

DIE BESTANDTEILE DES GIFTIGEN GLYKOSIDHARZES AUS *IPOMOEA FISTULOSA* MART. ET CHOIS.

GÜNTER LEGLER

Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn, Germany

(Eingegangen 10 August 1964)

Abstract—From the leaves of *Ipomoea fistulosa* (Convolvulaceae) a resinous high-molecular-weight ester glycoside has been isolated, similar to the resins found in the underground organs of other convolvulaceae. It consists of 7-hydroxy decanoic acid, 11-hydroxy tetradecanoic acid, 11-hydroxy hexadecanoic acid, and 3,11-dihydroxy tetradecanoic acid glycosidically bound to several residues of D-glucose, D-fucose, D-quinovose, and L-rhamnose to form glycosidic acids with an equivalent weight of 800 to 1300. A part of the 7-hydroxy-decanoic acid was isolated as a β -D-quinovoside. The glycosidic acids are esterified with each other to form a mixture of closely related polyesters with an average molecular weight of about 25,000, showing a broad distribution curve in the ultracentrifuge. A part of the free hydroxyl groups is esterified with tiglic acid, with saturated C₂, C₄, and C₅ acids and with 3,11-dihydroxy tetradecanoic acid.

Die bisher noch nicht untersuchte *Ipomoea fistulosa* (Convolvulaceae) ist in Paraguay unter dem Namen Mandy yú rá als giftige Pflanze bekannt. Der ganz überwiegend in den Blättern lokalisierte Wirkstoff wurde als ein Gemisch hochmolekularer Esterglykoside erkannt, wie es ähnlich auch schon in anderen Convolvulaceen gefunden wurde, hier allerdings in den unterirdischen Teilen der Pflanze bzw. bei *Pharbitis nil* in den Samen.¹ Diese Glykoside bestehen aus Mono- oder Dihydroxyfettsäuren, deren Hydroxylgruppen glykosidisch mit Oligosaccharidresten verknüpft sind. Über die Carboxylgruppe sind mehrere (10–30) solcher Glykosidsäuren esterartig miteinander verbunden.² Ein Teil der noch freien Hydroxylgruppen ist verestert mit niedermolekularen Carbonsäuren. Die hochmolekularen, im allgemeinen harzartigen Glykoside wirken stark schleimhautreizend, sind drastische Abführmittel und haben hämolytische Eigenschaften.

Isolierung und Eigenschaften. Die mit Methylenchlorid von Chlorophyll und Lipiden befreiten Blätter wurden mit Methanol erschöpfend extrahiert und der Eindampfrückstand zwischen 50% wässrigem Methanol und Chloroform verteilt. Der beim Eindampfen der Chloroformphase hinterbleibende Rückstand wurde mit Benzol:Chloroform 1:1 gewaschen. Die Ausbeute an braunem Harz mit den oben genannten physiologischen Eigenschaften betrug 20–40 g pro kg trockener Blätter. Durch Lösen in Äthanol und Fällen mit Isopropanol wurde das Harz in zwei Fraktionen A (löslich) und B (unlöslich) getrennt, die abgesehen vom Löslichkeitsverhalten keine qualitativen Unterschiede zeigten. Eine Bestimmung des Verseifungsäquivalents ergab für A einen um 15% höheren Gehalt an Estergruppen als für B.

Fraktion B wurde weiter gereinigt durch Chromatographie an Aktivkohle: Celite 1:1 mit Methanol–20–50% Chloroform als Elutionsmittel. Das gereinigte Produkt war ein farbloses, sprödes Harz, praktisch unlöslich in Wasser und hydroxylfreien Lösungsmitteln, schwer löslich in höheren Alkoholen, leicht löslich in Methanol und Äthanol und in Methanol–Chloroformgemischen. Das UV-Spektrum zeigte nur eine Bande bei 215 m μ , die der esterar-

¹ A. TSCHIRCH, *Handb. Pharmakognosie* Bd. 2, II, 1320 Tauchnitz, Leipzig (1917).

² C. MANNICH und P. SCHUMANN, *Arch. Pharm.* 276, 211 (1938).

tig gebundenen Tiglinsäure zuzuschreiben ist, die in einer Menge von 4.3% isoliert werden konnte. Die osmometrische Molekulargewichtsbestimmung ergab Werte von 11000 und 26000 je nach Porengrösse der Osmometermembran. Die Untersuchung in der Ultrazentrifuge zeigte eine relativ breite Molekulargewichtsverteilung mit einem Maximum bei 23000 (berechnet aus der Sedimentationskonstanten unter der Annahme kugelförmiger Teilchen).

Zusammensetzung

Zur weiteren Untersuchung wurde Fraktion *B* zunächst mit Bariumhydroxidlösung behandelt, um alle Esterbindungen zu spalten.² Das mit Schwefelsäure vom Barium befreite Hydrolysat wurde durch Ausschütteln mit Äther und Essigester in drei Fraktionen aufgetrennt.

Die ätherlösliche Fraktion enthielt Tiglinsäure und mehrere gesättigte Säuren die sich papierchromatographisch wie Essigsäure, Butter- bzw. Isobuttersäure und n-Valerian- bzw. Isovaleriansäure verhielten, die jedoch nicht weiter untersucht wurden. Ein Teil der in Äther löslichen Säuren liess sich bei tiefer Temperatur mit Petroläther fällen. Der Hauptbestandteil dieser schwerlöslichen Fraktion war 3,11-Dihydroxytetradecansäure, wie durch Vergleich mit der aus dem Säurehydrolysat (s. unten) erhaltenen Substanz festgestellt wurde.

Aus dem in Essigester löslichen Anteil wurde als Hauptprodukt durch Chromatographie an Kieselgel und Fällung als S-Benzyl-isothiuroniumsalz eine Polyhydroxysäure $C_{16}H_{30}O_7$ isoliert. Säurehydrolyse ergab Chinovose und 7-Hydroxydecansäure, die auch bei der Hydrolyse mit Emulsin gebildet wurden. Daraus folgt die β -glykosidische Verknüpfung der beiden Komponenten.

Bei dem in der wässrigen Phase verbliebenen Anteil handelt es sich um ein kompliziertes Gemisch höherer Glykosidsäuren. Durch kontinuierliche Papierelektrophorese konnten zwar verschiedene Fraktionen mit einem Äquivalentgewicht von 800 bis 1300 erhalten werden. Ihre dünnschichtchromatographische Untersuchung zeigte jedoch, dass die einzelnen Fraktionen noch aus 3-6 verschiedenen Substanzen bestanden. Versuche, die dünnschichtchromatographische Trennung im präparativen Massstab durchzuführen hatten keinen Erfolg.

