

## RUDOLF TSCHESCHE und GÜNTER POPPEL

Über Triterpene, V<sup>1)</sup>**Zur Kenntnis der Crataegolsäure und über zwei neue Triterpencarbonsäuren aus *Crataegus oxyacantha* L.**

Aus der Biochemischen Abteilung des Chemischen Staatsinstituts der Universität Hamburg

(Eingegangen am 17. Oktober 1958)

Aus den Blättern von *Crataegus oxyacantha* L. wurden zwei neue Triterpencarbonsäuren, Acantholsäure, C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>5</sub>, und Neotaegolsäure, C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>, isoliert. Crataegolsäure wurde als ein Derivat der β-Amyrin-Reihe erkannt. Ein papierchromatographisches Verfahren zur Trennung von Triterpensäuregemischen wird beschrieben; das angegebene Lösungsmittelgemisch ließ sich erfolgreich auch für eine Verteilungschromatographie an der Cellulosesäule verwenden.

Aus den Blättern von *Crataegus oxyacantha* L. haben R. TSCHESCHE und Mitarbb.<sup>2,3)</sup> eine neue Triterpencarbonsäure C<sub>30</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub> isoliert, die den Namen Crataegolsäure erhielt. Sie wurde inzwischen von H. R. ARTHUR und W. H. HUI<sup>4)</sup> auch in *Psidium guajava* nachgewiesen. Es war damals angenommen worden<sup>2)</sup>, daß Crataegolsäure der α-Amyrin-Reihe zugehört, doch die inzwischen gesicherte Konstitution des α-Amyrins<sup>5)</sup> ließ starke Zweifel aufkommen, ob diese Zuordnung richtig war. Ferner hatten sich schon damals Anhaltspunkte dafür ergeben, daß außer Crataegolsäure sowie Ursolsäure und Oleanolsäure<sup>6)</sup> noch weitere Triterpencarbonsäuren in den Blättern dieser Pflanze vorkommen. Eine Neubearbeitung der Triterpencarbonsäuren aus *Crataegus oxyacantha* war daher wünschenswert.

Als vordringlichste Aufgabe erschien uns zunächst die Entwicklung eines papierchromatographischen Verfahrens, um einen Einblick in die Zahl der vorliegenden Komponenten zu erhalten<sup>7)</sup>. Nach Erprobung zahlreicher Kombinationen konnte in dem Gemisch Octanol/Pentanol/10-proz. wäßriges Pyrrolidin/Formamid 6:2:1:4 (OPW<sub>Pyr</sub>F) eine Zusammenstellung gefunden werden, die eine gute Auftrennung erlaubte. Bei Verwendung der leichten Phase als stationärer und der schweren als mobiler Phase konnten diskrete, runde Flecke bei der Anfärbung mit Zinntetrachlorid in Eisessig/Chloroform<sup>8)</sup> beobachtet werden (rotviolette Färbung, im UV-Licht orangerot). Das Verfahren erlaubt allerdings vorwiegend nur eine Trennung von Triterpencarbonsäuren, die in der Zahl der Hydroxyl-, bzw. Ketogruppen differieren, während solche

1) IV. Mittel.: R. TSCHESCHE und D. FORSTMANN, Chem. Ber. **90**, 2383 [1957].

2) R. TSCHESCHE und R. FUGMANN, Chem. Ber. **84**, 810 [1951].

3) R. TSCHESCHE, A. HEESCH und R. FUGMANN, Chem. Ber. **86**, 626 [1953].

4) J. chem. Soc. [London] **1954**, 1403.

5) E. J. COREY und E. W. CANTRALL, J. Amer. chem. Soc. **80**, 499 [1958].

6) TH. BERSIN und A. MÜLLER, Helv. chim. Acta **34**, 1868 [1951]; **35**, 1891 [1952].

7) Brauchbare Lösungsmittelsysteme für diesen Zweck scheinen in der Literatur bisher nicht bekannt zu sein.

8) C. R. NOLLER und Mitarbb., J. Amer. chem. Soc. **64**, 3047 [1942]; J. J. SCHEIDEGGER und E. CHERBULIEZ, Helv. chim. Acta **38**, 547 [1955].

Isomeren wie Oleanolsäure und Ursolsäure nicht unterschieden werden können<sup>9)</sup>. Tab. 1 gibt eine Übersicht über die  $R_F$ -Werte der geprüften Triterpencarbonsäuren.

