

5. Aus den Durchschnittswerten der Aminosäurekonzentrationen werden für jede einzelne Aminosäure und für deren Summe die Aminostickstoffwerte errechnet. Der Quotient dieser beiden Grössen, der als Umrechnungsfaktor zur Ermittlung der Gesamtaminosäurekonzentration aus Gesamtaminostickstoffkonzentration verwendet werden kann, beträgt im Durchschnitt 8,9. Der Berechnung dieses Umrechnungsfaktors liegen für jede der 19 untersuchten Aminosäuren ca. 50 Einzelbestimmungen zugrunde, die im Gesamten an ca. 200 Ratten durchgeführt worden sind.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

24. Eine weitere Synthese der D-Digitalose sowie Bereitung krystallisierter Digitalose-acetate.

Desoxyzucker, 23. Mitteilung¹⁾)

von Ch. Tamm.

(17. XII. 48).

D-Digitalose (XI), eine in der Natur relativ selten beobachtete Zuckerkomponente von Steroidglykosiden, kann einerseits durch hydrolytische Spaltung von Digitalinum verum²⁾) und Emicymarin³⁾) und anderseits auf synthetischem Wege entweder nach den Angaben von *Reber* und *Reichstein*⁴⁾) oder nach denjenigen von *Schmidt* und *Wernicke*⁵⁾) gewonnen werden. Beide synthetischen Wege liefern schlechte Ausbeuten, daher wurde versucht, die ersterwähnte Synthese zu verbessern. Obwohl diese Versuche nicht durchwegs zum gewünschten Erfolge führten, seien sie im folgenden kurz beschrieben. *Reber* und *Reichstein*⁴⁾) benützten für ihre Synthese eine Folge von Reaktionen, die von β -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ ausging. Hier wird eine ganz analoge Reaktionsfolge beschrieben, die als Ausgangsmaterial das etwas leichter zugängliche α -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ (III)⁶⁾) verwendet, dessen Überführung in 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (II)⁷⁾) bereits bekannt ist. Diese

¹⁾ 22. Mitt., *H. Hauenstein, T. Reichstein*, *Helv.* **32**, 22 (1949).

²⁾ *H. Kiliani*, *Arch. Pharm.* **230**, 250 (1892).

³⁾ *J. D. Lamb* und *S. Smith*, *Soc.* **1936**, 442.

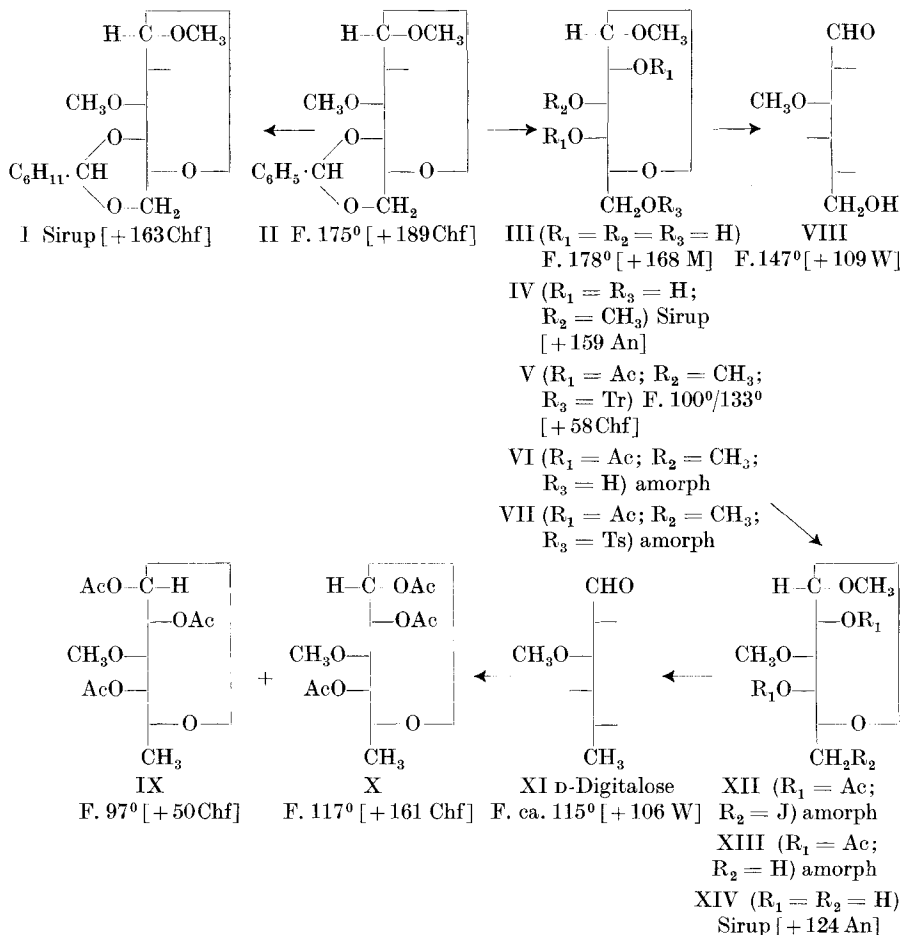
⁴⁾ *F. Reber* und *T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 343 (1946).

