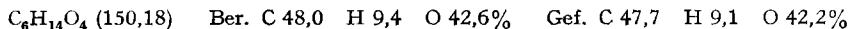
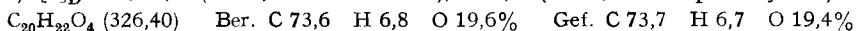


Smp. 84–88° lieferte. Nach mehrmaliger Umkristallisation wurde ein einheitliches Präparat vom Smp. 87–88° erhalten;  $[\alpha]_D^{22} = -33,8^\circ$  ( $c = 1,82$  in Wasser). Die Identität mit dem durch  $\text{NaBH}_4$  gewonnenen Reduktionsprodukt wurde durch Mischprobe, Vergleich der Rf-Werte und IR-Spektren bewiesen.



*Di-O-benzyliden-D-digitoxit.* 234 mg D-Digitoxit wurden nach der Vorschrift von WINDAUS & SCHWARTE<sup>23)</sup> mit 0,5 ml Benzaldehyd und 1,5 ml 50-proz. Schwefelsäure umgesetzt. Es resultierten 528 mg hellgelber Sirup, die aus Methylenechlorid-Äther-Pentan 283 mg Kristalle vom Smp. 110–111° ergaben, nach Umkristallisieren aus Methanol 182 mg Kristalle vom Smp. 139–141°<sup>44)</sup>.  $[\alpha]_D^{22} = +67,3^\circ$  ( $c = 0,79$  in Chloroform),  $+64,7^\circ$  ( $c = 0,94$  in 95-proz. Pyridin).



#### SUMMARY

In order to elucidate the structure of its sugar moiety, digitoxin (I) has been permethylated. Since it was not possible to isolate a homogeneous O-methyl derivative of (I) the mixture of permethylation products was degraded by hydrolysis. As parts of the sugar moiety, 3,4-di-O-methyl-D-digitoxose (III) and D-cymarose (IV) could be isolated in a 1:2 ratio.

The reaction of digitoxin (I) with phenylisocyanate gave homogeneous and crystalline digitoxin-tetraphenylurethane (VIII) which was cleaved by methanolysis into digitoxigenin and the methylglycosides of both D-digitoxose-3-phenylurethane (XV) and D-digitoxose-3,4-bis-phenylurethane (IX, X). Characterization and quantitative determination of the glycosidic fragments proved the linear arrangement of the three digitoxose units in digitoxin (I) as well as their 1,4-linkages.

From the constitution of digitoxin (I), the structures of the sugar moiety of both lanatosides and deacetyl-lanatosides follow. In all these *Digitalis* glycosides, the tetrasaccharide part must form a straight, 1,4-linked chain.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien  
SANDOZ A. G., Basel

<sup>44)</sup> In der Literatur<sup>23)</sup> ist der Smp. mit 142° (aus Methanol) angegeben.

### 103. Die Konstitution der isomeren Acetyldigitoxine

48. Mitteilung über Herzglykoside<sup>1)</sup>

von Max Kuhn, Heinz Lichti und Albert von Wartburg

(6. III. 62)

Die genuinen Hauptglykoside der *Digitalis lanata* EHRH., die Lanatoside A, B und C<sup>2)</sup>, spalten bei der Einwirkung spezifischer Enzyme wie Digilanidase, Digipupidase u. a.<sup>3)</sup> leicht 1 Mol. D-Glucose ab und gehen in die entsprechenden Desglucosederivate Acetyldigitoxin, Acetylglitoxin und Acetyldigoxin über<sup>4)</sup>. Diese glucose-

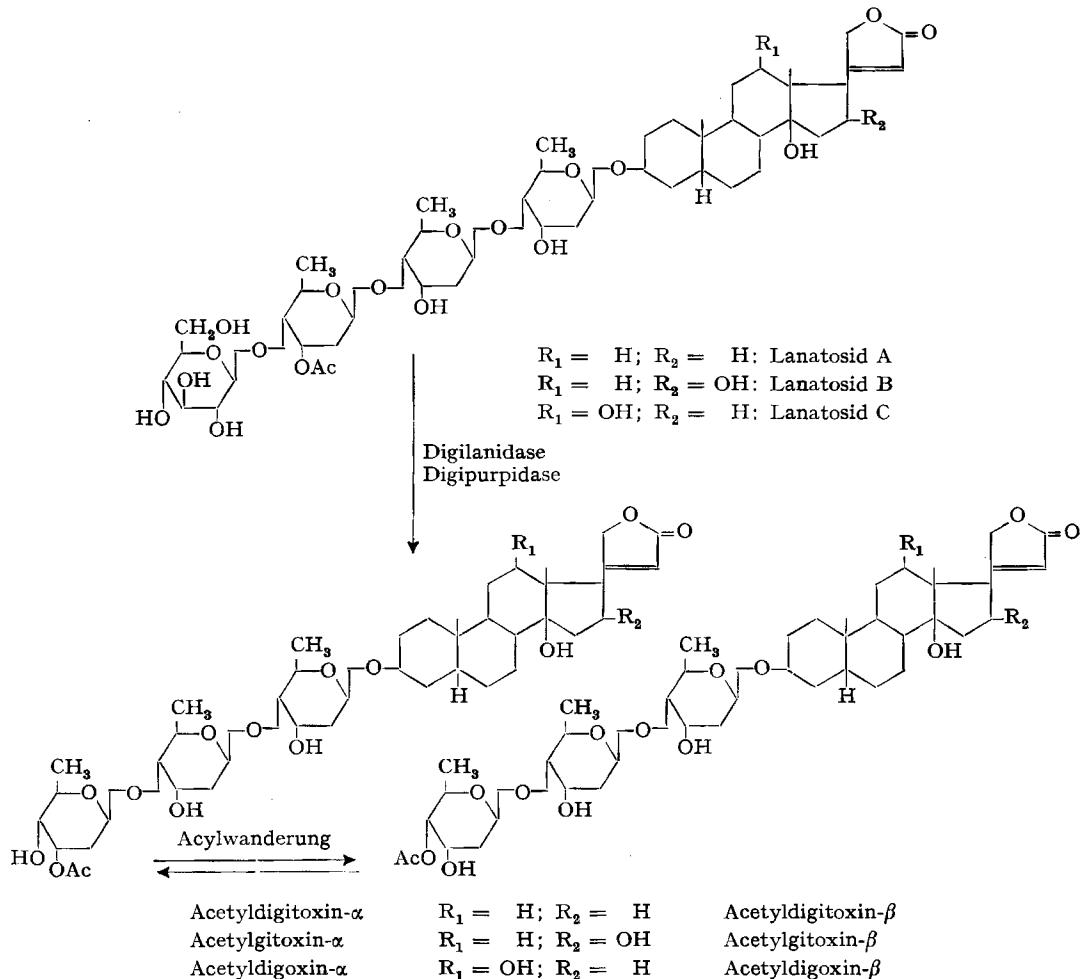
<sup>1)</sup> 47. Mitt.: H. LICHTI, M. KUHN & A. VON WARTBURG, Helv. 45, 868 (1962).

<sup>2)</sup> A. STOLL & W. KREIS, Helv. 16, 1049 (1933).

<sup>3)</sup> a) A. STOLL, A. HOFMANN & W. KREIS, Z. physiol. Chem. 235, 249 (1935); b) A. STOLL & J. RENZ, Enzymologia 7, 362 (1939); c) A. STOLL, J. RENZ & A. BRACK, Helv. 34, 397 (1951).

<sup>4)</sup> A. STOLL & W. KREIS, Helv. 17, 592 (1934); 35, 1318 (1952); A. STOLL, A. VON WARTBURG & W. KREIS, Helv. 35, 1324 (1952).

### *Formelschema 1*



freien Abbauprodukte können in zwei isomeren Formen ( $\alpha$  und  $\beta$ ) auftreten, die sich reversibel ineinander umlagern lassen<sup>4)</sup><sup>5)</sup>. In einigen *Digitalis*-Arten liegen die Desgluco-lanatoside auch als native Inhaltsstoffe vor, so z.B. Acetyldigitoxin- $\alpha$  und - $\beta$  in *D. ferruginea*<sup>6)</sup> und Acetyldigoxin- $\alpha$  und - $\beta$  (= Digerid B bzw. Digerid A) in *D. orientalis*<sup>7)</sup><sup>8)</sup>. Die Konstitution der Desgluco-lanatoside ist nicht völlig aufgeklärt. So ist

<sup>5)</sup> Kürzlich wurde aus japanischer *D. purpurea* eine dritte isomere Form von Desgluco-lanatosiden isoliert, nämlich Acetyl-digitoxin- $\gamma$  und Acetyl-gitaloxin- $\gamma$ : K. HOJI, Chem. Pharm. Bull., 9, 296 (1961). Diese Glykoside wurden durch enzymatischen Abbau der Purlanoside A und B erhalten und tragen die Acetylgruppe an der ersten (innersten) Digitoxose-Einheit: K. HOJI, Chem. Pharm. Bull. 9, 566 (1961).

6) A. STOLL & J. RENZ, *Helv.* **35**, 1310 (1952); R. M. APPEL & O. GISVOLD, *J. Amer. pharmaceut. Ass.* **43**, 215 (1954).

<sup>7)</sup> C. MANNICH & W. SCHNEIDER, Arch. Pharmaz. 279, 223 (1941).

<sup>8)</sup> D. H. GREGG & O. GISVOLD, J. Amer. pharmaceut. Assoc. 43, 106 (1954).

z. B. die exakte Lage der Acetylgruppe in den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen nicht bekannt. Die Desgluco-lanatoside unterscheiden sich im wesentlichen voneinander durch die Natur ihres Aglykons (Digitoxigenin, Gitoxigenin und Digoxigenin); der Zuckerteil dagegen setzt sich gleichartig aus 3 Mol. D-Digitoxose und 1 Mol. Essigsäure zusammen<sup>4)</sup>, wobei die einzelnen Zucker linear über 1,4-Bindungen verknüpft sind<sup>9)</sup>. Für das Auftreten von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Isomeren wird eine Stellungsisomerie der Acetylgruppe verantwortlich gemacht<sup>4)</sup>, da sich bei milder Verseifung aus einem Isomerenpaar jeweils identische Desacetylverbindungen (Digitoxin, Gitoxin, Digoxin) bilden<sup>4)</sup><sup>11)</sup>. Aus älteren Beobachtungen ging ferner hervor, dass die Acetylgruppe sehr wahrscheinlich an der endständigen Digitoxose-Einheit sitzt<sup>4)</sup><sup>8)</sup>. Diese Annahme liess sich bestätigen, als es gelang, bei der Hydrolyse von Lanatosid A ein acetylhaltiges Disaccharid zu isolieren und als 3-O-Acetyl-digilanidobiose aufzuklären<sup>10)</sup><sup>12)</sup>; die Lanatoside tragen somit die Acetylgruppe an C-3 der dritten Digitoxose-Molekel. Da beim enzymatischen Abbau der Lanatoside vorwiegend die  $\alpha$ -Desgluco-lanatoside isoliert werden<sup>4)</sup>, ist zu vermuten, dass die Abspaltung der Glucose ohne Umlagerung erfolgt. Die Umlagerung zu den entsprechenden  $\beta$ -Formen liesse sich dann als Platzwechsel des Essigsäurerests nach C-4 der gleichen Digitoxose-Einheit interpretieren<sup>4)</sup><sup>10)</sup> (vgl. Formelschema 1). Bei dieser plausiblen Erklärung ist jedoch zu beachten, dass die Isomerisierung bzw. die Einstellung des Gleichgewichts zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen so leicht verläuft, dass die  $\alpha$ -Desgluco-lanatoside nicht mit Sicherheit als Primärprodukte der enzymatischen Spaltung bezeichnet werden können. Es ist ferner nicht bekannt, ob bei der Isomerisierung überhaupt eine Acylwanderung eintritt, oder ob andersartige Umlagerungen stattfinden.

In der vorliegenden Arbeit versuchten wir, die Lage der Acetylgruppe in Acetyl-digitoxin- $\alpha$  und - $\beta$  festzulegen, um damit einen Einblick in die noch unklaren Isomerieverhältnisse bei den Desgluco-lanatosiden zu gewinnen.

Orientierende Experimente zur direkten Positionsbestimmung des Essigsäurerests durch Hydrolyse von Acetyl-digitoxin- $\alpha$  bzw. Acetyl-digitoxin- $\beta$  und Charakterisierung der acetylhaltigen Zuckerbruchstücke führten nicht zum Ziel. Bereits unter milden Bedingungen trat Isomerisierung ein<sup>13)</sup><sup>14)</sup>, und die papierchromatographische Analyse der Zuckerfraktionen aus den  $\alpha$ - und  $\beta$ -Isomeren ergab das Vorliegen gleichartiger Gemische mit D-Digitoxose als Hauptprodukt und zwei mengenmäßig ebenbürtigen Nebenprodukten (3-O- bzw. 4-O-Acetyl-digitoxose?)<sup>15)</sup>. Auch die Per-

<sup>8)</sup> Die schon früher linear angenommene Struktur der Zuckerkette<sup>3b)</sup> konnte inzwischen bewiesen werden<sup>1)</sup><sup>10)</sup>.