Tab. 1.  $R_F$ -Werte verschiedener Triterpencarbonsäuren

Säuren <sup>10)</sup>	Anzahl der Gruppen			$R_F$ -Werte (mittel)
	—COOH	—OH	—CO	
Ursol-	1	1		0.14
Oleanol-	1	1		0.14
Morol- (c)	1	1		0.16
Oleanon- (c)	1		1	0.19
Masticadienon- (c)	1		1	0.20
Iso-masticadienon- (c)	1		1	0.18
Echinocyst-	1	2		0.35
Cochal- (a)	1	2		0.42
Siaresinol- (c)	1	2		0.37
Guaijavol- (b)	1	2		0.37
Machaeri- (a)	1	1	1	0.57
Myrtillogen- (a)	1	3		0.79
Chinova- (c)	2	1		0.95

Die Anwendung des neuen papierchromatographischen Verfahrens auf das Triterpensäuregemisch aus den Blättern von *Crataegus oxyacantha* führte zu 4 Flecken mit den  $R_F$ -Werten 0.15—0.18, 0.39—0.44, 0.54 (sehr schwach, nicht immer vorhanden) und 0.79. Davon läßt sich der Wert 0.15—0.18 den Monohydroxy-triterpencarbonsäuren Oleanol- und Ursolsäure zuordnen. Der Wert 0.39—0.44 kommt der Crataegolsäure zu, wobei in einigen Chromatogrammen an dieser Stelle eine Einschnürung des Fleckes beobachtet wurde, so daß ein Begleiter dieser Säure zu vermuten war, der auch isoliert werden konnte und die Bezeichnung *Neotaegolsäure* erhielt. Die Flecke mit den  $R_F$ -Werten 0.54 und 0.79 kommen zwei bisher in *Crataegus* noch nicht gefundenen Triterpencarbonsäuren zu, von denen aber nur die mit dem Wert 0.79 rein isoliert werden konnte und den Namen *Acantholsäure* erhielt. Nach den  $R_F$ -Werten ist zu vermuten, daß die *Neotaegolsäure* ein Isomeres der Crataegolsäure ist, während die *Acantholsäure* wahrscheinlich eine Trihydroxy-monocarbonsäure darstellt. Die Säure mit dem Fleck 0.54 könnte eine Monohydroxy-monoketosäure sein.

Zur präparativen Isolierung der einzelnen Säuren wurde das papierchromatographische Verfahren auf die Cellulosesäule übertragen und mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch eine Verteilungschromatographie vorgenommen, wie sie von G. GRIMMER in unserem Institut für die Trennung von Cardenolidglykosiden entwickelt wurde<sup>11,\*)</sup>. Dazu war es notwendig, zunächst einmal die Löslichkeit der Triterpencarbonsäuren in der leichten (mobilen) Phase des Lösungsmittelgemisches zu verbes-

\*) Bei Anwendung der Adsorptionschromatographie an Aluminiumoxyd nach H. R. ARTHUR und W. H. HUI<sup>4)</sup> und Elution mit Aceton und Essigester konnten wir keine Auftrennung erzielen.

<sup>9)</sup> Nach Erfahrungen von A. K. SEN GUPTA in unserem Institut lassen sich Triterpencarbonsäuren sowohl am Papier als auch präparativ durch Verteilungschromatographie an der Cellulosesäule mit den Gemischen 4*n* Ammoniak/*n*-Butanol und 10-proz. wäßr. Diäthylamin/*n*-Butanol gut trennen.

<sup>10)</sup> Für die Überlassung dieser Säuren danken wir vielmals den Herren Proff. (a) C. DJERASSI, Detroit, (b) H. R. ARTHUR, Hongkong, und (c) D. H. R. BARTON, Glasgow.

<sup>11)</sup> Vgl. R. TSCHESCHE und U. DÖLBERG, Chem. Ber. 90, 2378 [1957].

sern. Dies wurde erreicht durch Erhöhung des Pyrrolidinanteils auf 30%, so daß nunmehr das System Isooctanol/Pentanol/30-proz. wäbr. Pyrrolidin/Formamid 6:2:3:4 angewandt wurde. Da das Gemisch der Triterpencarbonsäuren aus *Crataegus* zu mehr als 65% aus Ursol- und Oleanolsäure besteht, sollte zunächst dieser Anteil abgetrennt werden, um den Rest der Säuren dann einer Feintrennung zu unterwerfen. Es gelang, die Säule im Verhältnis 1:11.8 (Substanz zu Cellulose) zu belasten und so die gesuchten Säuren von den Monohydroxysäuren zu trennen. Durch eine anschließende zweite Verteilungschromatographie konnten die Dihydroxy- und Trihydroxysäuren erfolgreich getrennt werden, wobei, bedingt durch das für die Feintrennung erforderliche kleine Lösungsvolumen (etwa  $\frac{1}{10} V_0$ ) der aufgebrauchten Substanz, hierbei eine wesentlich geringere Belastung der Säule resultierte. Dabei ergab sich, daß das Triterpencarbonsäuregemisch dieser Pflanze zu 65–69% aus Ursolsäure mit wenig Oleanolsäure, 17–20% Acantholsäure, 9–12% Crataegolsäure und ca. 2% Neotaegolsäure besteht. Die nicht rein isolierte Säure mit dem  $R_F$ -Wert 0.54 ist nur zu 0.5–1% in dem Gemisch enthalten.

