

3 α , 20 β -Diacetoxy-5 α -pregnan (XVIII). 70 mg 5 α -Pregnan-diol-(3 α , 20 β) (XVII) vom Smp. 207–209° wurden mit 1,6 ml Py und 1,6 ml Acetanhydrid 1 Std. auf 140–150° erhitzt. Die übliche Aufarbeitung ergab 82 mg Rohprodukt. Aus An insgesamt 64 mg Kristalle vom Smp. 135–140°. Nach Umkristallisieren aus An Nadeln vom Doppel-Smp. 135–140°/152–154°. $[\alpha]_D^{26} = +40,5^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,778 in Chf). MARKER *et al.*¹³⁾ fanden den Smp. 124°. Misch-Smp. mit obigem Hydrierungsprodukt aus X vom Smp. 136–139°: 136–140°.

Die Analysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium des Instituts (Leitung E. THOMMEN) durchgeführt.

Zusammenfassung

5 α -Pregnen-(1)-dion-(3, 20) (III) lieferte bei der Reduktion mit LiAlH₄ ein Gemisch, in welchem 6 Reaktionsprodukte nachweisbar waren, nämlich 5 α -Pregnen-(1)-diol-(3 α , 20 β) (VII) (Hauptprodukt), 5 α -Pregnen-(1)-diol-(3 β , 20 β) (VIII), 5 α -Pregnen-(1)-on-(3)-ol-(20 β) (VII), 5 α -Pregnen-(1)-diol-(3 α (?), 20 α) (IV), 5 α -Pregnen-(1)-diol-(3 β (?), 20 α) (I), die noch unbekannt sind, und das bekannte 5 α -Pregnan-diol-(3 β , 20 β) (XIII). Nur I wurde in reiner Form isoliert, die restlichen Stoffe wurden über ihre Acetylderivate getrennt und charakterisiert. Dadurch konnte die Konstitution von VI, VII, VIII und XIII bewiesen, diejenige von I und IV weitgehend sichergestellt werden.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

189. Umwandlung von Cardenoliden durch Mikroorganismen:

II. Diginatigenin aus Gitoxigenin¹⁾

3. Mitteilung über Reaktionen mit Mikroorganismen²⁾

von **Ch. Tamm** und **Alice Gubler**

(20. VIII. 58)

Aus den Blättern der *Digitalis lanata* L. isolierte MURPHY³⁾ vor einiger Zeit in kleinen Mengen ein neues herzwirksames Glykosid, das er Diginatin nannte. Die saure Hydrolyse dieses Stoffes ergab 3 Mol D-Digitoxose und ein Aglykon, das die Bruttoformel C₂₃H₃₄O₆ besass. Es war mit keinem der bekannten digitoliden Lactone identisch und wurde deshalb als Diginatigenin bezeichnet. Diginatin ist demnach sehr ähnlich wie die bekannten Glykoside Digitoxin, Gitoxin und Digoxin gebaut. Es unterscheidet sich vom ersteren durch 2 und von den beiden letzteren durch 1 zusätzliche Hydroxylgruppe, die im Aglykon lokalisiert sind. Etwas später gelang es ANGLIKER *et al.*⁴⁾ auch das entsprechende genuine Glykosid, von dem sich Diginatigenin bzw. Diginatin ableiten, nämlich Lanatosid D, in Kristallen zu fassen.

¹⁾ Aus der Diss. A. GUBLER, die demnächst erscheinen wird.

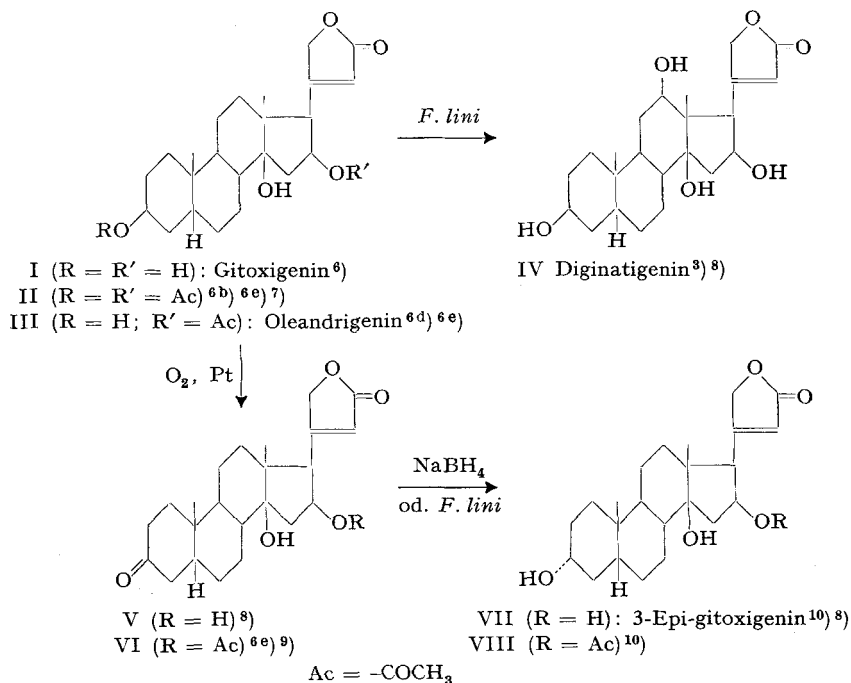
²⁾ 2. Mitt.: A. GUBLER & CH. TAMM, *Helv.* **41**, 301 (1958).

