadelchen, Smp. 190–191° = unverändertes Ausgangsmaterial. – Das IR.- und UV.-Spektrum [letzteres mit Maxima bei 385 (3,78), 325 (3,51), 255 (4,49), 220 (4,40) m μ (log ϵ) und mit schwacher Schulter bei 276 (4,25) sowie deutlicher Schulter bei 237 (4,33) m μ (log ϵ)] sind im Theoretischen Teil (Fig. 1 und 2) dargestellt. Sie zeigten völlige Übereinstimmung mit den Spektren des von REICHSTEIN u. Mitarb. aus *D. purpurea* isolierten gelben Pigments vom Smp. 184–188°¹⁷⁾.

C ₁₈ H ₁₂ O ₃ (Methyl-methoxyl-xanthon) (240,27)	Ber. C 75,01	H 5,03	O 19,97%
C ₁₈ H ₁₂ O ₃ (Methyl-methoxyl-anthrachinon) (252,27)	Ber. „ 76,18	„ 4,80	„ 19,02%
	Gef. „ 76,37; 76,09	„ 4,76; 4,80	„ 18,82%

Weisse Substanz = γ -Sitosterin. Sie verhält sich an Al₂O₃ etwas polarer als die gelbe Substanz. Nach mehrmaligem Umlösen aus Me oder An wurden dünne Plättchen vom Smp. 142–150°

²⁷⁾ S. M. PARTRIDGE, *Nature* 164, 443 (1949).

²⁸⁾ J. SHINODA, *J. pharmaceut. Soc. Japan* 48, 214 (1928).

²⁹⁾ Dieses war erst mit 5-proz. eiskalter NaHCO₃-Lösung, dann mit Eiswasser gewaschen und hierauf über geglühtem K₂CO₃ getrocknet worden.

erhalten; $[\alpha]_D^{23} = -42^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,28$ in Chf). Die durch längeres Stehenlassen in Py-(Ac)₂O bei 20° bereitete Acetylverbindung schmolz bei 129–130°; $[\alpha]_D^{23} = -44^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,11$ in Chf). Die in analoger Weise hergestellte Benzoylverbindung schmolz bei 145–154°; $[\alpha]_D^{23} = -18^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,24$ in Chf). Die Mischproben mit authentischem γ -Sitosterin, seiner Acetyl- und Benzoylverbindung gaben keine Depression. Die IR.-Spektren des freien Sterins und seiner Ester stimmen völlig mit denjenigen der authentischen Produkte überein.

II. Chloroform-Extrakt. – 1) *Isolierung der Bestandteile.* – 15 g dunkel-grünbraun gefärbter Chf-Extrakt, der bei der Aufarbeitung von 5 kg *D. isabelliana*-Blättern erhalten worden war, wurde an 400 g Al₂O₃²⁶⁾ nach dem Durchlaufverfahren chromatographiert. Das mit Bz-Chf-(4:1), -(3:2) und -(3:7) eluierte Material blieb amorph. Mit Chf wurden 3,3 g Substanz von der Säule gelöst. Aus An-Ä 1,2 g Kristalle vom Smp. 175–196° = rohes Digifolein. Die mit Chf-Me-(99:1) erhaltenen Fraktionen gaben nach dem Verdampfen im Vakuum 1,4 g. Aus An-Ä 175 mg Nadeln vom Smp. 230–238° = rohes 14 α -Digipronin. Chf-Me-(49:1) eluierten 1,35 g Substanz. Aus An-Ä 465 mg zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. 243–250° = rohes Strosposid. Die Eindampfdruckstände der Eluate mit Chf-Me-(19:1) wogen 0,9 g und enthielten nach Pchr [Bz-Chf-(1:1)/Pgl-W-(4:1)], mit KEDDE-Reagens entwickelt] neben Strosposid eine neue weniger polare Substanz. Aus An-Ä zunächst grobe Kristalle von Strosposid, beim Eindampfen der Mutterlaugen 15 mg feine, lockere Kristalle = Glykosid K.