Das Gemisch der Glykosidsäuren wurde deshalb ohne weitere Auftrennung mit 4 N Salzsäure in 50% wässrigem Methanol durch Kochen unter Rückfluss hydrolysiert. Um die Bildung von Zersetzungsprodukten möglichst gering zu halten wurde die Lösung während der Hydrolyse mit Benzol überschichtet. Die freigesetzten Hydroxyfettsäuren gingen dabei fast quantitativ als Methylester in die Benzolphase. In der Benzolphase liessen sich dünnschichtchromatographisch vier Verbindungen *A* bis *D* nachweisen, die durch Säulenchromatographie an Aluminiumoxid isoliert wurden. Da die Trennung der Verbindungen *A* und *B* nicht vollständig war, wurden diese weiter durch mehrfache präparative Dünnschichtchromatographie gereinigt. Bei allen Verbindungen handelte es sich um die Methylester von unverzweigten Hydroxyfettsäuren, wie aus dem Verhalten gegen Alkali und gegen Chromsäure sowie aus den IR- und NMR-Spektren hervorging. Ihre Struktur ergab sich wie folgt:

Verbindungen

(*A*) $C_{15}H_{30}(OH)-CO-OCH_3$, Schmp. 41.5-42.5°. Die durch Verseifung erhaltene Säure schmolz bei 62-64°. Nach den Literaturangaben³ konnte es sich um 11-Hydroxy-

³ Y. ASAHINA und J. YAOI, *J. Pharm. Soc. (Japan)* 523, 786 (1925).

hexadecansäuremethylester handeln. Da für weitere Reaktionen zu wenig Substanz zur Verfügung stand, wurde das Massenspektrum aufgenommen und mit dem Massenspektrum des 11-Hydroxyhexadecansäuremethylesters verglichen. Die beiden Spektren waren identisch.

(B) $C_{13}H_{26}(OH)-CO-OCH_3$, Schmp. 30–31°. Die durch Verseifung erhaltene Säure schmolz bei 49–50°, die durch Oxydation mit Chromtrioxid erhaltene Ketosäure bei 60–63°. Auf Grund dieser Daten konnte es sich um 11-Hydroxytetradecansäuremethylester (Convolvulinolsäuremethylester)⁴ handeln, was durch Vergleich der Ketosäure mit authentischer 11-Ketotetradecansäure bestätigt wurde. Da die Übereinstimmung der Schmelzpunkte mit den Literaturangaben nicht sehr gut war und die Analysendaten auch mit einem Hydroxypentadecansäuremethylester noch vereinbar waren, wurde auch noch das Massenspektrum der Verbindung B mit dem des 11-Hydroxytetradecansäuremethylesters verglichen und als identisch gefunden. Dieser zusätzliche Vergleich erschien notwendig, da in der älteren Literatur die Convolvulinolsäure als 11-Hydroxypentadecansäure angesprochen wurde⁵ und auch in neuerer Zeit wieder über das Vorkommen einer Hydroxypentadecansäure mit ähnlichem Schmelzpunkt berichtet wurde,⁶ allerdings ohne Strukturbeweis.

(C) $C_9H_{18}(OH)-CO-OCH_3$, Öl. Die durch Verseifung erhaltene Säure war ebenfalls ölig, die mit Chromtrioxid erhaltene Ketosäure schmolz bei 38·5–40·5°. Von den bisher in der Literatur beschriebenen Ketodecansäuren zeigte keine den hier gefundenen Schmelzpunkt. Da nur die 7-Ketodecansäure noch nicht beschrieben war, wurde sie aus Pimelinsäuremonomethylesterchlorid und Dipropylcadmium synthetisiert und mit der aus Verbindung C erhaltenen Ketosäure verglichen. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt, IR-Spektren und chromatographisches Verhalten waren gleich.

Als erstes n-Decansäurederivat wurde kürzlich die schon länger bekannte Exogonsäure aus *Ipomoea operculata* in ihrer Struktur aufgeklärt und als 3,6–6,9-Dioxidodecansäure erkannt.⁷

(D) $C_{13}H_{25}(OH)_2-CO-OCH_3$, Schmp. 69–71°, Schmp. der Säure 100–102°. Aus der UV-Absorption des *p*-Nitrobenzoats bei 259 m μ ging die Anwesenheit von zwei Hydroxylgruppen hervor. Oxydation der Verbindung D mit Chromtrioxid ergab eine Mono- und eine Diketo-Verbindung. Das UV-Spektrum der letzteren sprach für einen β -Ketoester. Diese Beobachtungen deuteten auf die Identität der Verbindung D mit 3,11-Dihydroxytetradecansäuremethylester,^{8,9} jedoch schienen eine positive Jodoformreaktion und die C-Methylbestimmung nach Kuhn-Roth dem zu widersprechen. Die quantitative Auswertung der Jodoformreaktion ergab allerdings einen Wert, der wesentlich niedriger lag als man bei einer CH_3-CHOH -Gruppierung erwarten sollte. Der Abbau des mit Chromtrioxid erhaltenen Diketoesters mit Kaliumpermanganat zur 9-Ketodecansäure sowie die Reduktion des Di-*p*-Toluolsulfonats von D mit Lithiumalanat zum n-Tetradecanol bestätigten jedoch die zuerst vermutete Struktur. Die Ergebnisse der Jodoformreaktion und der C-Methylbestimmung sind wahrscheinlich auf eine Decarboxylierung der intermediär auftretenden 3,11-Diketotetradecansäure zum Methylketon zurückzuführen.

Der relative Anteil der Verbindungen A, B, C und D scheint ebenso wie der Gesamtgehalt der hier untersuchten Glykoside grossen Schwankungen zu unterliegen. Bei einer im Januar

⁴ T. KAWASAKI, *J. Pharm. Soc. (Japan)* 70, 485 (1950).

⁵ Y. ASAHINA und M. AKASU, *J. Pharm. Soc. (Japan)* 523, 1 (1925).

⁶ E. J. SHELLARD, *Planta Med.* 9, 102 (1961).

⁷ E. GRAF und E. DAHLKE, *Naturwiss.* 51, 264 (1964).

⁸ F. B. POWER und H. ROGERSON, *J. Am. Chem. Soc.* 32, 80 (1910).

⁹ Y. ASAHINA und T. SHIMIDZU, *J. Pharm. Soc. (Japan)* 479, 1 (1922).

gesammelten Probe war das Verhältnis $A:B:C:D$ ungefähr 1:4:14:10 (Glykosidgehalt ~ 40 g/kg), bei einer im Juni gesammelten Probe ungefähr 1:3:1:5 (Glykosidgehalt ~ 20 g/kg).

