

RICHARD KUHN, HANS HELMUT BAER und ADELINE GAUHE

Die Konstitution der Lacto-*N*-fucopentaose II

Ein Beitrag zur Spezifität der Blutgruppensubstanz Le^a

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg

(Eingegangen am 11. November 1957)

Das MORGAN-ELSON-negative, L-Fucose enthaltende Pentasaccharid der Frauenmilch ließ sich durch verd. Säure unter Abspaltung der Fucose zu krist. Lacto-*N*-tetraose abbauen. Mit KBH₄ erhielt man kristallisierten Lacto-*N*-fucopentait II, dessen Permethylverbindung folgende Spaltstücke lieferte: 1.2.3.5.6-Pentamethyl-D-sorbit, 2.4.6-Trimethyl-D-galaktose, 6-Methyl-D-glucosamin, 2.3.4.6-Tetramethyl-D-galaktose und 2.3.4-Trimethyl-L-fucose. Daraus ergibt sich für das Pentasaccharid II die Formel I. Es handelt sich somit um Lacto-*N*-tetraose, deren *N*-Acetyl-D-glucosamin-Rest am C-Atom 4 mit L-Fucopyranose α -glykosidisch verknüpft ist. Die negative MORGAN-ELSON-Reaktion und viele weitere Eigenschaften des Pentasaccharids II stehen damit in Einklang. Die Pentaose II wirkt serologisch wie Blutgruppensubstanz Le^a, desgleichen der krist. Lacto-*N*-fucopentait II.

Aus Frauenmilch haben wir zwei isomere Pentasaccharide isoliert, die aus je 1 Mol. D-Glucose, 2 Moll. D-Galaktose, 1 Mol. *N*-Acetyl-D-glucosamin und 1 Mol. L-Fucose aufgebaut sind¹⁾. Die beiden Pentasaccharide unterscheiden sich voneinander höchst auffallend in zwei Punkten:

Die Pentaose I gibt nach kurzem Erwärmen mit verd. Natriumcarbonatlösung auf Zusatz von *p*-Dimethylamino-benzaldehyd in saurer Lösung eine intensive violettrote Farbe; die Pentaose II liefert unter denselben Bedingungen keinen Farbstoff, sie ist MORGAN-ELSON-negativ.

Die Pentaose I zeigt, soweit bisher untersucht, keinerlei serologische Aktivität, während die Pentaose II nach Versuchen von W. T. J. MORGAN^{2,2a)} am Lister Institut in London bis zu einer Verdünnung von 1:100000 wie menschliche Blutgruppensubstanz Le^a wirkt. Dadurch unterscheidet sie sich auch von weiteren Oligosacchariden der Frauenmilch. Gleichartig, wenn auch schwächer (1:1666), ist nach W. T. J. MORGAN²⁾ unter den von uns isolierten Substanzen nur noch die Lacto-*N*-difucosehexaose wirksam.

Im Oligosaccharid-Gemisch der Frauenmilch (aus dem die Lactose abgetrennt ist) findet man durchschnittlich folgende Mengen:

Pentasaccharid	R _{Lactose} * ¹⁾	MORGAN-ELSON-Reakt.	Le ^a -Aktivität
8 % Lacto- <i>N</i> -fucopentaose I	0.27	+	—
4 % Lacto- <i>N</i> -fucopentaose II	0.19	—	+

*¹⁾ In Essigester/Pyridin/Wasser 2:1:2 obere Schicht.

¹⁾ R. KUHN, H. H. BAER und A. GAUHE, Chem. Ber. **88**, 1135 [1955].

²⁾ Privatmitteil. vom 9. November 1956.

^{2a)} W. M. WATKINS und W. T. J. MORGAN, Nature [London] **180**, 1038 [1957].

Die in größerer Menge vorkommende, schneller wandernde Pentaose I konnten wir kristallisiert erhalten und in ihrer Konstitution eindeutig klären³⁾.

Die in geringerer Menge vorkommende, langsamer wandernde Pentaose II liegt noch nicht kristallisiert vor. Die chromatographisch einheitlichen Präparate, die zu dieser Untersuchung dienten, zeigten nur geringe Mutarotation, z. B. $[\alpha]_D^{25}$: $-28.4^\circ \rightarrow -30.4^\circ$ (Wasser) und nur 1 Linie auf den DEBYE-SCHERRER-Aufnahmen.

Bei partieller Hydrolyse mit 0.1 *n* Oxalsäure liefert die Lacto-*N*-fucopentaose II, neben *L*-Fucose und geringen Mengen weiterer Spaltstücke, in der Hauptsache (75–80% d. Th.) *Lacto-N-tetraose*, die kristallisiert erhalten wurde und sich nach Drehung und Mutarotation ($[\alpha]_D^{25}$: $+36^\circ \rightarrow +24^\circ$ in Wasser), nach IR-Spektrum und DEBYE-SCHERRER-Linien sowie chromatographisch als identisch mit dem in der Frauenmilch frei vorkommenden *N*-haltigen Tetrasaccharid⁴⁾ erwiesen hat. Da die Konstitution dieses Tetrasaccharids bekannt ist⁵⁾, war nur noch die Stellung des *L*-Fucoserestes zu ermitteln.

Die Lacto-*N*-tetraose besitzt 13 OH-Gruppen, mit denen die *L*-Fucose im Pentasaccharid II verknüpft sein konnte. Nur eine von diesen Möglichkeiten, nämlich die Verknüpfung mit dem Hydroxyl am C Atom 2 des endständigen Galaktoserestes, schied von vornherein aus, weil diese Struktur für das Pentasaccharid I eindeutig vergeben war. Über die verbleibenden 12 Möglichkeiten ließ sich ohne Berücksichtigung der negativen MORGAN-ELSON-Reaktion und noch vor Identifizierung von methylierten Spaltstücken auf Grund papierchromatographischer Studien folgendes sagen:

Glucose-Rest: OH am C-Atom 1 ist frei (Äquiv.-Gew.-Bestimmung mit Hypojodit nach WILLSTÄTTER-SCHUDEL; nach anschließender Säurehydrolyse tritt keine Glucose mehr auf).

OH am C-Atom 2 ist frei, weil a) der Abbau durch Erwärmen mit 0.05 *n* Na₂CO₃ nicht blockiert ist, b) beim Abbau mit Perjodat aus dem Lacto-*N*-fucopentait II 2 Moll. Formaldehyd erhalten werden (die beide dem Glucoserest entstammen).

