

$[\alpha]_{D}^{20} = -74,6^{\circ}$ [Lit.⁹⁾: FP.: 210—212, $[\alpha]_{D}^{23} = -80,4$ (CHCl₃)

Für Repandinmethyläther

C₃₈H₄₂O₆N₂ (622,4)

C: H:

ber.: 73,33% 6,80%
gef.: 73,26% 6,90%

Aufspaltung von Repandinmethyläther mit CKE

2,3 g Repandinmethyläther wurden in 40 ccm Chloroform gelöst und wie üblich mit CKE behandelt. Basische Stoffe waren nicht mehr vorhanden. Das Reaktionsprodukt war ölig, aus Petroläther wurde es fest und schmolz bei ca. 95° (Zers., Kofler).

Ausbeute: ca. 95%.

64,4 mg in 25 ccm Chloroform drehten bei 20° im 2-dm-Rohr —0,16°

$[\alpha]_{D}^{20} = -31^{\circ}$.

Beilsteinprobe: positiv.

Die alkoholische Lösung des Urethans ergab mit alkoholischer Silbernitratlösung bereits in der Kälte Silberchloridabscheidung.

Für Repandinmethylätherdiurethan

C₄₄H₅₀O₁₀N₂ (766,8)

	C:	H:	Cl:
ber.:	68,91%	6,57%	—

Für Repandinmethylätherdiurethan

+ HCl + HOH C₄₄H₅₃O₁₁N₂Cl (821,3)

ber.:	64,38%	6,50%	4,32%
gef.:	65,04%	6,79%	4,61%

Messung der U.V.-Adsorptionsspektren

Die Messung der U.V.-Spektren erfolgte in methanolischer Lösung mit dem Unicam-Spektrophotometer.

⁹⁾ E. Fujita und T. Saijoh, J. pharm. Soc. Jap. 72, 1232 (1952).

Anschrift: Dr. J. Knabe, Braunschweig, Institut für pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie der T. H.

1525. Günther Wagner und Hans Kühmstedt

Über die β -d-Glucoside verschiedener p-Oxybenzoesäure- und Salicylsäureester und ihre Spaltbarkeit mit Mandel-Emulsin*)

2. Mitteilung: „Über Phenolglykoside“

Aus dem pharmazeutisch-chemischen Institut der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
Direktor: Prof. Dr. Pohloudek-Fabini

(Eingegangen am 22. Mai 1956)

Vor kurzem berichteten wir¹⁾, daß Salicylamid- β -d-glucosid und Salicylmethylamid- β -d-glucosid relativ gut von Mandel-Emulsin gespalten werden und daß nach der Zeit, nach der die vollständige enzymatische Spaltung dieser Glucoside erfolgt ist, bei den entsprechenden Glucosiden des Salicyldimethylamids und Salicylisopropylamids kein Aglucon, sondern nur intaktes Glucosid aufgefunden werden

*) Herrn Professor Dr. Dr. F. von Bruchhausen zum 70. Geburtstag gewidmet.

¹⁾ G. Wagner und H. Kühmstedt, Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 239/61 (1956).

kann. Wir nahmen an, daß aufgrund einer sterischen Hinderung die zuletzt erwähnten Glucoside von Mandel-Emulsin nicht gespalten werden können.

Das Ziel der hier beschriebenen Arbeiten war, andere Glucoside der Salicylsäurereihe zu synthetisieren, die aufgrund ihrer Konfiguration durch die β -d-Glucosidase des Mandel-Emulsins nicht bzw. sehr langsam gespalten werden und durch einfache chemische Reaktionen ohne Lösen der glykosidischen Bindung in Substanzen überführt werden können, die durch Mandel-Emulsin leicht gespalten werden. Auf diese Weise sollte für an sich mit Emulsin nicht spaltbare Glucoside die Zuordnung zur β -Reihe außer durch die optische Drehung auch durch enzymatische Spaltversuche möglich gemacht werden. Gedacht wurde dabei zunächst an die β -d-Glucoside der Salicylsäureester, bei denen wir durch Variieren der Alkoholkomponente des Esters zu Produkten zu gelangen hofften, die in ähnlicher Weise wie Salicyldimethylamid- β -d-glucosid aufgrund einer sterischen Hinderung nicht gespalten werden konnten. Durch Umsetzung dieser Verbindungen mit Ammoniak bzw. Aminen in absolut alkoholischer Lösung sollten sie in leicht spaltbare Salicylamid- β -d-glucoside oder durch Umesterung in gut spaltbares Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid überführt werden.

Tatsächlich gelang nach der von uns früher¹⁾ angegebenen Versuchsanordnung die Spaltung der Salicylsäureester-tetraacetyl- β -d-glucoside mit Ammoniak in absolut methanolischer Lösung. Es entstand aus den Tetraacetylderivaten der Salicylsäureester- β -d-glucoside der primären Alkohole Salicylamid- β -d-glucosid. Bei Salicylsäureisopropylester-tetraacetyl- β -d-glucosid, dem Ester eines sekundären Alkohols, wurde die Esterbindung nicht unter Bildung des Salicylamidglucosides aufgespalten. Es wurden lediglich die Acetylgruppen abgespalten und Salicylsäureisopropylester- β -d-glucosid wurde erhalten.

Die Darstellung der für die Spaltversuche benötigten Substanzen wurde nach dem von *Sabalitschka*²⁾ beschriebenen Verfahren durchgeführt. Es wurden zunächst die Tetraacetylglykoside durch Umsetzen äquimolarer Mengen des Kaliumsalzes des entsprechenden Esters und α -Acetobromglucose in einem Aceton/Wasser-Gemisch dargestellt. Die Entacetylierung wurde nicht generell in absolutem Methanol mit Na-methylatlösung durchgeführt, um die dabei auftretenden Umesterungserscheinungen auszuschließen. Wir arbeiteten vielmehr mit katalytischen Mengen Natrium in demjenigen absoluten Alkohol, der in dem Ester des entsprechenden Aglucons vorhanden war. Die freien Glykoside konnten zum größten Teil nicht einwandfrei kristallin erhalten, aber trotzdem in amorpher Form zu quantitativen Spaltversuchen eingesetzt werden. Das war möglich, weil alle untersuchten Glykoside, wenn auch teilweise mit geringer Geschwindigkeit, durch Mandel-Emulsin vollständig gespalten wurden und Möglichkeiten gegeben waren, das abgespaltene Aglucon quantitativ zu erfassen. Wenn sich die abgespaltene Agluconmenge in einer Versuchsreihe bei längerer Reaktionszeit nicht mehr erhöhte, wurde diese Agluconmenge einer 100%igen Spaltung gleichgesetzt. Aus den nach kürzeren Zeit-

²⁾ *Th. Sabalitschka*, Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 267, 675 (1929).

räumen der Enzymeinwirkung ermittelten Agluconwerten wurde dann der Spaltungsgrad unter Zugrundelegen des Endwertes der Spaltung errechnet.