³⁾ J. E. MURPHY, *J. Amer. pharmaceut. Assoc. (Sc. Ed.)* **44**, 719 (1955).

⁴⁾ E. ANGLIKER, F. BARFUSS, W. KUSSMAUL & J. RENZ, *Liebigs Ann. Chem.* **607**, 131 (1957).

Nach MURPHY³⁾ besitzt Diginatigenin eine nicht acetylierbare tertiäre und drei acetylierbare sekundäre Hydroxylgruppen. (Die beiden restlichen Sauerstofffunktionen befinden sich im Butenolidring.) Auf Grund von Analogien, den Farbreaktionen mit H_2SO_4 und H_3PO_4 sowie dem gemeinsamen Vorkommen des neuen Genins mit Digoxigenin und Gitoxigenin (I) in der Pflanze vermutete der amerikanische Autor, dass sich die tertiäre HO-Gruppe an C-14 und die drei sekundären Hydroxyle an den C-Atomen Nr. 3, 12 und 16 befinden. Er erteilte Diginatigenin mit Vorbehalt die Strukturformel IV.

Die Beobachtung, dass *Fusarium lini* (BOLLEY) in der Lage ist, in Digitoxigenin eine Hydroxylgruppe in die 12 β -Stellung einzuführen⁵⁾, veranlasste uns, das Verhalten von Gitoxigenin (I) und einigen seiner Derivate gegenüber diesem Mikroorganismus zu studieren. Dabei zeigte sich, dass die Vertreter dieser Cardenolidgruppe, die sich von Digitoxigenin im Prinzip nur durch eine zusätzliche HO-Gruppe an C-16 unterscheiden, viel langsamer als jenes reagieren.



⁵⁾ A. GUBLER & CH. TAMM, *Helv.* **41**, 297 (1958).

⁶⁾ a) A. WINDAUS & G. SCHWARTE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **58**, 1515 (1925); b) A. WINDAUS, K. WESTPHAL & G. STEIN, *ibid.* **61**, 1847 (1928); c) K. WESTPHAL, *Diss. Göttingen* (1928); d) W. NEUMANN, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **70**, 1547 (1937); e) A. HUNGER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **33**, 76 (1950).

⁷⁾ M. CLOËTTA, *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* **112**, 261 (1926); G. STEIN, *Diss. Göttingen* (1928).

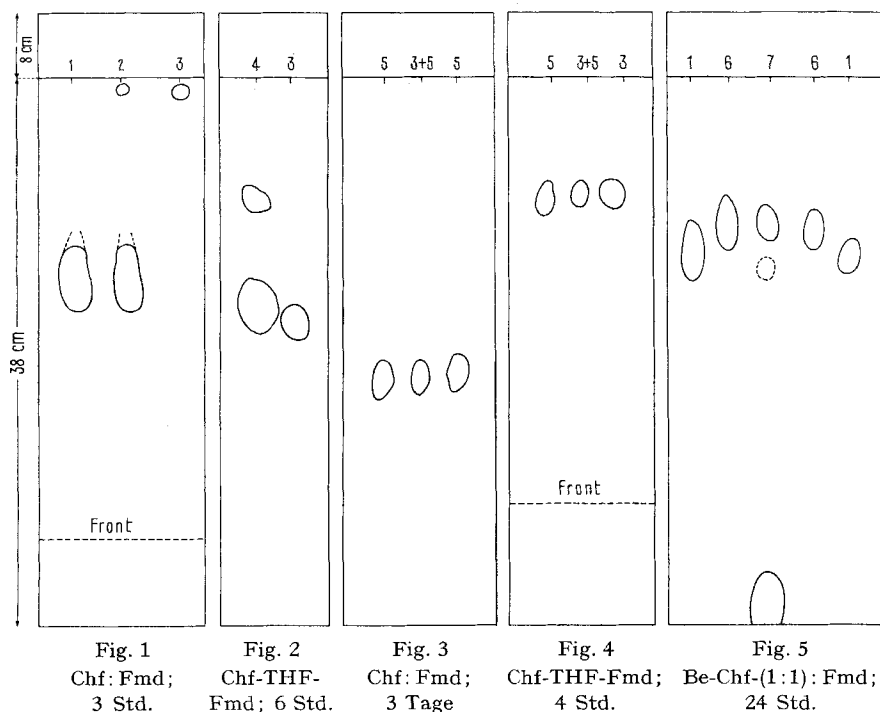
⁸⁾ Exper. Teil dieser Arbeit.