⁵⁾ *O. Th. Schmidt* und *E. Wernicke*, *A.* **558**, 70 (1947).

⁶⁾ *W. A. van Ekenstein* und *J. J. Blanksma*, *R.* **25**, 135 (1906); *G. J. Robertson* und *R. A. Lamb*, *Soc.* **1934**, 1321; *E. Sorkin* und *T. Reichstein*, *Helv.* **28**, 1 (1945).

⁷⁾ *F. Reber* und *T. Reichstein*, *Helv.* **28**, 1164 (1945); *A. C. Machly* und *T. Reichstein*, *Helv.* **30**, 496 (1947).

Stufe konnte jetzt etwas vereinfacht werden¹⁾. Die Hydrierung des Monomethyläthers II mit *Raney*-Nickel unter Druck lieferte in der Hauptsache den α -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (IV) und wenig Hexahydrobenzalverbindung I. Die Trennung von I und IV erfolgte in üblicher Weise durch Verteilen zwischen Wasser und Chloroform. Zur Sicherstellung der Konstitution wurde eine Probe von IV mit 2-n. H_2SO_4 bei 90° hydrolysiert. Der dabei erhaltene freie Zucker erwies sich, wie erwartet, nach Schmelzpunkt und Mischprobe als identisch mit dem bekannten D-Galaktose-3-methyläther



Abkürzungen: Ac = $\text{CH}_3\cdot\text{CO}-$; Tr = $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\cdot\text{C}-$; Ts = $\text{p}-\text{CH}_3-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2-$. Die Zahlen in den eckigen Klammern geben die auf ganze Grade auf- oder abgerundete spez. Drehung in folgenden Lösungsmitteln an: An = Aceton; Chf = Chloroform; M = Methanol; W = Wasser.

¹⁾ Siehe experimenteller Teil.

(VIII)¹⁾. Die Hauptmenge des α -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläthers (IV) wurde nun in Pyridin mit 1,1 Mol Tritylchlorid umgesetzt und das rohe Gemisch anschliessend acetyliert. Aus dem erhaltenen amorphen Rohprodukt liess sich nach chromatographischer Reinigung mit einiger Mühe und in mässiger Ausbeute der 2,4-Diacetyl-6-trityl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (V) in Krystallen erhalten²⁾. V wurde bei -10° mit HBr-Eisessig behandelt und lieferte das Diacetat VI, das bisher nicht krystallisierte. Der Umsatz mit Tosylchlorid führte zum amorphen acetylierten Tosylat VII, das mit NaJ in Aceton erwärmt wurde, wobei sich erst nach 36-stündigem Erhitzen auf 124° etwa 81% schwefelfreies Jodhydrin XII bildeten³⁾. XII wurde direkt als Rohprodukt mit Wasserstoff, Raney-Nickel und NaOH in Methanol entjodet, das erhaltene amorphe Diacetat XIII durch Destillation im Hochvakuum gereinigt und mit methanolischem Bariumhydroxyd zum α -Methyl-D-digitalosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XIV) verseift, das nur als Sirup gewonnen werden konnte. Nach Destillation im Molekularkolben zeigte der Sirup aber die richtigen Analysenwerte. Die Hydrolyse mit 2-proz. H_2SO_4 bei 90° gab die bekannte D-Digitalose (XI) als farblosen Sirup. Obwohl die Analysenwerte gut stimmten, war der Zuckersirup nicht rein, denn die gemessenen Drehungswerte wichen von den Werten der Literatur⁴⁾ erheblich ab.

Zur Charakterisierung der D-Digitalose sind bisher das gut krystallisierende Lacton der D-Digitalonsäure⁴⁾⁵⁾ und das Osazon⁶⁾ bereitet worden. Doch kann sirupöse Digitalose, die sehr schwer krystallisiert, nicht durch die Überführung in diese Derivate gereinigt werden, da sie sich aus ihnen nicht mehr in einfacher Weise regenerieren lässt. Deshalb wurde eine Probe amorpher Digitalose, die aus Emicymarin frisch gewonnen worden war, mit Acetanhydrid und Natriumacetat bei 90° acetyliert. Da das rohe Acetat nicht krystallisierte, wurde es an Al_2O_3 chromatographiert, woraus sich drei krystallisierte Stoffe isolieren liessen. Als Hauptprodukt wurden feine Stäbchen vom Smp. $96\text{--}97^{\circ}$ und der spez. Drehung $[\alpha]_{\text{D}}^{17} = +50^{\circ} \pm 3^{\circ}$ (in Chloroform) erhalten, deren Analysenwerte auf ein Triacetat

¹⁾ F. Reber und T. Reichstein, *Helv.* **28**, 1164 (1945) erhielten den freien Zucker durch saure Hydrolyse (2-proz. H_2SO_4 in wässrigem Aceton) von 4,6-Benzal- β -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther.