2) *Reinigung und Charakterisierung der isolierten Stoffe.* – *Digifolein (XII).* Umkristallisieren aus Me-Ä gab kleine Prismen vom Smp. 183–198°; $[\alpha]_D^{23} = -214,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,27$ in Chf). UV.-Spektrum (in Al): λ_{max} bei 310 m μ ($\log \epsilon = 1,89$; berechnet auf MG. 504). Misch-Smp. mit authentischem Digifolein³⁰⁾ (Smp. 170–197°): 170–198°. Im Pchr [Bz-Chf-(7:3)/Fmd] gleiche Laufstrecke wie authentisches Digifolein. Unser Präparat enthielt nach Dchr (E) noch eine Spur Lanafolein (XIII)³⁰⁾ und etwa 10% Diginin (XV) als weitere Verunreinigung. Durch Chromatographie an Kieselgel (für Chromatographie «MERCK», Korngrösse 0,05–0,20 mm) liess sich Diginin vom Digifolein abtrennen: Diginin wird nämlich von Chf, das ¹/₄–¹/₂% Me enthält, eluiert, während Digifolein sich erst mit Chf-Me-(99:1), -(49:1) und -(19:1) von der Säule ablösen lässt. Das so gereinigte Digifolein, das im Dchr (E) völlig einheitlich war, schmolz bei 184–203°; $[\alpha]_D = -208,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,24$ in Chf).

Diginin (XV). Aus An-Ä flache, kompakte Prismen (nach Dchr (E) völlig einheitlich) vom Smp. 165–185°; $[\alpha]_D^{24} = -224,3^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,28$ in Chf), bzw. $-166,6^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,11$ in Me). Misch-Smp. mit authentischem Diginin²⁾ (Smp. 161–185°): 159–183°.

14 α -Digipronin (XIV). Aus An-Ä feine Nadelchen vom Smp. 234–240°, nach dem Umlösen Smp. 237–240°; $[\alpha]_D^{23} = -43,3^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,71$ in Chf) und $-72,8^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,1$ in Py). UV.-Spektrum (in Al): λ_{max} 290 m μ ($\log \epsilon = 1,61$, berechnet auf MG. 520). Misch-Smp. mit authentischem 14 α -Digipronin³⁰⁾ (Smp. 200–232°): 200–237°. Auch im Pchr (Chf/Fmd) zeigte unser Präparat völlige Übereinstimmung.

Strosposid (X). Aus Me-Ä umkristallisiert, zu Drusen vereinigte Prismen, Smp. 248–253°; $[\alpha]_D^{23} = +17,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 1,66$ in Me). Misch-Smp. mit authentischem Strosposid³¹⁾ (Smp. 251–253°) ohne Depression.

$C_{30}H_{46}O_9$ (550,67) Ber. C 65,42 H 8,43% Gef. C 65,31 H 8,55%

Die Acetylverbindung (*Triacetylstrosposid*) schmolz bei 229–231° (hochschmelzende Form).

Substanz K. Nach dem Umlösen aus An-Ä stieg der Smp. auf 257–264°; $[\alpha]_D^{23} = -38,1^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,68$ in Py). UV.-Spektrum: λ_{max} 215 m μ ($\log \epsilon = 4,10$, berechnet auf MG. 500). – Hydrolyse: 5 mg K wurden in 5 ml An-konz. HCl-(99:1) gelöst und 7 Tage bei 20° stengelassen. Nach Zugabe von 5 ml W wurde das An im Vakuum entfernt. Die Aufarbeitung (mit Chf) gab 3,5 mg Rohprodukt. Aus An-Ä 3 mg Prismen vom Smp. 253–268°. Rf-Wert im Pchr (Chf/Fmd) 0,52, bezogen auf Gitoxygenin = 1,00. Die wässrige, mit Chf extrahierte Phase wurde mit frisch bereitetem Ag₂CO₃ versetzt, längere Zeit geschüttelt, filtriert und im Vakuum völlig eingedampft. Der

³⁰⁾ Wir danken Herrn Prof. R. TSCHESCHE, Bonn, auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung von Vergleichspräparaten.