⁹⁾ R. TSCHESCHE, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **70**, 1554 (1937).

¹⁰⁾ M. OKADA & A. YAMADA, *Pharm. Bull. (Japan)* **4**, 420 (1956).

Immerhin war beim Umsatz von Gitoxigenin (I) nach 3–4 Wochen im Papierchromatogramm (Lösungsmittelsystem Chloroform-Formamid¹¹⁾) ein neuer langsamer laufender Fleck erkennbar, der ungefähr gleich schnell wie Diginatigenin wanderte (vgl. Fig. 1). Wie sich später herausstellte, bestand dieser Fleck aus 2 Komponenten. Durch Chromatographie an Al_2O_3 liessen sich die gebildeten Reaktionsprodukte vom Ausgangsmaterial im wesentlichen abtrennen. Die weitere Anreicherung des diginatigeninartigen Stoffes gelang mit Hilfe der präparativen Papierchromatographie¹²⁾ im System Chloroform-Formamid. Das abgetrennte stärker polare Material, das jetzt frei von Gitoxigenin (I) war, zeigte

Papierchromatogramme¹³⁾



- 1 = Gitoxigenin (I), authentisch
- 2 = Rohes Hydroxylierungsgemisch aus Gitoxigenin (I) mit *F. lini*
- 3 = Diginatigenin (IV) (Präparat MURPHY)
- 4 = Hydroxylierungsgemisch nach dem ersten präparativen Papierchromatogramm
- 5 = Diginatigenin (IV) (krist.) aus Gitoxigenin (I) (mikrobiologisch)
- 6 = 3-Epi-gitoxigenin (VII)
- 7 = Rohprodukt aus Umsatz von 3-Dehydro-gitoxigenin (V) mit *F. lini* (unterster Fleck = 3-Dehydro-gitoxigenin (V))

¹¹⁾ O. SCHINDLER & T. REICHSTEIN, Helv. **34**, 108 (1951).

¹²⁾ Zur Methodik vgl. E. VON ARX & R. NEHER, Helv. **39**, 1664 (1956).

¹³⁾ Ausgeführt bei 22–25°. Pro Fleck wurden jeweils 0,075 mg Substanz aufgetragen, ausser bei Nr. 7, wo 0,15 mg benötigt wurden. Es bedeuten: Be = Benzol, Chf = Chloroform, Fmd = entsäuertes Formamid und THF = Tetrahydrofuran.

jedoch im System Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid von KAISER¹⁴⁾ einen noch langsamer wandernden Begleitfleck (vgl. Fig. 2). Es wurde deshalb einer zweiten Trennung auf Papierbogen unterzogen, wobei sich das KAISER'sche Lösungsmittelsystem sehr gut bewährte. So konnte ein Konzentrat gewonnen werden, das den unerwünschten Begleitfleck nicht mehr enthielt. Nach weiterer Reinigung dieses Materials an Al_2O_3 gelang es daraus, Kristalle vom Smp. $155\text{--}156^\circ$ (aus Wasser) zu isolieren. Sie waren nach Smp., Misch-Smp., den Laufstrecken im Papierchromatogramm (zwei verschiedene Lösungsmittelsysteme; vgl. Fig. 3 und 4), Farbreaktionen mit 84-proz. H_2SO_4 und IR.-Spektrum (vgl. Fig. 6) völlig identisch mit authentischem *Diginatigenin*, von dem uns Herr Dr. MURPHY freundlicherweise eine Probe zur Verfügung gestellt hatte¹⁵⁾.