OH am C-Atom 3 ist frei, weil man durch Abbau mit Perjodsäure und anschließende Säurehydrolyse keine Arabinose erhält (die Lacto-difucotetraose, in der ein Fucoserest mit der Glucosehälfte der Lactose in 3-Stellung verknüpft ist, gibt reichlich Arabinose⁶⁾).

OH am C-Atom 6 ist frei, denn der krist. Lacto-*N*-fucopentait II liefert beim Abbau mit Perjodat 2 Moll. Formaldehyd.

Erster Galaktose-Rest: Das 2-ständige Hydroxyl trägt die Fucose vermutlich nicht, weil in diesem Fall beim Erhitzen mit 0.05 *n* Na₂CO₃ ein glucosefreies Tetrasaccharid reichlich auftreten sollte, ein solches aber in den Papierchromatogrammen höchstens in Spuren zu erkennen war.

Die 4-ständige und die 6-ständige Hydroxylgruppe ließen sich nicht ausschließen.

Acetylglucosamin-Rest: Hinsichtlich der Hydroxyle 4 und 6 ergaben sich keine Anhaltspunkte.

Zweiter Galaktose-Rest: Verknüpfung am C-Atom 2 war für die Lacto-*N*-fucopentaose I bereits vergeben, und die uns wohlbekannte 2-Fucosido-galaktose, die beim alkalischen Abbau jener isomeren Pentaose sowie der Lacto-*N*-difucohexaose auftritt, bildete sich nicht.

³⁾ R. KUHN, H. H. BAER und A. GAUHE, Chem. Ber. **89**, 2514 [1956].

⁴⁾ R. KUHN, A. GAUHE und H. H. BAER, Chem. Ber. **86**, 827 [1953].

⁵⁾ R. KUHN und H. H. BAER, Chem. Ber. **89**, 504 [1956].

⁶⁾ R. KUHN und A. GAUHE, Liebigs Ann. Chem. **611**, 249 [1958].

Verknüpfung am C-Atom 3 war sehr unwahrscheinlich, weil beim Abbau mit 0.05 *n* Na₂CO₃ freie Galaktose reichlich auftrat, diese also nicht in Saccharinsäuren umgewandelt wurde, wie es bei 3-substituierten Aldosen der Fall ist.

Verknüpfung am C-Atom 4 hätte Bildung von Isosaccharinsäure, Verknüpfung am C-Atom 6 hätte Milchsäurebildung erwarten lassen⁷⁾; in keinem dieser beiden Fälle hätte Galaktose auftreten sollen, die wir reichlich gefunden haben. Der endständige Galaktoserest der Pentaose II ist somit unsubstituiert (Gegensatz zur Pentaose I).

Auf Grund aller Vorversuche kamen von den angeführten 12 Möglichkeiten für die Verknüpfungsstelle mit der L-Fucose nur noch 4 in Betracht, nämlich die Hydroxyle an den C-Atomen 4 und 6 des *N*-Acetyl-glucosamin-Restes und an den C-Atomen 4 und 6 des ersten Galaktoserestes.

Zur Entscheidung wurde die Lacto-*N*-fucopentaose II mit KBH₄ hydriert, wobei wir den Lacto-*N*-fucopentait II in Stäbchen von $[\alpha]_D^{25}$: -46° (Wasser) erhielten. Dieses schön kristallisierende Derivat hat in Versuchen von Prof. Dr. W. T. J. MORGAN^{2a)} im Le^a-Test dieselbe Aktivität gezeigt wie die reduzierende Lacto-*N*-fucopentaose II.

Die *Methylierung des krist. Pentait II* hat uns viel größere Schwierigkeiten bereitet als diejenige des Pentait I³⁾, möglicherweise aus sterischen Gründen. Bei unseren Bemühungen, den vollen Methoxygehalt zu erzielen, wurde nämlich bei Anwendung von Ag₂O und CH₃J in Dimethylformamid⁸⁾ auch die CH₃·CO·NH-Gruppe des Acetyl-glucosamin-Restes weitgehend methyliert und bei Anwendung von BaO und CH₃J in Dimethylformamid (ohne Kühlung)⁹⁾ die Fucose zum größten Teil abgespalten: aus den erhaltenen Methylierungsprodukten ließ sich 2.3.4-Trimethyl-β-methyl-L-fucosid in schönen Kristallen vom Schmp. 102–103° heraussublimieren, die mit einem synthet. Präparat identifiziert wurden.

Überwinden ließen sich diese Schwierigkeiten erst durch Methylierung mit Dimethylsulfat und Natronlauge bei 0°. Die so in einer Ausbeute von 92% d. Th. erhaltene Permethylverbindung des Pentait II (ber. für 16 OCH₃ 45.97; gef. OCH₃ 45.20, 45.24) hat bei *Hydrolyse* mit 1 *n* H₂SO₄ unter Rückfluß die in Tab. 1 angeführten Spaltstücke gegeben.

Tab. 1. Spaltstücke nach Hydrierung, Permethylierung und Säurehydrolyse

Lacto- <i>N</i> -fucopentaose I	Lacto- <i>N</i> -fucopentaose II
1.2.3.5.6-Pentamethyl-D-sorbit	1.2.3.5.6-Pentamethyl-D-sorbit
2.4.6-Trimethyl-D-galaktose	2.4.6-Trimethyl-D-galaktose
4.6-Dimethyl-D-glucosamin	6-Methyl-D-glucosamin
3.4.6-Trimethyl-D-galaktose	2.3.4.6-Tetramethyl-D-galaktose
2.3.4-Trimethyl-L-fucose	2.3.4-Trimethyl-L-fucose

Von diesen Spaltstücken ist das wichtigste das 6-*Methyl-D-glucosamin*, welches jetzt — im Gegensatz zu den mit Ag₂O und BaO durchgeführten Versuchen — frei von dem schneller wandernden 4.6-Dimethyl-D-glucosamin in den Chromatogrammen auftrat und nach Abtrennung mit einem Kationenaustauscher als Hydrochlorid

⁷⁾ Vgl. z. B. die Bildung von Isosaccharinsäure aus Lactose bei W. M. CORBETT und J. KENNER, J. chem. Soc. [London] 1953, 2245, sowie die Bildung von Milchsäure aus Melibiose bei W. M. CORBETT und J. KENNER, J. chem. Soc. [London] 1954, 3281.