*Acantholsäure*,  $C_{30}H_{48}O_5$ , kristallisiert mit  $\frac{1}{2} H_2O$ , das erst beim Trocknen im Hochvak. bei 200° abgegeben wird. Sie bildet einen Methylester und ein Monoacetat; mehr Acetylene ließen sich nicht in das Molekül einführen, die beiden weiteren Hydroxyle müssen daher entweder stark gehinderte sekundäre oder tertiäre OH-Gruppen sein. *Neotaegolsäure*,  $C_{30}H_{48}O_4$ , wurde bisher nur als Methylester rein erhalten, ein kristallisiertes Acetat konnte nicht gewonnen werden. Das IR-Spektrum des Methylesters ist nicht mit demjenigen des Crataegolsäure-methylesters identisch, so daß es sich um eine neue Säure handeln dürfte. Die Abtrennung des Neotaegolsäure-methylesters vom Crataegolsäure-methylester gelang durch fraktionierte Kristallisation. Die  $R_F$ -Werte der freien Säuren unterscheiden sich zu wenig, um eine leichte Trennung durch Verteilungschromatographie zu erlauben.

Da die *Crataegolsäure* wiederum nicht kristallisiert erhalten werden konnte, wurde der schon beschriebene Methylester hergestellt. Er ließ sich in ein Diacetat überführen; beide vorhandenen Hydroxyle scheinen also primär oder sekundär gebunden zu sein. Bei der Oxydation dieser Verbindung mit Selenioxyd wurde in fast quantitativer Ausbeute eine Dehydroverbindung mit einer UV-Absorption bei 242, 251 und 260  $m\mu$  erhalten. Diese Reaktion ist bezeichnend für Triterpene der  $\beta$ -Amyrin-Reihe<sup>12,13,14</sup>,

Tab. 2. UV-Absorption der Esteracetate einiger Triterpene

		$\lambda_{max}$ [ $m\mu$ ] (log $\epsilon$ )			
Iso-dehydro- $\beta$ -amyrin	243	251	(4.49)	260	(4.26)
Dehydro-oleanolsäure		251	(4.45)	260	(4.33)
Dehydro-sumaresinolsäure		250	(4.5)		
Dehydro-desoxoglycyrrhetinsäure	242	(4.45)	250	(4.5)	260 (4.25)
Dehydro-myrttilogensäure	240	(4.38)	248	(4.42)	258 (4.23)
Dehydro-medicagoensäure	243	(4.17)	251	(4.19)	260 (4.15)
Dehydro-crataegolsäure	242	(4.46)	251	(4.52)	260 (4.30)

<sup>12</sup> D. H. R. BARTON und C. J. W. BROOKS, J. chem. Soc. [London] 1951, 257.

<sup>13</sup> C. DJERASSI und H. G. MONSIMER, J. Amer. chem. Soc. 79, 2901 [1957].

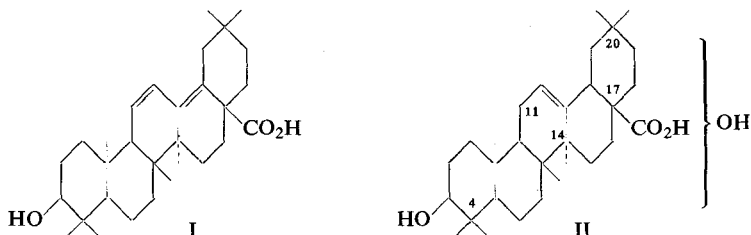
<sup>14</sup> A. SANDOVAL, A. MANJARREZ, P. R. LEARNING, G. H. THOMAS und C. DJERASSI, J. Amer. chem. Soc. 79, 4468 [1957].

wobei sich ein  $\Delta^{11,13(18)}$ -Dien ausbildet. Die  $\lambda_{\max}$ -Werte in ähnlicher Weise gewonnener Esteracetate bekannter Triterpene bringt Tab. 2.