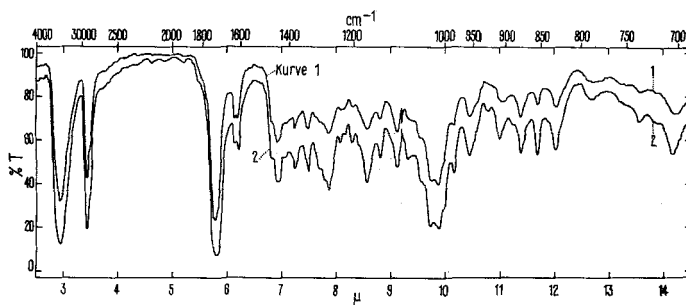


Fig. 6

IR.-Absorptionsspektrum²⁰⁾

Kurve 1: Diginatigenin (IV) aus Gitoxigenin (I) (mikrobiologisch); 0,52 mg in KBr, kompensiert mit KBr.

Kurve 2: Diginatigenin (IV), Präparat MURPHY; 0,66 mg KBr, kompensiert mit KBr.

Durch diese Verknüpfung mit Gitoxigenin (I), einem Steroid bekannter Konstitution^{16–19)}, sind für Diginatigenin das Grundskelett (insbesondere die *cis*-Verknüpfung der Ringe A und B), der 17β -ständige Butenolidring und die β -ständigen Hydroxylgruppen an C-3, C-14 und C-16 eindeutig bewiesen. Die Anwesenheit einer weiteren HO-Gruppe in 12β -Stellung ist höchstwahrscheinlich. Sie stützt sich auf die Annahme, dass die Hydroxylierung von Gitoxigenin (I) durch *F. lini* analog zu derjenigen von Digitoxigenin zu Digoxigenin verlaufen ist, denn beide Stoffe sind prinzipiell gleich gebaut. Wir erteilen deshalb Diginatigenin die Konstitution und Konfiguration des $3\beta, 12\beta, 14\beta, 16\beta$ -Tetra-

¹⁴⁾ F. KAISER, Chem. Ber. **88**, 556 (1955).

¹⁵⁾ MURPHY fand für sein Präparat den Smp. 157° (krist. aus Wasser) und den Smp. $190\text{--}192^\circ$ (krist. aus Chloroform). Die spez. Drehung wurde von ihm nicht bestimmt. Unser Material war dafür nicht ausreichend.

¹⁶⁾ a) W. A. JACOBS & E. L. GUSTUS, J. biol. Chemistry **79**, 553 (1928); **82**, 403 (1929); **86**, 199 (1930); **88**, 531 (1930). b) W. A. JACOBS & R. C. ELDERFIELD, *ibid.* **108**, 497 (1935).

¹⁷⁾ K. MEYER, Helv. **29**, 718, 1580, 1908 (1946).

¹⁸⁾ J. A. MOORE, Helv. **37**, 659 (1954).

¹⁹⁾ H. HIRSCHMANN & F. B. HIRSCHMANN, J. Amer. chem. Soc. **78**, 3755 (1956).

²⁰⁾ Aufgenommen von Herrn G. ROTZLER mit einem PERKIN-ELMER-IR-Spektrophotometer, Modell 21 mit NaCl-Prisma.

hydroxy-5 β -carden-(20:22)-olids (IV), wie sie MURPHY³⁾ provisorisch vorge schlagen hat.

Durch einige weitere Versuche, die im Mikromaßstab durchgeführt und nur papierchromatographisch verfolgt wurden, suchten wir abzuklären, ob sich durch eine Modifikation der Gitoxigeninmolekel eine raschere mikrobiologische Oxygenierung erzielen liesse. Bei Di-O-acetylgitoxigenin (II) war aber keine Hydroxylierung wahrzunehmen; es trat lediglich Entacetylierung zum freien Genin I ein (vgl. auch ⁵⁾). In einem weiteren Versuch diente 3-Dehydro-gitoxigenin (V) als Substrat. V ist in der Literatur noch nicht beschrieben und liess sich bequem aus Gitoxigenin (I) durch katalytische Dehydrierung mit O₂ und Pt herstellen²¹⁾. Bei der Acetylierung ging V in das bekannte 3-Dehydro-oleandrigenin (= Oleandrigenin) (VI)^{6c)}⁹⁾ über, was die 3-Stellung der Oxo-Gruppe für V beweist. Nach Einwirkung von *F. lini* auf V wurde neben viel unverändertem Ausgangsmaterial ein neuer Fleck erhalten, der ähnlich, aber merklich langsamer als Gitoxigenin (I) wanderte (vgl. Fig. 5). Es handelt sich um 3-Epigitoxigenin (VII), das wir für diesen Vergleich durch Reduktion von V mit NaBH₄ bereitet haben²²⁾²³⁾²⁴⁾. Die 3-Oxogruppe von V ist stereospezifisch zur äquatorialen HO-Gruppe reduziert worden in Analogie zum Verhalten von 3-Dehydro-digitoxigenin gegenüber dem gleichen Mikroorganismus⁵⁾. Eine stärker polare Substanz (Hydroxylierungsprodukt) wurde bei dieser Reaktion nicht beobachtet.