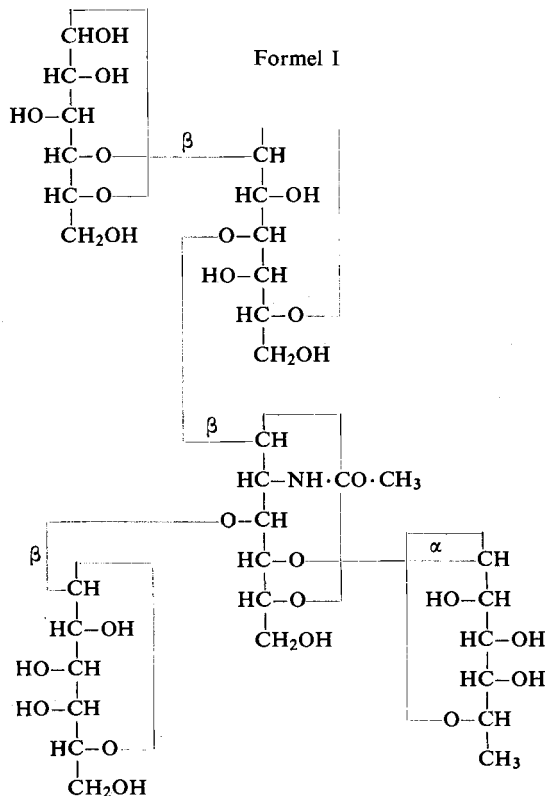
⁸⁾ R. KUHN, H. TRISCHMANN und I. LÖW, Angew. Chem. 67, 32 [1955].

⁹⁾ R. KUHN, H. H. BAER und A. SEELIGER, Liebigs Ann. Chem. 611, 236 [1958].

kristallisiert (50% d. Th.) erhalten werden konnte. Nach Drehungsvermögen, IR-Spektrum und R_F -Wert stimmt unser Spaltstück mit 6-Methyl-D-glucosamin-hydrochlorid, das wir Herrn Prof. Dr. R. W. JEANLOZ¹⁰⁾ verdanken, genau überein.

2.4-Dimethyl-galaktose und 2.6-Dimethyl-galaktose, die zu erwarten waren, wenn die Fucose mit einer der beiden auf Grund der Vorversuche möglichen OH-Gruppen des ersten Galaktoserestes verknüpft gewesen wäre, traten unter den Spaltstücken nicht auf.

Der Lacto-*N*-fucopentaose II kommt somit die nachstehende Formel zu. Für die α -glykosidische Bindung des L-Fucoserestes spricht, wie bei der Fucosidolactose und bei der Lacto-*N*-fucopentaose I, die starke Linksdrehung (Lacto-*N*-tetraose: $[\alpha]_D^{25}$: +25.5°, Lacto-*N*-fucopentaose II: $[\alpha]_D^{25}$: -30.4° in Wasser).



O- β -D-Galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*-[α -L-fucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]-2-desoxy-2-acetamino-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-*O*- β -D-galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-D-glucopyranose

Die nunmehr gesicherte Konstitution der Lacto-*N*-fucopentaose II ist in einem Vortrag¹¹⁾ bereits vor 3 Jahren als die wahrscheinlichste bezeichnet worden. Damals war die durch Abspaltung von Fucose entstehende, jetzt kristallisiert vorliegende

¹⁰⁾ R. W. JEANLOZ, J. Amer. chem. Soc. 76, 558 [1954].

¹¹⁾ Referat: R. KUHN, Angew. Chem. 67, 184 [1955].

Lacto-*N*-tetraose nur papierchromatographisch nachgewiesen. Das Ausbleiben der MORGAN-ELSON-Reaktion hatte aber bereits zur richtigen Schlußfolgerung geführt, daß die Fucose mit der 4-Stellung des Acetylglucosamins im Tetrasaccharid verknüpft ist. Zu jener Zeit war erst an wenigen Beispielen empirisch bekannt, daß Substituenten in 4-Stellung des Acetylglucosamins die MORGAN-ELSON-Reaktion verhindern¹²⁾. Die Ursache dieser Eigentümlichkeit, nämlich die Blockierung des Überganges in die Acetaminofuranose, konnte erst später mit G. KRÜGER¹³⁾ geklärt werden durch den Nachweis, daß die Chromogene der MORGAN-ELSON-Reaktion Derivate des 3-Acetamino-furans sind. Wenn es das Ziel der vorliegenden Untersuchung war, die schon lange wahrscheinlichste Konstitution der Lacto-*N*-fucopentaose II allseitig zu sichern, so war dafür die Überlegung bestimmend, daß möglicherweise auch andere, noch unbekannt konstitutionelle Faktoren einen positiven Ausfall der MORGAN-ELSON-Reaktion verhindern könnten. In dieser Hinsicht hatten wir längere Zeit den Verdacht, daß unter Umständen die Fucose in 2-Stellung des Galaktoserestes in der reduzierenden Hälfte der Lacto-*N*-tetraose sitzen und dadurch die ME-Reaktion blockieren könnte. Denn in diesem Falle würde bei der Vorbehandlung mit heißer 0.05 *n* Na₂CO₃-Lösung, nach Zerstörung der reduzierenden kopfständigen Glucose, ein Tetrasaccharid entstehen, dessen reduzierende Hälfte die bemerkenswert alkali-resistente 2-Fucosido-galaktose wäre; dadurch hätte der weitere alkalische Abbau bis zur Freilegung des 1-ständigen Hydroxyls im Acetylglucosamin-Rest — sie ist Voraussetzung für die Bildung der Acetaminofuranose — sehr erschwert sein können. Der angeführte Verdacht war deshalb naheliegend und schwerwiegend, weil wir aus Frauenmilch auch die Fucosidolactose isoliert hatten, nämlich *O*- α -L-Fucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -D-galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- α -D-glucopyranose, für die das eben erörterte Bauprinzip erwiesen ist. Jetzt zeigt sich, daß die Verhältnisse nicht so liegen. Eine „biochemisch-genetische Spekulation“ auf die Konstitution der Lacto-*N*-fucopentaose II wäre jetzt, wenn sie angestellt worden wäre, als irrig erwiesen; denn dieses Pentasaccharid ist nicht so gebaut, wie man es durch „Kombination“ der bekannten Formel der Lacto-*N*-tetraose und der Fucosidolactose, die neben dem Pentasaccharid in der Frauenmilch vorkommen, hätte erwarten können.