<sup>10)</sup> R. TSCHESCHE, B. NIYOMPORN & H. MACHELEIDT, *Chem. Ber.* **92**, 2258 (1959).

<sup>11)</sup> Durch partielle Acetylierung konnten Digitoxin und Gitoxin in Acetyl-digitoxin- $\alpha$  bzw. Acetyl-digitoxin- $\alpha$  zurückgeführt werden: D. SATOH, Y. OYAMA & H. ISHII, *Pharm. Bull.* **5**, 493 (1957); D. SATOH, Y. OYAMA & T. OKUMURA, *ibid.* **5**, 627 (1957).

<sup>12)</sup> H. LICHTI & A. VON WARTBURG, *Helv.* **44**, 238 (1961).

<sup>13)</sup> Derartige Versuche wurden auch von TSCHESCHE *et al.*<sup>10)</sup> unternommen und führten ebenfalls zur Isomerisierung der Zuckerkomponenten.

<sup>14)</sup> Acylwanderungen unter dem Einfluss saurer Katalysatoren sind mehrfach beschrieben worden, z. B. O. E. VAN LOHUIZEN & P. E. VÉRKADE, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* **79**, 133 (1960); H. BREDERECK, H. ZINNER, A. WAGNER, G. FABER, W. GREINER & W. HUBER, *Chem. Ber.* **91**, 2824 (1958).

<sup>15)</sup> Die beiden acetylhaltigen Zuckerderivate wurden nicht in Substanz gefasst, sondern lediglich durch Rf-Werte charakterisiert.

methylierungsmethode erwies sich für die Strukturermittlung der Zuckerkomponenten unbrauchbar. Wohl liessen sich die Desgluco-lanatoside in Dimethylformamid als Lösungsmittel<sup>16)</sup> ohne nennenswerten Verlust der Acetylgruppe methylieren; die Methylierung war aber wiederum von einer Umlagerung begleitet. Dieser Befund überraschte nicht, da zahlreiche Beispiele von Acylwanderungen während Methylierungsreaktionen beschrieben sind<sup>17)</sup>. Immerhin ging aus diesen Versuchen hervor, dass ein Platzwechsel der Acetylgruppe bei der Umlagerung der Desgluco-lanatoside den wahrscheinlichsten Mechanismus darstellt.

Wir suchten nun für die freien Zuckerhydroxyle der Desgluco-lanatoside nach einer Schutzgruppe, welche ohne Isomerisierung eingeführt werden könnte und unter milden sauren Hydrolysebedingungen keine Wanderungstendenz zeigen sollte. Diese Ansprüche erfüllte der Phenylcarbamoylrest. Phenylurethane erwiesen sich schon in verschiedenen Fällen als nützliche Zwischenprodukte bei der Konstitutionsermittlung von Kohlehydraten, speziell auch bei partiell acetylierten Zuckern<sup>18)</sup>. Beim Umsatz mit Phenylisocyanat in Pyridin lieferten Acetyl-digitoxin- $\alpha$  und Acetyl-digitoxin- $\beta$  einheitliche Tris-phenylurethane (I bzw. IX). Methanolyse dieser Derivate und Charakterisierung der dabei auftretenden Zuckerspaltstücke erlaubten bei beiden Isomeren die Lokalisierung der Acetylgruppe und damit die einwandfreie Strukturermittlung ihrer Zuckerkomponente.

#### Abbau von $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I)

$\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I) liess sich in farblosen Kristallen vom Smp. 176–180° gewinnen;  $[\alpha]_D^{21} = -7,8^\circ$  (in Pyridin), IR.-Spektrum siehe Fig. 1. Aus der Bruttoformel  $C_{64}H_{81}O_1N_3$  und den Spaltungsreaktionen ging hervor, dass nur die Zuckerhydroxyle mit Phenylisocyanat reagierten. Beim Abbau mit abs. methanolischer Salzsäure zerfiel das Tris-phenylurethan I in Digitoxigenin und je nach Reaktionsbedingungen in die Methylglykoside von Mono-, Di- und Trisacchariden (Formelschema 2). So entstand z. B. bei 2stündiger Methanolyse mit 1-proz. Salzsäure neben dem Aglykon ein Zuckergemisch, das sich vorwiegend aus Di- und Trisacchariden<sup>19)</sup> zusammensetzte. Nach 6 Stunden dagegen lagen als Hauptprodukte die beiden Methylglykoside IIa und IIb vor. Diese Spaltstücke liessen sich präparativ

<sup>16)</sup> R. KUHN, H. TRISCHMANN & I. LÖW, Angew. Chem. 67, 32 (1955).

<sup>17)</sup> E. PACSU, Adv. Carbohydrate Chemistry 7, 77 (1945); J. M. SUGIHARA, *ibid.* 8, 1 (1953); H. O. BOUVENG, B. LINDBERG & O. THEANDER, Acta chem. scand. 11, 1788 (1957).

<sup>18)</sup> M. R. SALMON & G. POWELL, J. Amer. chem. Soc. 61, 3507 (1939); M. L. WOLFSON & M. KONIGSBERG, *ibid.* 62, 1151 (1940); W. M. HEARON, G. D. HIATT & C. R. FORDYCE, *ibid.* 66, 995 (1944); H. BREDERECK, A. WAGNER, G. FABER, W. HUBER, G. IMMEL & H. KREISELMEIER, Chem. Ber. 91, 2819 (1958). Nach Abschluss unserer Arbeit erschien in den Acta chem. scand. 15, 87 (1961) eine Untersuchung von H. O. BOUVENG, worin gezeigt wird, dass in gewissen Fällen bei Methylierungsreaktionen auch der Urethanrest wandern kann.

<sup>19)</sup> Für die Abspaltung der Zuckerkette als ganzes, in Form des Trisaccharids, haben wir verschiedene Anhaltspunkte. Die Trisaccharidfraktion konnte im Dünnschichtchromatogramm neben den Biosiden IIa/b als etwas langsamer wandernder Fleck beobachtet werden. Nach Behandlung dieser nur in amorpher Form isolierten Fraktion durch 6ständiges Einwirken von 1-proz. methanolischer Salzsäure ergab die Bioside IIa/b sowie die Derivate IVa/b und Va/b als Spaltstücke. Bei den Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethanen scheint somit der Zerfall der Zuckerkette nicht vom Ende her zu erfolgen, wie dies z. B. bei der Hydrolyse von Digitoxin beobachtet wurde<sup>20)</sup>, sondern die Spaltung zwischen Aglykon und Zuckerteil tritt zuerst auf.

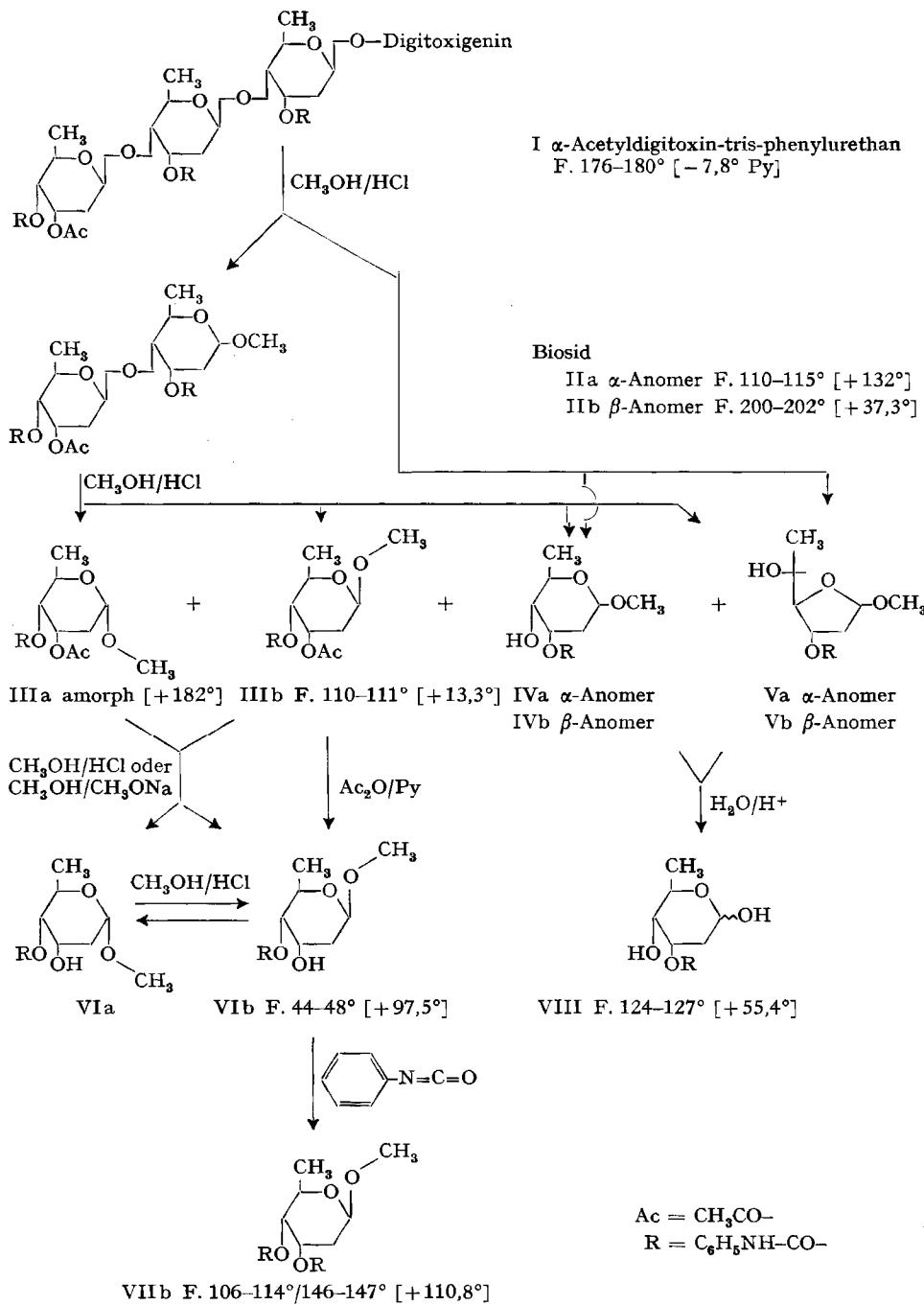
durch Verteilung der Zuckerfraktion zwischen Benzol und wässrigem Äthanol anreichern und schliesslich durch Chromatographie an Silicagel in einheitlicher Form isolieren. Die Verbindungen IIa/b besassen beide die Summenformel  $C_{29}H_{38}O_{10}N_2$  und wiesen je eine Acetylgruppe auf. Es handelte sich offensichtlich um anomere Methylbioside, die aus der zweiten und dritten Digitoxose-Einheit stammten. Die Zuordnung von IIa als  $\alpha$ -Methyl-, bzw. von IIb als  $\beta$ -Methylglykosid erfolgte auf Grund der optischen Drehwerte. Die vorgeschlagenen Konstitutionsformeln ergaben sich aus den Spaltungsreaktionen; unter schärferen Bedingungen zerfielen nämlich die Bioside IIa und IIb in die Monosaccharid-Derivate III, IV und V (siehe unten).