Nach BARTON und BROOKS<sup>12)</sup> kommt der Dehydro-oleanolsäure Formel I zu; Dehydro-crataegolsäure könnte sich von ihr durch ein zusätzliches, vermutlich sekundäres Hydroxyl unterscheiden. Damit stimmt überein, daß ebenso wie beim Übergang vom Esteracetat der Oleanolsäure in die Dehydroverbindung auch bei den entsprechenden Derivaten der Crataegolsäure eine stark negative Änderung der spezif. Drehung auftritt:

		$[\alpha]_D$	$[M]_D$	$\Delta[M]$
Crataegolsäure	Methylesterdiacetat	+40.4°	+230°	-1172°
	Dehydro-methylesterdiacetat	-165°	-942°	
Oleanolsäure	Methylesteracetat	+69.7°	+356°	-1057°
	Dehydro-methylesteracetat	-132°	-701°	

In gleicher Weise wie bei der Oleanolsäure ist der Methylester der Crataegolsäure sehr schwer verseifbar; mit 10-proz. Kalilauge in Methanol wurde nach 7 Stdn. das Ausgangsmaterial quantitativ zurückerhalten. Nach den Erfahrungen von C. DJERASSI<sup>13)</sup> käme danach eine Carboxylgruppe an C-4 oder C-20 nicht in Frage. Von den verbleibenden angularen Positionen sind in allen bisher aufgeklärten Triterpenoid-säuren Carboxylfunktionen nur an C-14 und C-17 beobachtet worden. Erstere scheidet aber wohl aus, da beim Erhitzen auf 300° Crataegolsäure keine Decarboxylierung erfährt, wie sie von der Chinovasäure (Doppelbindung  $\beta,\gamma$  zum Carboxyl) bekannt ist. Wir möchten daher für die Crataegolsäure die Teilformel II in Erwägung ziehen, in der noch die Stellung der zweiten Hydroxylgruppe unbekannt ist. Sie wäre danach als eine 3.x-Dihydroxy- $\Delta^{12}$ -oleanen-carbonsäure-(17) anzusehen.



Um diese Annahme zu prüfen, haben wir versucht, die gegenüber der Oleanolsäure in der Crataegolsäure zusätzliche Hydroxylgruppe zu entfernen, konnten bisher aber nicht zu einem positiven Ergebnis gelangen. Bei vorsichtiger Acetylierung des Crataegolsäure-methylesters erhielten wir zwar zu 56% ein Monoacetat, in dem auf Grund der Halbwertszeit der Oxydationsgeschwindigkeit mit Chromsäure die zusätzliche OH-Gruppe unverestert geblieben ist. Nach dem Verfahren von G. GRIMMER<sup>15)</sup> wurde ein Wert von 170–180 Min. gefunden, während für die OH-Gruppe an C-3( $\beta$ ) ein Wert von ca. 38 Min. bekannt ist<sup>1)</sup>. Dieser Wert wurde auch beim Crataegolsäure-methylester für das leichter acetylierbare OH bestimmt. Bei dem

<sup>15)</sup> G. GRIMMER, Angew. Chem. 69, 400 [1957].

Versuch, die freie OH-Gruppe des Monoacetats mit Chromsäure/Eisessig zur Ketogruppe zu oxydieren, wurde jedoch ein Gemisch von zwei Oxydationsprodukten erhalten, von denen vermutlich keines die gesuchte Ketoverbindung darstellt. Das in geringerer Menge (20%) entstandene Umsetzungsprodukt hatte die Zusammensetzung  $C_{33}H_{50}O_6$  (Methylestermonoacetat), so daß eine zusätzliche Sauerstofffunktion in die Molekel eingetreten ist. Möglicherweise handelt es sich dabei um eine 11-Ketoverbindung, entstanden durch Oxydation der  $CH_2$ -Gruppe in Nachbarschaft zur Doppelbindung\*). Das Hauptprodukt der Oxydation (80%) ließ im IR keine isolierte CO-Frequenz erkennen. Durch Oxydation des Monoacetats mit Chromsäure in Pyridin konnte, neben ca. 10% der Verbindung  $C_{33}H_{50}O_6$ , nur das Ausgangsmaterial zurückerhalten werden. Ein weiterer Versuch, über den Tosylester, das Jodid und anschließende Spaltung mit Zink/Eisessig die OH-Gruppe zu entfernen, erbrachte keine definierten Umsetzungsprodukte.

Tab. 3 gibt die Konstanten der neu hergestellten Verbindungen wieder.

