

Rudolf Tschesche, Hartmut Last und Hans-Wolfram Fehlhaber

Alkaloide aus Rhamnaceen, III<sup>1)</sup>

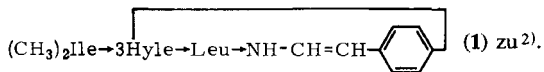
## Frangulanin, ein Peptid-Alkaloid aus *Rhamnus frangula* L.

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 23. Juni 1967)



In *Rhamnus frangula* L. ließen sich sechs nur in äußerst geringer Menge vorkommende Alkaloide nachweisen. Das als Frangulanin bezeichnete Hauptalkaloid wurde isoliert. Frangulanin ist aus einer *p*-Hydroxy-styrylamin-Einheit und den Aminosäuren Leucin,  $\beta$ -Hydroxy-leucin und *N,N*-Dimethyl-isoleucin aufgebaut. Aufgrund seiner spektroskopischen Daten und der massenspektrometrischen Fragmentierung kommt ihm die Struktur



*Rhamnus frangula* L., bekannt unter den Bezeichnungen Faulbaum, Gelb- oder Pulverholz, ist ein in Europa, Nordafrika und Mittelasien vorkommender Strauch oder Baum aus der Familie der Rhamnaceae. Seit Jahrhunderten findet die abgelagerte Rinde als Laxans Verwendung, eine Wirkung, die auf den reichlich vorhandenen Anthrachinon-glykosiden beruht<sup>3)</sup>. Wir haben nun die Rinde auf basische Inhaltsstoffe untersucht. Es konnten dabei insgesamt sechs Komponenten nachgewiesen werden, die aber nur in sehr geringen Mengen vorliegen. Vom Hauptalkaloid, dem wir den Namen Frangulanin gaben, ließen sich aus etwa 100 kg Rinde nur 200 mg isolieren. Seine Strukturermittlung wurde allerdings durch den Umstand gefördert, daß es in seinen Eigenschaften große Ähnlichkeit mit den aus anderen Rhamnaceae stammenden Alkaloiden Scutianin<sup>4)</sup>, Integerressin und Integerrenin<sup>1)</sup> aufwies. Besonders auf Grund der bei den letzten beiden Verbindungen gewonnenen Erkenntnisse gelang es, dem Frangulanin die Strukturformel 1 zuzuordnen. Es ist damit ein weiterer Vertreter der durch eine Ätherbrücke cyclisierten Peptid-Alkaloide<sup>1,4,5)</sup>.

### Isolierung und Eigenschaften

Aus einem methanolischen Extrakt der Rinde wurde die Basenfraktion nach einem schon früher benutzten Verfahren<sup>1,4)</sup> durch Zusatz von Ammoniak und

1) H. Mittel.: R. Tschesche, J. Rheingans, H.-W. Fehlhaber und G. Legler, Chem. Ber. 100, 3924 (1967), vorstehend.

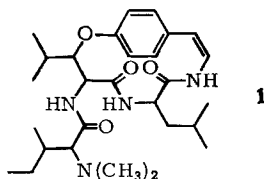
2) Die hier benutzte Nomenklatur entspricht den Vorschlägen der IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] 121, 1 (1966).

3) vgl. z. B. E. Seebeck und O. Schindler, Helv. chim. Acta 29, 317 (1946); O. Schindler, ebenda 29, 411 (1946).

4) R. Tschesche, R. Welters und H.-W. Fehlhaber, Chem. Ber. 100, 323 (1967).

5) Eine Zusammenfassung aller früheren Arbeiten findet sich in l. c.<sup>1)</sup>.