Eine vollständige Aufspaltung der Zuckerkette von  $\alpha$ -Acetyldigitoxin-tris-phenylurethan (I) wurde durch Einwirken von 5-proz. methanolischer Salzsäure bei 40° in Benzol erreicht. Nach Entfernung des Aglykons (Digitoxigenin) waren im Dünnschichtchromatogramm der Zuckerfraktion sechs Hauptflecke nachzuweisen, die den Derivaten IIIa/b, IVa/b und Va/b entsprachen. Chromatographie an Aluminiumoxid trennte die zwei am schnellsten laufenden Stoffe, IIIa/b, von den langsamer wandernden Begleitern ab, Nachchromatographie an Silicagel lieferte die einheitlichen Verbindungen IIIa und IIIb. Beide Spaltprodukte erwiesen sich acetylhaltig und besassen die Bruttoformel  $C_{16}H_{21}O_6N$ . Wie aus den weiteren Untersuchungen hervorging, lag ein Paar anomerer Methylglykoside vor. IIIb kristallisierte leicht und schmolz bei 110–111°;  $[\alpha]_D^{22} = +13,3^\circ$  (in 95-proz. Pyridin); IR.-Spektrum siehe Fig. 2. IIIa liess sich nur als glasige Masse gewinnen;  $[\alpha]_D^{22} = +182^\circ$ . Auf Grund der Drehwerte wurden IIIa als  $\alpha$ -, IIIb als  $\beta$ -Methylglykosid bezeichnet. Längeres Einwirken von abs. methanolischer Salzsäure entfernte die Acetylgruppe aus IIIa/b und führte zu den beiden acetylfreien Anomeren VIa und VIb, von denen nur das letztere kristallisierte; IR.-Spektrum siehe Fig. 3. Reacetylierung von VIb lieferte wieder das Ausgangsmaterial (IIIb). Das  $\alpha$ -Anomere (VIa) wurde nicht in völlig einheitlicher Form erhalten; es liess sich jedoch mit methanolischer Salzsäure in die  $\beta$ -Form (VIb) umlagern. Die Desacetylierung von IIIa/b gelang auch mit katalytischen Mengen Natriummethylat und führte ebenfalls zu den Stoffen VIa und VIb. Aus diesen Reaktionen ging einerseits hervor, dass in schwach saurem oder alkalischem Milieu keine Wanderung des Phenylurethanrests erfolgt; andererseits wies die einheitlich verlaufende Anomerisierung von VIa zu VIb und umgekehrt auf die Blockierung der 4-Stellung durch den Urethanrest hin, d. h. auf das Vorliegen pyranoider Ringstrukturen in diesen Digitoxosederivaten: bei freier OH-Gruppe an C-4 wären nämlich während der Anomerisierung von VIa/b auch die entsprechenden furanoiden Derivate aufgetreten, vgl. die analogen Umsetzungen mit X und IV. Aus dem Umsatz der Desacetylverbindung VIb mit Phenylisocyanat resultierte ein Bis-phenylurethan,  $C_{21}H_{24}O_6N_2$ , vom Smp. 106–114° / 145–146°. Dieses Präparat war mit  $\beta$ -Methyl-D-digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIb) identisch, das wir bereits bei der Methanolysen von Digitoxin-tetraphenylurethan isoliert hatten<sup>1)</sup>.

Beim Abtrennen des Anomerenpaars IIIa/b aus dem Methanolysat des  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethans (I) fiel als Nebenprodukt ein weiteres kristallisiertes Zuckerspaltstück der Zusammensetzung  $C_{14}H_{19}O_5N$  an; es handelte sich, wie unten gezeigt wird, um das Furanosid Vb.

<sup>20)</sup> F. KAISER, E. HAACK & H. SPINGLER, Liebigs Ann. Chem. 603, 75 (1957).

## Formelschema 2



Die Zahlen in eckigen Klammern geben die spez. Drehung für Na-Licht in 95-proz. Pyridin an.

Das nach der Isolierung von IIIa/b und Vb verbleibende Gemisch bestand vorwiegend aus den Verbindungen IVa/b und Va und wurde mit verdünnter Salzsäure in wässrigem Aceton hydrolysiert. Als einziges Produkt konnte eine kristallisierte

IR.-Absorptionsspektren<sup>21)</sup>

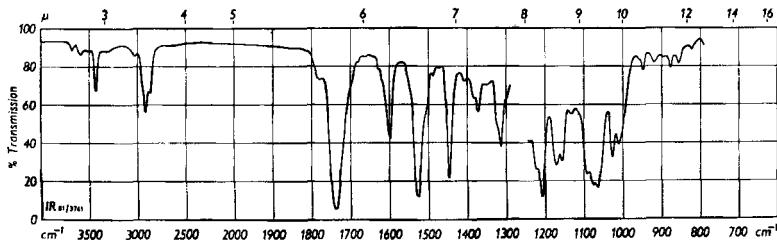


Fig. 1.  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I) in Methylenchlorid

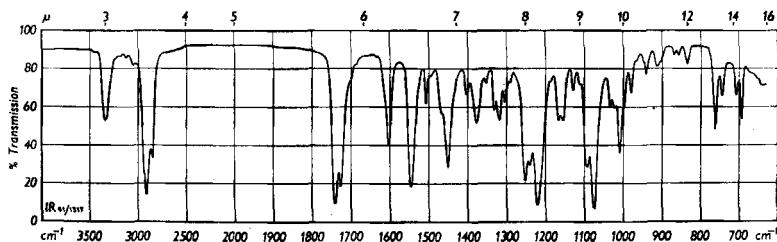


Fig. 2.  $\beta$ -Methyl-3-O-acetyl-D-digitoxosid-4-phenylurethan (IIIb) in Nujol

IR.-Absorptionsspektren

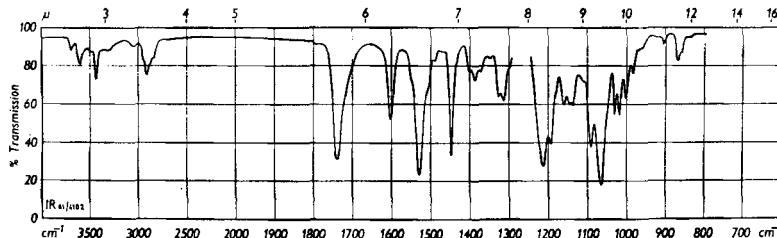


Fig. 3.  $\beta$ -Methyl-D-digitoxosid-4-phenylurethan (Vb) in Methylenchlorid

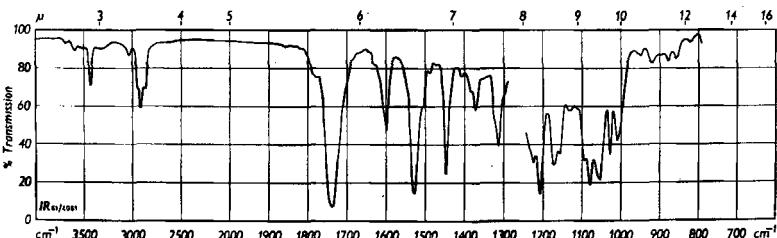


Fig. 4.  $\beta$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (IX) in Methylenchlorid

<sup>21)</sup> Alle IR-Spektren wurden auf einem PERKIN-ELMER-IR.-Spektrophotometer, Modell 21, aufgenommen.

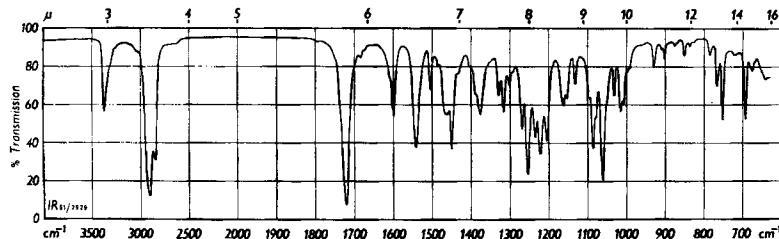


Fig. 5.  $\beta$ -Methyl-4-O-acetyl-D-digitoxosid-3-phenylurethan (Xb) in Nujol

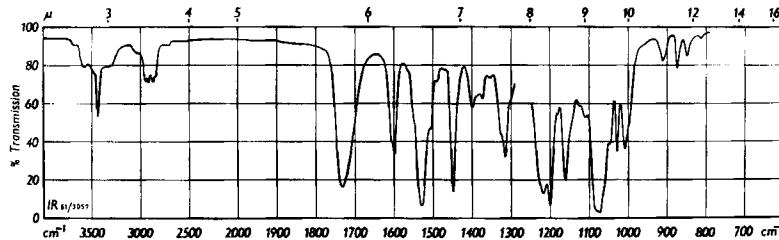
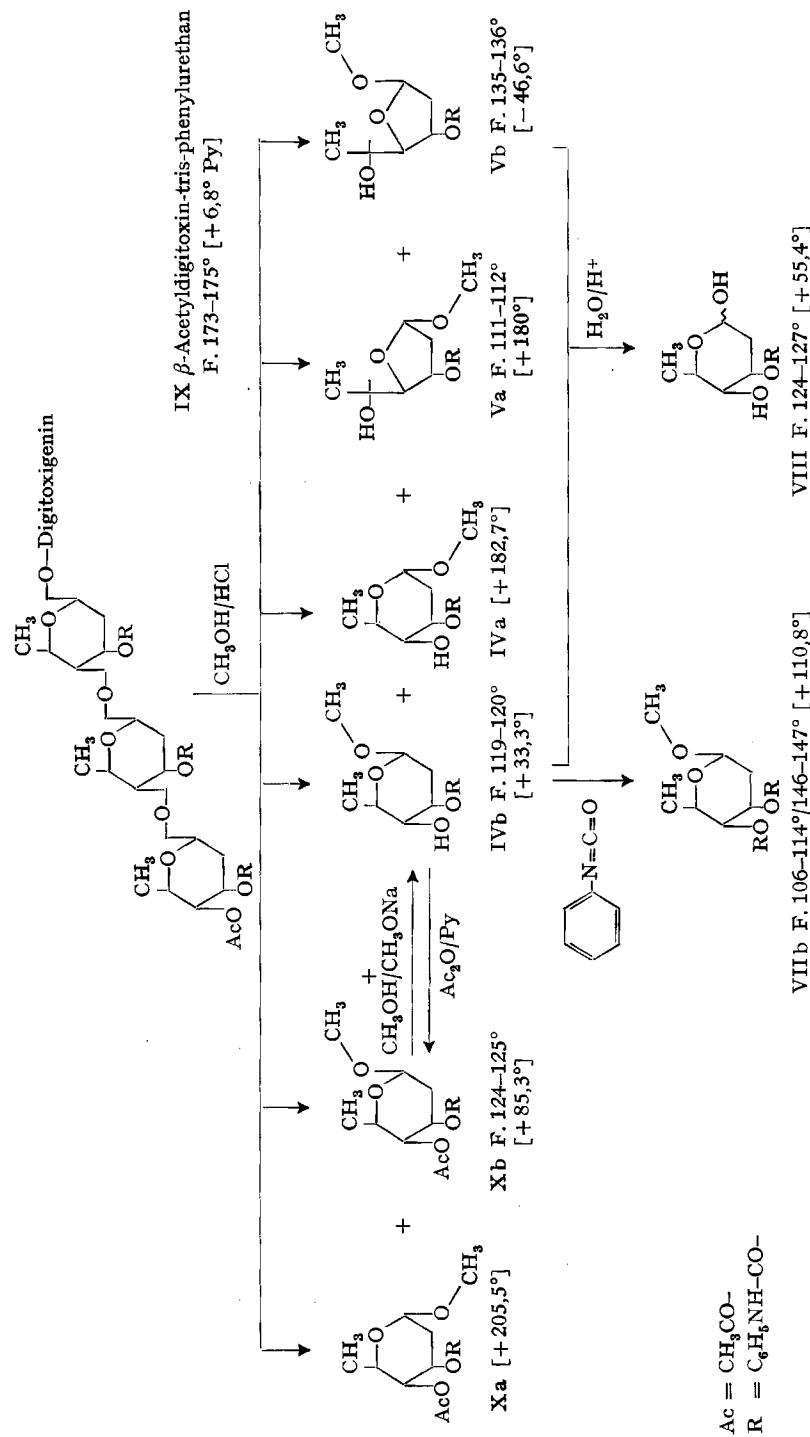


Fig. 6.  $\beta$ -Methyl-D-digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVb) in Methylenchlorid

Substanz der Formel  $C_{13}H_{17}O_6N$  gefasst werden. Es handelte sich um das D-Digitoxose-3-phenylurethan (VIII), das wir schon beim Abbau von Digitoxin-tetraphenylurethan isoliert und identifiziert hatten<sup>1)</sup>.

*Abbau von  $\beta$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (IX).* Acetyl-digitoxin- $\beta$  bildete mit Phenylisocyanat ebenfalls ein kristallisiertes Derivat (IX),  $C_{64}H_{81}O_{17}N_3$ , das sich vom  $\alpha$ -Isomeren (I) durch den Drehwert  $[\alpha]_D^{21} = +6,8^\circ$  (in 95-proz. Pyridin), einen etwas grösseren Rf-Wert sowie im IR.-Spektrum (Fig. 4) deutlich unterschied. Die vollständige Methanolysen erfolgte durch 3stündiges Einwirken von 5-proz. Salzsäure. Nach Entfernung des Digitoxigenins wurde ein Gemisch aus sechs Methylglykosiden erhalten (Formelschema 3). Durch Chromatographie an Aluminiumoxid und an Silicagel konnten die zwei acetylhaltigen Komponenten Xa und Xb isoliert werden. Xb kristallisierte aus verdünntem Methanol in dicken Stäbchen vom Smp. 124–125°;  $[\alpha]_D^{21} = +85,3^\circ$  (in 95-proz. Pyridin). Die Analysendaten entsprachen der Summenformel  $C_{18}H_{21}O_6N$ ; im IR.-Spektrum war die Acetatbande als Schulter bei  $1735\text{ cm}^{-1}$  angedeutet (Fig. 5). Der Stoff Xa konnte nicht in völlig einheitlicher Form gewonnen werden. Die reinsten Präparate zeigten eine spezifische Drehung  $[\alpha]_D^{21} = +205^\circ$  (in 95-proz. Pyridin). Da sich Xa mit methanolischer Salzsäure reversibel in Xb umlagern liess, sind die acetylhaltigen Spaltprodukte anomer, wobei wir dem Derivat Xb auf Grund seines Drehwerts die  $\beta$ -Konfiguration zuordnen. Die Entacetylierung von Xb erfolgte mit Natriummethylat und lieferte eine Verbindung  $C_{14}H_{19}O_5N$  (IVb), IR.-Spektrum siehe Fig. 6. Der gleiche Stoff trat auch als Zerfallsprodukt von IX auf und war bereits unter den Spaltstücken aus  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I) und Digitoxin-tetraphenylurethan<sup>1)</sup> nachgewiesen worden. Rückacetylierung von IVb ergab das Ausgangsmaterial (Xb); bei der basenkatalysierten Methanolysen war somit keine Wanderung des Phenylurethanrests eingetreten. Wesentlich komplizierter verliefen Versuche zur Abspaltung der Acetylgruppe aus Xb mit

Formelschema 3



methanolischer Salzsäure. Es bildeten sich dabei vier isomere Reaktionsprodukte (IVa/b und Va/b). Wir werden auf diesen Befund, der für eine freie OH-Gruppe an C-4 und die dadurch ermöglichte Bildung von Furanosiden (Va/b) spricht, unten zurückkommen. Die Umsetzung des Desacetylinderivats IVb mit Phenylisocyanat führte zum bereits beschriebenen  $\beta$ -Methyl-*D*-digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIb)<sup>1)</sup>.