Die beim Ausschütteln des sauren Hydrolysats mit Benzol zurückgebliebene Methanol-Wasser-Phase wurde mit Wasser verdünnt und durch Ausschütteln mit einer Lösung von *N*-Methyl-di-*n*-octylamin in Chloroform von Salzsäure befreit. Der beim Einengen erhaltene Sirup wurde an Cellulosepulver mit wasserhaltigem Butanol chromatographiert, wobei sich zeigte, dass unter den Hydrolysebedingungen die Zucker zum grossen Teil in die Methylglykoside übergeführt worden waren. Folgende Verbindungen wurden isoliert und durch chromatographischen Vergleich, Drehung und gegebenenfalls Mischschmelzpunkt mit authentischem Material identifiziert: Methyl- α -L-rhamnosid (als Triacetat), Methyl- α -D-Fucosid und Methyl- α -D-glucosid. Methylchinovosid bzw. Chinovose konnte nicht als kristallines Derivat erhalten werden, jedoch wurde mit authentischem Material ein Vergleich der Drehung und des chromatographischen Verhaltens durchgeführt. Die den Methylglykosiden entsprechenden Zucker wurden papier- und dünnschichtchromatographisch identifiziert.

Für das molare Mengenverhältnis der Zucker wurde nach Hydrolyse mit Dowex 50 gefunden Glucose:Fucose:(Chinovose + Rhamnose) = 1:0.4:1:0.90. Bemerkenswert ist das Überwiegen der 6-Deoxyzucker gegenüber Glucose.

Sieht man von dem z.T. hohen Anteil der 7-Hydroxydecansäure ab, dann verhält sich das hier untersuchte Esterglykosid in der Aglykonzusammensetzung ähnlich wie die Harze aus *I. purga*⁶ und *I. orizabensis*.¹⁰ Mit diesen Harzen hat das Harz aus *I. fistulosa* auch den hohen Anteil an Fucose gemeinsam. Eine quantitative Untersuchung der Zuckerzusammensetzung ist bisher erst einmal veröffentlicht.¹¹ Auterhoff und Demleitner fanden beim Harz aus *I. orizabensis* für das Verhältnis D-Glucose:D-Fucose:L-Rhamnose 1:0.39:0.45 und für das Harz aus *I. purga* (nach Shellard^{6,10}) handelt es sich wahrscheinlich um das Harz aus *I. operculata* 1:0.08:0.48.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Für die Chromatographie wurden folgende Trägersubstanzen verwendet: Dünnschichtchromatographie,¹² Kieselgel G (E. Merck, Darmstadt); Säulenchromatographie, Aluminiumoxid Woelm, neutral (M. Woelm, Eschwege), deaktiviert mit 6%, Wasser; Kieselgel, Korngrösse 63–90 μ (Gebr. Hermann, Köln); Papierchromatographie, Pater 2043 b Mgl (Schleicher u. Schüll, Düren).

Folgende Lösungsmittelsysteme erwiesen sich für die Dünnschichtchromatographie als besonders geeignet: (Mischungsverhältnis V V).

Für Hydroxyfettsäuremethylester: (1) Chloroform; (2) Benzol: Methanol 98:2; (3) Chloroform: Essigester 5:1

Für Ketoester: (4) Tetrachlorkohlenstoff: Aceton 99:1; (5) Chloroform: Methanol 98:2.

Für Ketosäuren: (6) Cyclohexan: Essigester 3:1.

Für Zucker und Methylglykoside: (7) Essigester: Pyridin: Wasser 20:5:0.5.

Beim System 6 wurden die Platten vorher durch Besprühen mit 20% Eisessig in Chloroform deaktiviert, beim System 7 durch Besprühen mit Wasser (~ 80 mg/g Kieselgel).

¹⁰ E. J. SHELLARD, *Planta Med.* **9**, 141 (1961).

¹¹ H. AUTERHOFF und H. DEMLEITNER, *Arzneimittel-Forsch.* **5**, 402 (1955).

¹² R. TSCHESCH, W. FREYTAG und G. SNATZKE, *Chem. Ber.* **92**, 3053 (1959).

Die Papierchromatographie erfolgte in den Systemen:

Für Zucker: (8) Essigester:Pyridin:Wasser 3·6:1:1·15,¹³ obere Phase; (9) Butanol:Äthanol 4:1 (Papier mit Borat¹⁴ imprägniert).

Für niedere Fettsäuren: (10) Isopropanol:25% wässr. Ammoniak 9:1.

Nachweisreagenzien waren: Chlorsulfonsäure (20% in Eisessig) für die Hydroxyfett-säuremethylester und die Methylglykoside, 2,4-Dinitrophenylhydrazin¹⁶ in Äthanol/HCl für die Ketoester und Ketosäuren, Anilinphthalat¹⁷ und Triphenyltetrazoliumchlorid¹⁸ für die Zucker und Methylrot¹⁹ für die niederen Fettsäuren. Bei der präparativen Dünnschichtchromatographie wurden die Platten mit einer Lösung von 3,5-Dihydroxypyren-8,10-disulfonsaurem Natrium (0·02% in Methanol) besprüht.²⁰ Die Verbindungen ergaben hellblau fluoreszierende Zonen auf grünlichem Untergrund (Beleuchtung mit einer Analysenquarzlampe bei ~ 360 m μ).

Die IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer Spektralphotometer 221 in Chloroform oder Kaliumbromid aufgenommen, die UV-Spektren mit einem Spektralphotometer Cary 14 in Methanol und die Kernresonanzspektren mit einem Varian A 60 in Deuteriochloroform. Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte mit dem Gerät CH 4 der Atlas Mess- und Analysetechnik, Bremen. Die Elementaranalysen wurden in der analytischen Abteilung des Instituts und von Dr. F. Pascher, Bonn, ausgeführt.

Die osmotrische Molekulargewichtsbestimmung erfolgte im Einkammerosmometer nach Hellfritz¹⁵ mit Ultracellafiltern "feinst" und "allerfeinst" (Membranfilterges. Göttingen) als Membran. Als Lösungsmittel diente Methanol. Vor Gebrauch wurden die Membranfolien 2 Tage in Methanol stehen gelassen, um den Quellungszustand entsprechend einzustellen. Bei Verwendung der Sorte "feinst" war es notwendig, im Anschluss an die Messung die Substanzkonzentration in der Osmometerzelle durch Messung der UV-Absorption bei 215 m μ zu bestimmen, da niedermolekulare Anteile infolge der grösseren Porenweite aus der Zelle diffundierten. Der diffundierende Anteil betrug etwa 30–40%.

Die Untersuchung in der Ultrazentrifuge erfolgte durch die Phywe AG, Göttingen, nach der Philpot Svensson Methode. Die aus dem relativ breiten Maximum ermittelte Sedimentationskonstante betrug $2·6 \pm 0·1$. Mit $V_{\text{spez.}} = 0·78$ ml/g (1% methanolische Lösung) ergibt sich daraus unter der Annahme kugelförmiger Teilchen ein Molekulargewicht von 23000.

Zur Messung der optischen Drehung wurde ein Kreispolarimeter Zeiss-Winkel 0·01° verwendet.