Die enzymatische Spaltung der Substrate wurde in einer mit Phosphatpuffer auf p_H 5,0 eingestellten Lösung durchgeführt. Für die Spaltung wurde Emulsin »Merk« benutzt, das mit Glucose im Verhältnis 1 : 6 verrieben worden war. Bei Einsatz adäquater Emulsinmengen erfolgte die Spaltung mit der Glucoseverreibung langsamer. Das ist verständlich, da es sich bei der enzymatischen Umsetzung um eine katalytische Reaktion handelt, deren Geschwindigkeit von der Konzentration der einzelnen in Lösung befindlichen Reaktionsprodukte abhängt. Wird das Endprodukt der Umsetzung schon zu Beginn der Reaktion in die Lösung gebracht, so muß sich die Spaltgeschwindigkeit verringern. Toluol wurde den einzelnen Proben nicht zugesetzt, da die Salicylsäureester- und p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside und ihre Aglucone von sich aus die Einwirkung von Mikroorganismen verhindern.

Die Identifizierung der einzelnen Glykoside wurde auch papierchromatographisch durchgeführt und die Spaltung der Glykoside ebenfalls papierchromatographisch verfolgt. Es konnte dabei nicht wie bei den besser wasserlöslichen Salicylamid- β -d-glucosiden mit wassergesättigtem n-Butanol auf gepufferten Papieren gearbeitet werden. Die Löslichkeit der Glucoside in der organischen Phase wurde durch einen hohen Prozentsatz Xylol und einen geringen Anteil von n-Butanol im Verteilungsmittel herabgesetzt. Dadurch gelang es, die Glucoside mit relativ niedrigen R_f -Werten zu identifizieren. Die flüchtigen Salicylsäureester konnten nach dieser Methode nicht erfaßt werden. Die Salicylsäureester-glucoside waren auf dem Papier in geringerer Konzentration nachweisbar als die p-Oxybenzoesäureester-glucoside. Nach der Verteilung der Salicylsäureester- β -d-glucoside waren auf dem Chromatogramm in Spuren Substanzen zu erkennen, die durch Emulsin nicht gespalten wurden und aufgrund ihrer niedrigeren R_f -Werte entsprechend den Beobachtungen von *Kariyone, Takahashi, Takaishi* und *Isaka*³⁾, daß α -Glykoside sich besser als β -Glykoside zugunsten der wäßrigen Phase verteilen, die entsprechenden α -Glykoside darstellen könnten.

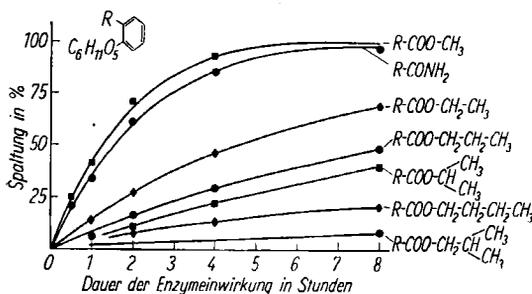


Abb. 1. Emulsinspaltung der Salicylsäureester- β -d-glucoside

Unter den im Versuchsteil beschriebenen Versuchsbedingungen wurden die in Abb. 1 zusammengestellten Spaltkurven der Salicylsäureester- β -d-glucoside erhalten. Zum Vergleich wurde Salicylamid- β -d-glucosid mit aufgenommen. Die Betrachtung der Abb. 1 zeigt, daß sich die Geschwindigkeit der fermentativen Hydrolyse mit zunehmender

³⁾ T. Kariyone, M. Takahashi, K. Takaishi und H. Isaka, J. pharm. Soc. Japan 73, 404 (1953); ref. C. A. 48, 3322 (1954).

Kettenlänge des Alkohols in den Salicylsäureestern verringert. Noch stärker als durch Verlängerung der Kohlenstoffkette wird die Fermenthydrolyse durch Verzweigung der Kohlenstoffkette des Esters verlangsamt. Von den untersuchten Verbindungen wurde Salicylsäureisobutylester- β -d-glucosid am langsamsten gespalten. Legt man einer Berechnung die Halbwertzeiten der Spaltung zugrunde, so wird diese Substanz 42mal langsamer als Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid gespalten.

Wie dagegen die Ergebnisse der Tabelle 1 zeigen, übt Verlängerung bzw. Verzweigung der Kohlenstoffkette der Alkoholkomponente bei den p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucosiden praktisch keinen Einfluß auf ihre Spaltung durch Mandel-Emulsin aus. Zwischen der Spaltbarkeit von Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid und der von p-Oxybenzoesäuremethylester- β -d-glucosid besteht, wie schon *B. Helferich* und *H. Lutzmann*⁴⁾ zeigten, praktisch kein Unterschied.

Tabelle 1

Spaltung der p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside mit Mandel-Emulsin
(Versuchsordnung siehe Versuchsteil)

Substanz	Spaltung in % nach		
	0,5	1,0	2,0 Stdn.
p-Oxybenzoesäuremethylester- β -d-glucosid	27	49	73
p-Oxybenzoesäureäthylester- β -d-glucosid	29	50	74
p-Oxybenzoesäure-n-propylester- β -d-glucosid	29	48	76
p-Oxybenzoesäureisopropylester- β -d-glucosid	35	58	85
p-Oxybenzoesäure-n-butylester- β -d-glucosid	27	53	87
p-Oxybenzoesäureisobutylester- β -d-glucosid	32	56	88

Aufgrund dieser Ergebnisse und als Arbeitshypothese für weitere Versuche wurden — vor allen Dingen unter Verwertung der von *Helferich* und seinen Mitarbeitern in zahlreichen Veröffentlichungen niedergelegten Arbeiten — für die enzymatische Spaltung der β -d-Glucoside der Salicylsäurereihe die in den folgenden Ausführungen beschriebenen Annahmen gemacht. Durch die Untersuchungen von *Helferich* ist bekannt, daß die Hydroxylgruppen am C 2, C 3 'und C 4 des Pyranringes von Phenol- β -d-glucosiden nicht veräthert bzw. verestert sein dürfen, wenn die Spaltbarkeit des Glucosides durch β -Glucosidasen erhalten bleiben soll⁵⁾ 6). Dagegen kann die Hydroxylgruppe am C 6 zum Beispiel durch Halogen ersetzt oder verändert werden, ohne daß die Spaltbarkeit dieser Verbindung vollständig aufgehoben wird⁷⁾ 8). Werden allerdings am C 6 Substituenten eingeführt,

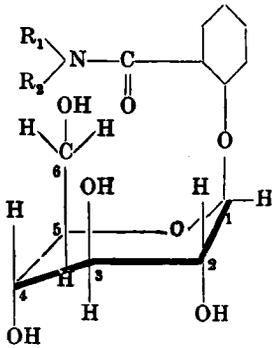
⁴⁾ *B. Helferich* und *H. Lutzmann*, Liebigs Ann. Chem. 537, 11 (1938).