Gegen voreilige biochemisch-genetische „Erwartungen“ der angeführten Art spricht auch das Ergebnis, zu dem die Konstitutionsaufklärung der isomeren Lacto-*N*-fucopentaose I geführt hat. Denn auch deren Struktur entspricht nicht der „Kombination“ von Lacto-*N*-tetraose und Fucosidolactose, mit denen man sie in der Natur vergesellschaftet findet. In der Pentaose I ist die Fucose nicht mit der Lactosehälfte, sondern mit dem endständigen Galaktoserest des N-haltigen Tetrasaccharids in 2-Stellung verknüpft.

Herrn Prof. Dr. W. T. J. MORGAN, London, haben wir für die Mitteilung von Versuchsergebnissen, Herrn Prof. Dr. R. W. JEANLOZ für die Überlassung von Glucosamin-methyläthern zu danken. Für experimentelle Hilfe danken wir Fr. A. SEELIGER und Fr. D. TSCHAMPEL, für die IR-Spektren Herrn Dr. W. OTTING und für die Debye-Scherrer-Aufnahmen Herrn E. RÖHM.

¹²⁾ R. KUHN, A. GAUHE und H. H. BAER, Chem. Ber. **87**, 1138 [1954].

¹³⁾ R. KUHN und G. KRÜGER, Chem. Ber. **89**, 1473 [1956].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

mitbearbeitet von HEINRICH TRISCHMANN

Die *Isolierung* der Lacto-*N*-fucopentaose II ist bereits beschrieben³⁾. Sie stellt ein amorphes weißes Pulver dar. Ein Versuch, sie kristallisiert zu erhalten, wurde wie folgt durchgeführt: Wir lösten 2 g Pentasaccharid in 10 ccm heißem Methanol unter tropfenweisem Wasserzusatz, fügten 10 Tropfen *n*-Hexylalkohol zu und versetzten vorsichtig bis zum Auftreten einer bleibenden Trübung mit heißem *n*-Butanol. Der sich beim langsamen Abkühlen trotz Reibens mit dem Glasstab ölig abscheidende Niederschlag wurde erneut in feuchtem, heißem Methanol aufgenommen und durch Zugabe von absol. Äthanol nunmehr pulvrig erhalten (1.13 g, exsikkatortrocken). Das Pulver schmolz unscharf unter Zersetzung bei etwa 213 bis 216°, erschien im Mikroskop nicht doppelbrechend und zeigte eine einzelne DEBYE-SCHERRER-Linie. $[\alpha]_D^{25}$: -26.3° (5 Min.) $\rightarrow -28.1^\circ$ (2 Stdn., konst., $c = 2$ in Wasser).

Erneut aus feuchtem Methanol + wenig *n*-Hexylalkohol + absol. Äthanol umgelöst, zeigte der Zucker die gleiche einzelne Röntgenlinie und den Schmp. 213–215° (Zers.). Zur Analyse wurde 15 Stdn. bei 110°/3 Torr über P₂O₅ getrocknet, wobei 610 mg Substanz 55 mg (9%) an Gewicht verloren. Die Drehung war danach $[\alpha]_D^{25}$: -28.4° (5 Min.) $\rightarrow -30.4^\circ$ (konst., $c = 2.4$ in Wasser).

C₃₂H₅₅NO₂₅ (853.8) Ber. C 45.00 H 6.49 N 1.64 Gef. C 44.09 H 6.69 N 1.77, 1.56

Ein anderes Präparat von Lacto-*N*-fucopentaose II, das aus Cellulose-Säulen mit Butanol/Essigsäure/Wasser gewonnen worden war, wurde 45 Stdn. bei 80°/3 Torr über P₂O₅ getrocknet. $[\alpha]_D^{25}$: -28.4° (Wasser).

C₃₂H₅₅NO₂₅ (853.8) Ber. C 45.00 H 6.49 N 1.64 (C)CH₃ 3.52
Gef. C 44.26 H 6.66 N 1.63 (C)CH₃ 3.71

Als Äquiv.-Gew. wurde mit Hypojodit nach MACLEOD 869 und 862 gefunden.

Lacto-N-tetraose aus Lacto-N-fucopentaose II: 150 mg Pentaose II wurden in 30 ccm 0.1 *n* Oxalsäure 20 Min. im siedenden Wasserbad (98°) erhitzt. Eine nach 10 Min. entnommene Probe zeigte starke MORGAN-ELSON-Reaktion. — Die mit feingemahlenem Amberlite IR-45 von Oxalsäure befreite Lösung wurde i. Vak. eingedampft, der Rückstand in 1 ccm Wasser aufgenommen, die wäßrige Lösung mit 2 ccm absol. Äthanol versetzt und die dabei entstandene Trübung abzentrifugiert. Zusatz von weiteren 1.5 ccm absol. Äthanol zur klaren erwärmten Lösung und Impfen mit einer Spur Tetraose bewirkte Kristallisation feiner Nadeln (60.6 mg). Versetzen der Mutterlauge mit 1 ccm Alkohol lieferte weitere 18.5 mg. Die Kristallisate wurden aus wäßr. Äthanol umkristallisiert und alle Mutterlaugen aufgearbeitet. So resultierten schließlich 4 kristallisierte Fraktionen und 1 sirupöse Fraktion von insgesamt 134.3 mg (= 90% des eingesetzten Zuckers). Von diesen enthielten auf Grund papierchromatographischer Prüfung 2 (zusammen 53.9 mg) nahezu reine Tetraose, die nur von Spuren des Ausgangsmaterials und niederer Spaltprodukte begleitet war, 2 weitere (zusammen 49.0 mg) bestanden zu mehr als der Hälfte aus Tetraose, und in der 5. Fraktion (31.4 mg, sirupös) war die abgespaltene Fucose angereichert neben noch merklichen Mengen Tetraose. 150 mg Pentaose können theoretisch 124.5 mg Tetraose (bzw. 112 mg bei Berücksichtigung von 10% Verlust beim Umkristallisieren, s. oben) ergeben: Danach sind bei der Partialhydrolyse schätzungsweise 75–80% d. Th. an *Lacto-N-tetraose* entstanden; unsere Reifractionen umfaßten 48% d. Th. Das DEBYE-SCHERRER-Diagramm und das IR-Spektrum der feinen, farblosen Nadeln waren identisch mit denen des nativen Tetrasaccharids. $[\alpha]_D^{25}$: $+36^\circ$ ($t = 0$) $\rightarrow +24^\circ$ (Endwert, $c = 0.5$ in Wasser), in guter Übereinstimmung mit unseren früheren^{4,3)} Werten.