²⁾ Aus einem der Ansätze wurde in geringer Menge noch ein Stoff vom Smp. $71\text{--}74^{\circ}$ isoliert, dessen Analysenwerte ebenfalls auf die Formel des Trityläthers V stimmten.

³⁾ Vgl. K. Freudenberg und K. Raschig, *B.* **60**, 1633 (1927); F. Reber und T. Reichstein, *Helv.* **29**, 343 (1946): Beim analogen Derivat der β -Reihe wurde nach 6-stündigem Erhitzen auf 125° nur 60% Jodhydrin erhalten. Hingegen verläuft die Umsetzung bei Abkömmlingen der 2-Desoxy-D-galaktose sehr viel rascher (vgl. Ch. Tamm und T. Reichstein, *Helv.* **31**, 1630 (1948)).

⁴⁾ J. D. Lamb und S. Smith, *Soc.* **1936**, 442; F. Reber und T. Reichstein, *Helv.* **29**, 343 (1946).

⁵⁾ H. Kiliani, *Arch. Pharm.* **230**, 250 (1892); *B.* **25**, 2117 (1892); *B.* **63**, 2866 (1930).

⁶⁾ O. Th. Schmidt, W. Wagner und A. Distelmaier, *A.* **555**, 26 (1943).

stimmten. Die Acetylierungsbedingungen und der gemessene Drehungswert deuten auf die β -Form der Triacetyl-D-digitalose (IX) hin. Aus den etwas leichter eluierbaren Anteilen wurde ein weiterer in Nadeln krystallisierender Stoff vom Smp. 115—117° und der spez. Drehung $[\alpha]_D^{17} = +160^\circ \pm 3^\circ$ (in Chloroform) isoliert. Die Analysenwerte stimmten ebenfalls auf ein Digitalose-triacetat, so dass die isomere α -Triacetyl-D-digitalose (X) vorliegen dürfte. In Spuren wurde noch eine dritte Substanz, derbe Platten vom Smp. 65—67°, erhalten, deren Menge für eine Analyse nicht ausreichte.

Die unter den gleichen Bedingungen durchgeführte Acetylierung der synthetischen Digitalose ergab nach Impfen Krystalle, die nach Schmelzpunkt und Mischprobe mit β -Triacetyl-D-digitalose (IX) identisch waren. Ferner wurde das p-Bromphenylhydrazon und das p-Tolylhydrazon der Digitalose bereitet. Beide Derivate krystallisierten bisher nicht.

Ich danke Herrn Prof. T. Reichstein für die Anregung zu dieser Arbeit und für seine wertvollen Ratschläge.

Experimenteller Teil.

Alle Schmelzpunkte sind auf dem Kofler-Block bestimmt und korrigiert; Fehlergrenze $\pm 2^\circ$. Substanzproben zur spezifischen Drehung wurden, wenn nicht anders vermerkt, 1—2 Stunden im Hochvakuum bei 50—70° getrocknet. „Schweinchen“ bedeutet, dass die unmittelbar vor der Verbrennung im Hochvakuum getrocknete Substanz im Schweinchen eingewogen wurde.

Verbesserte Vorschrift für 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (II).

1. 2-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ ¹⁾²⁾³⁾. 20 g 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ vom Smp. 170—172°, bereitete nach den Angaben von E. Sorkin und T. Reichstein⁴⁾, wurden in 80 cm³ alkoholfreiem Chloroform und 20 cm³ absolutem Pyridin gelöst, die Lösung auf -12° abgekühlt und unter Rühren die Lösung von 10 g Chlorameisensäure-äthylester in 80 cm³ alkoholfreiem Chloroform innert 10 Minuten zuge tropft. Die Temperatur der Lösung stieg auf 0° an. Die nach den Angaben von Maehly und Reichstein³⁾ durchgeführte Aufarbeitung lieferte 15,6 g öligen Rückstand, der in wenig warmem Aceton gelöst und unter Zusatz von kaltem Äther verrieben wurde. Es resultierte 13,58 g kryst. Gemisch von 2- und 3-monocarboäthoxyliertem und 2,3-dicarboäthoxyliertem 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$. Das Gemisch wurde in 45 cm³ alkoholfreiem Chloroform und 28 cm³ absolutem Pyridin gelöst, 18,5 g reines Tosylchlorid (= 2,5 Mol ber. auf Monocarboäthoxyverbindung) zugegeben und unter Feuchtigkeitsausschluss 45 Stunden bei 38° stehen gelassen. Nach Zusatz von 27 cm³ Wasser wurde 2 Stunden geschüttelt. Die weitere Aufarbeitung³⁾ gab 22,37 g Sirup. Er wurde in 650 cm³ Methanol gelöst, mit einer Lösung von 14 g K₂CO₃ in 100 cm³ Wasser und 140 cm³ Methanol versetzt und 36 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Lösung wurde bei 25° im Vakuum wiederholt eingeengt, wobei sich jedesmal reichlich Krystalle von 2-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ abschieden, die insgesamt 14,08 g wogen und bei 180—182° schmolzen. Die Mischprobe mit authentischem

¹⁾ L. F. Wiggins, Soc. 1944, 522.