Wir danken der SANDOZ AG, Basel, für die materielle Unterstützung dieser Arbeit.

Ferner möchten wir Herrn Dr. J. E. MURPHY, BURROUGHS WELLCOME & Co, Inc., Tuckahoe, N. Y., USA, für die Überlassung einer Probe Diginitagenin sowie Herrn Dr. CH. STOLL, Institut für spezielle Botanik, ETH, Zürich, für seine grosse Hilfe und zahlreichen Ratschläge bei der Züchtung der Mikroorganismen unseren besten Dank aussprechen.

Experimenteller Teil

Die Smp. sind auf dem KOFLER-Block bestimmt und korrigiert. Fehlergrenze bis 200° etwa $\pm 2^\circ$, darüber etwa $\pm 3^\circ$. Die Adsorptionschromatogramme wurden nach der Durchlaufmethode²⁵⁾ an neutralem Al₂O₃ der Aktivitätsstufe I der Fa. M. WOELM, Eschwege, Deutschland, durchgeführt. Die Papierchromatogramme wurden (nähere Angaben siehe unten) mit KEDDE-Reagens entwickelt²⁶⁾.

²¹⁾ Zur Methodik vgl. R. P. A. SNEEDEN & R. B. TURNER, J. Amer. chem. Soc. **77**, 130, 190 (1955); ältere Literatur daselbst; vgl. auch A. KATZ, Helv. **40**, 831 (1951) sowie A. GUBLER & CH. TAMM⁵⁾. Sie erlaubt, in Polyhydroxysteroiden die HO-Gruppe an C-3 selektiv zu dehydrieren.

²²⁾ Zur Stereochemie der NaBH₄-Reduktion von 3-Oxo-5 β -cardenoliden vgl. H. P. SIGG, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. **36**, 985 (1953).

²³⁾ 3-Epi-gitoxigenin (VII) wurde zuerst von OKADA & YAMADA¹⁰⁾ bereitet. Smp. und Drehung unseres Präparates wichen aber von den Werten der japanischen Autoren etwas ab. Vgl. exper. Teil.

²⁴⁾ In dieser Reaktion wurde in geringer Menge noch ein schwächer polares Nebenprodukt vom Smp. 298–301° erhalten. Sein UV.-Spektrum zeigte in alkoholischer Lösung Maxima bei 222 m μ (log ϵ = 3,72), 270 m μ (log ϵ = 4,23) und 335 m μ (log ϵ = 3,26) (ber. auf C₂₃H₃₂O₄). Sie sind für das Δ^{16} -Carden-(20:22)-olid-Chromophor charakteristisch^{6e)}¹⁷⁾. Da der erhaltene Stoff aber verschieden von 16-Anhydro-gitoxigenin^{6e)} ist, dürfte das noch unbekannte 3-Epi-16-anhydro-gitoxigenin vorliegen.

²⁵⁾ T. REICHSTEIN & C. W. SHOPPEE, Disc. Farad. Soc. Nr. **7**, 305 (1949).

²⁶⁾ I. E. BUSH & D. A. H. TAYLOR, Biochem. J. **52**, 643 (1952).

Kultur der Mikroorganismen. Proben einer Schrägagarkultur von *Fusarium lini* (BOLLEY) (Herkunft: Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn, Niederlande) wurden zur Sporulierung auf Reisinährmedium (13 g polierter Reis und 25 ml Wasser in ERLÉNMEYER-Kolben von 500 ml) überimpft. Eine wässrige Suspension der drei Wochen alten, bei 27° inkubierten Kulturen wurden als Impfmateriel verwendet. Zum Versuch kamen 100-ml-ERLÉNMEYER-Kolben mit je 20 ml Nährlösung (3 g NaNO_3 ; 1 g KH_2PO_4 ; 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,5 g KCl; 0,01 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 30 g Saccharose und Wasser ad 1000 ml) zur Anwendung. Diese wurden bei 120° während 20 Min. im Dampfautoklaven sterilisiert. Die Kulturgefäße wurden hierauf mit je 1 ml Sporensuspension 5–6 Tage bei 27° auf einer rotierenden Schüttelmaschine (170 U./Min.) inkubiert, worauf das in Aceton gelöste Substrat nach Sterilfiltration zugesetzt wurde.