⁵⁾ *B. Helferich* und *O. Lang*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 216, 123 (1933).

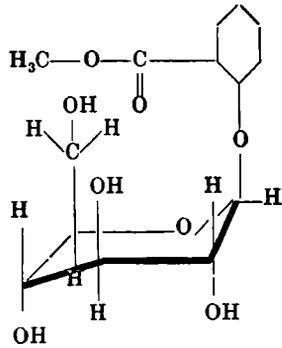
⁶⁾ *B. Helferich*, *W. Richter* und *S. Grünler*, Ber. Sächs. Akad. Wiss. Math.-phys. Klasse 89, 385 (1937).

⁷⁾ *B. Helferich*, *S. Grünler* und *A. Gnüchtel*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 248, 85 (1937).

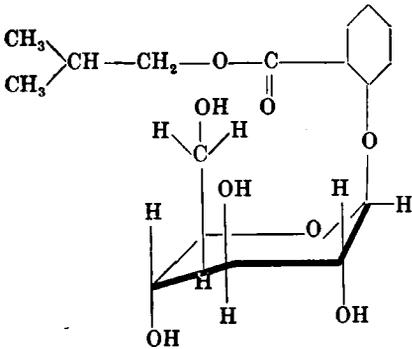
⁸⁾ *B. Helferich* und *E. Günther*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 231, 62 (1935).



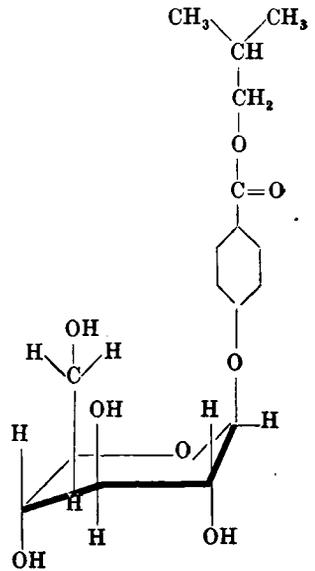
I
Salicylamid- β -d-glucosid
(R_1 und $R_2 = H$)



II
Salicylsäure-
methylester-
 β -d-glucosid



III
Salicylsäureisobutylester-
 β -d-glucosid



IV
p-Oxybenzoesäureisobutylester-
 β -d-glucosid

die einen großen Raum einnehmen, wie z. B. der Tosylrest⁹⁾, so können diese Verbindungen durch Mandel-Emulsin nicht mehr gespalten werden. Der Einfluß von Substituenten am Benzolring des Aglucons auf die Spaltbarkeit von β -d-Glucosiden ist wesentlich. Auffällig ist dabei, daß die Einführung eines Substituenten in o-Stellung zur glucosidischen Bindung die Spaltbarkeit erhöht, wenn dieser Substituent keinen zu großen Raum einnimmt. Besonders gut werden Verbindungen gespalten, die in o-Stellung eine Gruppe mit einem Sauerstoffatom enthalten

⁹⁾ B. Helferich und S. Grünler, J. prakt. Chem. 148, 107 (1937).

($-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{H}$; $-\text{O} \cdot \text{CH}_3$; $-\text{O} \cdot \text{C}_2\text{H}_5$; $-\text{CO} \cdot \text{CH}_3$)¹⁰⁻¹⁵). Natürlich besitzen auch weitere im Aglucon vorhandene Substituenten einen beträchtlichen Einfluß auf die Spaltgeschwindigkeit mit Emulsin.

Wir nehmen an, daß bei Salicylamid- β -d-glucosid (I) und Salicylmethylamid- β -d-glucosid der Säureamidrest in räumlicher Nähe zur $-\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe des Zuckerrestes steht, vielleicht durch eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Sauerstoffatom am C 6 und dem Sauerstoffatom der Säureamidgruppe stabilisiert. Bei dem Salicyldimethylamid- β -d-glucosid scheint diese räumliche Anordnung nicht mehr möglich zu sein, und der Säureamidrest dieses Derivates wird in eine Stellung gedrängt, die den Angriff der Haftgruppen des Fermentes — nach *Helferich* möglicherweise Kohlenhydrate — z. B. am C 3 unmöglich macht.

Eine räumliche Anordnung des Salicylamidrestes entsprechend einer Bindung in 6-Stellung des Aglucons und nicht wie in Formel I angeführt in 2-Stellung würde nach unserer Meinung die großen Unterschiede der Spaltgeschwindigkeit von Salicylmethylamid- β -d-glucosid und Salicyldimethylamid- β -d-glucosid nicht erklären können.

Bei den Salicylsäureester- β -d-glucosiden (II, III) ist eine Verzweigung in β -Stellung der Seitenkette des Aglucons nicht möglich, sterische Hinderung mit der $-\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe des Glucoserestes aus diesem Grunde unwahrscheinlich. Wasserstoffbrückenbildung zwischen dem Sauerstoffatom am C6 und der Estergruppierung ist noch leichter möglich als bei dem Salicylamid- β -d-glucosid. Bei den höheren Homologen der Salicylsäureester- β -d-glucoside (III), bei denen die Seitenkette über den Pyranring hinausreicht, kann aber ebenfalls die Bindung der Haftgruppen der β -Glucosidase behindert und dadurch die Spaltgeschwindigkeit herabgesetzt werden. Dieser Fall scheint uns vergleichbar mit der Verhinderung der enzymatischen Spaltung von Phenol- β -d-glucosid durch Einführen der Tosylgruppe am C 6. Bei den p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucosiden, bei denen die Alkoholgruppe des Esteraglucons räumlich weit von den Haftstellen am Pyranring und der glucosidischen Bindung entfernt ist (IV), ist praktisch kein Einfluß einer Verlängerung oder Verzweigung der Kohlenstoffkette der Alkoholkomponente auf die Geschwindigkeit der fermentativen Hydrolyse feststellbar. Gleichzeitig entfällt auch die Möglichkeit der Bildung von Wasserstoffbrücken zwischen Kohlenhydrat- und Agluconanteil. Entsprechend besitzen auch die p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside niedrigere R_f -Werte als die entsprechenden Salicylsäureester- β -d-glucoside.