²⁾ F. Reber und T. Reichstein, Helv. 28, 1168 (1945).

³⁾ A. C. Maehly und T. Reichstein, Helv. 30, 496 (1947).

⁴⁾ E. Sorkin und T. Reichstein, Helv. 28, 1 (1945).

Material¹⁾ schmolz gleich. Die Ausbeute (ber. nach der 3. Stufe auf 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$) betrug 48%.

2. 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (II). 2-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ wurde nach der Vorschrift von *Maehly* und *Reichstein*¹⁾ mit CH_3J und Ag_2O methyliert. 10 g des erhaltenen 2-Tosyl-4,6-benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläthers, Smp. 180–182°, wurden in 280 cm³ 2-n. Natriummethylat-Lösung in Methanol (ca. 15 Mol. NaOCH_3) gelöst und unter Feuchtigkeitsausschluss 6 Stunden auf dem siedenden Wasserbad am Rückfluss gekocht. Das Reaktionsgemisch blieb über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Die in der braun gefärbten Lösung abgeschiedenen Blättchen von Natriumtosylat wurden abfiltriert und mit wenig absolutem Methanol nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum vollständig eingedampft, mit etwas Wasser versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die mit Wasser gewaschenen und über Na_2SO_4 getrockneten Auszüge hinterliessen nach Eindampfen im Vakuum 9,52 g Rückstand, der aus Aceton-Äther und wenig Petroläther umkrystallisiert wurde und 5,17 g 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (II) vom Smp. 169–170° (= 76%) gab. Die Mischprobe mit authentischem Material¹⁾ schmolz gleich.

α -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (IV) und 4,6-Hexahydrobenzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (I).

1,02 g 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (II) vom Smp. 169–170° wurden in 15 cm³ Methanol gelöst und mit *Raney*-Nickel (aus 1 g Ni-Al-Legierung frisch bereitet) 18 Stunden bei 80° und 100 Atm. Wasserstoff im Rotierautoklaven hydriert. Nach Erkalten wurde vom Katalysator abfiltriert und das farblose Filtrat im Vakuum zum Sirup eingedampft (780 mg). Er wurde mit 9 cm³ Wasser versetzt und 6mal gründlich mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Auszüge gaben nach dem Trocknen und Eindampfen 190 mg Hexahydrobenzalverbindung I als blassgelben Sirup. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{22} = +163,5^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 2,752$ in Chloroform).

27,600 mg Subst. zu 1,0029 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +4,50^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum bei 140–150° Blocktemperatur frisch destilliert, 2 Stunden bei 80° getrocknet und nach Einwage im Schiffchen 3 Tage über P_2O_5 bei 20° stehen gelassen.

3,98 mg Subst. gaben 8,74 mg CO_2 und 3,21 mg H_2O (Schweinchen) (*F. W.*)

$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_6$ (302,36) Ber. C 59,58 H 8,67% Gef. C 59,93 H 9,03%

Der wasserlösliche Teil wurde im Vakuum eingedampft und gab nach dem Trocknen im Hochvakuum 580 mg (= 83%) IV als farblosen Sirup. Die spez. Drehung betrug $[\alpha]_D^{22} = +159,4^\circ \pm 2^\circ$ ($c = 3,018$ in Aceton).

30,462 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +4,81^\circ \pm 0,02^\circ$

Zur Analyse wurde 3 Tage über P_2O_5 bei 20° stehen gelassen.

3,901 mg Subst. gaben 6,57 mg CO_2 und 2,72 mg H_2O (Schweinchen) (*F. W.*)

2,665 mg Subst. gaben 5,951 mg AgJ (*Zeisel*) (*F. W.*)

$\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_6$ Ber. C 46,17 H 7,65 $-\text{OCH}_3$ 29,28%
(208,13) Gef. „ 45,96 „ 7,80 „ 29,51%

D-Galaktose-3-methyläther (VIII).

350 mg sirupöser α -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (IV) wurden 2,5 Stunden auf dem siedenden Wasserbad mit 7,5 cm³ 2-n. H_2SO_4 erhitzt. Dann wurde mit frisch gefälltem, neutral gewaschenem BaCO_3 in der Wärme neutralisiert und über ein mit BaCO_3 gedichtetes Filter abgenutscht. Das Filtrat wurde im Vakuum stark ein-

¹⁾ A. C. *Maehly* und T. *Reichstein*, *Helv.* **30**, 496 (1947).

geengt und durch ein mit gewaschener Kohle gedichtetes Filter filtriert. Die klare, farblose Lösung gab nach Eindampfen im Vakuum 300 mg farblosen Sirup, der noch Spuren Salze enthielt. Er wurde mit wenig Methanol und absolutem Äthanol verflüssigt, filtriert, eingedampft, dann in wenig Methanol gelöst und mit authentischem, kristallisiertem D-Galaktose-3-methyläther¹⁾ geimpft, worauf die Masse sofort durchkristallisierte. Nach Abnutschen und Waschen mit wenig kaltem Methanol wurden 200 mg Kristalle vom Smp. 143—146° (nach Verreiben vom Smp. 140—143°) erhalten. Mischsmp. mit authentischem Material 141—143°¹⁾.