Umwandlung von Gitoxygenin (I) in Diginatigenin (IV) durch Fusarium lini. Eine Lösung von 500 mg Gitoxygenin (I) vom Smp. 220–227° in 180 ml Aceton wurde auf 90 100-ml-ERLÉNMEYER-Kolben (je 20 ml Nährlösung enthaltend) verteilt, steril zugegeben und 27 Tage bei 25–27° unter Belüftung auf einer rotierenden Maschine (170 U./Min.) geschüttelt. Hierauf wurde die Nährlösung abgenutscht, das Mycel mit Chloroform und anschliessend mit Alkohol gründlich nachgewaschen und ausgepresst. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 40–45° vom Alkohol weitgehend befreit und dreimal mit je 1,5 Liter Chloroform und zweimal mit Chloroform-Alkohol-(3:1) ausgeschüttelt. Diese Auszüge wurden mit wenig Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 1,4 g Rohprodukt (Papierchromatogramm vgl. Fig. 1, Nr. 2), das an 15 g Al_2O_3 chromatographiert wurde. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 50 ml Lösungsmittel.

Fraktion 1 (eluiert mit Chloroform) gab 638 mg Öl, KEDDE-Reaktion negativ, verworfen.

Die Fraktionen 2–7 (641 mg, eluiert mit Chloroform) gaben aus Aceton-Äther 391 mg Gitoxygenin (I) vom Smp. 220–227°, papierchromatographisch einheitlich.

Die Fraktionen 8–11 (eluiert mit Chloroform, 5–25% Methanol enthaltend) gaben 81 mg amorphes Material, das nach dem Papierchromatogramm (vgl. Nr. 2 in Fig. 1) Gitoxygenin (I) und den langsamer laufenden Fleck enthielt. Das gesamte Material dieser Fraktionen wurde in 9 ml Chloroform gelöst und nach Auftragen auf 9 Papierbogen (WHATMAN Nr. 1, Breite 17 cm) im System Chloroform-Formamid¹¹⁾ (Laufzeit 4 Std.) getrennt¹²⁾. Die substanzhaltigen Papierzonen wurden mit Methanol eluiert. Es resultierten 61 mg langsamer laufendes Material, das zur weiteren Reinigung in ca. 5 ml Chloroform gelöst und durch eine Schicht Al_2O_3 filtriert wurde. Es resultierten noch 14 mg KEDDE-positives Rohprodukt, das aber bei der Papierchromatographie im System Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid¹⁴⁾ neben dem Diginatigenin-artigen Fleck noch einen langsamer laufenden Begleitfleck zeigte (vgl. Nr. 4 in Fig. 2). Das gesamte Material wurde deshalb in 2 ml Chloroform gelöst und nochmals auf 2 Papierbogen (WHATMAN Nr. 1, Breite 17 cm) im System Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid¹⁴⁾ getrennt und die substanzhaltigen Papierzonen wieder mit Methanol eluiert. Es resultierten 8 mg Rohkonzentrat, das nur noch den Diginatigenin-Fleck zeigte. Zur endgültigen Reinigung wurde es an 300 mg Al_2O_3 chromatographiert. Zum Nachwaschen jeder Fraktion dienten je 2 ml Lösungsmittel.

Fraktion 1 (eluiert mit Benzol-Chloroform-(4:1)) gab 3 mg amorphes Material, KEDDE-Reaktion negativ, verworfen. Die Fraktionen 2–7 (eluiert mit Benzol-Chloroform-(4:1)) gaben ca. 1,5 mg amorphes Material, KEDDE-Reaktion positiv. Die Fraktionen 8–9 (3 mg, eluiert mit Chloroform und Chloroform-Methanol-(9:1)) gaben aus Wasser ca. 2,5 mg Kristalle vom Smp. 154–156°. Nach Umkristallisieren aus Wasser 1 mg Nadeln vom Smp. 155–156°. Misch-Smp. mit authent. Diginatigenin (Präparat MURPHY) vom Smp. 153–154° (eigene Messung auf KOFLER-Block): 153–155°. Die Farbreaktion mit 84-proz. H_2SO_4 war bei beiden Präparaten identisch: blaugrün (0 Min.), zitronengelb (1 Min.), chromgelb (2 Min.), rotgelb (10 Min.), beige (20 Min.), schmutzig-braungrün (30 Min. – 1 Std.). Papierchromatographie vgl. Fig. 3 und 4, IR.-Spektren vgl. Fig. 6.

²⁷⁾ Die Papiere wurden mit Formamid-Aceton-(1:4) nach H. HEGEDÜS, CH. TAMM & T. REICHSTEIN, Helv. 36, 357 (1953), imprägniert.