Isolierung der Glykoside. Zwei Kilogramm getrocknete und gemahlene Blätter wurden mit 10 l. Methylenchlorid verrührt, über Nacht stehen gelassen und abgesaugt. Der Rückstand wurde noch 2 mal in Methylenchlorid suspendiert und wieder abgesaugt. Die Extraktion wurde in gleicher Weise mit Methanol wiederholt. Der methanolische Extrakt wurde im Vakuum auf ca. 1·5 l. eingeengt, mit dem gleichen Volumen Wasser versetzt und 3 mal mit 1 l. Chloroform ausgeschüttelt. Der nach dem Eindampfen der Chloroformphase hinterbleibende Rückstand wurde mit Benzol: Chloroform 1:1 durchgeknetet, bis keine gefärbten

¹³ P. COLOMBO, D. CORBETTA, A. PIROTTA, G. RUFFINI und A. SARTORI, *J. Chromatog.* 3, 343 (1960).

¹⁴ M. T. KRAUSS, H. JÄGER, O. SCHINDLER und T. REICHSTEIN, *J. Chromatog.* 3, 63 (1960).

¹⁵ H. HELLFRITZ, *Makrom. Chem.* 7, 184 (1951).

¹⁶ D. WALDIM und E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, S. 503, Springer, Berlin (1962).

¹⁷ K. MACEK, *Handb. Papierchrom.* I, 913, Fischer, Jena (2. Aufl.). (1963)

¹⁸ F. G. FISCHER und H. DÖRFEL, *Z. physiol. Chem.* 297, 164 (1954).

¹⁹ *Chromatographie*, Firmenschrift E. MERCK, Darmstadt, S. 158.

²⁰ R. TSCHESCHE, G. BIERNOTH und G. WULF, *J. Chromatog.* 12, 342 (1963).

Bestandteile mehr in Lösung gingen. Nach dem Trocknen wurde ein braunes sprödes Harz erhalten, dessen Staub die Schleimhäute stark reizte. Die Ausbeute betrug ~ 20 g/kg bei einer im Mai/Juni gesammelten Probe und ~ 40 g/kg bei einer Ende Januar kurz vor Beginn der Regenzeit gesammelten Probe.

Zum Vergleich wurden 280 g Wurzeln mit Methanol extrahiert und der eingeeengte Extrakt wie vorher aufgearbeitet. Es hinterblieben in der Chloroformphase 4.5 g Substanz, von denen jedoch nur 0.2 g in Benzol:Chloroform 1:1 unlöslich waren.

Zur Fraktionierung wurden 70 g Harz in 100 ml Methanol und 800 ml Äthanol gelöst und mit Isopropanol versetzt, bis keine Fällung mehr eintrat (2000 ml). Nach Stehen über Nacht wurde dekantiert und der Niederschlag mit Isopropanol verrieben und getrocknet. Die Ausbeute betrug 30 g *Glykosid B*; weitere 4.7 g fielen beim Einengen der Mutterlauge aus. Die Lösung wurde dann bis zur Trockene eingedampft, in 600 ml Methanol aufgenommen, mit 15 g Aktivkohle versetzt und nach Filtration wieder zur Trockene eingeeengt. Ausbeute 27 g *Glykosid A*.

Zur weiteren Reinigung wurden 35 g *Glykosid B* an einer Säule aus 400 g Aktivkohle (Merck, z.A.) und 400 g Celite 535 chromatographiert. Die Säule war mit Methanol eingeschlämmt und mit 18 g Phenol desaktiviert worden. Über den Flutionsverlauf gibt Tabelle 1 Auskunft.

TABELLE I

Frakt. Nr.	Lösungsmittel	Menge l.	Eluierte Substanz g	Bemerkungen
1	Methanol	6	2.0	Anthronreaktion neg.
2	Methanol-20% CHCl_3	8	3.8	
3	Methanol-50% CHCl_3	8.6	14.7	
4	Methanol- CHCl_3 -Benzol 2:1:1	4	4.3	Stark braun gefärbt

Die Isolierung der Substanz erfolgte durch Einengen der Eluate und Fällung mit Aceton. Das UV-Spektrum der Fraktionen 2 und 3 zeigte ein starkes Maximum bei $216 \text{ m}\mu$ und ein schwaches bei $275 \text{ m}\mu$. Letzteres war nach Dialyse der in Methanol gelösten Substanz nicht mehr nachweisbar. Die spez. Extinktion bei $216 \text{ m}\mu$ betrug bei Fraktion 2 7.11 l./g und bei Fraktion 3 9.17 l./g . Nimmt man an, dass diese Extinktion nur durch esterartig gebundene Tiglinsäure bedingt ist, so erhält man mit der molaren Extinktion des Tiglinsäureäthylesters $\epsilon_{215} = 12100$ einen Tiglinsäuregehalt von 5.9 bzw. 7.6% (berechnet als freie Säure).

Alkalische Hydrolyse von Glykosid B. 10 g *Glykosid B* wurden durch einstündiges Erwärmen auf 35° in einer Lösung von 5 g $\text{Ba(OH)}_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ in 100 ml Wasser gelöst und 20 Std. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure auf pH 3.4 gebracht und nach Abtrennung des Bariumsulfats 3 mal mit 50 ml Äther und 3 mal mit 50 ml Essigester ausgeschüttelt. Nach dem Abdestillieren der Lösungsmittel hinterblieben bei der Ätherphase 1.1 g und bei der Essigesterphase 0.42 g.

In Äther lösliche Säuren. Diese Säuren wurden durch Destillation bei 0.1 Torr und $60-80^\circ$ in folgende Fraktionen aufgetrennt: Kühlfalle (I), Vorlage (II), Sublimat in Kuhler (III), Schwer flüchtiger Rückstand (IV). Die papierchromatographische Untersuchung im System 10 zeigte, dass I hauptsächlich aus Essigsäure bestand. II enthielt Tiglin- und Isovaleriansäure bzw. α -Methylbuttersäure. III bestand aus fast reiner Tiglinsäure (nach Resublimation

Schmp. und Misch-Schmp. mit authentischem Material 63–64°). Aus IV konnte durch Lösen in Äther und Zugabe von Petroläther 40–60° das Hauptprodukt kristallin erhalten werden. Es erwies sich als identisch mit der bei der Säurehydrolyse der Glykosidsäuren erhaltenen 3,11-Dihydroxy-tetradecansäure (Schmp. und Misch-Schmp. 102–103°, Schmp. des Methylesters 70–70·5°). Aus 2·4 g der in Äther löslichen Säuren wurden erhalten: I 0·35 g, II 0·74 g, III 0·12 g, IV 1·05 g.