Bei der Abtrennung der Acetylinderivate Xa/b fiel als Nebenprodukt eine kristalline Verbindung der Summenformel  $C_{14}H_{19}O_5N$  an. Dieses Präparat stimmte in allen Eigenschaften mit Vb überein, einem bereits aus  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I) erhaltenen, wahrscheinlich furanoiden Spaltprodukt.

Nach Abtrennung von Xa, Xb und Vb wurde das verbleibende Gemisch der Methylglykoside an Aluminiumoxid weiter fraktioniert. Dabei konnte neben geringen Mengen Vb ein Stoff  $C_{14}H_{19}O_5N$  isoliert werden, der sich als das oben beschriebene Phenylurethan IVb herausstellte. Durch mehrfaches Umkristallisieren des restlichen Glykosidgemisches liess sich eine kristallisierte Verbindung derselben Bruttoformel abtrennen, die mit keinem der bis jetzt beschriebenen Spaltstücke gleicher Zusammensetzung übereinstimmte; wir vermuteten das Vorliegen einer furanoiden Verbindung (Va). Den nicht mehr kristallisierbaren Rest der Methanolyseprodukte (vorwiegend IVa) hydrolysierten wir zum bereits erwähnten *D*-Digitoxose-3-phenylurethan (VIII), einem Stoff, der auch bei der Hydrolyse der einheitlichen Methylglykoside IVb, Va und Vb als einziges Produkt entstand.

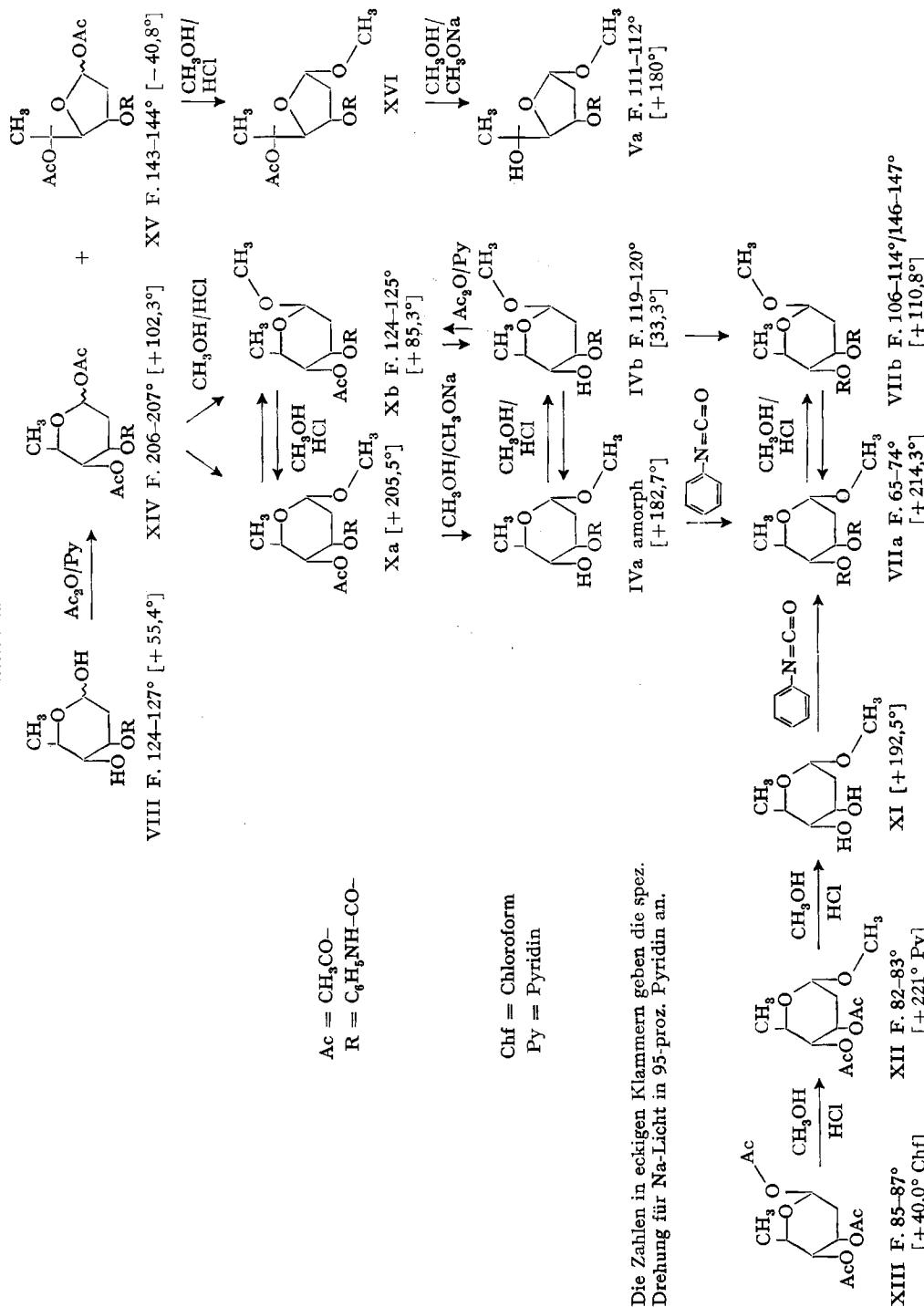
*Konstitution der Abbauprodukte.* Bei der vollständigen Methanolyse der Cardenolidglykoside I und IX entstanden aus der Zuckerkette insgesamt acht verschiedene Bruchstücke. Von diesen Stoffen waren speziell die acetylhaltigen wichtig, da IIIa/b nur aus  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I), Xa/b dagegen ausschliesslich aus  $\beta$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (IX) hervorgingen. Die Acetylgruppe muss somit in diesen Spaltprodukten die ursprüngliche Lage – wie in der endständigen Digitoxose-Einheit des Acetyl-digitoxin- $\alpha$  bzw. - $\beta$  – beibehalten haben. Weniger aufschlussreich waren die acetylfreien Urethane IVa/b und Va/b, die aus den beiden inneren Digitoxose-Einheiten der isomeren Acetyl-digitoxine stammten; sie waren aus beiden Tris-phenylurethanen (I und IX) und auch aus Digitoxin-tetraphenylurethan<sup>1)</sup> erhältlich.

Zur Korrelation und Konstitutionsermittlung der Methanolyseprodukte benutzten wir Digitoxose-3-phenylurethan (VIII) sowie das Bis-phenylurethan VIIb als Bezugssubstanzen. Für VIIb wurde zuerst ein ergänzender Strukturbeweis durch Partialsynthese erbracht (Formelschema 4): Ausgehend von 1,3,4-Tri-O-acetyl-*D*-digitoxose (XIII)<sup>22)</sup> konnte über das Diacetat XII das bekannte  $\alpha$ -Methyl-*D*-digitoxopyranosid (XI)<sup>23)</sup> gewonnen werden. XI reagierte mit Phenylisocyanat zum  $\alpha$ -Methyl-*D*-digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIa), das sich mit methanolischer Salzsäure leicht zum gewünschten  $\beta$ -Methylglykosid VIIb anomerisieren liess. Das auf diesem Weg hergestellte Präparat stimmte in allen Eigenschaften mit dem aus IVb, VIIb und Digitoxin-tetraphenylurethan<sup>1)</sup> erhaltenen Bis-phenylurethan VIIb überein. Da bei

<sup>22)</sup> W. W. ZORBACH & T. A. PAYNE, J. Amer. chem. Soc. 80, 5564 (1958).

<sup>23)</sup> M. GUT & D. A. PRINS, Helv. 30, 1223 (1947); H. R. BOLLIGER & P. ULRICH, Helv. 35, 93 (1952). Der pyranoide Ring von XI ist durch die Synthese aus  $\alpha$ -Methyl-*D*-glucopyranosid gesichert.

Formelschema 4



den verwendeten Reaktionen keine Änderung der Ringgrössen zu befürchten war, sind die pyranoide Struktur bzw. die 3,4-Stellung der Urethanreste in VIIb weitgehend bewiesen; die  $\beta$ -Orientierung der Methoxygruppe ergab sich aus der Rotationsdifferenz zwischen VIIa und VIIb.

Die jetzt strukturell gesicherten Pyranoside VIIa/b und der in der vorstehenden Mitteilung erbrachte Beweis für die 3-Stellung des Urethanrestes in VIII<sup>21)</sup> ermöglichen uns, zunächst den Bau der acetylfreien Spaltprodukte IVa, IVb, Va und Vb abzuklären. Wie erwähnt werden diese Zuckerderivate durch wässrige Säure zum 3-Phenylurethan der Digitoxose (VIII) hydrolysiert. In der naheliegenden Annahme, dass mit IVa/b und Va/b die anomeren pyranoiden und furanoiden Methylglykoside von VIII vorliegen, liessen wir auf Digitoxose-3-phenylurethan (VIII) abs. methanolische Salzsäure einwirken. Das dabei erhaltene Reaktionsgemisch<sup>24)</sup> wurde mittels Dünnschichtchromatographie analysiert; es setzte sich aus vier Komponenten zusammen, die mit IVa, IVb, Va und Vb identifiziert werden konnten. Von den vier Methylglykosiden, in denen die Phenylurethangruppe wie in VIII am Kohlenstoffatom 3 gebunden vorliegt, konnten IVa (Reindarstellung siehe unten) sowie IVb durch ihre Überführung in die Bis-phenylurethane VIIa bzw. VIIb als Pyranoside erkannt werden: IVa ist das  $\alpha$ -Methyl-, IVb das  $\beta$ -Methyl-*D*-digitoxopyranosid-3-phenylurethan. Für die mit IVa/b isomeren Partner Va/b kam somit nur ein furanoider Bau in Betracht, wobei auf Grund der Drehwerte Va als  $\alpha$ -Methyl-*D*-digitoxofuranosid-3-phenylurethan und Vb als anomeres  $\beta$ -Methylfuranosid formuliert wurden<sup>25)</sup>.

Die Verknüpfung der beiden Bezugssubstanzen VIII und VIIb konnte auch über die Diacetylverbindung XIV vollzogen werden. XIV bildete das Hauptprodukt bei der Acetylierung von Digitoxose-3-phenylurethan (VIII); als Nebenprodukt gewannen wir einen zweiten einheitlichen Stoff, der sich später als isomeres Furanosid (XV) erwies<sup>26)</sup>. Aus XIV entstanden durch milde Methanolysen zwei Methylglykoside, die mit den acetylhaltigen Spaltstücken Xa/b identisch waren. Behandlung von Xa/b mit Natriummethylat und chromatographische Trennung der Desacetylverbindungen lieferte die einheitlichen Stoffe IVa und IVb, deren Überführung in die entsprechenden Bis-phenylurethane VIIa resp. VIIb schon beschrieben wurde. Aus diesen Informationen ging hervor, dass es sich bei den acetylhaltigen Spaltprodukten (Xa/b) des  $\beta$ -Acetyldigitoxin-tris-phenylurethans (IX) um Pyranoside handelt, und dass ihre Urethangruppe, wie übrigens in sämtlichen Zuckerbruchstücken aus IX, an C-3 sitzen muss. Damit ist zwangsläufig auch die Position des Acetylrestes in Xa/b festgelegt: für die Acetoxygruppe ist nur eine Bindung am Kohlenstoffatom 4 möglich. Zum gleichen Schluss führen auch die oben besprochene Solvolyse von 1,4-Di-O-acetyl-*D*-digitoxose-3-phenylurethan (XIV) und die Acetylierung von  $\beta$ -Methyl-*D*-

<sup>21)</sup> Je nach Reaktionsbedingungen traten die Furanoside (Va/b) oder die Pyranoside (IVa/b) als Hauptprodukte auf, siehe exp. Teil.