Umsetzung von Di-O-acetyl-gitoxigenin (II) mit F. lini. Eine Lösung von 50 mg Di-O-acetyl-gitoxigenin (II) vom Smp. 243–245° in 10 ml Aceton wurden gleichmässig zu 10 100-ml-ERLENMEYER-Kolben (je 20 ml Nährlösung enthaltend) steril zugegeben und auf der rotierenden Maschine unter Belüftung bei 25–27° geschüttelt. Nach 17 bzw. 33 Tagen wurde je ein ERLENMEYER-Kolben wie oben beschrieben aufgearbeitet und das Rohprodukt (5–8 mg) im Papierchromatogramm (System Chloroform-Formamid¹¹ 27)) geprüft. Nach 17 Tagen war Di-O-acetyl-gitoxigenin (II) und eine Spur Gitoxigenin (I) sichtbar. Nach 33 Tagen waren 3 Flecken sichtbar. Die beiden Hauptflecken, die ungefähr gleich stark waren, entsprachen I und II. Der langsamste, äusserst schwach ausgeprägte Fleck lief wie Diginatigenin (IV). Der Umsatz zu IV war bedeutend schlechter als im vorhergehenden Versuch mit Gitoxigenin (I). Deshalb wurde diese Reaktion nicht weiter verfolgt.

3-Dehydro-gitoxigenin (V) aus I. Eine Suspension von 150 mg PtO₂, H₂O in 15 ml bidest. Wasser wurde 33 Min. in H₂-Atmosphäre geschüttelt. Hierauf wurde eine Lösung von 195 mg Gitoxigenin (I) vom Smp. 220–227° in 50 ml Aceton und 15 ml Wasser zugegeben und 20 Std. bei 22° unter O₂-Atmosphäre geschüttelt. Nach Abfiltrieren des Pt und Nachwaschen mit Aceton wurde das Filtrat im Vakuum vom Aceton befreit und mit Chloroform ausgeschüttelt; die Auszüge wurden mit wenig Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingedampft. Es resultierten 201 mg Rohprodukt, das aus Aceton-Äther ca. 100 mg Kristalle gab. Nach Umkristallisieren aus Methanol-Äther und Aceton-Äther reines, papierchromatographisch einheitliches V in Prismen vom Doppel-Smp. 177–178°/206–211°. $[\alpha]_D^{25} = +48,5^\circ \pm 2^\circ$ (c = 1,077 in Chloroform). IR.-Spektrum (in KBr) Banden bei: 2,99 μ (O–H); 5,60 μ (Butenolidring); 5,73–5,85 μ (C=O, Butenolidring+3-Keton); 6,10 μ (C=C, Butenolidring). Zur Analyse 5 Std. bei 110° getrocknet (Schweinchen). Gewichtsverlust 5,5%.

C ₂₃ H ₃₂ O ₅	Ber. C 71,1	H 8,3	O 20,6%
(388,48)	Gef. „ 71,4	„ 8,1	„ 20,8%

Es verblieben 80 mg Mutterlaugenrückstand, die im Papierchromatogramm nur den Fleck von V zeigten.

3-Epi-gitoxigenin (VII) und 3-Epi-16-anhydro-gitoxigenin aus V. Eine Lösung von 32 mg 3-Dehydro-gitoxigenin (V) vom Smp. 178–179° in 2 ml Methanol-Wasser-(4:1) wurden mit 25 mg NaBH₄ versetzt und 5,5 Std. bei 22–25° stehengelassen. Hierauf wurde mit 2-n. H₂SO₄ bis zur kongosäuren Reaktion versetzt, das Methanol im Vakuum entfernt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Der nach Eindampfen der Chloroformauszüge erhaltene Rückstand wurde mit 2 ml Methanol, 2 ml 0,1-n. H₂SO₄ und 100 mg D-Mannit 30 Min. unter Rückfluss erhitzt. Nach Entfernen des Methanols im Vakuum wurde mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Auszüge wurden mit 2-n. Na₂CO₃ und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der Rückstand gab aus Aceton-Äther 10 mg Kristalle vom Smp. 175–179°. Die Mutterlaugen wurden an 600 mg Al₂O₃ chromatographiert. Die mit Chloroform eluierten Fraktionen gaben aus Aceton oder Methanol 3,7 mg Kristalle vom Smp. 290–305°. Nach Umkristallisieren aus Aceton *3-Epi-16-anhydro-gitoxigenin* in Nadeln vom Smp. 298–301°²⁸⁾ (UV.-Spektrum vgl. 24)). Die folgende mit Chloroform-Methanol-(98:2) eluierte Fraktion gab aus Aceton ein Kristallgemisch vom Smp. 190°/221–224° und 285–287°.