*Alkalischer Abbau*¹⁴⁾: 2 Ansätze zu je 6 mg Pentaose II in 1 ccm 0.05 *n* Na₂CO₃ wurden auf 97° erhitzt und nach 5 bzw. 10 Min. rasch abgekühlt. Nach Entfernung der Ionen mit Amberlite IR-120 (H[⊕]) und IR-45 (OH[⊖]) wurde eingedampft und der Rückstand papierchromatographisch untersucht¹⁴⁾. Man sah im Bereich der $R_{Lactose}$ -Werte um 0.2 dicht übereinander 3 Flecke. Der langsamste stellte unverändertes Ausgangsmaterial dar, der mittlere färbte sich mit Naphthoresorcin rot und war vermutlich die dem Pentasaccharid II entsprechende Ketose, im dritten vermuten wir ein durch Abspaltung eines Zuckerbausteins aus dem Pentasaccharid hervorgegangenes Tetrasaccharid. Insoweit war das Ergebnis analog dem mit Pentasaccharid I¹⁵⁾ und Hexasaccharid¹⁶⁾ erhaltenen. Im Gegensatz zu letzteren lieferte die Pentaose II keine disaccharidischen Abbauprodukte, sondern nur reichlich Galaktose und Fucose neben Spuren von weiteren schnellwändernden Abbauprodukten.

Perjodat-Oxydation: a) 85.4 mg (0.1 mMol) Pentaose II und, als Vergleichssubstanz, 85.4 mg Pentaose I (beide Proben 24 Stdn. bei 110° i. Vak. getrocknet) wurden in je 3.00 ccm 0.25 *m* NaJO₄ (0.75 mMol) gelöst. Die mit Wasser auf 20 ccm aufgefüllten Lösungen wurden im Dunkeln bei etwa 20° aufbewahrt. Nach 50 Min. wurden je 5 ccm entnommen, zur Zerstörung überschüssigen Perjodats mit 1 Tropfen Äthylenglykol versetzt und mit Ionenaustauschern von NaJO₃ und Ameisensäure befreit. Nun gab man soviel starke Schwefelsäure hinzu, daß die Lösungen 2*n* wurden und hydrolysierte 3 Stdn. in verschlossenen Ampullen bei 110°. Die mit Baryt neutralisierten Hydrolysate wurden papierchromatographisch¹⁷⁾ untersucht, wobei beide Ansätze annähernd das gleiche Bild boten: viel Galaktose und Glucosamin, wenig Glucose, Arabinose und eine Spur Substanz mit dem R_F -Wert der Fucose; ferner war ein langsamer, nicht identifizierter Fleck vorhanden ($R_F < Lactose$).

Nach 48 stdg. Oxydationszeit waren, wiederum in beiden Ansätzen, nur noch *Galaktose* und *Glucosamin* in reichlicher Menge sowie Spuren langsamer, ninhydrinpositiver (Reversions-?) Produkte und eines schnellen Flecks (Tetrose ?) zu sehen. Glucose und Arabinose waren *verschwunden*.

b) 85.4 mg Pentaose II und, zu Vergleichszwecken, ebensoviel Pentaose I wurden in je 2 ccm Wasser mit 10 mg *Kaliumborhydrid* 15 Stdn. bei Zimmertemperatur stengelassen. Darauf säuerte man mit verd. Schwefelsäure schwach an, erwärmte kurz auf 45° und neutralisierte nach 10 Min. mit 2–3 Tropfen NaHCO₃-Lösung. Nun wurde mit 3 ccm 0.25 *m* NaJO₄ versetzt und mit Wasser auf 20 ccm aufgefüllt. Nach 7 stdg. Oxydation (22°, im Dunkeln) entnahmen wir je 10 ccm, die 0.05 mMol hydriertem und abgebautem Oligosaccharid entsprachen, zur *Formaldehyd*-Bestimmung mit Dimedon¹⁸⁾.

Pentait II: gef. 26.8 mg Dimedon-Verbindung (Schmp. 192–193°), entsprechend 2.76 mg CH₂O (1.84 Mol/Mol Pentait).

Pentait I: gef. 28.1 mg Dimedon-Verbindung (Schmp. 191–192°), entsprechend 2.89 mg CH₂O (1.93 Mol/Mol Pentait).

Unter denselben Bedingungen erhielten wir nach vorangegangener Reduktion mit KBH₄ durch Abbau mit NaJO₄ die folgenden Ausbeuten an krist. Formaldehyd-Dimedon-Verbindung:

Lactose	1.84 Mol	Sophorose	1.07 Mol
3-β-Galaktosido-glucose	1.76 Mol	Melibiose	0.90 Mol
Lacto- <i>N</i> -difucohexaose	1.75 Mol		

¹⁴⁾ Vgl. hierzu R. KUHN, H. H. BAER und A. GAUHE, *Liebigs Ann. Chem.* **611**, 242 [1958].

¹⁵⁾ $R_{Lactose}$ -Werte um 0.3, nach 5 und 10 Min.; nach 15 Min. waren diese Produkte verschwunden (vgl. Fußnote¹⁴⁾).

¹⁶⁾ $R_{Lactose}$ -Werte um 0.15; nach 15 Min. noch erhalten (vgl. Fußnote¹⁴⁾).

¹⁷⁾ Absteigende Chromatographie in Pyridin/Essigester/Wasser/Eisessig = 5:5:3:1 nach F. G. FISCHER und H. DÖRFEL, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **301**, 224 [1955].

¹⁸⁾ Vgl. R. W. JEANLOZ, *Helv. chim. Acta* **27**, 1509 [1944].

Wie zu erwarten, wird bei Substitution in 2-Stellung (Sophorose) und in 6-Stellung (Meliobiose) nur 1 Mol CH_2O erhalten, während bei Substitution in 3- bzw. 4-Stellung zwei $\text{HOH}_2\text{C}\cdot\text{CHOH}$ -Gruppen durch Reduktion mit KBH_4 gebildet werden.

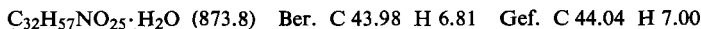
Hydrierung der Lacto-*N*-fucopentaose II

2.00 g Lacto-*N*-fucopentaose II (chromatogr. einheitlich) wurden in 20 ccm Wasser gelöst und mit 0.165 g KBH_4 (ca. 1.3 Moll.) versetzt. Da nach 2 Stdn. FEHLINGSche Lösung von einer angesäuerten Probe noch reduziert wurde, gab man weitere 80 mg KBH_4 zu. Nach 4 Stdn. wurde die kaum noch reduzierende Lösung mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt, mit wenig Amberlite IR-120 geschüttelt und über eine kleine IR-120-Säule (\varnothing 2 cm, Länge 7.5 cm) filtriert. Das neutrale Filtrat + 150 ccm Waschwasser wurde i. Vak. zur Trockne gebracht und der Rückstand 7mal mit absol. Methanol abgedampft (bis zum Verschwinden der grünen Flammenfärbung). Ausbeute 1.90 g; $[\alpha]_D^{25}$: -39° (Wasser).