³¹⁾ Wir danken Herrn Prof. T. REICHSTEIN bestens für die Überlassung einer Vergleichsprobe.

Rückstand wurde in An gelöst, durch wenig Al_2O_3 filtriert und die klare Lösung im Vakuum eingedampft. Der rohe Zuckersirup zeigte im System Bu-Mäk-(1:1)/Borsäure-Borax-Puffer³²⁾ gleiche Laufstrecke wie *Digitalose* (aus *Strospesid* bereitet).

ZUSAMMENFASSUNG

Die durch Ausschütteln eines aus getrockneten Blättern von *Digitalis canariensis* L., var. *isabelliana* bereiteten wässrigen Auszuges mit Äther und Chloroform gewonnenen Extrakte wurden einer eingehenden Analyse unterzogen. Im Ätherauszug konnten neben den bereits in der vorangegangenen Mitteilung beschriebenen Monosiden a, b und c und den Cardenoliden Digitoxigenin (nicht isoliert) und Uzarigenin die folgenden Substanzen kristallisiert werden: ein gelbes Pigment der Formel $C_{16}H_{12}O_3$ (Methyl-methoxy-anthrachinon?), ein Gitoxigenin-Glykosid (= Substanz J), dessen Konstitution nicht abgeklärt werden konnte, und γ -Sitosterin. Letzteres ist damit zum ersten Mal in einer Digitalispflanze nachgewiesen worden. – Aus dem Chloroformextrakt liessen sich die Digitanol-glykoside Digifolein, Diginin und 14α -Digipronin in Kristallen isolieren, während Lanafolein, das nur in Spuren vorhanden war, sowohl papier- als auch dünn-schicht-chromatographisch nachgewiesen werden konnte. Ausserdem liessen sich zwei für *D. isabelliana* neue digitaloide Glykoside, nämlich *Strospesid* und in sehr geringer Menge ein vermutlich unbekanntes Digitalosid (= Substanz K) isolieren.

Pharmazeutisches Institut der Universität Basel

³²⁾ M. T. KRAUSS, H. JÄGER, O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, J. Chromatogr. 3, 63 (1960).

153. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen

43. Mitteilung¹⁾

Zur Kenntnis von Desferrioxamin B

von H. Bickel, H. Keberle und E. Vischer

(11. V. 63)

Vor einiger Zeit haben wir mit andern Arbeitsgruppen aus Stoffwechselprodukten von Actinomyceten eisenhaltige Verbindungen, die Ferrioxamine, isoliert²⁾. Eingehende Untersuchungen haben gezeigt, dass diese Produkte zu den Sideraminen, einer grösseren, bisher wenig beachteten Gruppe von Naturstoffen, gehören³⁾.

¹⁾ 42. Mitt.: H. GERLACH & V. PRELOG, Liebigs Ann. Chem. 1963, im Druck.

²⁾ H. BICKEL, R. BOSSHARDT, E. GÄUMANN, P. REUSSER, E. VISCHER, W. VOSER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, Helv. 43, 2118 (1960); W. KELLER-SCHIERLEIN & V. PRELOG, Helv. 45, 590 (1962).

³⁾ H. BICKEL, E. GÄUMANN, W. KELLER-SCHIERLEIN, V. PRELOG, E. VISCHER, A. WETTSTEIN & H. ZÄHNER, Experientia 16, 129 (1960); H. ZÄHNER, E. BACHMANN, R. HÜTTER & J. NÜESCH, Path. Microbiol. 25, 708 (1962); V. PRELOG, Pure appl. Chemistry 1963, im Druck.