Tab. 3. Übersicht über die neu dargestellten Verbindungen

	Summenformel	Schmp.	$[\alpha]_D$	
Crataegolsäure-methylester*)	$C_{31}H_{50}O_4$	227–231°	$+67.5 \pm 3^\circ$	( $HCCl_3$ )
Crataegolsäure-methylester-diacetat	$C_{35}H_{54}O_6$	166–171°	$+40.4 \pm 2^\circ$	( $HCCl_3$ )
Crataegolsäure-methylester-monoacetat	$C_{33}H_{52}O_5$	199–204°	$+27.9 \pm 1^\circ$	( $HCCl_3$ )
Dehydro-crataegolsäure-methylester-diacetat	$C_{35}H_{52}O_6$	184–187°	$-165 \pm 3^\circ$	( $HCCl_3$ )
11-Keto-crataegolsäure-methylester-monoacetat (?)	$C_{33}H_{50}O_6$	242–248°		
Acantholsäure	$C_{30}H_{48}O_5$ $+1/2 H_2O$	279–282°	$+24.6 \pm 4^\circ$	(Me)
Acantholsäure-monoacetat	$C_{32}H_{50}O_6$	185–190°	$+14.4 \pm 3^\circ$	( $HCCl_3$ )
Acantholsäure-methylester	$C_{31}H_{50}O_5$	158–160°	$+26.4 \pm 2.5^\circ$	( $HCCl_3$ )
Neotaegolsäure-methylester	$C_{31}H_{50}O_4$	285–288°	$+63.8 \pm 3^\circ$	( $HCCl_3$ )

\*) Gegenüber den früheren Angaben<sup>3)</sup> wurde der Schmp. und die spezif. Drehung nach der Reinigung des Crataegolsäure-methylesters durch Adsorptionschromatographie höher gefunden (früher: Schmp. 217 bis 219°,  $[\alpha]_D$ :  $+18^\circ$ ).

Wir danken der CHEMISCHEN FABRIK PROMONTA GMBH, Hamburg, sehr für die Überlassung eines Lipoidextraktes aus Crataegusblättern, ebenso der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem FONDS DER CHEMIE für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

*Gewinnung des Triterpensäuregemisches:* 10 kg frische Blätter von *Cr. oxyacantha* wurden 3 mal mit Leitungswasser bei 70° ausgezogen. Den getrockneten Blattrückstand (2,73 kg) extrahierte man zur Entfernung von Wachsen mit Petroläther. Anschließend wurde er mit Äther im Soxhlet behandelt und nach Abdampfen des Lösungsmittels 113 g Rückstand erhalten (3,7%). Dieser wurde in Portionen von 10–12 g in 2 l Methanol gelöst und die Lösung zur Entfernung färbender Bestandteile mit 5 g Aktivkohle 15 Min. unter Rückfluß erhitzt. Die Kohle wurde heiß abfiltriert und das Filtrat noch einmal mit 1 g Carboraffin aufgekocht. Die Kohle selbst wurde noch 2–3 mal mit heißem Methanol ausgezogen. Die vereinigten Filtrate

\*) Ihre UV-Absorption stimmt gut mit derjenigen anderer Triterpen- $\Delta^{12}$ -ketone-11 überein.

schieden beim Aufbewahren einen Kohlenwasserstoff aus, identisch vermutlich mit einer von H. SCHINDLER<sup>16)</sup> beschriebenen Verbindung.

Die Filtrate wurden i. Vak. eingedampft und je etwa 10g Rückstand in 3l Äther gelöst. Nach Abfiltrieren geringer ungelöster Anteile wurde die äther. Lösung 3 mal mit je 1000ccm 1-proz. NaOH ausgezogen. Hierbei schied sich an der Phasengrenze eine Substanz aus, die aber nicht aus Na-Salz von Triterpencarbonsäuren bestand. Beim Ansäuern der alkalischen Phase fielen die Säuren in Flocken aus und konnten abfiltriert werden. 330g Ätherextrakt lieferten 69g schwach gelb gefärbte Triterpencarbonsäuren, entspr. einer Ausbeute von 0.78%, bezogen auf die getrockneten Blätter.

*Verteilungschromatographie.* Präparierung der Säule: 100g Cellulosepulver von Whatman „standard grade“ wurden mit ca. 800ccm der leichten (stationären) Phase eines Gemisches von 2-Äthyl-hexanol-(1), Gärungsamylalkohol, 30-proz. wäbr. Pyrrolidin und Formamid 6:2:3:4 übergossen und 1/2 Stde. kräftig gerührt, um eine gleichmäßige Quellung zu erzielen. Den entstandenen Brei füllte man in kleinen Portionen in die etwa zur Hälfte mit stationärer Phase gefüllte Chromatographiesäule ein und ließ die Cellulose unter teilweisem Abfluß des Lösungsmittels absitzen. Die Säule wurde oben durch ein mit einem Glasstopfen beschwertes Rundfilter bedeckt, um ein Aufwirbeln beim späteren Eingießen der mobilen (schweren) Phase zu vermeiden. Dann wurde die stationäre Phase bis zum oberen Rand der Cellulosefüllung abgelassen und die schwere Phase aufgebracht. Das nunmehr unten ausfließende Volumen  $V_0$  der stationären Phase entsprach dann dem Volumen der auf der Säule befindlichen mobilen Phase. Nach eintägigem Waschen mit der beweglichen Phase wurde keine stationäre Phase mehr mitgerissen. Die Säule war dann fertig, um mit dem zu trennenden Substanzgemisch, gelöst in der schweren Phase, beschickt zu werden.