*Kristallisierter Lacto-*N*-fucopentait II*: 1.9 g Substanz wurden in 3 ccm Wasser gelöst und mit 100 ccm absol. Methanol versetzt. Beim Anreiben kristallisierte der Pentait in rosettenförmig angeordneten farblosen Stäbchen (710 mg). Schmp. ca. $205-210^\circ$ (evak. Röhrchen, unter Aufschäumen, nach vorangegangenem schwachem Sintern). $[\alpha]_D^{25}$: -46° (Wasser, $c = 0.5$). Zur Analyse wurde zunächst 3 Stdn. bei $100^\circ/10^{-3}$ Torr getrocknet.



Nach 12stdg. Trocknung bei $110^\circ/10^{-3}$ Torr ergab sich:



Die Mutterlauge lieferte nach Versetzen mit weiteren 100 ccm Methanol noch 205 mg krist. Pentait. Die Mutterlauge der zweiten Kristallisation wurde i. Vak. verdampft (953 mg Rückstand). Gesamtausbeute 1.868 g.

Methylierung von Lacto-*N*-fucopentait II

1.77 g Pentait in 30 ccm Wasser wurden bei 0° unter Rühren langsam mit 30 ccm Dimethylsulfat versetzt. Dazu ließ man unter stetem Rühren im Laufe von 8 Stdn. 45 ccm 40-proz. Natronlauge so langsam zutropfen, daß die Temperatur nicht über $+1^\circ$ stieg; dann wurde 12 Stdn. bei 0° weitergerührt. Die erste Nachmethylierung erfolgte mit 72 ccm Dimethylsulfat (innerhalb von 2–3 Stdn. zugegeben) und 100 ccm 40-proz. Natronlauge (im Laufe von 9 Stdn. bei nicht über $+1.5^\circ$ zugetropft), worauf noch 12 Stdn. bei 0° gerührt wurde. Zur zweiten Nachmethylierung dienten nochmals 72 ccm Dimethylsulfat (bei nicht über $+3^\circ$) im Laufe von 3 Stdn. Dann ließ man im langsam schmelzenden Eisbad die Temperatur allmählich steigen. Bei ca. $+5^\circ$ schäumte das Reaktionsgemisch heftig auf; zum Nachspülen des Steigrohres wurde CCl_4 und H_2O (ca. 10 ccm) verwendet. Nach 7 Stdn. waren $+17^\circ$ erreicht, nach weiteren 12 Stdn. (unter ständigem Rühren) $+21^\circ$.

Das Reaktionsgemisch haben wir 8 mal mit je 150 ccm Chloroform ausgeschüttelt, die vereinigten CHCl_3 -Auszüge 2mal mit Wasser gewaschen und letzteres 4mal mit CHCl_3 zurückgeschüttelt. Die Chloroformlösung wurde mit K_2CO_3 getrocknet und i. Vak. verdampft. Ausbeute 2.05 g (92 % d. Th.). Zur Analyse wurde 12 Stdn. bei $100^\circ/10^{-3}$ Torr getrocknet.



Sublimationsversuch: 150 mg Substanz gaben, im Kugelrohr erhitzt, bis $75^\circ/0.5$ Torr kein Sublimat. Trimethyl-methyl-fucosid beginnt unter diesen Bedingungen bereits bei 60° zu sublimieren.

Adsorptionsversuch an Al_2O_3 : 200 mg Substanz in 10 ccm CCl_4 wurden durch eine Al_2O_3 -Säule (WOELM, neutral; 1.4×9 cm) gegeben. Nachgewaschen wurde mit $\text{CCl}_4 + 1\%$ CH_3OH .

Der Rückstand der Eluate lieferte aus Benzol/Cyclohexan ein farbloses, amorphes Pulver vom Schmp. 119–120°; $[\alpha]_D^{25}$: -58° (Chloroform, $c = 0.5$).

Hydrolyse von Hexadecamethyl-lacto-*N*-fucopentait II

1.73 g Substanz wurden in 180 ccm 1 *n* H₂SO₄ 12 Std. unter Rückfluß gekocht. Die erkaltete Lösung wurde mit gesätt. Ba(OH)₂-Lösung auf $p_H \sim 4$ gebracht. Nach Entfernung des BaSO₄ filtrierten wir die i. Vak. auf 250 ccm eingeeengte Lösung zur Beseitigung restlicher SO₄-Ionen über eine kleine IR-45 (OH[⊖])-Säule (1.2 × 10 cm) in ein Gefäß, welches die dem zu erwartenden 6-Methyl-glucosamin äquivalente Menge 0.1 *n* HCl enthielt. Die Lösung zeigte papierchromatographisch¹⁷⁾ mit Anilinhydrogenphthalat einen Fleck mit dem R_F -Wert von 2.3.4-Trimethyl-fucose bzw. 2.3.4.6-Tetramethyl-galaktose (R_F 0.86, chromatographisch nicht zu trennen), ferner 2.4.6-Trimethyl-galaktose (R_F 0.79) und 6-Methyl-glucosamin (R_F 0.43). Überdies sah man einen schwachen Fleck von 3.4.6-Trimethyl-galaktose (R_F 0.73, charakterist. gelber Fluoreszenzrand), die vielleicht durch unvollständige Methylierung des 2. Galaktoserestes entstanden ist, sowie Spuren von 4.6-Dimethyl-glucosamin (R_F 0.52) und von einem Spaltstück mit R_F 0.63. Die mit Anilinhydrogenphthalat bzw. bei den Aminozuckern außerdem mit Ninhydrin erhaltenen Flecke stimmten nach R_F -Wert und Farbe mit denen authentischer Vergleichszucker¹⁹⁾ überein.