In Essigester lösliche Säuren. Diese Fraktion zeigte im System 10 einen Hauptfleck, der etwas langsamer lief als Tiglinsäure und zwei weitere dicht unterhalb des Startpunktes. 0·83 g der Säuren wurden an 60 g Kieselgel mit Äthanol:Methanol NH_3 ges. 95:5 chromatographiert (Fraktionsgrösse 20 ml). Aus den Fraktionen 4 bis 10 wurden 480 mg chromatographisch reine Substanz erhalten. Da Kristallisationsversuche ohne Erfolg waren, wurde die Substanz in das S-Benzylisothiuroniumsalz übergeführt das nach dem Umkristallisieren aus wenig Wasser bei 96–100° schmolz (Umwandl. bei 77–9°). Durch Lösen in verd. Salzsäure, Ausschütteln mit Essigester und Zugabe von Äther zu der getrockneten Essigesterlösung wurde die Verbindung als weisses Pulver erhalten. Schmp. 91–93°, $[\alpha]_D^{20} = -42·4^\circ$ (Wasser, $c = 1$). $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_7$ (334·4) (Ber. C 57·46, H 9·04%; Gef. C 57·36, H 9·14%). Die Anthronreaktion war positiv. Zur hydrolytischen Spaltung wurden 20 mg in 1·0 ml 1·5 N H_2SO_4 gelöst und 20 Std. im Einschlussrohr auf 100° erhitzt. Das Hydrolysat wurde mit 5 ml Wasser verdünnt, mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherphase mit Diazomethan versetzt und zur Trockene eingedampft. Die dünn-schichtchromatographische Untersuchung des Rückstandes zeigte einen Fleck, der in den Systemen 2 und 3 mit Verbindung C (7-Hydroxydecansäuremethylester) identisch war. Der wässrige Teil des Hydrolysats wurde nach Entfernung der Schwefelsäure mit Bariumcarbonat zur Trockene eingedampft und in den Systemen 8 und 9 papierchromatographisch untersucht. Es liess sich nur Chinovose nachweisen. Zur enzymatischen Spaltung wurden 10 mg der Säure in 0·5 ml 0·05 M Natriumacetat bei pH 5·8 gelöst und mit 3 mg Emulsin versetzt und 20 Std. bei 35° stehen gelassen. Dünn-schichtchromatographisch war kein Ausgangsmaterial mehr nachweisbar (System Essigester:Eisessig:Wasser 23:2:0·5, Platte durch Einsprühen mit Wasser deaktiviert). Als einzige Reaktionsprodukte traten die gleichen Verbindungen auf wie bei der Hydrolyse mit verd. Schwefelsäure.

Untersuchung der wässrigen Phase. Versuche, die in der wässrigen Phase verbliebenen Glykosidsäuren durch präparative Papierelektrophorese aufzutrennen, wurden in der Apparatur "Elphor VaP" (Bender & Hobein, München) vorgenommen. Die wässrige Phase wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht und zur Trockene eingedampft. Als Puffer diente 0·05 M $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3/\text{NH}_3$ pH 8·3, als Trennbogen wurde Schleicher & Schüll 2651 verwendet, die Spannung betrug 970–1000 V. Die Fliessgeschwindigkeit war so eingestellt, dass für die Elektrophorese 3·5 Std. zur Verfügung standen. Insgesamt wurden 5 g Glykosidsäuren im Verlauf von 48 Std. aufgetragen. Die dünn-schichtchromatographische Untersuchung im System Butanol:Aceton:Wasser:Eisessig 4:5:1:0·02 zeigte in allen Fraktionen die Anwesenheit von 5–8 Flecken, wobei eine gewisse Überlappung festzustellen war. Insgesamt ist mit der Anwesenheit von etwa 20 verschiedenen Glykosidsäuren zu rechnen. Fraktionen, die nach dem Dünn-schichtchromatogramm die gleichen Substanzen enthielten, wurden vereinigt und erneut der Elektrophorese unterworfen. Die Hauptmenge befand sich danach in Fraktionen, die immer noch 3–4 Substanzen enthielt. Eine Isolierung dieser Substanzen durch präparative Dünn-schichtchromatographie gelang nicht, da eine zu starke Überlappung der Zonen stattfand.

Zur Äquivalentgewichtsbestimmung wurden die bei der Elektrophorese erhaltenen

Fraktionen durch eine kurze Austauschersäule mit Dowex 50, H'-Form, filtriert, zur Trockene eingedampft und nach 24 stündigem Trocknen über konz. Schwefelsäure potentiometrisch titriert. Die Werte lagen zwischen 1300 (Fraktion mit den am wenigsten anodisch gewanderten Substanzen) und 800.

Zusammensetzung der Glykosidsäuren. 10 g der Glykosidsäuren, bei einigen Ansätzen auch das noch nicht hydrolysierte Glykosid, wurden in 100 ml Methanol und 100 ml 8 N Salzsäure gelöst und die Lösung nach Zugabe von 100 ml Benzol 6 Std. zum Sieden erhitzt. Die Benzolphase wurde abgetrennt und die wässrige Phase noch zweimal mit Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzollösungen wurden mit NaHCO₃-Lösung gewaschen und zur Trockene eingedampft. Die Gesamtausbeute an Aglykonmethylestern betrug 0.6 bis 0.7 g 10 g Glykosidsäuren.

Die nach der Benzolextraktion zurückgebliebene wässrige Lösung wurde durch Einengen weitgehend vom Methanol befreit, mit Wasser verdünnt und mehrfach mit einer 10 proz. Lösung von *N*-Methyl-di-*n*-octylamin in Chloroform ausgeschüttelt, um die Salzsäure zu entfernen.

Das Gemisch der Aglykonmethylester zeigte in den Systemen 2 und 3, vier Hauptflecke *A*, *B*, *C* und *D* (*D* ist die am stärksten polare Substanz). 3.5 g Aglykonmethylester wurden an 200 g desaktiviertem Aluminiumoxid chromatographiert. Eluiert wurde mit je 1 l. Cyclohexan: Benzol 1:1, Benzol, Benzol: Essigester 20:1 und Benzol: Essigester 5:1. Die Fraktionsgrösse betrug 30 ml. Die auf Grund der dünnschichtchromatographischen Prüfung zusammengehörigen Fraktionen wurden vereinigt und lieferten in der Reihenfolge der Elution folgende Sammelfraktionen (Tabelle 2).

TABELLE 2

Frakt. No.	Gewicht (mg)	Bemerkungen
(1)	295	Reagiert sofort mit KMnO ₄ , Na ₂ CO ₃ , wahrscheinlich Dehydratisierungsprodukt eines Hydroxyesters
(2)	302	<i>A</i> , stark verunreinigt mit <i>B</i>
(3)	920	<i>B</i> , mit wenig <i>A</i> verunreinigt
(4)	70	<i>B</i> und <i>C</i>
(5)	252	<i>C</i> , chromatographisch rein
(6)	1210	<i>D</i> , chromatographisch rein

(2) und (3) wurden durch präparative Dünnschichtchromatographie im System Benzol: Chloroform: Methanol 1:1:0.02 nachgereinigt.

Verbindung A Das nach der Dünnschichtchromatographie erhaltene Material wurde aus Petroläther bei -20° umkristallisiert. Schmp. 41.5–42.5°. C₁₇H₃₄O₃ (286.4) (Ber.: C 71.28, H 11.96%; Gef.: C 71.12, H 11.85%).