<sup>25)</sup> Va/b lieferten mit Phenylisocyanat furanoide 3,5-Bis-phenylurethane, die sich von den entsprechenden Pyranosiden VIIa/b deutlich unterschieden (vgl. exp. Teil).

<sup>26)</sup> Die Konstitution des furanoiden 1,5-Di-O-acetyl-digitoxose-3-phenylurethans (XV) stützte sich auf folgende Reaktionen: XV konnte durch Methanolysen in XVI und dieses durch Verseifung in das kristallisierte  $\alpha$ -Methyl-*D*-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (Va) übergeführt werden. Bemerkenswerterweise wurde bei der Methanolysen von XV praktisch nur das  $\alpha$ -Anomere (Va) erhalten; das  $\beta$ -Anomere (Vb) trat nur in Spuren auf.

digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVb). Damit sind Xa als  $\alpha$ -Methyl- und Xb als  $\beta$ -Methyl-4-O-acetyl-D-digitoxosid-3-phenylurethan definiert.

Die aus dem Tris-phenylurethan I des Acetyldigitoxin- $\alpha$  stammenden Acetylverbindungen IIIa und IIIb sind ebenfalls Pyranoside, da sie über die Desacetylverbindung VIb mit dem Bis-phenylurethan VIIb verknüpft wurden (Formelschema 2). Aus der Isomerie VIa/b mit IVa/b und aus der Überführung dieser Desacetyl-derivate in die 3,4-Bis-phenylurethane VIIa/b folgte weiter, dass sich die Anomerenpaare IV und VI voneinander nur in der Lage ihrer Urethangruppe unterscheiden können. Da der Carbamoylrest in den Verbindungen IVa/b an C-3 vorliegt, muss es sich bei VIa um  $\alpha$ -Methyl-D-digitoxopyranosid-4-phenylurethan und bei VIb um das entsprechende  $\beta$ -Methylglykosid handeln<sup>27)</sup>. Die Zuordnung des Urethanrestes an C-4 der Desacetyl-derivate VIa/b bedeutet für die acetylhaltigen Spaltprodukte IIIa/b, dass als einzige mögliche Haftstelle ihrer Acetylgruppe das C-Atom 3 in Betracht kommt. IIIa stellt somit  $\alpha$ -Methyl-3-O-acetyl-D-digitoxosid-4-phenylurethan und IIIb  $\beta$ -Methyl-3-O-acetyl-D-digitoxosid-4-phenylurethan dar.

*Konstitution der Desgluco-lanatoside.* Nachdem für alle Methanolyseprodukte der beiden Tris-phenylurethane I und IX begründete Strukturformeln erarbeitet waren, zeichnete sich jetzt die Konstitution von Acetyldigitoxin- $\alpha$  und Acetyldigitoxin- $\beta$  ab. Die Isolierung der 3-O-Acetyl-derivate IIIa/b aus dem  $\alpha$ -Tris-phenylurethan I zeigte, dass im Acetyldigitoxin- $\alpha$  die Acetylgruppe an der endständigen Digitoxose-Einheit die 3-Stellung einnimmt. Beim Acetyldigitoxin- $\beta$  hingegen muss die Acetylgruppe an C-4 der äussersten Digitoxose-Molekel sitzen, da aus dem  $\beta$ -Tris-phenylurethan IX die 4-O-Acetyl-derivate Xa und Xb gewonnen wurden. Damit war die früher geäusserste Ansicht, wonach sich die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen der Desgluco-lanatoside nur durch die Stellung ihrer Acetylgruppe unterscheiden<sup>4)</sup>, bewiesen. Bei der reversiblen Umlagerung der isomeren Desgluco-lanatoside findet offensichtlich nur ein Platzwechsel der Acetylgruppe statt, der durch die *cis*-Stellung der OH-Gruppen an C-3 und C-4 der endständigen Digitoxose erleichtert wird. Es bestätigt sich ferner, dass beim enzymatischen Abbau der Lanatoside als Primärprodukte die  $\alpha$ -Desgluco-Verbindungen auftreten, aus denen sich erst sekundär die entsprechenden  $\beta$ -Isomeren bilden.

### Experimenteller Teil<sup>28)</sup>

**$\alpha$ -Acetyldigitoxin-tris-phenylurethan (I).** 10,0 g wasserfreies Acetyldigitoxin- $\alpha$  wurden mit 70 ml abs. Pyridin und 17,8 g frisch destilliertem Phenylisocyanat versetzt und 3 Std. auf 40° erwärmt. Nach Abkühlen auf 15° fügte man 5 ml Methanol zu und dampfte die Lösung nach 30minütigem Stehen bei 20° ein. Den Rückstand trocknete man im Hochvakuum bei 90°; die

<sup>27)</sup> Auf die Blockierung der OH-Gruppe an C-4 wurde bereits bei der ohne Furanosidbildung verlaufenden sauren Desacetylierung von III und bei der Anomerisierung von VI hingewiesen.

<sup>28)</sup> Alle Smp. wurden auf dem KOFLER-Block bestimmt. Zur Bestimmung der optischen Drehwerte wurden die Präparate 1 Std. im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Die Dünnschichtchromatographien erfolgten nach STAHL<sup>29)</sup> auf Aluminiumoxid- oder Kieselgel-Platten, wobei in den meisten Fällen Chloroform mit 0,5–4% Alkohol als Fliessmittel diente. Zur Anfärbung der Substanzen besprühten wir die Platten mit einer 20-proz. Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform und erwärmten kurze Zeit auf 110°. – Die Analysen wurden in unserem Mikroanalytischen Laboratorium (Dr. W. SCHÖNIGER) ausgeführt, die Spektren in unserer Spektralanalytischen Abteilung (Dr. H. G. LEMMANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen. Fräulein C. KRYSZONS und Herrn A. NUSSBAUMER danken wir für geschickte experimentelle Mitarbeit.

<sup>29)</sup> E. STAHL, Angew. Chem. 73, 646 (1961).

Ausbeute betrug rund 30 g Rohpräparat. Nach dem Dünnschichtchromatogramm beurteilt ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ /Chloroform + 1,6% Alkohol) erfolgte die Umsetzung nahezu quantitativ. Das Rohprodukt wurde anschliessend an neutralem Aluminiumoxid (WOELM, Akt. 3) chromatographiert. Mit Benzol-Chloroform-(4:1) und -(1:1) liessen sich Phenylcarbaminsäure-methylester und geringe Mengen Diphenylharnstoff auswaschen. Chloroform und Chloroform mit 0,5% Methanol eluierten einheitliches  $\alpha$ -Tris-phenylurethan I, das aus abs. Äther 10,2 g Kristalle (72% d. Th.) vom Smp. 176–180° lieferte;  $[\alpha]_D^{25} = -7,8^\circ$  ( $c = 0,516$  in Pyridin),  $+82,6^\circ$  ( $c = 0,550$  in Methanol) und  $+90,1^\circ$  ( $c = 0,538$  in Chloroform); IR.-Spektrum siehe Fig. 1.

$\text{C}_{64}\text{H}_{82}\text{O}_{17}\text{N}_3$	Ber. C 66,0	H 7,0	O 23,4	N 3,6	$\text{CH}_3\text{CO}$ 3,7%
	(1164,38)	Gef. , ,	66,1 , ,	7,3 , ,	23,0 , , 3,6 , , 4,4%

*Methanolyse von  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I) zu den Biosiden IIa und IIb.* Eine Lösung von 2,39 g  $\alpha$ -Tris-phenylurethan I in 40 ml 1-proz. abs. methanolischer Salzsäure wurde 6 Std. bei 20° stehengelassen. Nach Neutralisation mit  $\text{BaCO}_3$  wurde filtriert und im Vakuum eingedampft. Den Rückstand nahm man in Chloroform auf, filtrierte von einer geringen Menge ungelöster Bariumsalze ab und entfernte die Lösungsmittel im Vakuum. Es verblieben 2,72 g Spaltprodukte. Durch Digerieren mit 25 ml abs. Äther konnte 0,64 g kristallisiertes Digitoxigenin (83% d. Th.) abgetrennt werden. Die ätherlösliche Zuckerfraktion (2,02 g) zeigte im Dünnschichtchromatogramm (Kieselgel/Chloroform + 5% Äthanol) zwei rasch wandernde Hauptkomponenten (IIa und IIb) sowie 4 langsamere Nebenprodukte (Va, Vb, IVa und IVb). Als polarste Verbindung war eine Spur Digitoxigenin (grün) zu erkennen; die Zuckerderivate ergaben mit  $\text{SbCl}_3$  blau-violette Flecke. Zur Fraktionierung löste man den Zuckeranteil in 50 ml Benzol und schüttelte fünfmal mit je 50 ml 60-proz. Alkohol aus. Die Benzolphase enthielt 735 mg angereicherte Biosidfraktion, während im wässrigen Äthanol neben weiteren Anteilen an Biosiden die Monosaccharide Va/b und IVa/b vorlagen. Durch Verteilen der Äthanol-Wasser-Fraktion (1,16 g) zwischen Benzol-Pentan-(1:1) und 60-proz. Alkohol wurden weitere 790 mg biosidreiche Fraktion und 257 mg Monosaccharidfraktion erhalten, die jetzt frei von IIa/b war. Der Verlauf der Anreicherung liess sich durch Dünnschichtchromatographie bequem verfolgen. Die beiden Biosidfraktionen (total 1,57 g) wurden nochmals zwischen Benzol-Pentan und wässrigem Alkohol verteilt und anschliessend an trockenem Silicagel chromatographiert, wobei 680 mg (58%) eines Gemisches von IIa und IIb anfielen. Die Auftrennung der beiden Anomeren erfolgte durch fraktionierte Kristallisation aus Essigester-Pentan und ergab ca. 400 mg IIb und ca. 250 mg IIa.

Reines Biosid IIb kristallisierte aus 95-proz. Methanol in feinen Nadelchen vom Smp. 200–202°;  $[\alpha]_D^{25} = +37,3^\circ$  ( $c = 0,537$  in 95-proz. Pyridin). Im IR.-Spektrum (Nujol) sind u. a. bei 1750 und 1710  $\text{cm}^{-1}$  charakteristische Maxima festzustellen, die der Acetat- bzw. der Amid-Gruppe zukommen.

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{10}\text{N}_2$	Ber. C 60,8	H 6,3	O 28,0	N 4,9	$\text{CH}_3\text{O}$ 5,4	$\text{CH}_3\text{CO}$ 7,5%
(572,62)	Gef. , ,	60,8 , ,	6,2 , ,	27,6 , ,	4,9 , ,	5,4 , , 7,7%

Biosid IIa wurde aus 80- und 95-proz. Methanol umkristallisiert und zeigte den Smp. 110–115°;  $[\alpha]_D^{25} = +132,0^\circ$  ( $c = 0,531$  in 95-proz. Pyridin). Im IR.-Spektrum (Nujol) ist eine Überlagerung der Acetat- und der Amid-Banden bei 1743  $\text{cm}^{-1}$  zu beobachten.

$\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{10}\text{N}_2\text{H}_2\text{O}$	Ber. C 59,0	H 6,5	O 29,8	N 4,7	$\text{CH}_3\text{O}$ 5,2	$\text{CH}_3\text{CO}$ 7,3%
(590,64)	Gef. , ,	58,9 , ,	6,6 , ,	30,4 , ,	4,7 , ,	5,3 , , 7,0%

*Methanolyse von  $\alpha$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (I) zu den Monosacchariden III, IV und V.* 9,50 g  $\alpha$ -Tris-phenylurethan I wurden in 150 ml Benzol gelöst, mit 10 ml 3-proz. methanolischer Salzsäure versetzt und 1 Std. auf 40° erwärmt. Man neutralisierte mit  $\text{BaCO}_3$ , filtrierte und dampfte im Vakuum ein. Der Rückstand wurde mit 80 ml Äther ausgekocht, wobei 1,55 g Digitoxigenin kristallisierten. Die ätherlöslichen Anteile wurden in 120 ml Benzol gelöst und nach Zugabe von 10 ml 5-proz. methanolischer Salzsäure durch 2,5stdg. Erwärmten auf 40° nachmethanoliert. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben und lieferte weitere 0,86 g krist. Digitoxigenin sowie 6,55 g ätherlösliche Zuckerderivate. Das Dünnschichtchromatogramm der Zuckerfraktion (Kieselgel/Chloroform + 4% Alkohol) zeigte einen schnell laufenden, braungelben Doppelkleck (Anomere IIIa/b), langsam wandernde Flecke (IVa/b und Va/b), die blauviolett gefärbt waren, und eine geringe Menge Digitoxigenin (grüner Fleck).