Es wurden 110g Rohsäuren, gelöst in 6000ccm schwerer Phase, auf eine so präparierte Säule mit 1300g Cellulosepulver und einem  $V_0$  von 3600ccm aufgebracht. Nach Ablassen von 4000ccm Leerphase wurden Fraktionen von 1000ccm aufgefangen.

Fraktionen	mg	$R_F$ -Werte *)
1	—	—
2	2800	0.80
3	4400	0.78 0.40 (sehr schwach)
4	4800	0.80 0.45
5	5880	0.83 0.47
6	5920	0.79 0.40
7	2310	0.80 0.51—0.33
8	5380	0.45 0.37
9	1170	0.45
10	800	0.42
11	130	0.42
12	Spuren	
	34.19g	

\*) In Octanol/Pentanol/10-proz. wäbr. Pyrrolidin/Formamid 6:2:1:4

Die Monohydroxy-carbonsäuren wurden anschließend mit der leichten Phase aus der Säule ausgewaschen.

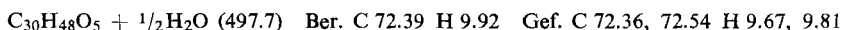
Zur Aufarbeitung wurden die einzelnen Fraktionen von der Säule mit der gleichen Menge Wasser versetzt und das Gemisch 2 mal mit Äther extrahiert. Dann wurde die wäbr. Phase mit

<sup>16)</sup> Arzneimittel-Forsch. 3, 258 [1953].

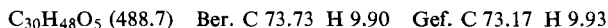
20-proz. Schwefelsäure angesäuert und die ausgeschiedenen Triterpencarbonsäuren mit Äther ausgeschüttelt. Der nach dem Abdampfen des Äthers verbleibende Rückstand enthielt noch ölige Verunreinigungen, so daß eine nochmalige Reinigung über das Natriumsalz notwendig wurde. Insgesamt erhielt man so 43.19 g = 31 % an Di- und Trihydroxy-triterpencarbonsäuren, frei von Monohydroxyverbindungen.

Zur Trennung der einzelnen Bestandteile wurden die laut Papierchromatogramm sich als Mischfraktion erweisenden Anteile einer erneuten Verteilung in gleicher Weise unterworfen, wobei allerdings hier die zu trennende Substanz nur in etwa  $1/10 V_0$  (350–380ccm) gelöst wurde, wodurch sich wegen der begrenzten Löslichkeit der Säuren in der schweren Phase ein Verhältnis Substanz zu Cellulose von 1:84 ergab. Es gelang so, in mehreren Verteilungen das Gemisch vollkommen aufzutrennen in eine Monohydroxy-carbonsäure-Fraktion = 65–69 %, eine Dihydroxy-carbonsäure-Fraktion = 17–20 % und 0.5–1 % einer Säure mit dem  $R_F$ -Wert 0.54.

*Acantholsäure*: Aus Frakt. 2 der beschriebenen Verteilung an Cellulosepulver und entsprechenden Fraktionen weiterer Verteilungen der Mischfraktionen konnte diese Säure nach 5–7maligem Umkristallisieren aus Methanol/Wasser in farblosen, kleinen sechseckigen Platten vom Schmp. 274–279° erhalten werden.



$[\alpha]_D^{20}$ : +24.6 ± 4° (Methanol), keine selektive UV-Absorption. Die Säure war gut in Methanol und Aceton, dagegen in Äther und Chloroform nur mäßig löslich. Aus wasserfreiem Methanol, Aceton oder Chloroform sowie aus Gemischen von Methanol und Äther konnte die Säure nur amorph erhalten werden. Nach Trocknen i. Hochvak. (6 Stdn. bei 200°) wurden folgende Analysenwerte bestimmt:



Nach der Trocknung zeigte die Säure im Papierchromatogramm in dem erwähnten Lösungsmittelsystem wieder den  $R_F$ -Wert 0.78–0.80. Mit Tetranitromethan in Methanol gab Acantholsäure eine schwache Gelbfärbung.

*Acantholsäure-monoacetat*: 600 mg *Acantholsäure* wurden in 10ccm *Acetanhydrid* und 10ccm wasserfreiem Pyridin 2 Stdn. auf 90° erhitzt, anschließend wurde die Reaktionsmischung in 400ccm Eiswasser eingegossen. Der entstandene Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser mehrmals gewaschen und bei 40° i. Vak. getrocknet. Zur Reinigung wurde die Substanz an einer Säule mit 20 g  $Al_2O_3$  ( $\varnothing$  0.09mm), das durch Vorbehandlung mit Essigsäure desaktiviert worden war, chromatographiert; die mit Benzol/Äther 1:1 und mit  $CHCl_3$  abgelösten Fraktionen waren papierchromatographisch einheitlich und identisch. Die gleiche Verbindung wurde auch bei der Acetylierung bei 20° erhalten. Zur Kristallisation löste man die Substanz in wenig Äther und versetzte die Lösung mit der 3fachen Menge Petroläther. Im Tiefkühlschrank erschienen Kristalle, die sich bei Zimmertemperatur vermehrten. Nach 3–4maligem Umkristallisieren wurden lange Nadeln erhalten, die bei 155–158° zu sintern begannen und bei 185–190° unscharf schmolzen.