Die weiteren mit Chloroform-Methanol (98:2) eluierten Fraktionen gaben aus Aceton-Äther 4 mg Kristalle vom Smp. 230–246°. Diese Kristalle wurden mit denjenigen vom Smp. 175–179° vereinigt. Nach zweimaligem Umkristallisieren aller Kristalle *3-Epi-gitoxigenin* (VII) in Prismen vom Smp. 241–243°. $[\alpha]_D^{25} = +48,5^\circ \pm 3^\circ$ (c = 0,722 in Chloroform-Methanol-(97:3)).

3-Dehydro-oleandrigenin (VIII) aus VII. 40 mg 3-Dehydro-gitoxigenin (VII) (papierchromatographisch einheitliches Rohprodukt) wurden mit 1 ml Pyridin und 0,8 ml Acetanhydrid 3 Tage bei 22° stehengelassen. Nach Eindampfen, Aufnehmen in Chloroform, Waschen der Lösungen mit 2-n. HCl, 2-n. Na₂CO₃ und Wasser, Trocknen über Na₂SO₄ und

²⁸⁾ Die Menge reichte für eine Analyse nicht aus.

Eindampfen resultierten 45 mg Rohprodukt, das in Benzol-Chloroform-(1:1) gelöst und durch eine Schicht SiO_2 filtriert wurde. Aus Aceton-Äther 15 mg Blättchen vom Smp. 245–249°. Misch-Smp. mit authent. Probe von HUNGER & REICHSTEIN^{6e)} vom Smp. 249–251° (jetziger Smp. 235–246°) schmolz bei 239–250°.

Umsetzung von 3-Dehydro-gitoxigenin (V) mit F. lini. Eine Lösung von 25 mg 3-Dehydro-gitoxigenin (V) (Rohprodukt, papierchromatographisch einheitlich) in 5 ml Aceton wurde auf 5 100-ml-ERLENMEYER-Kolben (je 20 ml Nährlösung enthaltend) verteilt steril zugegeben und auf der rotierenden Maschine unter Belüftung bei 25–27° geschüttelt. Nach 20 bzw. 36 Tagen wurde je ein Kolben, wie bei der Umsetzung von I beschrieben, aufgearbeitet und das Rohprodukt im Papierchromatogramm geprüft (System Chloroform-Formamid¹¹⁾ ²⁷⁾). Nach 20 Tagen war eine Spur eines neuen langsamer laufenden Fleckens sichtbar, der sich nach 36 Tagen verstärkt hatte. Der schnelle Fleck lief wie V, der langsamere wie 3-Epi-gitoxigenin (VII) (vgl. Fig. 5).

Die Mikroanalyse verdanken wir dem mikroanalytischen Laboratorium der SANDOZ AG, Basel (Leitung: Dr. E. SCHÖNIGER).

Zusammenfassung

Gitoxigenin (I) wurde auf mikrobiologischem Wege (12 β -Hydroxylierung durch *Fusarium lini* (BOLLEY)) in Diginatigenin übergeführt. Damit sind sowohl das 5 β -Carden-(20:22)-olid-Gerüst als auch Hydroxylgruppen in 3 β -, 14 β - und 16 β -Stellung bewiesen, sowie das Vorliegen einer 12 β -ständigen HO-Gruppe weitgehend gesichert. Diginatigenin wird deshalb Formel IV erteilt.

Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

190. Zweifach-logarithmisches Potentiometer zur direkten linearen Darstellung der UV.-Spektren im «log₁₀ ϵ »-Maßstab

von **H. G. Leemann** und **M. Kohler**

(20. VIII. 58)

Die UV.-Absorptionsspektren sind heute ein allgemein angewandtes Hilfsmittel zur Charakterisierung der chemischen Verbindungen geworden. Aus verschiedenen praktischen Gründen erfolgt die Darstellung der gemessenen Absorptionen linear in log₁₀ ϵ -Werten als Funktion der Wellenlänge λ . Dabei ist ϵ der molare Extinktionskoeffizient einer bestimmten Substanz bei einer bestimmten Wellenlänge λ . Die bis heute zur Messung der Absorptionsspektren verwendeten handelsüblichen Geräte, insbesondere die registrierenden Spektralphotometer, erlauben eine lineare Darstellung des gemessenen Absorptionswertes nur als Transmissionswert T oder als Extinktionswert E (optische Dichte), jedoch nicht als log₁₀ ϵ -Wert. Die Umformung zum log₁₀ ϵ -Wert erfordert daher zwangsläufig einen zweiten Arbeitsgang. Mit Hilfe eines zweifach-logarithmischen Potentiometers, das in bestehende, mit einer Kompensationsmessbrücke versehene Registriergeräte auf einfachste Weise eingebaut werden kann, lässt sich diese zusätzlich zu leistende Umrechnungsarbeit eliminieren. Auf Grund