¹⁰) *B. Helferich, E. Günther und S. Winkler, Liebigs Ann. Chem. 508, 192 (1933).*

¹¹) *B. Helferich und P. Burt, Liebigs Ann. Chem. 520, 156 (1935).*

¹²) *B. Helferich, H. E. Scheiber, R. Streeck und F. Vorsatz, Liebigs Ann. Chem. 518, 211 (1935).*

¹³) *B. Helferich und H. Schreiber, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 226, 272 (1934).*

¹⁴) *B. Helferich, A. Iloff und H. Streeck, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 226, 195 (1934).*

¹⁵) *B. Helferich und P. Papalambrou, Liebigs Ann. Chem. 551, 242 (1942).*

Versuchsteil

I. Synthetisierte Verbindungen

1. Tetraacetyl- β -d-glucoside der Salicylsäureester

Die Salicylsäureester wurden nach dem üblichen Verfahren aus Salicylsäure und dem entsprechenden Alkohol hergestellt und durch Vakuumdestillation gereinigt.

Die Darstellung von Salicylsäuremethylester-tetraacetyl- β -d-glucosid wurde bereits von *A. Robertson* und *R. B. Waters*¹⁶⁾ beschrieben. Wir stellten diese Verbindung nach dem von *Th. Sabalitschka*²⁾ beschriebenen Verfahren her. Auch die Tetraacetyl- β -d-glucoside der anderen Salicylsäureester wurden nach der gleichen Methode synthetisiert. Bei der Aufarbeitung der Tetraacetyl- β -d-glucoside der höheren Homologen des Salicylsäuremethylesters machten sich gegenüber der Isolierung der Salicylamid- β -d-glucoside einige Änderungen notwendig, weil nach dem Abdestillieren des Benzols aus der bei der Aufarbeitung anfallenden Benzollösung neben dem entsprechenden Tetraacetyl- β -d-glucosid noch unveränderte α -Acetobromglucose auskristallisierte. Die α -Acetobromglucose wurde durch kurzes Erhitzen einer alkoholisch-wäßrigen Lösung der entsprechenden Tetraacetylverbindung zerstört. Die Synthese und Isolierung der Tetraacetyl- β -d-glucoside der Salicylsäureester wird im Falle des Salicylsäureäthylester-tetraacetyl- β -d-glucosids beschrieben und ist in gleicher Weise bei den anderen Verbindungen durchgeführt worden. Die Ausbeute an Salicylsäureester-tetraacetyl- β -d-glucosid lag zwischen 10 und 15%.

Salicylsäureäthylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

8,0 g Salicylsäureäthylester und 2,6 g Kaliumhydroxyd wurden in 24,0 g Wasser gelöst. 20,0 g α -Acetobromglucose wurden in 60,0 g Aceton gelöst. Beide Lösungen wurden vereinigt, wiederholt umgeschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Schon nach kurzer Zeit trat eine Entmischung der zunächst homogenen Lösung in zwei Phasen auf. Das Aceton wurde auf dem Wasserbad abdestilliert. Die zurückbleibende wäßrige Lösung wurde zweimal mit 100 ml Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzollösungen wurden dreimal mit 100 ml 5%iger Natronlauge ausgeschüttelt. Dabei kam es häufig zur Abscheidung voluminöser Niederschläge, gebildet vom Natriumsalz des Salicylsäureesters. Diese Niederschläge wurden durch Absaugen durch eine G-4-Fritte entfernt. Das Auftreten der Niederschläge konnte vermieden werden, wenn eine größere Benzolmenge zur Lösung der Tetraacetylverbindung benutzt wurde. Die Benzollösung wurde alkalifrei gewaschen, über CaCl_2 getrocknet und das Benzol im Vakuum abdestilliert. Der verbleibende Rückstand wurde vor beginnender Kristallisation in eine Kristallisierschale überführt. Nachdem die Masse durchkristallisiert war, wurde sie auf einen Tonteller gestrichen, um den Rest von unumgesetztem Ester, der durch Ausschütteln mit Natronlauge nicht entfernt werden konnte, zu beseitigen. Die Kristallmasse wurde in siedendem Äthylalkohol gelöst. Die Lösung wurde filtriert und auf dem Wasserbad allmählich mit dest. Wasser versetzt. Die dabei erfolgende Zersetzung der α -Acetobromglucose gab sich durch die stark saure Reaktion der Lösung zu erkennen. Das Tetraacetylglucosid schied sich in Nadeln ab. Die Substanz wurde abgesaugt, aus wenig Äthylalkohol und noch einmal aus Äthylalkohol/Wasser umkristallisiert. Anschließend wurde das Produkt im P_2O_5 -Exsiccator getrocknet.

Nadeln, Fp. 170—171° C.

Drehung in Chloroform: $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-2,57 \cdot 100}{1,503 \cdot 4,647} = -36,6^\circ$.

Analyse: $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 496,45)

Ber.: C 55,64% H 5,68%

Gef.: » 55,57% » 5,66%

¹⁶⁾ *A. Robertson* und *R. B. Waters*, J. chem. Soc. (London) p. 1881 (1931).

Salicylsäure-n-propylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz: 6,3 g Salicylsäure-n-propylester und 2,0 g Kaliumhydroxyd in 16 g dest. Wasser und 14,5 g α -Acetobromglucose in 43 g Aceton gelöst.

Umkristallisation aus n-Propanol/Wasser; n-Propanol und n-Propanol/Wasser.

Nadeln, Fp. 181—182° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-2,26 \cdot 100}{1,503 \cdot 4,168} = -36,1^{\circ}$$

Analyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 510,48)

Ber.: C 56,46% H 5,92%

Gef.: » 56,90% » 6,08%

Salicylsäureisopropylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz wie bei Salicylsäure-n-propylester-tetraacetyl- β -d-glucosid. Umkristallisation aus Isopropanol/Wasser; Isopropanol; Isopropanol/Wasser.