11-Hydroxyhexadecansäuremethylester. Undecandisäurediäthylester wurde in üblicher Weise durch Alkoholyse des aus 1,9-Nonandiol über das Dibromid erhaltenen Dinitrils dargestellt. Schmp. der freien Säure 110–111° (Lit. Schmp. 111–112.5°²¹). Partielle Verseifung mit alkoholischer Natronlauge²² oder Erhitzen von äquimolaren Mengen Säure

²¹ D. B. PATTISON und M. CARMACK, *J. Am. Chem. Soc.* **68**, 2034 (1946).

²² C. NATGELI und F. MÜNZEL, *DRP* 554 700, *Friedl.* **19**, 434 (1934).

und Diäthylester mit konz. Salzsäure in Dibutyläther²³ lieferte in schlechter Ausbeute den Monoester, der mit Thionylchlorid in das Säurechlorid übergeführt wurde. Dieses wurde durch mehrfaches Abdestillieren mit trockenem Benzol von überschüssigem Thionylchlorid befreit und ohne weitere Reinigung mit Di-n-amylcadmium nach Cason²⁴ zum 11-Ketohexadecansäureäthylester umgesetzt. Das aus 3.7 g Säurechlorid erhaltene Reaktionsprodukt wurde durch einstündiges Erhitzen auf 60° mit 1 N Natronlauge in 90 proz. Methanol verseift. Beim Abkühlen fielen 2.0 g des gut kristallisierenden Natriumsalzes aus, die abgesaugt und durch Rühren mit Äther und verd. Salzsäure in die freie Säure übergeführt wurden. Anschliessend wurde aus Petroläther umkristallisiert. Schmp. 75–76° (Lit. Schmp. 74.5°).²⁵

11-Hydroxyhexadecansäuremethylester wurde erhalten, indem 100 mg der Ketosäure mit Diazomethan verestert und in Methanol:Äther 2:1 mit 50 mg Natriumborhydrid 30 Min bei Raumtemperatur reduziert wurden. Die Lösung wurde mit Benzol versetzt und zweimal mit Wasser gewaschen. Der Eindampfrückstand der Benzolphase wurde aus Petroläther bei –20° umkristallisiert. Ausbeute 73 mg Schmp. 41–43° (Lit. Schmp. 40.5–41.5°²⁵).

Die Verbindung zeigte in den Systemen 1 und 2 die gleichen R_f -Werte wie Verbindung A. Die Massenspektren waren identisch.

Verbindung B. Die Substanz wurde nach der Dünnschichtchromatographie umkristallisiert wie A. Schmp. 30–31°. $C_{15}H_{30}O_3$ (258.4) (Ber.: C 69.72, H 11.70%; Gef.: C 70.45, H 11.73%).

Verseifung mit 0.5 N KOH in Methanol (1 Std., 60°) ergab eine Säure, die nach dem Umkristallisieren aus Petroläther und Äthanol-Wasser bei 49–50° schmolz. Zur Oxydation wurden 80 mg B in einer Lösung von 50 mg CrO_3 3 Std. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Zugabe von 10 ml Wasser wurde mit Benzol ausgeschüttelt und der Eindampfrückstand der Benzolphase wie vorstehend verseift. Die Ketosäure wurde aus Petroläther umkristallisiert. Schmp.: 60–63°.

11-Ketotetradecansäure wurde wie bei der Hexadecansäure beschrieben aus Undecandisäureäthylesterchlorid und Di-N-propylcadmium und anschliessende Verseifung dargestellt. Schmp. 65–66.5° (Lit. Schmp. 66–67°²⁵). Mischschmelzpunkt mit der aus B erhaltenen Ketosäure 61–65°. Die IR-Spektren in Kaliumbromid waren identisch. Der mit Diazomethan hergestellte Methylester zeigte in den Systemen 1 und 4 die gleichen R_f -Werte wie das Oxydationsprodukt von B; desgleichen waren die Ketosäure aus B und 11-Ketotetradecansäure im System 6 identisch.

11-Hydroxytetradecansäuremethylester wurde wie bei dem vorstehend beschriebenem C_{16} -Hydroxyester dargestellt. Schmp. 39–40°. Dünnschichtchromatographisch war in den Systemen 1 und 2 kein Unterschied gegenüber B festzustellen. Die Massenspektren waren identisch.

Verbindung C. Die Verbindung konnte nur als Öl erhalten werden, desgleichen das p-Nitrobenzoat. $C_{11}H_{22}O_3$ (202.3) (Ber.: C 65.31, H 10.96%; Gef.: C 64.71, H 10.84%). Verseifungsäquivalent Gef.: 209. $[\alpha]_D^{20} = 2.1^\circ$ ($c = 2.5$, Bzl) Die Oxydation mit CrO_3 erfolgte wie bei B angegeben. Da noch etwas Ausgangsmaterial vorhanden war, wurde das Reaktionsgemisch dünnschichtchromatographisch im System 2 gereinigt. Der so erhaltene Ketoester wurde mit methanolischer KOH verseift und die Säure aus Petroläther bei –20° umkristallisiert. Schmp. 38.5–40.5°.

²³ S. SWANN, JR., O. OEHLER und R. J. BUSWELL, *Org. Syntheses*, Co I. vol. II, 276 (1950).

²⁴ J. CASON, *J. Am. Chem. Soc.* 68, 2078 (1946).

²⁵ L. A. DAVIES und R. ADAMS, *J. Am. Chem. Soc.* 50, 1749 (1928).

7-Ketodecansäure wurde nach Cason²⁴ aus Di-*n*-Propylcadmium und Pimelinsäuremethylesterchlorid und anschließende Verseifung des Ketoesters dargestellt. Die Ausbeute betrug 7 g Ketosäure aus 11 g Pimelinsäuremonomethylester. Schmp. 38–39°. (krist. aus Petroläther). $C_{10}H_{18}O_3$ (186.2) (Ber.: C 64.49, H 9.74%; Gef.: C 63.92, H 9.53%). Mischschmp. mit der aus C erhaltenen Ketosäure 38.5–40°. Die IR-Spektren in KBr waren identisch, ebenso die R_f -Werte im System 6 und die der Methylester im System 5.

Verbindung D wurde aus Cyclohexan umkristallisiert. Schmp. 69–70°. $[\alpha]_D^{21} = 21$ ($c = 2$, Bzl): $[\alpha]_D^{21} = \pm 0$ ($c = 2$, Methanol) $C_{15}H_{30}O_4$ (274.4) (Ber.: C 65.65, H 11.02%; Gef.: C 65.17, H 10.92%). Verseifungsäquivalent Gef.: 269. Die C-Methylbestimmung nach Kuhn-Roth ergab 1.46 CH_3 -Gruppen/Mol. Die zum Vergleich mit Undecylsäure durchgeführte Bestimmung ergab 0.88 CH_3 -Gruppen/Mol.