$[\alpha]_D^{20}$ : +14.4 ± 3° (Chloroform), die Tetranitromethanprobe war positiv. Der  $R_F$ -Wert in OPW<sub>Pyr</sub>F 6:2:1:4 war 0.36, in Wasser/Pyridin/Methylglykol/Benzol/Cyclohexan 1:2:2:1:5 (mit der leichten als mobilen Phase) wurde der Wert 0.45 festgestellt.

*Acantholsäure-methylester*: Zu einer Lösung von *Acantholsäure* in Dioxan wurde äther. *Diazomethan* bis zur bleibenden Gelbfärbung hinzugefügt. Das Umsetzungsprodukt wurde an einer Säule mit  $Al_2O_3$  ( $\varnothing$  0.09mm) chromatographiert. Das  $CHCl_3$ -Eluat enthielt den *Acantholsäure-methylester*, der aus Äther/Petroläther umkristallisiert werden konnte und dann

bei 158–160° (bei 90–95° vorheriges Aufblähen) schmolz. Ein bei 40° i. Hochvak. getrocknetes Präparat zeigte die gleichen Eigenschaften.

$C_{31}H_{50}O_5$  (502.7) Ber. C 74.06 H 10.03 Gef. C 73.96, 74.18 H 10.06, 10.21

$[\alpha]_D^{20}$ : +26.4 ± 2.5° (CHCl<sub>3</sub>), im UV keine selektive Absorption. Tetranitromethan-Reaktion gelb.

*Crataegolsäure-methylester*: Die Fraktionen 8 und 9 aus der ersten sowie entsprechende aus weiteren Verteilungen der Mischfraktionen enthielten papierchromatographisch einheitlich nur Dihydroxy-triterpen-monocarbonsäuren. Da sie nicht kristallisierten, wurde in üblicher Weise daraus mit Diazomethan der Methylester hergestellt, der einer Chromatographie an Aluminiumoxyd (50 g auf 2.2 g Substanz,  $\varnothing$  0.09 mm) unterworfen wurde. Die mit Benzol und Benzol/Äther von der Säule abgelösten Anteile waren ölig und kristallisierten nicht. Die mit Chloroform und Chloroform/Methanol gewonnenen Fraktionen ließen sich aus Aceton/Wasser umkristallisieren. Zur Trennung von dem beigemengten Neotaegolsäure-methylester versetzte man die 60–65° heiße Acetonlösung der Ester tropfenweise mit Wasser (bis zu 8–10%). Es trat dann sofortige Kristallisation ein. Der *Crataegolsäure-methylester* schmolz bei 223–227°. Nach 2maligem Umkristallisieren aus Methanol/Wasser wurden Nadeln vom Schmp. 227–231° erhalten.

$[\alpha]_D^{20}$ : +67.5 ± 3° (CHCl<sub>3</sub>). Die Reaktion mit Tetranitromethan lieferte eine Gelbfärbung.

*Crataegolsäure-methylester-diacetat*: 1.975 g *Crataegolsäure-methylester* wurden mit 10 ccm Pyridin und 10 ccm *Acetanhydrid* 3 Tage bei 20° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung wurde das Acetat an Aluminiumoxyd ( $\varnothing$  0.09 mm) chromatographiert. Die Substanz wurde in Benzol aufgebracht und 2.12 g mit dem gleichen Lösungsmittel wieder eluiert. Das *Acetat* kristallisierte aus Methanol in Platten vom Schmp. 166–171°.

$C_{35}H_{54}O_6$  (570.8) Ber. C 73.64 H 9.54 Gef. C 73.75 H 9.38

$[\alpha]_D^{20}$ : +40.4 ± 2° (CHCl<sub>3</sub>). Die Acetylgruppenbestimmung ergab einen Wert von 2.04 Acetyl.

*Dehydro-crataegolsäure-methylester-diacetat*: Die Lösung von 500 mg *Crataegolsäure-methylester-diacetat* und 500 mg Selenioxyd, in 50 ccm Eisessig gelöst, wurde 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt, anschließend in 800 ccm Wasser eingetragen und das Reaktionsprodukt mit Äther ausgeschüttelt. Nach Waschen der äther. Lösung mit Wasser wurde der Äther abgedampft und der gelbbraune Rückstand an 20 g Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ( $\varnothing$  0.09 mm) chromatographiert. Mit Petroläther/Benzol 1:1 konnten 464 mg eluiert werden, die aus Methanol Kristalle vom Schmp. 184–187° ergaben.