11,51 g Zuckeranteile (aus 2 Ansätzen, entsprechend 16,50 g I) wurden an neutralem Aluminiumoxid (WOELM, Akt. 3) chromatographiert. Mit Benzol-Pentan-(1:1) wurden 2,25 g Anomeren-

gemisch IIIa/b und 711 mg reines IIIb eluiert (ca. 70% d. Th.). Mit Benzol-Pentan-(3:1) liessen sich 1,47 g einer acetylfreien Fraktion erhalten, in der Vb angereichert war. Die späteren Fraktionen des Chromatogramms, insbesondere die mit Chloroform und Chloroform-Methanol-(19:1) abgelösten Anteile, stellten Gemische aus IVa/b und Va/b dar.

*β-Methyl-3-O-acetyl-D-digitoxosid-4-phenylurethan (IIIb).* Die Auftrennung des oben erhaltenen Anomerengemisches (2,25 g) erfolgte durch Chromatographie an trockenem Silicagel. Mit Chloroform-Essigester-(49:1) wurden sukzessive 963 mg reines IIIb, 465 mg Gemisch IIIa/b und 794 mg praktisch reines IIIa eluiert.

IIIb kristallisierte aus Äther-Pentan oder 60-proz. Methanol; Smp. 110–111°,  $[\alpha]_D^{25} = +13,3^\circ$  ( $c = 0,524$  in 95-proz. Pyridin). Ausbeute 951 mg (37%); IR.-Spektrum siehe Fig. 2.

$C_{18}H_{21}O_6N$	Ber. C 59,4	H 6,6	O 29,7	N 4,3	$CH_3O$ 9,6	$CH_3CO$ 13,3%
(323,35)	Gef. , ,	, ,	, ,	, ,	, ,	, ,

*α-Methyl-3-O-acetyl-D-digitoxosid-4-phenylurethan (IIIa).* 794 mg IIIa aus obiger Silicagelsäule wurden an neutralem Aluminiumoxid nachchromatographiert. Die Spaltenfraktionen (612 mg) waren dünnsschichtchromatographisch einheitlich, liessen sich aber nicht kristallisieren.  $[\alpha]_D^{25} = +182,0^\circ$  ( $c = 0,498$  in 95-proz. Pyridin). Im IR.-Spektrum ( $CCl_4$ ) überlagern sich Amid- und Acetat-Bande bei  $1742\text{ cm}^{-1}$ ; weitere Banden bei 1600, 1523, 1446, 1375, 1230–1250, 1203, 1130 und  $1062\text{ cm}^{-1}$ .

$C_{18}H_{21}O_6N$	Ber. C 59,4	H 6,6	O 29,7	N 4,3	$CH_3O$ 9,6	$CH_3CO$ 13,3%
(323,35)	Gef. , ,	, ,	, ,	, ,	, ,	, ,

Im Dünnsschichtchromatogramm läuft das  $\beta$ -Isomere IIIb auf Kieselgel schneller als IIIa; auf Aluminiumoxid sind die Verhältnisse umgekehrt.

*β-Methyl-D-digitoxopyranosid-4-phenylurethan (VIb).* – a) *Desacetylierung von IIIb mit Salzsäure:* Eine Lösung von 977 mg IIIb in 10 ml 5-proz. methanolischer Salzsäure wurde 15 Std. bei 20° stehengelassen und dann 1 Std. auf 40° erwärmt. Nach dieser Reaktionszeit waren im Dünnsschichtchromatogramm nur noch die Stoffe VIa und VIb nachzuweisen. Anschliessend neutralisierte man mit  $BaCO_3$  und dampfte die filtrierte Lösung im Vakuum ein. Der Rückstand wurde mit siedendem Chloroform ausgezogen und lieferte 951 mg Rohprodukt. Aus Methanol-Chloroform-Pentan kristallisierten 390 mg farblose Kristalle vom Smp. 44–72°. Die Mutterlauge enthielt vorzugsweise das  $\alpha$ -Derivat (VIa); sie wurde zur Anomerisierung mit 4 ml abs. methanolischer HCl während 15 Std. bei 20° nachbehandelt und ergab weitere 160 mg Rohkristall. Nach mehrmaligem Kristallisieren aus Chloroform-Methanol-Pentan lag der Smp. bei 44–48°. Die Ausbeute an einheitlichem VIb betrug 550 mg entspr. 61%;  $[\alpha]_D^{25} = +97,5^\circ$  ( $c = 0,590$  in 95-proz. Pyridin); IR.-Spektrum siehe Fig. 3. Zur Analyse wurde eine Probe im Hochvakuum überschmolzen.

$C_{14}H_{19}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$CH_3O$ 11,0%
(281,31)	Gef. , ,	, ,	, ,	, ,	, ,

b) *Verseifung von IIIa (bzw. IIIb) zu VIa (bzw. VIb) mit Natriummethylat:* 25 mg IIIa (bzw. IIIb) löste man in 0,5 ml Methanol, versetzte mit 0,3 ml einer ca. 0,5-proz. Natriummethylat-Lösung und liess 1 Std. bei 20° stehen. Im Dünnsschichtchromatogramm konnte als einziges Produkt das Desacetyl-derivat VIa (beim Einsatz von IIIb entsprechend VIb) nachgewiesen werden.

c) *Acetylierung von VIb zu IIIb:* Umsetzung von VIb mit Acetanhydrid in Pyridin lieferte ein kristallisiertes Derivat vom Smp. 109–111°, das sich durch Mischprobe, Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 2) und der Rf-Werte als mit dem Acetat IIIb identisch erwies.  $[\alpha]_D^{25} = +13,4^\circ$  ( $c = 0,524$  in 95-proz. Pyridin).

$C_{18}H_{21}O_6N$	Ber. C 59,4	H 6,6	O 29,7	N 4,3	$CH_3O$ 9,6	$CH_3CO$ 13,3%
(323,35)	Gef. , ,	, ,	, ,	, ,	, ,	, ,

*β-Methyl-D-digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIb) aus IVb.* 300 mg VIb wurden mit 3 ml abs. Pyridin und 360 mg Phenylisocyanat 2 Std. unter Feuchtigkeitsausschluss auf 40° erwärmt. Dann wurden 0,5 ml Methanol zugesetzt und die Lösung nach 15 Min. im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in Benzol aufgenommen, wobei 58 mg kristallisierter Diphenylharnstoff ungelöst blieben. Aus der Benzollösung gewann man 609 mg Rohprodukt, das aus Benzol-Pentan Nadeln vom Smp. 85–100° lieferte. Nach zweimaliger Umkristallisation aus Methanol-Wasser lag

der Smp. bei 106–114°/146–147°;  $[\alpha]_D^{21} = +110,8^\circ$  ( $c = 0,528$  in 95-proz. Pyridin). Ausbeute: 269 mg (67%). IR.-Spektrum siehe 47. Mitt.<sup>1)</sup>.

$C_{21}H_{24}O_6N_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$CH_3CO$ 7,8%
(400,44)	Gef. , , 62,8	, , 6,1	, , 23,7	, , 7,2	, , 7,6%

**$\beta$ -Methyl-D-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (Vb).** Bei der Chromatographie der aus I erhaltenen Methanolyseprodukte wurden, wie oben beschrieben, 1,47 g angereicherte Vb-Fraktion isoliert. Durch Umkristallisation dieses Materials aus Benzol und anschliessend aus Methanol wurden 751 mg reines Vb vom Smp. 136–137° erhalten;  $[\alpha]_D^{22} = -44,0^\circ$  ( $c = 0,556$  in 95-proz. Pyridin). IR.-Spektrum in Nujol: Banden bei 3480, 3350 (OH, NH), 1703, 1530 (Amid) sowie weitere bei 1600, 1455, 1445, 1318, 1240, 1085 und 1040  $\text{cm}^{-1}$ .

$C_{14}H_{16}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$CH_3O$ 11,0%
(281,31)	Gef. , , 59,7	, , 6,7	, , 28,4	, , 4,9	, , 10,6%

**D-Digitoxose-3-phenylurethan (VIII)<sup>1)</sup>.** Die stärker polaren Anteile aus dem Methanolysat von I (Chloroform- und Chloroform-Methanol-Eluate der oben beschriebenen Chromatographie) wurden wie folgt hydrolysiert: 8,5 g Gemisch aus IVa/b und Va/b nahm man in 120 ml Aceton auf, versetzte mit 120 ml 0,5N HCl und erwärmt die Lösung 1 Std. unter Rückfluss. Nach dem Neutralisieren mit  $BaCO_3$  wurde das klare Filtrat im Vakuum eingeengt und der Rückstand viermal mit je 20 ml warmem Chloroform ausgezogen. Die vereinigten Chloroformextrakte wurden eingedampft und der Rückstand aus 40 ml Chloroform-Benzol-(1:2) kristallisiert. Es konnten 4,88 g Kristalle (VIII) erhalten werden, die nach Umkristallisation aus Essigester bei 124–127° schmolzen;  $[\alpha]_D^{22} = +55,4^\circ$ , nach 15 Std.  $+65,5^\circ$  ( $c = 0,525$  in 95-proz. Pyridin). Das Auftreten einer Mutarotation wurde schon früher festgestellt<sup>1)</sup>. IR.-Spektrum siehe 47. Mitt.<sup>1)</sup>.

$C_{12}H_{17}O_5N$	Ber. C 58,4	H 6,4	O 29,9	N 5,3%
(267,29)	Gef. , , 58,3	, , 6,5	, , 29,8	, , 5,3%

**$\beta$ -Acetyl-digitoxin-tris-phenylurethan (IX).** 3,66 g Acetyl-digitoxin- $\beta$  wurden mit 25 ml abs. Pyridin und 4,8 g Phenylisocyanat 4 Std. auf 40° erwärmt. Die Aufarbeitung und Chromatographie erfolgte wie oben beim  $\alpha$ -Isomeren beschrieben. Das Tris-phenylurethan IX kristallisierte aus Benzol in Nadeln vom Smp. 173–175°;  $[\alpha]_D^{21} = +6,8^\circ$  ( $c = 0,515$  in Pyridin),  $+66,8^\circ$  ( $c = 0,524$  in Methanol) und  $+88,4^\circ$  ( $c = 0,475$  in Chloroform). Die Ausbeute betrug 3,62 g (= 68% d. Th.). IR.-Spektrum siehe Fig. 6.

$C_{64}H_{81}O_{17}N_3$	Ber. C 66,0	H 7,0	O 23,4	N 3,6	$CH_3CO$ 3,7%
(1164,38)	Gef. , , 65,7	, , 7,3	, , 23,4	, , 3,6	, , 4,6%

**Methanolyse des Tris-phenylurethans IX zu den Spaltprodukten X, IV und V.** Eine Lösung von 10 g Tris-phenylurethan IX in 160 ml Benzol wurde mit 40 ml 5-proz. methanolischer Salzsäure vermischt und 3 Std. auf 40° erwärmt. Dann neutralisierte man mit  $BaCO_3$ , entfernte die Ba-Salze und dampfte das Filtrat im Vakuum ein. Das anfallende Gemisch wurde dreimal mit je 100 ml warmem Chloroform ausgezogen. Die so gewonnenen Spaltprodukte wurden in 50 ml siedendem Äther aufgenommen; beim Abkühlen der Ätherlösung kristallisierten 2,24 g Digitoxigenin aus. Aus dem Filtrat wurden 7,50 g Zuckerderivate erhalten, die im Dünnschichtchromatogramm (Aluminiumoxid/Chloroform + 0,9% Äthanol) einen rasch laufenden Doppelfleck (Xa/b) und 4 langsamer wandernde Flecke (Vb, Va, IVa und IVb) zeigten. Zur Fraktionierung wurden 14,5 g Zuckerderivate (aus 2 Ansätzen) an Aluminiumoxid (WOELM, Akt. 3) chromatographiert. Mit Benzol-Pentan-(2:1) liessen sich 1,83 g Anomere Xa/b und 1,08 g eines Gemisches aus Xa/b und Vb von der Säule ablösen. Durch Kristallisation dieser Fraktionen aus Benzol-Pentan-(3:1) konnten 806 mg reines Vb und aus den Mutterlaugen noch 173 mg Xa/b erhalten werden. Chloroform und Chloroform-Methanol-(19:1) eluierten 10,5 g eines Gemisches, das neben wenig Digitoxigenin vorwiegend IVa/b und Va/b enthielt.

**$\beta$ -Methyl-4-O-acetyl-D-digitoxosid-3-phenylurethan (Xb).** Aus dem obenstehenden Chromatogramm konnten total 2,01 g Gemisch Xa/b isoliert werden. Die Zerlegung in die Anomeren erfolgte durch Fraktionierung an Silicagel. Bei der Elution mit Chloroform-Essigester-(99:1) wurden zuerst 448 mg reines Xb, dann ein Gemisch von Xa/b abgetrennt. Chloroform-Essigester-(19:1) bis -(2:1) eluierte 276 mg Xa. Reines  $\beta$ -Methylderivat (Xb, 448 mg) wurde aus Benzol-Pentan

und anschliessend aus 80-proz. Methanol kristallisiert (ca. 300 mg): Stäbchen vom Smp. 124–125°;  $[\alpha]_D^{21} = +85,3^\circ$  ( $c = 0,522$  in 95-proz. Pyridin); IR.-Spektrum siehe Fig. 7.