Die i. Vak. auf etwa 200 ccm eingeeengte schwach saure Lösung wurde zur Entfernung von Pentamethylsorbit 5 mal mit CHCl₃ ausgeschüttelt. Die Extrakte waren ganz schwach linksdrehend und zeigten im Papierchromatogramm zunehmend einen Fleck vom R_F -Wert 0.86 (Tetramethylgalaktose, Trimethylfucose). Die beiden ersten Extrakte wurden vereinigt und lieferten nach Trocknen mit Na₂SO₄ und Eindampfen 160 mg eines farblosen Sirups (A). Aus den 3 folgenden Extrakten erhielten wir weitere 70 mg Sirup (B). Die mit CHCl₃ ausgeschüttelte wäbr. Lösung wurde i. Vak. von CHCl₃ befreit und über eine Säule von IR-120 (H[⊕]) (1.2 × 40 cm) gegeben, die mit etwa 300 ccm H₂O nachgewaschen wurde. Filtrat (p_H 3–4) und Waschwasser filtrierten wir über eine kleine Säule von IR-45 (OH[⊖]) und dampften die nunmehr neutrale Lösung i. Vak. ein. Der farblose, sirupöse Rückstand wog nach dem Trocknen 857 mg und war frei von Aminozucker. Er wurde in 70 ccm H₂O aufgenommen. Durch 5maliges Ausschütteln mit je 70 ccm CHCl₃ extrahierten wir 281 mg Trimethylfucose + Tetramethylgalaktose als farblosen Sirup (C), der schwach linksdrehend war. Weiteres 5maliges Ausschütteln mit je 70 ccm CHCl₃ ergab 99 mg eines farblosen Sirups (D), der neben Trimethylfucose und Tetramethylgalaktose 2.4.6-Trimethyl-galaktose enthielt. Die wäbr. Lösung hinterließ nach dem Eindunsten i. Vak. 473 mg Sirup (E). Nach dem Papierchromatogramm bestand er aus 2.4.6-Trimethyl-galaktose, begleitet von etwas 3.4.6-Trimethyl-galaktose.

6-Methyl-glucosamin-hydrochlorid: Zur Gewinnung des Aminozuckers wurde die IR-120-Säule anschließend mit 180 ccm 0.5 *n* HCl eluiert. Das i. Vak. unter mehrmaligem Zusatz von Wasser eingedampfte Eluat ergab nach Trocknen über CaCl₂/Natronkalk 345 mg festen gelblichen Rückstand²⁰⁾. Die Substanz wurde in absol. CH₃OH gelöst, die Lösung kurz mit

¹⁹⁾ 2.3.4-Trimethyl-fucose synthetisch nach O. TH. SCHMIDT, W. MAYER und H. DISTELMAIER, Liebigs Ann. Chem. **555**, 26 [1944]; 2.3.4.6-Tetramethyl-galaktose durch Hydrolyse des nach F. MICHEEL und O. LITTMANN, Liebigs Ann. Chem. **466**, 115 [1928], hergestellten Methylgalaktosids. 2.4.6-Trimethyl-galaktose aus Lacto-*N*-tetraose⁵⁾; 3.4.6-Trimethyl-galaktose aus Fucosidolactose¹⁾; 6-Methyl-glucosamin·HCl und 4.6-Dimethyl-glucosamin·HCl waren Präparate von R. W. JEANLOZ.

²⁰⁾ Dieser bestand nach dem Papierchromatogramm zur Hauptsache aus 6-Methyl-glucosamin mit Spuren schnellerer ninhydrinpositiver Substanzen (4.6-Dimethyl-glucosamin) und der Substanz mit R_F 0.63 (mit Ninhydrin sehr schwache und langsame Violettfärbung, mit Anilinhydrogenphthalat stärkere Reaktion.) Eine Nachelution der Austauschersäule mit weiteren 100 ccm 0.5 *n* HCl lieferte nur 11 mg (Chromatogramm: 6-Methyl-glucosamin mit etwas stärkerer Beimengung von 4.6-Dimethyl-glucosamin).

Carboraffin erwärmt, filtriert und auf etwa 4 ccm eingeengt. Sie lieferte auf Zusatz von Aceton (bis zur starken Trübung, etwa 15 ccm) beim Anreiben einen krist. Niederschlag, der nach 1 tägigem Stehenlassen im Eisschrank abgesaugt, mit CH₃OH/Aceton-Gemisch gewaschen und getrocknet wurde: 132 mg, Büschel von Stäbchen. Zers.-P. 172–185° (Monoskop.). Aus der Mutterlauge erhielten wir weitere 48 mg. Zur Analyse wurde noch einmal aus absol. CH₃OH + Aceton umkristallisiert (wobei sich der Zers.-P. nicht änderte) und 12 Stdn. bei 60°/3 Torr und weitere 3 Stdn. bei 95°/3 Torr getrocknet (P₂O₅).

C₇H₁₆ClNO₅ (229.7) Ber. C 36.61 H 7.02 N 6.10 OCH₃ 13.51

Gef. C 36.47 H 7.06 N 5.96 OCH₃ 13.38

$[\alpha]_D^{25}$: +91.5° (10 Min.) → +70.5° (Endwert, $c = 1$ in Wasser); Lit.¹⁰⁾: $[\alpha]_D^{25}$: +92° (10 Min.) → +68 ± 2° (Endwert, $c = 1$ in Wasser). Auch die IR- und DEBYE-SCHERRER-Aufnahmen waren identisch mit denen von 6-Methyl-D-glucosamin-hydrochlorid (Präparat von R. W. JEANLOZ).

2.4.6-Trimethyl-D-galaktose

Der Sirup E ließ sich durch Aufnehmen in Äther unter Zusatz von etwas Methanol und Versetzen mit Petroläther (Sdp. 30–40°) nicht zur Kristallisation bringen. Wir verdampften die filtrierte Lösung wieder (Rückstand 429 mg) und führten eine Perjodat-Oxydation durch, wie wir sie für die aus Lacto-*N*-fucopentaose I erhaltene Mischung von 2.4.6- und 3.4.6-Trimethylgalaktose beschrieben haben³⁾. Ein Teil der durch Oxydation der 3.4.6-Trimethylgalaktose gebildeten 2.3.5-Trimethyl-lyxose (13 mg) ließ sich mit CHCl₃ entfernen. Der Eindampf-Rückstand der wäßrigen Lösung (352 mg) war nach dem Papierchromatogramm nunmehr frei von 3.4.6-Trimethylgalaktose²¹⁾. Er wurde bei 10⁻³ Torr destilliert (Luftbad: 110 bis 120°). Aus Essigester/Benzin (Sdp. 50–60°) kristallisierte die 2.4.6-Trimethyl-D-galaktose in farblosen Stäbchen vom Schmp. 99–100°. Sie war nach DEBYE-SCHERRER-Aufnahme und Misch-Schmp. (99–100°) identisch mit dem aus Lacto-*N*-fucopentaose I erhaltenen³⁾ Trimethyläther der Galaktose vom Schmp. 100–101°.