Nadeln, Fp. 178,5—180° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-0,68 \cdot 100}{2,0 \cdot 0,942} = -36,1^{\circ}$$

Analyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 510,48)

Ber.: C 56,46% H 5,92%

Gef.: » 56,27% » 6,03%

Salicylsäure-n-butylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz: 9,4 g Salicylsäure-n-butylester und 2,6 g Kaliumhydroxyd in 24 g dest. Wasser und 20 g α -Acetobromglucose in 60 g Aceton gelöst.

Umkristallisation aus Isopropanol/Wasser; n-Butanol; Isopropanol/Wasser.

Nadeln, Fp. 162—164° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-1,51 \cdot 100}{1,503 \cdot 2,803} = -35,8^{\circ} \text{ C.}$$

Analyse: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 524,51)

Ber.: C 57,24% H 6,15%

Gef.: » 57,31% » 6,16%

Salicylsäureisobutylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz wie bei Salicylsäure-n-butylester-tetraacetyl- β -d-glucosid.

Umkristallisation aus Isopropanol/Wasser; Isobutanol und Isopropanol/Wasser.

Nadeln, Fp. 163—164° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-1,91 \cdot 100}{1,503 \cdot 3,57} = -35,6^{\circ} \text{ C}$$

Analyse: $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 524,51)

Ber.: C 57,24% H 6,15%

Gef.: » 57,31% » 6,16%

2. Tetraacetyl- β -d-glucoside der p-Oxybenzoesäureester

Die p-Oxybenzoesäureester wurden in üblicher Weise aus p-Oxybenzoesäure und den entsprechenden Alkoholen dargestellt. Die erhaltenen Substanzen wurden durch zweimaliges Umfällen aus Benzol rein dargestellt. Die Synthese von p-Oxybenzoesäuremethylester-tetraacetyl- β -d-glucosid wurde bereits von *Th. Sabalitschka*²⁾ beschrieben. Wir stellten auch die höheren Homologen dieser Verbindung in Anlehnung an das von *Th. Saba-*

litschka beschriebene Verfahren dar. Auf die Darstellung der festen Kaliumsalze der p-Oxybenzoesäureester wurde verzichtet, weil mit ihrer Hilfe auch keine größeren Ausbeuten zu erzielen waren. Die Ausbeuten an Tetraacetylglucosiden lagen zwischen 15 und 25% der Theorie und waren immer höher als bei den entsprechenden Salicylsäurederivaten. Die Entmischung des homogenen Aceton/Wasser-Gemisches der Ansätze ging wesentlich langsamer vonstatten als bei den Salicylsäureesteransätzen. Es traten keine Ausfällungen während des Ausschüttelns der Benzolphase mit Natronlauge auf. Unumgesetzte α -Acetobromglucose kristallisierte nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels aus der Benzollösung nicht aus. Aufgrund dieser Tatsachen konnte die Aufarbeitung der Ansätze in einfacherer Weise als bei den Salicylsäureestertetraacetyl- β -d-glucosiden erfolgen.

p-Oxybenzoesäureäthylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

8,0 g p-Oxybenzoesäureäthylester (Fp. 116—117° C) und 2,0 g Kaliumhydroxyd wurden in 24 g Wasser gelöst. 20 g α -Acetobromglucose wurden in 60 g Aceton gelöst. Beide Lösungen wurden vereinigt und über Nacht stehen gelassen. Anschließend wurde das Aceton auf dem Wasserbad abdestilliert und die zurückbleibende wäßrige Lösung zweimal mit 100 ml Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten Benzollösungen wurden dreimal mit 100 ml 5%iger Natronlauge ausgeschüttelt, anschließend alkalifrei gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Die Benzollösung wurde im Vakuum weitgehend eingengt. Das Tetraacetylglucosid kristallisierte aus konzentrierter benzolischer Lösung aus. Das Benzol wurde abgesaugt und die Kristallmasse zweimal aus wenig siedendem Äthanol umkristallisiert.

Nadeln, Fp. 135,5—136° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-1,71 \cdot 100}{1,503 \cdot 4,74} = -24^{\circ}.$$

Analyse: $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 496,45)

Ber.: C 55,64% H 5,68%

Gef.: » 55,08% » 4,99%

p-Oxybenzoesäure-n-propylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz: 6,3 g p-Oxybenzoesäure-n-propylester (Fp. 95—96° C) und 2,0 g Kaliumhydroxyd in 16 g Wasser und 14,5 g α -Acetobromglucose in 43 g Aceton gelöst.

Umkristallisation: Zweimal aus n-Propanol.

Nadeln, Fp. 124,5—125,5° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-1,77 \cdot 100}{1,503 \cdot 5,008} = -23,5^{\circ}.$$

Analyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 510,48)

Ber.: C 56,46% H 5,92%

Gef.: » 56,29% » 5,87%

p-Oxybenzoesäureisopropylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz: 6,3 g p-Oxybenzoesäureisopropylester (Fp. 83,5—84° C) und 2,0 g Kaliumhydroxyd in 16 g dest. Wasser und 14,5 g α -Acetobromglucose in 43 g Aceton gelöst.

Umkristallisation: Zweimal aus Isopropanol.

Nadeln, Fp. 146—147° C.

$$\text{Drehung in Chloroform: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{-1,5 \cdot 100}{1,503 \cdot 4,228} = -23,6^{\circ}.$$

Analyse: $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{12}$ (Mol.-Gew. 510,48)

Ber.: C 56,46% H 5,92%

Gef.: » 56,19% » 5,79%

p-Oxybenzoesäure-n-butylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz: 9,4 g p-Oxybenzoesäure-n-butylester (Fp. 67—68° C) und 2,6 g Kaliumhydroxyd in 24 g dest. Wasser und 20 g α -Acetobromglucose in 60 g Aceton gelöst.

Umkristallisation: Zweimal aus n-Butanol.

Nadeln, Fp. 129—130° C.

Drehung in Chloroform: $[\alpha]_D^{20} = \frac{-1,39 \cdot 100}{1,503 \cdot 4,12} = -22,5^\circ$.

Analyse: $C_{25}H_{32}O_{12}$ (Mol.-Gew. 524,51)

Ber.: C 57,24% H 6,15%

Gef.: » 57,32% » 6,15%

p-Oxybenzoesäureisobutylester-tetraacetyl- β -d-glucosid

Ansatz: 9,4 g p-Oxybenzoesäureisobutylester (Fp. 73—75° C) und 2,6 g Kaliumhydroxyd in 24 g dest. Wasser und 20 g α -Acetobromglucose in 60 g Aceton gelöst.

Umkristallisation: Zweimal aus Isobutanol.