$C_{18}H_{21}O_6N$	Ber. C 59,4	H 6,6	O 29,7	N 4,3	$CH_3O$ 9,6	$CH_3CO$ 13,3%
(323,35)	Gef. , , 59,4	, , 6,4	, , 29,9	, , 4,3	, , 9,3	, , 13,4%

$\alpha$ -Methyl-4-O-acetyl-D-digitoxosid-3-phenylurethan (Xa). Das aus obenstehender Chromatographie gewonnene Rohpräparat (Xa, 376 mg) wurde zweimal an Aluminiumoxid (WOELM, Akt. 3) nachchromatographiert. Xa liess sich dabei nicht in völlig einheitlicher Form erhalten und war auch nicht zur Kristallisation zu bringen.  $[\alpha]_D^{21} = +205,5^\circ$  ( $c = 0,458$  in 95-proz. Pyridin).

Im Dünnschichtchromatogramm wandert Xb auf Kieselgel (Chloroform + 3% Alkohol) rascher als Xa, auf Aluminiumoxid (Chloroform + 0,5% Alkohol) ist das Verhältnis umgekehrt.

*Isolierung der Spaltprodukte Va, Vb und IVb.* Nach Abtrennung des Digitoxigenins, der Zuckerderivate Xa/b und eines Teils von Vb aus den Methanolyseprodukten von IX wurden bei der oben beschriebenen Chromatographie 10,5 g eines Zuckergemisches erhalten, das auf Grund der Dünnschichtchromatographie die Derivate Vb, Va, IVa, und IVb (nach abnehmenden Rf-Werten geordnet) enthielt. Bei der Vortrennung an 200 g Aluminiumoxid (Akt. 3) wurden mit Benzol-Pentan-(3:1) zuerst 1,25 g Vb mit einem geringen Gehalt an Va (Zuckerfraktion 1) abgelöst, dann folgten 3,25 g Gemisch aus Va und IVa (Zuckerfraktion 2). Nachwaschen der Säule mit Chloroform-Methanol-(19:1) lieferte 4,5 g einer an IVb reichen Fraktion (Zuckerfraktion 3), die wenig Digitoxigenin, IVa und Va enthielt. Die Auf trennung wurde im Dünnschichtchromatogramm (Aluminiumoxid/Chloroform + 1,6% Alkohol) laufend kontrolliert.

$\beta$ -Methyl-D-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (Vb). 1,25 g rohes Vb (Zuckerfraktion 1) aus der obenstehenden Vortrennung lieferten aus Benzol 460 mg farblose Kristalle. Das Präparat wurde mit 806 mg rohem Vb, das bei der Isolierung von Xa/b gewonnen worden war, vereinigt und aus verdünntem Methanol umkristallisiert. Es wurden 1,03 g farbloses Furanosid (11% d. Th.) vom Smp. 135–136° isoliert;  $[\alpha]_D^{21} = -46,6^\circ$  ( $c = 0,515$  in 95-proz. Pyridin). Die Verbindung besass die gleichen Rf-Werte wie das aus I isolierte Spaltprodukt Vb und stimmte auch im IR.-Spektrum mit ihm überein.

$C_{14}H_{19}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$CH_3O$ 11,0%
(281,31)	Gef. , , 59,8	, , 6,8	, , 28,5	, , 5,1	, , 11,1%

$\alpha$ -Methyl-D-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (Va). 3,25 g angereichertes Präparat Va (Zuckerfraktion 2) wurden mehrmals aus Benzol-Pentan umkristallisiert. Es konnten 1,66 g Nadeln vom Smp. 111–112° erhalten werden (= 18%);  $[\alpha]_D^{21} = +180^\circ$  ( $c = 0,539$  in 95-proz. Pyridin). Die Verbindung war im Dünnschichtchromatogramm einheitlich und zeigte dieselben Rf-Werte wie das bei der Methanolyse von I nachgewiesene Spaltprodukt Va. Im IR.-Spektrum (Nujol) traten Banden auf bei 3450, 3360 (OH, NH), 1703, 1532 (Amid), 1235  $cm^{-1}$  (Ester).

$C_{14}H_{19}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$CH_3O$ 11,0%
(281,31)	Gef. , , 59,7	, , 6,7	, , 28,4	, , 5,2	, , 10,7%

$\beta$ -Methyl-D-digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVb). Die bei der Vortrennung anfallende IVb-reiche Fraktion (Zuckerfraktion 3; 4,50 g) wurde in 20 ml siedendem Äther gelöst. Beim Abkühlen kristallisierten 150 mg Digitoxigenin aus. Das Filtrat wurde an neutralem Aluminiumoxid (WOELM, Akt. 3) chromatographiert. Benzol eluierte 1,11 g Va und IVa (Gemisch); Benzol-Äther-(49:1) und -(9:1) sowie reines Chloroform lösten 2,10 g IVb (mit wenig IVa) ab. Schliesslich wurden durch Nachwaschen mit Chloroform-Methanol-(99:1) 1,04 g Gemisch aus IVb und Digitoxigenin erhalten. Durch Ätherbehandlung konnten daraus 224 mg reines Digitoxigenin abgetrennt werden, und nach Chromatographie der ätherlöslichen Anteile an Silicagel liessen sich 620 mg reines IVb gewinnen. Die beiden Spitzenpräparate, insgesamt 2,72 g, lieferten nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äther-Pentan ein einheitliches Präparat vom Smp. 117–119°;  $[\alpha]_D^{21} = +32,3^\circ$  ( $c = 0,480$  in 95-proz. Pyridin). Ausbeute 1,69 g (18%). IVb zeigte die gleichen Rf-Werte wie ein entsprechendes Abbauprodukt aus dem Tris-phenylurethan I; IR.-Spektrum siehe Fig. 6.

$C_{14}H_{19}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$CH_3O$ 11,0%
(281,31)	Gef. , , 59,8	, , 6,7	, , 28,4	, , 4,9	, , 11,0%

*Hydrolyse der Spaltprodukte Va, Vb und IVb zu D-Digitoxose-3-phenylurethan (VIII).* 400 mg einheitliches Va, Vb oder IVb, bzw. Gemische dieser Stoffe, wurden mit 2 ml Aceton und 2 ml

0,1N  $H_2SO_4$  1,5 Std. unter Rückfluss gekocht. Nach Neutralisation und üblicher Aufarbeitung wurde das Rohprodukt aus Chloroform-Benzol kristallisiert. Alle Ansätze lieferten Kristalle vom Smp. 123–125°, die sich mit  $\alpha$ -Digitoxose-3-phenylurethan (VIII) aus dem Tris-phenylurethan I, bzw. aus Digitoxin-tetraphenylurethan<sup>1)</sup> identisch erwiesen.

Desacytylierung von Xb zu IVb. 160 mg  $\beta$ -Methyl-4-O-acetyl- $\alpha$ -digitoxosid-3-phenylurethan (Xb) wurden in 2 ml abs. Methanol gelöst, mit 0,3 ml ca. 0,5-proz. Natriummethylat-Lösung versetzt und 1,5 Std. stehengelassen. Dann neutralisierte man mit Essigsäure und dampfte im Vakuum ein. Der Rückstand wurde in Benzol gelöst und durch Aluminiumoxid filtriert. Aus dem Filtrat wurden 132 mg Rohprodukt erhalten, die sich aus Äther-Pentan in Kristallen vom Smp. 118–119° abschieden;  $[\alpha]_D^{21} = +33,3^\circ$  ( $c = 0,481$  in 95-proz. Pyridin). Der Misch-Smp. mit dem oben isolierten  $\beta$ -Methyl- $\alpha$ -digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVb) zeigte keine Depression, die IR.-Spektren der Präparate waren identisch (Fig. 6).

$C_{14}H_{19}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$CH_3O$ 11,0%
(281,31)	Gef. .. 59,9	,, 7,0	,, 28,5	,, 4,9	,, 11,1%

$\beta$ -Methyl-4-O-acetyl- $\alpha$ -digitoxosid-3-phenylurethan (Xb) aus IVb. 140 mg  $\beta$ -Methyl- $\alpha$ -digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVb) wurden in 1 ml abs. Pyridin mit 1 ml Acetanhydrid 20 Std. bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurden 156 mg rohes Acetat erhalten, die aus Methanol-Wasser-(4:1) 86 mg farblose Kristalle vom Smp. 122–125° lieferten;  $[\alpha]_D^{21} = +84,8^\circ$  ( $c = 0,554$  in 95-proz. Pyridin). Aus den Mutterlaugen konnten weitere 54 mg vom gleichen Smp. isoliert werden. Das Präparat erwies sich nach Rf-Wert, Misch-Smp. und IR.-Spektrum identisch mit Xb; vgl. Fig. 5.

$C_{16}H_{21}O_6N$	Ber. C 59,4	H 6,6	O 29,7	N 4,3	$CH_3O$ 9,6	$CH_3CO$ 13,3%
(323,35)	Gef. .. 59,4	,, 6,5	,, 29,4	,, 4,3	,, 9,3	,, 12,9%

$\beta$ -Methyl- $\alpha$ -digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIb) aus IVb. 562 mg IVb wurden mit 480 mg Phenylisocyanat in 5 ml abs. Pyridin 2 Std. bei 40° erwärmt und wie oben aufgearbeitet. Man erhielt 563 mg Kristalle vom Smp. 110–113°/147–148°.  $[\alpha]_D^{21} = +112,7^\circ$  ( $c = 0,511$  in 95-proz. Pyridin).

$C_{21}H_{24}O_6N_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$CH_3O$ 7,8%
(400,44)	Gef. .. 63,0	,, 6,1	,, 23,7	,, 7,2	,, 7,7%

Das Präparat war mit dem oben beschriebenen VIIb identisch (IR.-Spektrum).

$\alpha$ -Methyl-3,4-di-O-acetyl- $\alpha$ -digitoxosid (XII). 4,70 g  $\beta$ -1,3,4-Tri-O-acetyl- $\alpha$ -digitoxose (XIII)<sup>26)</sup> wurden in 50 ml 0,1-proz. abs. methanolischer Salzsäure bei 20° stehengelassen. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt (Kieselgel/Chloroform+2% Alkohol) und war nach 75 Min. beendet; es lagen ca. 80%  $\alpha$ -Anomeres (XII) und ca. 20%  $\beta$ -Anomeres vor. Man neutralisierte die Lösung mit  $BaCO_3$ , filtrierte und dampfte im Vakuum ein. Der Rückstand wurde mit warmem Benzol digeriert und lieferte nach Einengen 2,97 g Kristalle aus Benzol-Pentan. Umkristallisierten aus Äther-Pentan ergab 1,60 g sechseckige Plättchen (XII) vom Smp. 82–83° (Umwandlung bei 76–78°);  $[\alpha]_D^{21} = +221^\circ$  ( $c = 0,582$  in Pyridin). IR.-Spektrum ( $CCl_4$ ): Acetatbanden bei 1750 (Schulter) und 1740  $cm^{-1}$ .

$C_{11}H_{18}O_8$	Ber. C 53,6	H 7,4	O 39,0	$CH_3O$ 12,6	$CH_3CO$ 35,0%
(246,27)	Gef. .. 53,8	,, 7,5	,, 38,7	,, 12,5	,, 35,5%

$\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIa). Eine Lösung von 2,18 g Diacetat XII in 20 ml Methanol wurde mit 2,0 ml einer ca. 0,5-proz. abs. Natriummethylat-Lösung versetzt und eine Stunde bei 20° stehengelassen. Nach Neutralisation mit Essigsäure dampfte man ein und destillierte das Rohprodukt im Hochvakuum. Die Ausbeute betrug 1,01 g farbloser Sirup,  $[\alpha]_D^{21} = +192,5^\circ$  ( $c = 0,482$  in Methanol)<sup>30)</sup>.

$C_7H_{14}O_4$	Ber. C 51,8	H 8,7	O 39,5	$CH_3O$ 19,1%
(162,19)	Gef. .. 51,8	,, 8,8	,, 39,8	,, 19,0%

$\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan (VIIa). Eine Lösung von 822 mg  $\alpha$ -Methyl- $\alpha$ -digitoxopyranosid (XI) in 5 ml abs. Pyridin wurde mit 3 g Phenylisocyanat versetzt und 2 Std. auf 40° erwärmt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Aus Äthanol-Pentan wurden Kristalle vom Smp. 65–74° erhalten; die Ausbeute betrug 83%;  $[\alpha]_D^{21} = +214,3^\circ$  ( $c = 0,572$  in

<sup>30)</sup> BOLLIGER & ULRICH<sup>23)</sup> fanden:  $[\alpha]_D^{20} = +192^\circ$  in Methanol.