1.2.3.5.6-Pentamethyl-D-sorbit

Aus dem Sirup A wurden die den Pentamethylsorbit begleitenden reduzierenden Zucker nach Oxydation mit Hypojodit abgetrennt²²⁾. Der so gereinigte Pentamethylsorbit (136 mg) ging bei 2 maliger Destillation im Kugelrohr (10⁻³ Torr, 75–80°) als nahezu farbloses Öl über. Ber. C 52.36 H 9.59 OCH₃ 61.50 Gef. C 52.14 H 9.81 OCH₃ 59.80; $n_D^{25} = 1.4440$; $[\alpha]_D^{25}$: -7.5° (absol. Äthanol, $c = 0.5$). Für 1.2.3.5.6-Pentamethyl-D-sorbit aus Lacto-*N*-fucopentaose I hatten wir³⁾ gefunden: $n_D^{25} = 1.4428$, $[\alpha]_D^{25}$: -7.8° (absol. Äthanol).

2.3.4-Trimethyl-L-fucose

250 mg des Sirups C wurden in 25 ccm 2.5-proz. absol. methanol. HCl gelöst und 7 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Die mit Ag₂CO₃ von Cl⁻-Ionen befreite Lösung wurde i. Vak. bei niedriger Temperatur zur Trockne gebracht. Der ölige Rückstand (250 mg) lieferte bei 12 Torr bis 65° sehr wenig Sublimat. Bei 10⁻³ Torr und 65–70° erhielten wir weiteres Sublimat (das anschließend noch einmal bei 12 Torr und ca. 85° übergetrieben wurde, wobei es teils sublimierte, teils destillierte; insgesamt 71 mg). Bis 90° destillierte bei 10⁻³ Torr ein Öl, das zum großen Teil kristallisierte (Mischfraktion 71 mg), und zwischen 90 und 95° ein dickflüssiges Öl (106 mg; weitere Verarbeitung siehe unten bei 2.3.4.6-Tetramethylgalaktose). Die bei 65–70°/10⁻³ Torr gewonnene und bei 85°/12 Torr resublimierte Fraktion (71 mg)

²¹⁾ Er enthielt aber vermutlich eine Spur der Trimethyl-lyxose; mit Anilinhydrogenphthalat schwacher, rötlicher Fleck, $R_F = 0.88$, d. h. wenig schneller als 2.4.6-Trimethylgalaktose.

²²⁾ P. A. LEVENE und M. KUNA, J. biol. Chemistry 127, 49 [1939].

wurde mit 1 ccm 1 *n* H₂SO₄ 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Durch Ausschütteln der Lösung mit CHCl₃ erhielt man 53 mg Substanz, die durch 7stdg. Kochen unter Rückfluß mit 6 ccm 2.5-proz. absol. methanol. HCl erneut glykosidiert wurde. Nach Entfernung der Cl[⊖]-Ionen mit Ag₂CO₃ und Eindampfen blieben 45 mg, die zwischen 90° und 120°/12 Torr teils sublimierten, teils destillierten.

Schmp. 98–100° (Monoskop). Nach DEBYE-SCHERRER-Diagramm und Misch-Schmp. identisch mit 2.3.4-Trimethyl-*α*-methyl-*L*-fucosid vom Schmp. 99°. $[\alpha]_D^{25}$: –212° (Wasser, *c* = 0.08); Lit.: $[\alpha]_D^{25}$: –209° (Wasser, *c* = 2).

2.3.4.6-Tetramethyl-*D*-galaktose

Das bei 90–95°/10^{–3} Torr übergegangene Öl (106 mg) wurde durch 3stdg. Kochen mit 3 ccm 1 *n* H₂SO₄ hydrolysiert. Durch Extraktion mit CHCl₃ erhielten wir 75 mg eines Öls, das Kristallisationsansätze zeigte. Es wurde in 2 ccm absol. Methanol + 45 mg Anilin gelöst und nach Zusatz von etwa 3 mg NH₄Cl 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach Eindampfen auf ca. 0.5 ccm wurde vorsichtig mit Wasser versetzt, wobei sich ein Teil des Anilids (ca. 10 mg) in farblosen Nadeln abschied. Die Mutterlauge wurde mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther-Rückstand (40 mg) lieferte bei 10^{–3} Torr (140–160°) ein rasch kristallisierendes Öl (weiteres Anilid). Die 10 mg wurden bei 10^{–3} Torr (120–130°) sublimiert. Schmp. 188 bis 190° (Monoskop; unter Sublimation farbloser Stäbchen). Die Mischprobe mit gleichfalls sublimiertem, authentischem 2.3.4.6-Tetramethyl-*D*-galaktose-anilid vom Schmp. 192–193° schmolz ohne Depression bei 188–190°. Die DEBYE-SCHERRER-Aufnahmen waren identisch.

HERMANN STETTER und URSULA MILBERS

Eine neue Methode zur Darstellung langkettiger Carbonsäuren, XIV¹⁾

Über die Verwendung von 1.3-Dialkyl-cyclohexandionen-(4.6) zur Synthese verzweigter Carbonsäuren

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität München

(Eingegangen am 12. November 1957)

Es wird die Herstellung von 1.3-Dimethyl-cyclohexandion-(4.6) und 1.3-Diäthyl-cyclohexandion-(4.6) beschrieben. Aus diesen Verbindungen konnten mit der früher beschriebenen Methode 1.3-Dimethyl-pentan-carbonsäure-(1), 1.3-Diäthyl-pentan-carbonsäure-(1), 1.3-Dimethyl-6-phenyl-hexan-carbonsäure-(1), 1.3.9.11-Tetramethyl-undecan-dicarbon-säure-(1.11) und 1.3.9.11-Tetraäthyl-undecan-dicarbon-säure-(1.11) erhalten werden.

In früheren Veröffentlichungen^{1,2)} wurde die Ausdehnung der ursprünglich für Dihydroresorcin ausgearbeiteten Synthese auf 1-Alkyl- und 1-Aryl-cyclohexandione-(3.5), aus denen β -verzweigte Carbonsäuren erhalten werden konnten, beschrieben.

¹⁾ XIII. Mitteil.: H. STETTER und H. MEISEL, Chem. Ber. **90**, 2928 [1957].

²⁾ H. STETTER, H. KESSELER und H. MEISEL, Chem. Ber. **87**, 1617 [1954].