2, 4-Diacetyl-6-trityl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -3-methyläther (V).

460 mg α -Methyl-D-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -3-methyläther (IV), farbloser Sirup, im Hochvakuum getrocknet, wurden in 2,3 cm³ (= 12 Mol.) absolutem Pyridin gelöst und 675 mg (= 1,1 Mol.) reines Tritylchlorid vom Smp. 98—99° zugegeben. Das Gemisch wurde im Ölbad 3 Stunden auf 100° unter Feuchtigkeitsausschluss erhitzt. Nach Erkalten wurden 6,4 cm³ (= 36 Mol.) absolutes Pyridin und 2,95 cm³ (= 12 Mol.) frisch destilliertes Acetanhydrid zugegeben und unter Feuchtigkeitsausschluss 3 Tage bei 18° stehen gelassen. Die rot gefärbte Lösung wurde auf Eis gegossen und 1 Tag bei 0° aufbewahrt. Es schied sich ein rotes Öl ab, das mit Chloroform ausgeschüttelt wurde. Die Auszüge wurden mit 2-n. Na₂CO₃-Lösung und H₂O gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Eindampfen im Vakuum hinterblieb ein noch pyridinhaltiger Sirup. Die Pyridinreste liessen sich durch mehrmaliges Abdampfen mit Benzol im Vakuum entfernen. Der braune Sirup wurde in wenig Chloroform gelöst und durch eine kleine Al₂O₃-Schicht filtriert. Nach Eindampfen im Vakuum resultierten 1,05 g hellgelber Sirup, der nicht kristallisierte und deshalb in einem Gemisch von Benzol-Petroläther (1 : 3) gelöst und an 30 g Al₂O₃ chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen dienten je 100 cm³ Lösungsmittel pro Fraktion. Die ersten zwei mit Petroläther-Benzol (6 : 1) eluierten Fraktionen lieferten nach Eindampfen 210 mg Triphenylcarbinol vom Smp. 159—161° (Mischschmelzpunkt mit authentischem Material ebenso). Die nächste mit Petroläther-Benzol (6 : 1) und die mit reinem Äther eluierten Fraktionen gaben 735 mg farblosen Sirup, der in Methanol-Äther gelöst wurde und nach 2-tägigem Stehen bei -10° kristallisierte. Nach Abnutschen und Waschen mit wenig auf -15° gekühltem Methanol wurden 420 mg Stäbchen vom Smp. 100°/132—133° erhalten. Nach 3-maligem Umkristallisieren aus Äther schmolzen sie bei 133°. $[\alpha]_D^{22} = +58,4^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,856 in Chloroform).

8,642 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{22} = +0,50^\circ \pm 0,03^\circ$

Zur Analyse wurde 2 Stunden im Hochvakuum bei 55° getrocknet.

3,788 mg Subst. gaben 9,65 mg CO₂ und 2,19 mg H₂O (F. W.)

C₃₁H₃₄O₈ (534,58) Ber. C 69,65 H 6,41% Gef. C 69,52 H 6,47%

Bei der Chromatographie eines andern Ansatzes wurde bei der Elution mit Chloroform eine sirupöse Fraktion erhalten, die aus Methanol-Äther bei -12° Nadeln vom Smp. 71—74° gab.

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 45° 2 Stunden getrocknet und im Vakuum kurz geschmolzen.

3,792 mg Subst. gaben 9,65 mg CO₂ und 2,20 mg H₂O (F. W.)

C₃₁H₃₄O₈ (534,58) Ber. C 69,65 H 6,41% Gef. C 69,45 H 6,49%

Offenbar liegt eine andere Modifikation des Trityläthers V vor.

2, 4-Diacetyl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -3-methyläther (VI).

360 mg 2, 4-Diacetyl-6-trityl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1, 5 \rangle$ -3-methyläther (V) vom Smp. 132—133° wurden in 2,5 cm³ warmem Eisessig gelöst, auf 5° abgekühlt und 0,24 cm³

¹⁾ F. Reber und T. Reichstein, Helv. **28**, 1164 (1946) fanden für D-Galaktose-3-methyläther den Smp. 144—147°, nach Verreiben schmolz die Probe von 140—143°.

33-proz. HBr-Eisessiglösung, die auf -12° vorgekühlt worden war, zugegeben. Die Aufarbeitung, die nach den Angaben von *Reber* und *Reichstein*¹⁾ für den analogen Stoff der β -Reihe durchgeführt wurde, gab nach Eindampfen des Petrolätherauszuges insgesamt 200 mg (= 90%) Tritylbromid vom Smp. $148-154^{\circ}$ und nach Eindampfen des Chloroformauszuges 170 mg (= 85%) blassgelben Sirup, der nicht krystallisierte. $[\alpha]_{\text{D}}^{21} = +88,2 \pm 2^{\circ}$ ($c = 2,041$ in Chloroform).