Zur Jodoformprobe wurden 30 mg D in 2 ml 1. N Natronlauge unter Erwärmen gelöst und nach dem Abkühlen mit 100 mg Jod und 130 mg KJ in 3 ml Wasser versetzt. Nach 10 Min Erwärmen auf 50° wurde abgekühlt wobei Jodoform in charakteristischen sechseckigen Kriställchen ausfiel. Es wurde mit Äther ausgeschüttelt und weiter identifiziert durch den Geruch und die Haloformreaktion nach Feigl.²⁵ Die quantitative Ausführung der Jodoformreaktion erfolgte nach dal Nogare *et al.*,²⁷ wobei jedoch CCl_4 an Stelle des angegebenen Chloroforms als Lösungsmittel verwendet wurde. Die Jodoformausbeute betrug 0.7% d.Th. Zum Vergleich wurde die Bestimmung mit Aceton (70% d.Th.), sek. Butanol (18% d.Th.) und mit dem Lacton der 5-Hydroxy-3-ketocaprinsäure (9% d.Th.) durchgeführt. Für das *p*-Nitrobenzoat, Schmp. 91–92°, ergab sich eine molare Extinktion $\epsilon_{259} = 25700$ (Annahme eines Di-*p*-nitrobenzoats) bzw. $\epsilon_{259} = 19000$ (Annahme eines Mono-*p*-nitrobenzoats). Für sek.-Butyl-*p*-nitrobenzoat wurde gefunden $\epsilon_{259} = 13100$. Es liegt also eine Dihydroxyverbindung vor.

Zur Oxydation wurden 100 mg D mit einer Lösung von 200 mg CrO_3 in 10 ml Eisessig 1 Std. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Lösung wurde mit 40 ml Wasser verdünnt und mit Benzol ausgeschüttelt. Die mit $NaHCO_3$ -Lösung gewaschene Benzolphase zeigte im Chromatogramm (Chloroform:Methanol 96:4) zwei neue Flecke, die mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin positiv reagierten. Trennung durch präparative Dünnschichtchromatographie ergab zwei Ketoester 1 und 2.

Ketoester 1: Schmp. 43–45°, positive Enolreaktion mit $FeCl_3$, UV-Spektrum in saurer Lösung $\lambda_{max} = 243$ m μ ($\epsilon = 1750$), in alkal. Lösung, $\lambda_{max} = 273$ m μ ($\epsilon = 22200$). Keine Hydroxylbande im IR-Spektrum. $C_{15}H_{26}O_4$ (270.4) (Ber.: C 66.63, H 9.68%; Gef.: C 67.31, H 9.60%).

Ketoester 2: Schmp. 39–41°. Enolreaktion negativ, Hydroxylbanden im IR-Spektrum bei 3600 cm^{-1} und $\sim 3550\text{ cm}^{-1}$.

Zur Darstellung des *p*-Toluolsulfonats wurden 100 mg D gelöst in 1.5 ml Pyridin mit 200 mg *p*-Toluolsulfonylchlorid 2 Std. bei 0° stehen gelassen. Die Mischung wurde mit Eiswasser verdünnt und nach $\frac{1}{2}$ Std. mit Chloroform ausgeschüttelt. Da nach dem Dünnschichtchromatogramm (System 1) noch Ausgangsmaterial vorhanden war, wurde die Umsetzung mit *p*-Toluolsulfochlorid wiederholt. Dünnschichtchromatographisch waren zwei neue Verbindungen nachweisbar, die ungefähr im gleichen Verhältnis vorlagen und beide weniger polar als D waren. Sie wurden durch präparative Dünnschichtchromatographie getrennt, konnten aber nicht kristallin erhalten werden. Die schneller wandernde Fraktion, die im IR-Spektrum keine OH-Bande mehr zeigte, wurde in 5 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit

²⁴ F. FEIGL, *Spot Tests in Organic Chemistry*, S. 327, Elsevier, Amsterdam (1960).

²⁷ S. DAL NOGAR, T. O. NORRIS und J. MITCHELL, *Analyt. Chem.* **23**, 1473 (1951).

75 mg Lithiumalanat 4 Std. auf 60° erwärmt. Nach Zugabe von Äthanol und verd. Schwefelsäure wurde mit Äther ausgeschüttelt. Reinigung der Ätherphase durch präparative Dünnschichtchromatographie und Kristallisation aus Petroläther ergab 23 mg einer bei 35–37° schmelzenden Verbindung. Der Mischschmp. mit n-Tetradecanol zeigte keine Depression. Die IR-Spektren und die Massenspektren waren identisch.

Zum Abbau mit Permanganat wurden 70 mg Ketoester 1 in 2 ml Aceton gelöst und mit 1 ml Wasser, 0.5 g MgSO₄ und 6 ml KMnO₄-Lösung (1.3 g in 25 ml Aceton) 5 Std. auf 42° erwärmt. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurde das Mangandioxidhydrat mit NaHSO₃ und verd. Salzsäure gelöst und die Oxydationsprodukte mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Verestern mit Diazomethan wurde das Reaktionsgemisch dünn-schichtchromatographisch im System 1 getrennt, wobei 6 mg Ausgangsmaterial und 12 mg eines etwa doppelt so schnell wandernden Ketoesters gewonnen wurden. Dieser lieferte nach dem Verseifen und Umkristallisieren aus Petroläther 9 mg einer bei 53.5–54.5° schmelzenden Säure. Der Mischschmelzpunkt mit 9-Keto-dodecansäure (s. unten) zeigte keine Depression; IR-Spektrum in KBr und R_f -Wert im System 6 waren identisch.

9-Ketododecansäure wurden nach Cason²⁴ aus Di-n-propylcadmium und Azelainsäuremethylesterchlorid und anschließende Verseifung dargestellt. Die Ausbeute betrug 8.7 g aus 19 g Azelainsäuremonomethylester. Schmp. 49–52°. Eine Probe wurde aus Petroläther umkristallisiert, Schmp. 53–54°.

Untersuchung des Zuckeranteils. Die mit Methyl-di-n-octylamin von Salzsäure befreite wässrige Phase des Hydrolysats zeigte papier-chromatographisch vier Flecke, die mit Anilin-phthalat positiv reagierten und die sich im System 8 wie Glucose, Fucose, Chinovose und

TABELLE 3

Fraktion	Gewicht (mg)	Zusammensetzung
41–72	321	Methylrhamnosid (a)
73–79	287	(a), Methylchinovosid (b)
80–88	118	(b), wenig (a) sowie Spuren von Rhamnose und Chinovose
89–130	822	Methylfucosid (c), wenig Rhamnose und Chinovose
131–208	110	Fucose, Methylglucosid (e)
209–336	1930	(e), wenig Fucose
336–400	980	Glucose

Rhamnose verhielten. Mit Benzidin/Perjodat waren noch weitere Flecke nachweisbar, die z.T. noch schneller als Rhamnose liefen. 6 g des nach dem Eindampfen der wässrigen Phase erhaltenen Sirups wurden in 10 ml Wasser gelöst und mit 60 ml Butanol versetzt. Da sich zwei flüssige Phasen bildeten wurde das Gemisch mit Cellulosepulver zu einem dicken Brei verrieben. Dieser wurde auf eine Säule mit 1.4 kg Cellulosepulver gebracht und mit Butanol, halbgesättigt mit Wasser, chromatographiert. Nach Durchlauf von 7 l. wurde mit wassergesättigtem Butanol eluiert. Die Säule wurde nach Durchlauf von 2200 ml an den Fraktions-sammler angeschlossen (Fraktionsgrösse 35 ml). Die Fraktionen wurden dünn-schicht-chromatographisch im System 7 kontrolliert und entsprechend der Zusammensetzung vereinigt. Die Sammelfrak-tionen wurden auch noch papier-chromatographisch untersucht. Ihre Zusammensetzung ist in Tab. 3 angegeben.