Nadeln, Fp. 136—137° C.

Drehung in Chloroform: $[\alpha]_D^{20} = \frac{-1,43 \cdot 100}{1,503 \cdot 4,1716} = -22,8^\circ$.

Analyse: $C_{25}H_{32}O_{12}$ (Mol.-Gew. 524,51)

Ber.: C 57,24% H 6,15%

Gef.: » 57,32% » 6,16%

Alle Schmelzpunkte wurden auf dem Heiztisch ausgeführt.

3. Salicylsäureester- und p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside

Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid¹⁶⁾ und p-Oxybenzoesäuremethylester- β -d-glucosid²⁾ sind bereits beschrieben worden. Beide Substanzen lassen sich leicht aus Methanol umfällen und kristallin erhalten. Für das wasserfreie Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid fanden wir einen Fp. von 111—112° C für den in der Literatur beschriebenen Fp. von 107° C. Die β -d-Glucoside der anderen Salicylsäure- und p-Oxybenzoesäureester lassen sich nicht aus den entsprechenden Tetraacetylverbindungen durch Verseifen mit N-methylat in methanolischer Lösung darstellen. Es kommt dabei mit steigender Reaktionszeit in steigendem Maße zur Umesterung und Bildung der Methylester- β -d-glucoside. Nach einstündigem Erhitzen einer Lösung von Salicylsäure-n-propylester-tetraacetyl- β -d-glucosid in Methanol, dem Na-methylatlösung zugesetzt war, konnte z. B. schmelzpunkt-reines Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid isoliert werden.

Die Darstellung der Glucoside aus den entsprechenden Tetraacetylverbindungen gelang in folgender Weise: 2,0 g Tetraacetylglucosid wurden in 5 ml des im Ester vorhandenen absoluten Alkohols heiß gelöst und mit 2 ml entsprechender 0,1-n-Natrium-alkoholat-lösung versetzt. Die Lösung wurde auf der Kochplatte vorsichtig im Sieden erhalten. (Auf dem Wasserbad dauerte die Verseifung erheblich länger. Gelangten dabei Spuren von Wasser in die Lösung, so konnte in geringerer Menge die Bildung von z. B. Salicylsäure- β -d-glucosid beobachtet werden.) Zur Prüfung auf vollständige Entacetylierung wurde ein Tropfen der Lösung auf ein Uhrglas gebracht und in Wasser aufgenommen. Entstand eine klare Lösung und traten keine Ausfällungen auf, so war die Verseifung beendet. Der restliche Alkohol wurde im Vakuum weitgehend abdestilliert, der Rückstand mit dest. Wasser aufgenommen, das Filtrat im Vakuum eingeeengt und durch Aufbewahren im P_2O_5 -Exsiccator vom restlichen Wasser befreit. Außer den Methylester- β -d-glucosiden konnten die durch Verseifung erhaltenen Verbindungen der höheren Homologen noch nicht einwandfrei kristallisiert und schmelzpunktrein erhalten werden. Salicylsäureäthylester- β -d-glucosid und Salicylsäure-n-propylester- β -d-glucosid zeigten geringe Neigung aus wäßriger Lösung zu kristallisieren.

p-Oxybenzoesäure-n-butylester- β -d-glucosid fiel aus konzentrierter wäßriger Lösung in amorpher Form aus. Es gelang jedoch in beiden Fällen nicht, zu schmelzpunktreinen Produkten zu gelangen.

Die Glucosidrohprodukte wurden nach dem Trocknen im P_2O_5 -Exsiccator fest und ließen sich zu einem weißen Pulver zerreiben. Sie zeigten in wäßriger Lösung sämtlich Linksdrehung. Die papierchromatographische Untersuchung zeigte, daß nahezu reine Glucosidprodukte vorlagen.

II. Papierchromatographische Untersuchungen

Die papierchromatographischen Versuche wurden in der bereits beschriebenen Weise mit der an gleicher Stelle angegebenen Apparatur durchgeführt¹⁷⁾. Eine 1%ige wäßrige Lösung der Glucoside wurde einmal auf einen Startpunkt von 1 cm Durchmesser aufgetragen. Auf diese Weise gelangten ungefähr 25–35 γ der einzelnen Glucoside zur Analyse. Für die Versuche wurde Papier der Sorte Schleicher und Schüll 2043a benutzt. Die Chromatogramme wurden durch Besprühen mit *Millons*-Reagenz und Erhitzen bei 95° C im Trockenschrank entwickelt. Die Salicylsäureester- β -d-glucoside gaben dabei gelbe bis gelb-braune deutlich erkennbare Flecke, die p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside schwach rötliche Flecke. Die als Mittelwerte von 10 Einzelbestimmungen errechneten R_f -Werte sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle 2

R_f -Werte der Salicylsäureester- β -d-glucoside

(Verteilungsmittel: Xylol 80 ml, n-Butanol 20 ml, Eisessig 20 ml, dest. Wasser 80 ml)

Substanz	R_f -Wert
Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid	0,09 (0,05)
Salicylsäureäthylester- β -d-glucosid	0,24 (0,07)
Salicylsäure-n-propylester- β -d-glucosid	0,45 (0,12)
Salicylsäureisopropylester- β -d-glucosid	0,43 (0,11) [0,8]
Salicylsäure-n-butylester- β -d-glucosid	0,65 (0,15)
Salicylsäureisobutylester- β -d-glucosid	0,63 (0,15)
Salicylsäure- β -d-glucosid	0,01

Die in runden Klammern angegebenen Werte beziehen sich auf in Spuren vorhandene Glykoside, die sich durch Emulsion nicht spalten lassen und erst nach der enzymatischen Zerstörung der β -d-Glucoside gut erkannt werden können. Es ist möglich, daß es sich hier um die entsprechenden α -Glykoside handelt. In eckiger Klammer ist ein weiterer, in geringer Menge vorhandener, noch nicht aufgeklärter Stoff aufgeführt.

Tabelle 3

R_f -Werte der p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside

(Verteilungsmittel I: Xylol 80 ml, n-Butanol 20 ml, Eisessig 20 ml, dest. Wasser 80 ml.)

Verteilungsmittel II: Xylol 75 ml, n-Butanol 25 ml, Eisessig 20 ml, dest. Wasser 80 ml.)