20,602 mg Subst. zu $1,0094 \text{ cm}^3$; $l = 1 \text{ dm}$; $\alpha_{\text{D}}^{21} = +1,80^{\circ} \pm 0,02^{\circ}$

Rohr 2,4-Diacetyl-6-tosyl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VII).

610 mg amorpher 2,4-Diacetyl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VI) wurden in 1 cm^3 alkoholfreiem Chloroform und $2,5 \text{ cm}^3$ absolutem Pyridin gelöst und 800 mg (= 2 Mol.) reinstes Tosylchlorid zugegeben, wodurch die Mischung sich erwärmte. Sie wurde unter Feuchtigkeitsausschluss 40 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Zur rot gefärbten Lösung wurde 1 cm^3 Wasser gegeben, 90 Minuten geschüttelt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge wurden mit 2-n. HCl, 2-n. Na_2CO_3 -Lösung und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es hinterblieb ein braungelber Sirup, der zur weiteren Reinigung in wenig Chloroform-Äther gelöst wurde. Die Lösung wurde durch eine kleine Schicht Al_2O_3 filtriert und eingedampft, wodurch 810 mg (= 90%) hellgelber Sirup erhalten wurde.

Eine Probe von 190 mg wurde an Al_2O_3 chromatographiert; aber selbst nach 1-jährigem Stehen konnten keine Krystalle erhalten werden.

Rohr 2,4-Diacetyl-6-jod- α -methyl-D-fucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XII).

810 mg amorpher 2,4-Diacetyl-6-tosyl- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (VII) wurden in 4 cm^3 absolutem Aceton gelöst und mit 640 mg (= 2,3 Mol.) NaJ im evakuierten Einschlussrohr 36 Stunden auf 124° erhitzt. Nach Erkalten wurde vom abgeschiedenen Natriumtosylat abfiltriert und mit Aceton gut nachgewaschen. Das braune Filtrat wurde im Vakuum vollständig eingedampft, der Rückstand in Chloroform aufgenommen, mit 2-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Lösung, 2-n. Na_2CO_3 -Lösung und H_2O gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der gelbbraune Sirup wog 590 mg (= 81%) und war schwefelfrei.

Rohes 2,4-Diacetyl- α -methyl-D-digitalosid- $\langle 1,5 \rangle$ (XIII).

520 mg roher 2,4-Diacetyl-6-jod- α -methyl-D-fucosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther (XII) wurden in 6 cm^3 reinstem Methanol gelöst und mit *Raney*-Nickel-Katalysator (bereitet aus 500 mg Ni-Al-Legierung) unter portionenweiser Zugabe von $5,50 \text{ cm}^3$ 1-n. NaOH in Methanol (ber. $4,90 \text{ cm}^3$) bei 24° hydriert²⁾. Nach der Aufnahme von $30 \text{ cm}^3 \text{ H}_2$ (ber. 29 cm^3) stand die Hydrierung praktisch still. Es wurde vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat mit 4 cm^3 Wasser versetzt, durch Einleiten von CO_2 neutralisiert, im Vakuum vollständig eingedampft und gut getrocknet. Der Rückstand wurde in wenig absolutem Methanol, enthaltend 25% Aceton, aufgenommen, filtriert und eingedampft. Der verbleibende gelbe Sirup (440 mg) wurde gut getrocknet, in $4,0 \text{ cm}^3$ absolutem Pyridin gelöst, mit $4,0 \text{ cm}^3$ reinstem Acetanhydrid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss 2,5 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde wenig Eis zugegeben, 3 Stunden bei 0° stehen gelassen und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformauszüge wurden mit gekühlter 2-n. HCl, gekühlter 2-n. Na_2CO_3 -Lösung und Eiswasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der reacctylierte, gelbe Sirup wog 490 mg. Er wurde im Molekularkolben bei $0,005 \text{ mm}$ Druck destilliert. Die

¹⁾ *F. Reber* und *T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 343 (1946).

²⁾ Verfahren von *F. C. Young* und *R. C. Elderfield*, *J. Org. Chem.* **7**, 247 (1942), modifiziert nach *D. A. Prins*, *Helv.* **29**, 381 (1945).

Hauptmenge destillierte von 110—122° Badtemperatur als farbloser Sirup (350 mg (= 90%)). $[\alpha]_D^{21} = +110^0 \pm 2^0$ ($c = 2,015$ in Aceton).

20,340 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm: $\alpha_D^{21} = +2,23^0 \pm 0,02^0$

α -Methyl-D-digitalosid-⟨1,5⟩ (XIV).