95-proz. Pyridin). IR.-Spektrum in  $\text{CHCl}_3$ : Banden bei 3340 (NH), 1735, 1530 (Amid), 1600, 1450, 1310  $\text{cm}^{-1}$  (aromat. Ring). Zur Analyse wurde im Hochvakuum überschmolzen.

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{N}_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$\text{CH}_3\text{O}$ 7,8%
(400,44)	Gef. ,	62,7	, 6,0	, 24,1	, 7,2

(400,44) Gef. , 62,7 , 6,0 , 24,1 , 7,2 , 7,8%

Anomerisierung von VIIa zu VIIb: 2,02 g VIIa wurden in 30 ml Benzol gelöst, mit 4 ml 5-proz. abs. methanolischer Salzsäure versetzt und 2 Std. auf 50° erwärmt. Nach Neutralisation mit  $\text{BaCO}_3$  und üblicher Aufarbeitung wurden 1,14 g rohes VIIb erhalten. Zweimaliges Umkristallisieren aus Methanol-Wasser ergab 606 mg einheitliches  $\beta$ -Anomeres VIIb vom Doppelsmp. 107–111°/145–147°;  $[\alpha]_D^{21} = +112,6^\circ$  ( $c = 0,629$  in 95-proz. Pyridin). Die Identifizierung des Präparates erfolgte durch Misch-Smp., Rf-Werte und IR.-Spektrum (vgl. vorstehende Mitt.<sup>1</sup>).

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_6\text{N}_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$\text{CH}_3\text{O}$ 7,8%
(400,44)	Gef. ,	63,1	, 6,3	, 24,2	, 7,4

(400,44) Gef. , 63,1 , 6,3 , 24,2 , 7,4 , 7,5%

Isomere Methylglykoside IVa, IVb, Va und Vb aus VIII. 30 mg Digitoxose-3-phenylurethan (VIII) wurden in 0,5 ml 0,25-proz. abs. methanolischer Salzsäure bei 20° stehengelassen. In verschiedenen Zeitintervallen wurden Proben entnommen und die Reaktionsprodukte mittels Dünnschichtchromatographie bestimmt ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ /Chloroform + 1,6% Äthanol). Bei kurzen Reaktionszeiten (0,5–3 Std.) traten die Furanoside (Va/b) als Hauptprodukte auf; längere Reaktionszeiten (24–48 Std.) erhöhten den Anteil an Pyranosiden (IVa/b). Analoge Versuche wurden auch mit 1,5-proz. und 5-proz. methanolischer Salzsäure unternommen. Nach ca. 3 Std. waren Furanoside und Pyranoside (IVa/b, Va/b) im Verhältnis 1:1 festzustellen. Längere Säureeinwirkung steigerte den Anteil an Pyranosiden (IVa/b) auf ca. 60%.

1,4-Di-O-acetyl-D-digitoxose-3-phenylurethan (XIV). 1,0 g D-Digitoxose-3-phenylurethan (VIII) wurde unter Eiskühlung in 4 ml abs. Pyridin und 4 ml Essigsäureanhydrid gelöst und 20 Std. bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung erhielt man ein Rohprodukt, das im Dünnschichtchromatogramm ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ /Chloroform + 0,5% Äthanol) einen Haupt- und drei Nebenflecke zeigte. Kristallisation aus Methanol lieferte 970 mg einheitliches Pyranosid (XIV) in Form von Stäbchen; Smp. 206–207°,  $[\alpha]_D^{21} = +102,3^\circ$  ( $c = 0,488$  in 95-proz. Pyridin). Das IR.-Spektrum (Nujol) zeigte charakteristische Banden bei 3350 (NH), 1760 (Acetat), 1730 und 1540  $\text{cm}^{-1}$  (Amid).

$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{N}$	Ber. C 58,1	H 6,0	O 31,9	N 4,0	$\text{CH}_3\text{CO}$ 24,5%
(351,36)	Gef. ,	57,9	, 5,8	, 31,2	, 4,2

(351,36) Gef. , 57,9 , 5,8 , 31,2 , 4,2 , 25,1%

Aus den Mutterlaugen konnten 149 mg Furanosid XV (siehe unten) isoliert werden.

Methanolysen der Diacetylverbindung XIV zu Xa/b und IVa/b. Eine Lösung von 1,41 g 1,4-Di-O-acetyl-D-digitoxose-3-phenylurethan (XIV) in 40 ml 0,1-proz. abs. methanolischer Salzsäure wurde 3 Std. auf 50° erwärmt. Die Aufarbeitung erfolgte wie beschrieben und ergab 1,36 g Methylglykoside. Auf Grund des Dünnschichtchromatogramms (Kieselgel/Chloroform + 3% Äthanol) lagen die Anomeren Xa und Xb im Verhältnis ca. 2:1 vor. Das Anomerengemisch wurde in 20 ml Methanol gelöst, mit 1 ml 0,5-proz. Natriummethylat-Lösung versetzt und bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach 2 Std. säuerte man mit 1-proz. methanolischer Salzsäure auf pH 2–3 an und hielt die Lösung weitere 2 Stunden bei 50°. Die Aufarbeitung lieferte 1,15 g Desacetyldeivate, die nach dem Dünnschichtchromatogramm ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ /Chloroform + 1,6% Äthanol) beurteilt aus den Anomeren IVa und IVb (ca. 1:1) bestanden. Die Trennung der beiden Anomeren erfolgte durch Chromatographie an Aluminiumoxid (WOELM, Akt. 3). Mit Benzol und Benzol-Äther-(9:1) liessen sich 413 mg  $\alpha$ -Form (IVa), mit Benzol-Äther-(9:1) und -(1:1) und mit Chloroform-Methanol-(95:5) 493 mg einheitliche  $\beta$ -Form (IVb) eluieren.

$\alpha$ -Methyl-D-digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVa). Die oben erhaltene Fraktion (413 mg) wurde nachchromatographiert und als reines, aber amorphes Präparat gewonnen,  $[\alpha]_D^{20} = +182,7^\circ$  ( $c = 0,509$  in 95-proz. Pyridin).

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$\text{CH}_3\text{O}$ 11,0%
(281,31)	Gef. ,	59,9	, 6,8	, 28,3	, 5,3

(281,31) Gef. , 59,9 , 6,8 , 28,3 , 5,3 , 10,7%

$\beta$ -Methyl-D-digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVb). Das aus der oben beschriebenen Chromatographie erhaltene Präparat (493 mg) wurde mehrmals aus Äther-Pentan umkristallisiert und ergab farblose Nadeln vom Smp. 119–120°;  $[\alpha]_D^{21} = +33,3^\circ$  ( $c = 0,524$  in 95-proz. Pyridin). Die Identität mit dem früher beschriebenen Präparat ergab sich aus dem Vergleich der IR.-Spektren (Fig. 6) und der Rf-Werte.

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_5\text{N}$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0	$\text{CH}_3\text{O}$ 11,0%
(281,31)	Gef. ,	60,0	, 6,8	, 28,6	, 5,3

(281,31) Gef. , 60,0 , 6,8 , 28,6 , 5,3 , 11,2%

$\alpha$ -Methyl-D-digitoxosid-3,4-bis-phenylurethan VIIa aus IVa. 425 mg  $\alpha$ -Methyl-D-digitoxopyranosid-3-phenylurethan (IVa) wurden in 3 ml abs. Pyridin gelöst und mit 720 mg Phenylisocyanat 2 Std. auf 40° erwärmt. Nach üblicher Aufarbeitung liessen sich 637 mg Rohprodukt gewinnen, die aus Äthanol-Pentan zu farblosen Nadelbüscheln vom Smp. 64–71° kristallisierten;  $[\alpha]_D^{20} = +217^\circ$  ( $c = 0,541$  in 95-proz. Pyridin). Die Identität des Präparates mit dem aus XI gewonnenen Bis-phenylurethan VIIa wurde durch Misch-Smp., IR.-Spektrum und Rf-Wert bestätigt.

$C_{21}H_{24}O_6N_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$CH_3O$ 7,8%	
(400,44)	Gef. ,	62,6	, 5,9	, 24,1	, 7,2	, 7,4%

1,5-Di-O-acetyl-D-digitoxofuranose-3-phenylurethan (XV). Eine Lösung von 3 g D-Digitoxose-3-phenylurethan (VIII) in 14 ml abs. Pyridin wurde 30 Min. auf 70° erwärmt, dann auf 30° abgekühlt und mit 12 ml Acetanhydrid versetzt. Nach 1stdg. Erwärmen auf 60° wurde wie üblich aufgearbeitet. Mehrmalige Kristallisation des Rohproduktes aus Methanol ergab 2,27 g Diacetylpyranose XIV vom Smp. 203–205° (s. oben). Kristallisation der Mutterlauge aus Äther-Pentan oder reinem Äther lieferte 797 mg Kristalle (XV) vom Smp. 143–144°;  $[\alpha]_D^{21} = -40,8^\circ$  ( $c = 0,551$  in 95-proz. Pyridin). Im IR.-Spektrum (Nujol) traten folgende Banden auf: 3340 (NH), 1738, 1255 (Acetat), 1717 und 1550  $cm^{-1}$  (Amid). Das Präparat war im Dünnschichtchromatogramm einheitlich; eine Verunreinigung durch das Pyranosid XIV war nicht nachzuweisen.

$C_{17}H_{21}O_5N$	Ber. C 58,1	H 6,0	O 31,9	N 4,0	$CH_3CO$ 24,5%	
(351,36)	Gef. ,	58,0	, 5,8	, 31,6	, 4,0	, 24,4%

$\alpha$ -Methyl-5-O-acetyl-D-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (XVI) und  $\alpha$ -Methyl-D-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (Va) aus XV. 300 mg 1,5-Di-O-acetyl-D-digitoxofuranose-3-phenylurethan (XV) wurden mit 20 ml Methanol und 10 ml 0,2-proz. abs. methanolischer Salzsäure versetzt und 30 Min. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Aufarbeitung erfolgte wie schon beschrieben und ergab 276 mg rohes  $\alpha$ -Methyl-5-O-acetyl-D-digitoxofuranosid-3-phenylurethan (XVI). Behandlung dieses Präparates mit Natriummethylat-Lösung (3 Std., 20°), Neutralisation mit Essigsäure und Kristallisation des Rohproduktes aus Methanol-Wasser lieferte 202 mg Desacetyl derivat vom Smp. 111–112°;  $[\alpha]_D^{21} = +178^\circ$  ( $c = 0,466$  in 95-proz. Pyridin). Das Präparat erwies sich nach Misch-Smp., Rf-Wert und IR.-Spektrum identisch mit dem oben erwähnten Furanosid Va.

$C_{14}H_{19}O_5N$	Ber. C 59,8	H 6,8	O 28,4	N 5,0%	
(281,31)	Gef. ,	59,7	, 6,8	, 28,1	, 5,1%

$\alpha$ -Methyl-D-digitoxofuranosid-3,5-bis-phenylurethan. Diese Verbindung wurde aus Va mit Phenylisocyanat entsprechend VIIb bereitet. Aus Benzol-Pentan, nachher aus 75-proz. Methanol, Nadeln vom Smp. 167–168°;  $[\alpha]_D^{20} = +121,8^\circ$  ( $c = 0,518$  in 95-proz. Pyridin).

$C_{21}H_{24}O_6N_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$CH_3O$ 7,8%	
(400,44)	Gef. ,	62,9	, 6,0	, 24,1	, 7,2	, 7,6%

$\beta$ -Methyl-D-digitoxofuranosid-3,5-bis-phenylurethan. Diese Verbindung wurde analog aus Vb bereitet. Aus Benzol-Pentan, nachher aus 90-proz. Methanol, Nadeln vom Smp. 135–136°;  $[\alpha]_D^{20} = -13,4^\circ$  ( $c = 0,525$  in 95-proz. Pyridin).

$C_{21}H_{24}O_6N_2$	Ber. C 63,0	H 6,0	O 24,0	N 7,0	$CH_3O$ 7,8%	
(400,44)	Gef. ,	63,2	, 5,9	, 23,8	, 7,0	, 7,8%

## SUMMARY

The reaction with phenylisocyanate transformed both acetyldigitoxin- $\alpha$  and acetyldigitoxin- $\beta$  into their tris-phenylurethanes (I and IX, respectively). By degradation of these derivatives, the constitutions of the deglucosidoligosides could be elucidated. In acetyldigitoxin- $\alpha$ , the characteristic acetyl group is attached to C-3 of the terminal digitoxose unit, while the acetyl group of acetyldigitoxin- $\beta$  is located at C-4 of the terminal sugar. The reversible rearrangement of the isomeric acetyl-digitoxins represents an acyl migration.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien,  
SANDOZ AG, Basel