Substanz	R_f -Wert mit Verteilungsmittel	
	I	II
p-Oxybenzoesäuremethylester- β -d-glucosid	0,05	0,09
p-Oxybenzoesäureäthylester- β -d-glucosid	0,13	0,23
p-Oxybenzoesäure-n-propylester- β -d-glucosid	0,29	0,40
p-Oxybenzoesäureisopropylester- β -d-glucosid	0,27	0,39
p-Oxybenzoesäure-n-butylester- β -d-glucosid	0,42	0,61
p-Oxybenzoesäureisobutylester- β -d-glucosid	0,43	0,60

¹⁷⁾ G. Wagner, Pharmazie 9, 741 (1954).

III. Spaltung der Glykoside mit Mandel-Emulsin

1. Quantitative Verfolgung der enzymatischen Spaltung der Salicylsäureester- β -d-glucoside

a) Quantitative kolorimetrische Bestimmung der Salicylsäureester

Daß die kolorimetrische Bestimmung der Salicylsäure mit Eisen (III)-Ionen in einem weiten Bereich dem Beer-Lambertschen Gesetz gehorcht, ist bekannt. Um zu prüfen, ob das auch für die durch Ausschütteln und Verseifen aus den Estern gewonnenen Salicylsäuremengen gilt, wurde in folgender Weise gearbeitet:

Reagenzien:

1. Eisen(III)-Reagenz: 15,0 g $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 + 12 \text{H}_2\text{O}$ in 500 ml 0,1 n HNO_3 gelöst
2. 0,5%ige Natriumbicarbonatlösung.
3. n NaOH, n HCl.

Arbeitsweise:

Von einer Stammlösung von 4,1953 g Salicylsäureäthylester in 100 ml Methanol wurden 0,1 bis 0,4 ml entnommen und mit einer Pufferlösung (gemischt aus 20 ml 0,067 m Phosphatpuffer pH 5,0 und 50 ml dest. Wasser) auf jeweils 7 ml ergänzt. Nach gründlichem Umschütteln wurden aus diesen Lösungen je 1 ml entnommen, mit 5 ml frisch bereiteter Natriumbicarbonatlösung versetzt und zweimal mit 5 ml Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherlösungen wurden mit 5 ml Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt und mit 5 ml Wasser gewaschen. Die Ätherlösung wurde in ein 20-ml-Becherglas überführt, in dem sich 3 ml n-NaOH befanden. Das Becherglas wurde genau 45 Minuten auf dem siedenden Wasserbad belassen. Dabei verdunstete der Äther und der Ester wurde verseift. Nach 45 Minuten wurde das Becherglas vom Wasserbad genommen und 10 Minuten zum Erkalten stehen gelassen. Nach dieser Wartezeit wurde unter gründlichem Nachspülen der Inhalt des Becherglases in einen 25-ml-Meßkolben überführt, in dem sich 3 ml n-HCl befanden. Es wurde mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Nach gründlichem Umschütteln wurden 10 ml entnommen und mit 1 ml Eisen(III)-Reagenz versetzt. Nach erneutem Umschütteln wurde in 2-cm-Küvetten gegen eine aus 1 ml Eisen(III)-Reagenz und 10 ml Wasser bestehende Kompensationsflüssigkeit mit dem Pulfrich-Photometer unter S 53 die Extinktion gemessen. Die Abb. 3 zeigt, daß die Reaktion dem Beer-Lambertschen Gesetz gehorcht. Das gleiche gilt auch für die Salicylsäureester, die hier nicht mit aufgeführt sind. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, ist sorgfältiges Arbeiten notwendig. Besonderer Wert muß darauf gelegt werden, daß auch die Verseifungszeit genau eingehalten wird.

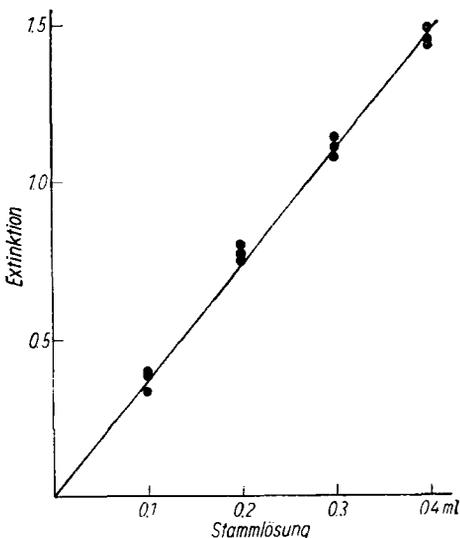


Abb. 2. Eichkurve zur Bestimmung von Salicylsäureäthylester

Stammlösg.: 4,1953 g Salicylsäureäthylester in 100 ml Methanol

Aufarbeitung nach Versuchsteil III 1a

Gerät: Pulfrich-Stufenphotometer

Küvette: 2 cm Filter: S 53

b) Untersuchung der Proben der Spaltversuche

50—60 mg Salicylsäureester- β -d-glucosid (evt. Rohprodukt) wurden in 5 ml dest. Wasser und 2 ml 0,067 m Phosphatpuffer p_H 5,0 gelöst. Je 1 ml dieser Lösung wurde in 6 graduierte Reagenzgläser mit eingeschliffenem Glasstopfen einpipettiert. Zu jeder Probe wurden 10 mg einer Verreibung von 100 mg Emulsin »Merck« und 600 mg getrockneter Glucose gegeben. Der Stopfen wurde gut gefettet und fest aufgedreht. Die Reagenzgläser wurden im Ultrathermostaten bei 37° C aufbewahrt. Zur Untersuchung des Spaltungsgrades wurden nach einer bestimmten Zeit zu einer Probe 5 ml Natriumbicarbonatlösung und 5 ml Äther zugesetzt. Das Gemisch wurde in einen Scheidetrichter überführt. Die wäßrige Phase wurde verworfen und das Reagenzglas noch einmal mit 5 ml Äther nachgespült. Die vereinigte Ätherlösung wurde mit 5 ml Natriumbicarbonatlösung ausgeschüttelt und mit 5 ml Wasser gewaschen. Es wurde wie oben beschrieben weiter gearbeitet und gemessen. Lag die Extinktion über 1,00, wurden aus dem Kolben 5 ml Lösung entnommen, 5 ml Wasser und 1 ml Eisen(III)-Reagenz zugesetzt. Nach dem Umschütteln wurde wie üblich gemessen. Lag die Extinktion einer zu einem späteren Zeitpunkt untersuchten Probe gegenüber einer vorher untersuchten nicht höher, wurde die Spaltung gleich 100% gesetzt. Die vorher erhaltenen Werte wurden danach ausgerechnet. Es wurden auf diesem Wege die in Tabelle 4 aufgeführten Ergebnisse errechnet.