300 mg 2,4-Diacetyl- α -methyl-D-digitalosid-⟨1,5⟩ (XIII), Sirup vom Sdp. 0,605 mm 110—122°, wurden in 1,5 cm³ Methanol gelöst und mit einer klaren Lösung von 500 mg Ba(OH)₂, 8 H₂O in 5,5 cm³ Methanol versetzt. Das Reaktionsgemisch färbte sich sofort gelb. Es wurde 6 Stunden bei 22° verschlossen stehen gelassen, dann rasch zum Sieden erwärmt und nach Erkalten durch Einleiten von CO₂ neutralisiert. Die neutrale Lösung wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand mit warmem, absolutem Äthanol-Aceton-Gemisch extrahiert, filtriert und im Vakuum eingedampft. Es blieben 190 mg farbloser Sirup zurück, der noch eine Spur Barium-Salze enthielt. Die Destillation im Molekular-kolben bei 0,005 mm und einer Badtemperatur von 115—140° lieferte 170 mg (= 81%) Sirup. $[\alpha]_D^{20} = +124,4^0 \pm 3^0$ ($c = 0,940$ in Aceton).

9,491 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm: $\alpha_D^{20} = +1,17^0 \pm 0,03^0$

Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 115° im Röhrchen frisch destilliert und nach Einwäge im Schiffchen 2 Tage über P₂O₅ bei 20° stehen gelassen.

2,927 mg Subst. gaben 5,37 mg CO₂ und 2,18 mg H₂O (Schweinchen) (F. W.)

C₈H₁₆O₅ (192,21) Ber. C 49,99 H 8,39% Gef. C 50,07 H 8,33%

D-Digitalose (XI).

110 mg α -Methyl-D-digitalosid-⟨1,5⟩ (XIV), Sirup vom Sdp. 0,005 mm 115—130°, wurden mit 10 cm³ 2-proz. H₂SO₄ versetzt und 5 Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Die nach den Angaben von *Reber* und *Reichstein*¹⁾ durchgeführte Aufarbeitung gab 80 mg (= 80%) farblosen Sirup, der *Fehling'sche* Lösung stark reduzierte. Zur Drehung wurde eine Stunde bei 45° im Hochvakuum getrocknet. $[\alpha]_D^{19} = +61,20^0 \pm 2^0$ ($c = 1,225$ in H₂O).

30,696 mg Subst. zu 2,5050 cm³; $l = 1$ dm: $\alpha_D^{19} = +0,75^0 \pm 0,02^0$

Zur Analyse wurde 1 Stunde im Hochvakuum bei 45° getrocknet und 3 Tage über P₂O₅ bei 20° stehen gelassen.

3,122 mg Subst. gaben 5,42 mg CO₂ und 2,26 mg H₂O (Schweinchen) (F. W.)

C₇H₁₄O₅ (178,18) Ber. C 47,18 H 7,92% Gef. C 47,38 H 8,10%

Lamb und *Smith*²⁾ fanden für kryst. Digitalose aus Emicymarin $[\alpha]_D^{19} = +106^0$ ($c = 1,7$; Endwert in Wasser nach 17 Stunden). Denselben Wert fanden *Schmidt* und Mitarbeiter³⁾ für ein amorphes Produkt aus Digitalin. *Reber* und *Reichstein*¹⁾ fanden für synthetische amorphe Digitalose:

$[\alpha]_D^{21} = +110,1^0 \pm 2^0$ ($c = 3,2868$ in H₂O) und

$[\alpha]_D^{20} = +115,4^0 \pm 2^0$ ($c = 2,7548$ in H₂O).

Trotz richtiger Analysenwerte enthält das Produkt noch Verunreinigungen.

β -Triacetyl-D-digitalose (IX) und α -Triacetyl-D-digitalose (X).

200 mg amorphe D-Digitalose (XI), frisch isoliert aus Emicymarin und im Hochvakuum getrocknet, wurden zusammen mit 100 mg frisch geschmolzenem Natriumacetat und 1,5 cm³ Acetanhydrid 3 Stunden auf dem siedenden Wasserbad unter Feuchtigkeits-

¹⁾ *F. Reber* und *T. Reichstein*, *Helv.* **29**, 343 (1946).

²⁾ *J. D. Lamb* und *S. Smith*, *Soc.* **1936**, 442.

³⁾ *O. Th. Schmidt*, *W. Mayer* und *A. Distelmaier*, *A.* **555**, 26 (1943).

ausschluss erhitzt. Das gelb gefärbte Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen und 33 Stunden bei 0° stehen gelassen. Hierauf wurde mit Chloroform ausgeschüttelt, die Auszüge mit eisgekühlter 1-n. Na_2CO_3 und Eiswasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 320 mg (= 93,5%) gelber Sirup, der nicht krystallisierte und deshalb in einem Gemisch von Petroläther-Benzol (3:1) gelöst und an 9 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen dienten je 30 cm³ Lösungsmittel pro Fraktion.

Fraktion Nr.	Lösungsmittel	Eindampfrückstand
1	Petroläther-Benzol (3:1)	—
2	„ „ (73,5:26,5)	20 mg Sirup: Nadelchen F. 115—117°
3	„ „ (73,5:26,5)	25 mg Sirup: grobe Platten F. 65—67°
4—6	„ „ (7:3)	105 mg Sirup: Stäbchen F. 96—97°
7—8	„ „ (63,5:36,5)	
9—10	„ „ (1:1)	
11	„ „ (1:3)	
12	„ „ (1:3)	
13—14	Benzol	—
15—16	Benzol-Äther (97:3)	—
17—18	„ „ (93:7)	60 mg gelber Sirup
19—20	„ „ (87:13)	
20—23	„ „ (1:1)	
24	„ „ (1:1)	—

Fraktion 2 lieferte 20 mg Sirup, der sofort in büschelig angeordneten Nadelchen krystallisierte, die von 115—117° schmolzen. $[\alpha]_D^{17} = +160,8^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,659$ in Chloroform).