Ausser den papier- und dünnschichtchromatographischen Vergleichen wurden noch folgende Untersuchungen zur Identifizierung durchgeführt.

α -Methyl-L-rhamnosid. Da Substanz (a) nicht kristallisiert erhalten werden konnte, wurde sie mit Acetanhydrid:Pyridin 2:1 eine Std. bei 100° acetyliert. Das durch Zugabe von Eiswasser ausgefällte Acetylierungsprodukt wurde aus Methanol:Wasser umkristallisiert. Schmp. 88–89°. Der Mischschmp. mit α -Methyl-L-rhamnosidtriacetat²⁸ zeigte keine Depression. Die IR-Spektren waren identisch.

Methylchinovosid bzw. Chinovose. Substanz (b) aus Fraktion 80–88 wurde durch präparative Dünnschichtchromatographie gereinigt. 10 mg wurden mit 50 mg Dowex 50 H⁺-Form und 1 ml Wasser 8 Std. auf 100–105° erhitzt. Als Hydrolyseprodukt war nur Chinovose nachweisbar, daneben waren noch ~ 20% Ausgangsmaterial vorhanden. Da (b) nicht zur Kristallisation zu bringen war, wurde es wie das Rhamnosid in das Acetat übergeführt, das jedoch ebenfalls nicht kristallisierte. Zum Vergleich wurde Chinovose, die aus Chinovin²⁹ gewonnen worden war, mit methanolischer Salzsäure in das Methylglykosid übergeführt und dieses ebenfalls acetyliert. Es konnte jedoch keine kristallisierte Verbindung erhalten werden. Die spez. Drehung des aus Chinovose erhaltenen Reaktionsproduktes betrug $[\alpha]_D^{20} = 58^\circ$ ($c = 2$, Chloroform), die des Acetylierungsproduktes aus Fraktion 80–88 $[\alpha]_D^{20} = 55^\circ$. Da die in der Literatur angegebenen spez. Drehungen für das Methyl- α -D-chinovosidtriacetat $[\alpha]_D^{20} = 159^\circ$ ³⁰ und für das Methyl- β -D-chinovosidtriacetat $[\alpha]_D^{20} = -19^\circ$ ³¹ betragen, bildet sich im Falle der Chinovose bei der Acetylierung ein Gemisch, in dem das β -Glykosid überwiegt. Die IR-Spektren der beiden Acetylierungsprodukte (in CCl₄) waren identisch; ebenfalls die R_f -Werte bei der Dünnschichtchromatographie in den Systemen CHCl₃:Methanol 99:1, Benzol:Aceton 99:1, Benzol:Acetonitril 99:1 und Essigester.

Methyl- α -D-fucosid. Fraktion 89–130 ergab aus Äthanol:Essigester farblose Kristalle. Nach dem Umkristallisieren aus Äthanol. Schmp. 162–164°. $[\alpha]_D^{22} = 193^\circ$ ($c = 0.5$, Wasser). C₇H₁₄O₅ (178.2) (Ber.: C 47.18, H 7.92%; Gef.: C 46.94, H 7.71%).

Ein direkter Vergleich mit authentischem Material konnte nicht durchgeführt werden, da nur L-Fucose zur Verfügung stand. Die Literaturwerte³¹ für Methyl- α -L-fucosid sind Schmp. 157.5–158.5°. $[\alpha]_D^{21} = -197^\circ$. Hydrolyse mit Dowex 50 (18 Std. bei 100–105°) führte zu einer sirupösen Verbindung mit $[\alpha]_D^{20} = 78.4^\circ$ ($c = 0.5$, Wasser). Der Literaturwert für L-Fucose ist $[\alpha]_D^{20} = -76.3^\circ$.³² Das Hydrolyseprodukt verhielt sich chromatographisch wie L-Fucose.

Methyl- α -D-glucosid. Die beim Eindampfen von Fraktion 209–336 erhaltenen Kristalle wurden aus Methanol:Essigester umkristallisiert. Schmp. 168–170.5°. Der Mischschmelzpunkt mit Methyl- α -D-glucosid zeigte keine Depression. $[\alpha]_D^{20} = 154^\circ$ (Wasser, $c = 1.5$). Hydrolyse mit Dowex 50 ergab Glucose als Reaktionsprodukt.

Zur Bestimmung des Verhältnisses der verschiedenen Zucker wurde ein Teil des nach der Hydrolyse erhaltenen Sirups in 2proz. wässriger Lösung mit Dowex 50 hydrolysiert (18 Std. 100°). Aliquote Teile wurden im System 8 chromatographiert und die Zucker nach Fischer und Dörfel¹⁸ mit Triphenyltetrazoliumchlorid quantitativ bestimmt. Zum Vergleich wurde gleichzeitig eine Mischung mit bekanntem Gehalt an D-Glucose, L-Fucose und L-Rhamnose unter gleichen Bedingungen analysiert, um die verschiedenen Formazanausbeuten der

²⁸ E. FISCHER, M. BERGMANN und A. RABE, *Ber.* **53**, 2362 (1920).

²⁹ K. FREUDENBERG und K. RASCHIG, *Ber.* **62**, 373 (1929).

³⁰ B. HELFERICH, W. KLEIN und W. SCHÄFER, *Ber.* **59**, 79 (1926).

³¹ F. MICHELL, *Ber.* **63**, 347 (1930).

³² J. MINSAAS, *Rev. Trav. Chim.* **51**, 475 (1932).

einzelnen Zucker zu korrigieren. Da Chinovose und Rhamnose nicht vollständig getrennt waren, wurden sie gemeinsam bestimmt.

Anerkennungen—Herrn Prof. Dr. R. Tschesche danke ich vielmals für die Unterstützung dieser Arbeit.

Den Herren K. Richert, Dr. K. H. Richert und F. Krauch möchte ich auch an dieser Stelle für die Beschaffung des Pflanzenmaterials bestens danken. Herrn Prof. Dr. Pavetti, Asuncion, danke ich für die Bestimmung der Pflanzen, Herrn Dr. H. Weitkamp, Shell Grundlagenforschung GmbH., Birlinghoven, danke ich für die Aufnahme der Massenspektren.