Tabelle 4
Spaltung der Salicylsäureester- β -d-glucoside

Substanz	Spaltung in % nach Stdn.								
	0,5	1	2	4	8	24	48	96	144
Salicylsäuremethylester- β -d-glucosid	26	42	71	93	100	—	—	—	—
Salicylsäureäthylester- β -d-glucosid	—	14	27	47	69	100	—	—	—
Salicylsäure-n-propylester- β -d-glucosid	—	6	16	29	48	88	100	—	—
Salicylsäureisopropylester- β -d-glucosid	—	—	11	22	40	76	98	100	—
Salicylsäure-n-butylester- β -d-glucosid	—	—	7	14	21	53	76	100	—
Salicylsäureisobutylester- β -d-glucosid	—	—	—	—	8	30	48	77	92
Salicylamid- β -d-glucosid	21	34	61	86	97	100	—	—	—

Zur Bestimmung des Spaltungsgrades von Salicylamid- β -d-glucosid wurde in einfacherer Weise gearbeitet. Die einzelnen Proben wurden in üblicher Weise hergestellt und im Ultrathermostaten aufbewahrt. Zur Bestimmung des abgespaltenen Salicylamids wurde der Inhalt eines graduierten Reagenzglases unter gründlichem Nachspülen mit Wasser in einen 25-ml-Meßkolben überführt. Es wurde bis zur Marke aufgefüllt. Nach dem Umschütteln wurden wie bereits beschrieben 5 bzw. 10 ml entnommen und wie üblich zur Messung vorbereitet und unter S 53 in 2-cm-Küvetten gemessen.

2. Quantitative Verfolgung der enzymatischen Spaltung der p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside

a) Quantitative kolorimetrische Bestimmung der p-Oxybenzoesäureester

Die p-Oxybenzoesäureester wurden aus bicarbonatalkalischer Lösung mit Äther ausgeschüttelt und mit Natronlauge zu p-Oxybenzoesäure verseift. Die p-Oxybenzoesäure wurde nach Kuppeln mit diazotierter Sulfanilsäure kolorimetrisch bestimmt.

Reagenzien:

1. Diazotierungsgemisch:

a) 0,1 g KNO_2 in 100 ml Wasser gelöst. (Die Lösung ist täglich frisch zu bereiten.)

b) 0,1 g Sulfanilsäure in 100 ml 0,1 n HCl gelöst.

a und b werden zu gleichen Teilen gemischt und vor der Benutzung 15 Minuten stehen gelassen. Das Diazotierungsgemisch ist vor Gebrauch frisch zu bereiten.

2. 5%ige Kaliumcarbonatlösung.
3. 15%ige Kalilauge.
4. 0,5%ige Natriumbicarbonatlösung.
5. n NaOH, n HCl.

Arbeitsweise:

0,1 bis 0,5 ml Stammlösung von 4,202 g p-Oxybenzoesäureäthylester wurden mit Methanol auf 3,5 ml ergänzt. Je 0,5 ml dieser Lösungen wurden in graduierte Reagenzgläser einpipettiert. Jede Probe wurde mit 5 ml Natriumbicarbonatlösung versetzt. Es wurde in gleicher Weise ausgeschüttelt und verseift wie unter III 1a im Versuchsteil beschrieben. Die im Becherglas befindliche verseifte Lösung wurde nach der 10-minütigen Wartezeit unter gründlichem Nachspülen mit Wasser in einen 25-ml-Meßkolben überführt, in dem sich 3 ml n HCl und 10 ml Methanol befanden. Mit dest. Wasser wurde bis zur Marke aufgefüllt. Nach gründlichem Umschütteln wurde 1 ml entnommen und in einen graduierten Schlifffzylinder einpipettiert. Es wurden 2 ml Diazotierungsgemisch zugesetzt. Die Lösung wurde umgeschüttelt und genau 2 Minuten stehen gelassen. Anschließend wurden 2 ml Kaliumcarbonatlösung zugesetzt und die Lösung nach gründlichem Umschütteln zur Ausbildung des Azofarbstoffes 5 Minuten stehen gelassen. Mit Kalilauge wurde auf 20 ml ergänzt und nach erneutem Umschütteln wurde innerhalb von 30 Minuten in 2-cm-Küvetten unter S 47 mit dem *Pulfrich*-Stufenphotometer gemessen. Zur Bereitung der Kompensationsflüssigkeit wurde 1 ml eines Gemisches von 10 ml Methanol und 15 ml dest. Wasser in gleicher Weise mit den gleichen Reagenzien versetzt.

Die Abb. 3 zeigt, daß in einem bestimmten Bereich lineare Beziehungen zwischen Extinktion und Konzentration an p-Oxybenzoesäure bestehen. Das gleiche gilt auch für die hier nicht besonders aufgeführten anderen p-Oxybenzoesäureester und ermöglicht es, aus der gemessenen Extinktion den Gehalt an p-Oxybenzoesäureester zu berechnen.

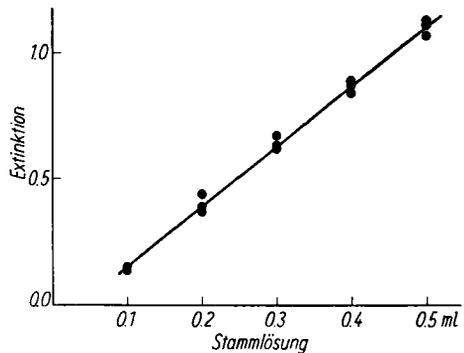


Abb. 3. Eichkurve zur Bestimmung von p-Oxybenzoesäureäthylester
 Stammlösung: 4,202 g p-Oxybenzoesäureäthylester in 100 ml Methanol
 Aufarbeitung nach Versuchsteil III 2a
 Gerät: *Pulfrich*-Stufenphotometer
 Küvette: 2 cm Filter: S 47

b) Untersuchung der Proben der Spaltversuche

Die Spaltung der Glucoside wurde wie unter III 1b beschrieben durchgeführt. Die Agluconbestimmung erfolgte nach Zusatz von 5 ml 5%iger Natriumbicarbonatlösung zu den Proben wie unter III 2a ausgeführt.

Zusammenfassung

1. Es wurde die Spaltbarkeit verschiedener Salicylsäureester- und p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucoside durch Mandel-Emulsin untersucht. Während die Struktur der Alkoholkomponente bei den p-Oxybenzoesäureester- β -d-glucosiden keinen Einfluß auf die Spaltbarkeit hat, führt Verlängerung und noch in stärkerem Maße Ver-