$C_{35}H_{52}O_6$  (568.8) Ber. C 73.91 H 9.22 Gef. C 73.78 H 9.00

$[\alpha]_D^{20}$ : –165 ± 3° (CHCl<sub>3</sub>). Die Reaktion mit Tetranitromethan war stark positiv (orangerot).

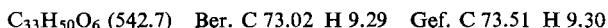
*Crataegolsäure-methylester-monoacetat*: Die Lösung von 1.278 g *Crataegolsäure-methylester* in 10 ccm Pyridin wurde bei 0° mit 10 ccm *Acetanhydrid* versetzt und bei 2–3° 2 Stdn. stehengelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung konnte das gebildete Mono- und Diacetat durch Chromatographie an 30 g Aluminiumoxyd ( $\varnothing$  0.09 mm) getrennt werden. Mit Benzol wurden 629 mg Diacetat, mit Benzol/Äther 1:1 795 mg Monoacetat abgelöst. Das *Monoacetat* bildete aus Methanol feine Nadeln vom Schmp. 199–204°.

$C_{33}H_{52}O_5$  (528.8) Ber. C 74.96 H 9.91 Gef. C 74.38 H 9.92

$[\alpha]_D^{20}$ : +27.9 ± 1° (CHCl<sub>3</sub>).



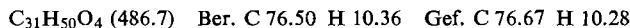
*11-Keto-crataegolsäure-methylester-monoacetat* (?): Die Lösung von 460 mg *Crataegolsäure-methylester-monoacetat* in 100 ccm Eisessig und 10 ccm Chloroform wurde innerhalb von 5 Min. mit 600 mg Chromsäure-anhydrid in 5 ccm Wasser + 15 ccm Eisessig versetzt. Nach 60 Min. wurde der Chromsäureüberschuß durch Zugabe von Methanol beseitigt und nach weiteren 30 Min. die Reaktionsmischung in 1000 ccm Wasser eingetragen und das Reaktionsprodukt mit Äther ausgeschüttelt. Nach der üblichen Entfernung der sauren Anteile wurde die äther. Lösung eingedampft und der Rückstand einer Chromatographie an 25 g Aluminiumoxyd ( $\varnothing$  0.10 mm) unterworfen. Es wurden Fraktionen von 50 ccm aufgefangen und mit Benzol aus Frakt. 2 und 3 Kristalle erhalten, die, aus Methanol umkristallisiert, bei 210–232° schmolzen (Kr. Ox I). Ferner lieferte Frakt. 8 ein weiteres Kristallisat (Kr. Ox II). Letzteres wurde erneut an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  chromatographiert; die mit Benzol/Äther 1:1 erhaltenen Fraktionen gaben dann aus Methanol oktaedrische Kristalle vom Schmp. 242–248°.



Das IR-Spektrum (KBr) zeigte Banden bei 1760/cm (nur sehr schwach, möglicherweise durch eine noch vorhandene Verunreinigung von Kr. Ox I), 1733/cm, 1663/cm und 1627/cm. Im UV  $\lambda_{\text{max}}$  252 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4.03$ ) (Me). 11-Keto-oleanolsäure-methylester-acetat zeigte  $\lambda_{\text{max}}$  251 m $\mu$  ( $\log \epsilon = 4.10$ ).

Die Verbindung Kr. Ox I konnte bisher nicht frei von Kr. Ox II erhalten werden. Sie lieferte im IR (KBr) 2 Banden bei 1735/cm und 1760/cm.

*Neotaegolsäure-methylester*: Aus den nach der Kristallisation des Crataegolsäure-methylesters aus Aceton/Wasser verbleibenden Mutterlaugen konnten beim Einengen Kristalle gewonnen werden, die nach 4–5 maligem Umkristallisieren aus Methanol/Wasser kurze Nadeln vom Schmp. 285–288° ergaben.



$[\alpha]_D^{20}$ :  $+63.8 \pm 3^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ). Im UV war keine selektive Absorption zu erkennen, das IR-Spektrum ist deutlich verschieden von dem des Crataegolsäure-methylesters. Die Probe mit Tetranitromethan ergab eine Gelbfärbung. Die Menge an Neotaegolsäure im Triterpengeremisch aus *Cr. oxyacantha* läßt sich nach den gewonnenen Ausbeuten an Ester auf ca. 2% schätzen. Die Acetylierung des Esters unter den üblichen Bedingungen lieferte nur amorphes Produkt.