6,657 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +1,06^\circ \pm 0,03^\circ$

Zur Analyse wurde 17 Stunden bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

2,141 mg Subst. gaben 4,040 mg CO_2 und 1,300 mg H_2O (O.A.B.)

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (304,29) Ber. C 51,31 H 6,62% Gef. C 51,49 H 6,79%

Fraktion 3 lieferte 25 mg Sirup, der nur wenige mg grobe Platten vom Smp. 65—67° gab. Die Menge reichte für eine weitere Untersuchung nicht aus.

Fractionen 4—12 lieferten 105 mg Sirup, der in Stäbchen krystallisierte, die nach Umkrystallisieren aus Äther-Petroläther von 96—97° schmolzen. $[\alpha]_D^{17} = +50,4^\circ \pm 3^\circ$ ($c = 0,762$ in Chloroform).

7,092 mg Subst. zu 1,0094 cm³; $l = 1$ dm; $\alpha_D^{17} = +0,35^\circ \pm 0,03^\circ$

Zur Analyse wurde 14 Stunden bei 50° im Hochvakuum getrocknet.

3,748 mg Subst. gaben 7,070 mg CO_2 und 2,218 mg H_2O (O.A.B.)

4,760 mg Subst. verbr. 4,780 cm³ 1/50-n. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (Zeisel-Vieböck) (O.A.B.)

$\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_8$ (304,29) Ber. C 51,31 H 6,62 $-\text{OCH}_3$ 10,20%
Gef. „ 51,48 „ 6,62 „ 10,38%

Im Stoff von Smp. 96—97° dürfte die β -Triacetyl-D-digitalose (IX) und im Stoff vom Smp. 115—117° die α -Triacetyl-D-digitalose (X) vorliegen.

Fraktionen 17—23 lieferten 60 mg gelben Sirup, aus dem keine Krystalle zu erhalten waren.

In weiteren Ansätzen liess sich die β -Triacetyl-D-digitalose (IX), die den Hauptteil des Acetatgemisches ausmacht, durch Impfen des in Äther-Petroläther gelösten Rohsirups direkt krystallisiert erhalten. Eine Probe von synthetischer D-Digitalose (XI) wurde wie oben beschrieben acetyliert und gab nach Impfen mit kryst. IX Krystalle, die bei 96—97° schmolzen; ebenso schmolz die Mischprobe.

Die Mikroanalysen wurden teils im Laboratorium von F. Weiser, Basel (F. W.), teils im mikroanalytischen Laboratorium der Organ.-chem. Anstalt der Universität Basel (O. A. B.) ausgeführt.

Zusammenfassung.

1. D-Digitalose wurde ausgehend vom 4,6-Benzal- α -methyl-D-galaktosid- $\langle 1,5 \rangle$ -3-methyläther synthetisiert.

2. Die Bereitung von krystallisierter β -Triacetyl-D-digitalose und krystallisierter α -Triacetyl-D-digitalose wird beschrieben.

Pharmazeutische Anstalt der Universität Basel.

25. Versuche zur Herstellung künstlicher Komplexantigene der Steroidreihe.

1. Mitteilung.

Diazotierbare Ester des Δ^5 -Androsten-3 β , 17 β -diols

von C. A. Grob und M. W. Goldberg¹⁾.

(18. XII. 48.)

Im Zusammenhang mit Versuchen zur Feststellung der potentiellen Antigenität von Steroiden²⁾ haben wir uns vor einigen Jahren mit dem Problem der Herstellung künstlicher Komplexantigene dieser Verbindungsklasse befasst. Vom chemischen Standpunkt aus kommt es darauf an, Methoden anzuwenden, welche es gestatten, Steroidmolekel in Proteine einzubauen, ohne dass Abbau oder Denaturierung der letzteren eintritt. Zu den wichtigsten dieser Verfahren gehört die von Landsteiner³⁾ eingeführte Diazoniummethode, bei welcher die einzuführende Molekel als Diazoniumsalz mit dem Protein gekuppelt wird. So ist es in letzter Zeit Hooker und Boyd⁴⁾

¹⁾ Jetzige Adressen: C.A.G., Chemische Anstalt der Universität Basel; M.W.G., Hoffmann-La Roche, Inc., Nutley, New Jersey, USA.

²⁾ Diese Arbeit wurde von Prof. H. Mooser, Direktor des Hygiene-Institutes der Universität Zürich, der die biologischen Versuche durchgeführt hat, angeregt.

³⁾ Landsteiner, The Specificity of Serological Reactions, S. 101, Springfield 1936.

⁴⁾ Hooker und Boyd, J. Immunol. **38**, 479 (1940).