Ausschütteln mit Benzol, nachfolgendes Überführen in wäßrige Citronensäurelösung und, nach erneutem Alkalisieren, Ausziehen mit Chloroform abgetrennt. Das rohe Alkaloid-Gemisch enthielt laut Dünnschichtchromatogramm — neben einem hohen Farbstoffgehalt — sechs auf Alkaloid-Reagentien ansprechende Komponenten. Das gleiche Gemisch erhielt man auch aus den (im August geernteten) Blättern der Pflanze, der Gehalt an Alkaloiden war hier sogar etwa vier- bis fünfmal größer als in der Rinde. Die Auftrennung der Alkaloide wurde durch die Farbstoffe sehr erschwert, die nur durch mehrere nacheinandergeschaltete und mit verhältnismäßig hohen Substanzverlusten verbundene Trennoperationen zu entfernen waren: Chromatographie an desaktiviertem Aluminiumoxid, präparative Schichtchromatographie auf Kieselgel und anschließendes mehrfaches Umkristallisieren aus Chloroform/Petroläther lieferte das reine Hauptalkaloid, Frangulanin.



Die Summenformel des Frangulanins ergab sich aus der Elementaranalyse und durch hochauflösende Massenspektrometrie zu  $C_{28}H_{44}N_4O_4$ . Mit Dragendorffs Reagenz<sup>6)</sup> erhielt man eine rotbraune, mit Mayers Reagenz<sup>7)</sup> eine weiße Färbung. Der Test nach *Reindl* und *Hoppe*<sup>8)</sup> bewies das Vorliegen von NH-Gruppierungen. Die C=C-Doppelbindung wurde an der raschen Entfärbung von Kaliumpermanganat sowie durch katalytische Hydrierung erkannt; über Platin in Methanol nahm Frangulanin ein Äquivalent Wasserstoff auf. — Die Löslichkeit des Alkaloids in den üblichen organischen Solventien ist wie beim Integerressin und Integerrenin<sup>1)</sup> relativ gering.

Die IR- und UV-Spektren des Frangulanins und seines Dihydroderivates sind denen des Integerressins und Integerrenins<sup>1)</sup> bzw. ihrer Dihydroderivate völlig analog: Man findet die IR-Absorptionen für NH- (um 3280/cm), N-Methyl- (2785/cm) und Amidfunktionen (1630/cm) sowie für die Phenoläther-Gruppierung (um 1230/cm); das UV-Spektrum des Dihydrofrangulanins weist die für *p*-Alkyl-phenoläther typischen Absorptionen<sup>9)</sup> bei 231, 278 und 286 m $\mu$  auf, und das Frangulanin selbst zeigt auf der Aromaten-„Endabsorption“ lediglich eine Schulter bei 252 m $\mu$ , die auf eine Konjugation der C=C-Doppelbindung mit dem Benzolring oder mit der benachbarten Amidgruppe zurückzuführen ist<sup>10)</sup>. Auch der Circular dichroismus des Frangulanins —  $\Delta\epsilon_{\max} = -20.2$  bei 239 m $\mu$  und  $+2.0$  bei 287 m $\mu$  — stimmt mit dem des Integerressins und des Integerrenins vollkommen überein. Da der stark negative

6) R. Munier, Bull. Soc. chim. France 1952, 852.

7) B. T. Cromwell in K. Peach und M. V. Tracy (Herausg.), Modern Methods of Plant Analysis, Bd. 4, S. 373, Springer-Verlag, Berlin 1955.

8) F. Reindl und W. Hoppe, Chem. Ber. 87, 1103 (1954).

9) M. J. Kamlet (Herausg.), Organic Electronic Spectral Data, Bd. I, S. 210, Interscience Publ., New York 1966.

10) vgl. die Diskussion in l. c.<sup>1)</sup>, insbesondere die Fußnoten<sup>16-18)</sup>.

Cotton-Effekt bei 239 m $\mu$  auf einer Konjugationsbande der C=C-Doppelbindung beruht<sup>1)</sup>, und da sein Wert von der Struktur und Stereochemie des gesamten Ringsystems stark beeinflußt werden dürfte, war dies ein wichtiger Hinweis auf das Vorliegen des 14-gliedrigen Ringsystems in **1**; wahrscheinlich darf man daraus sogar folgern, daß die Konfigurationen der drei am Ring beteiligten asymmetrischen Kohlenstoffatome dieselben sind wie beim Integerressin und Integerrenin.

Ein in Pyridin aufgenommenes NMR-Spektrum des Frangulanins erlaubte die Identifizierung von acht Methylgruppen. Fünf C-Methylgruppen lieferten Dubletts mit einer Aufspaltung von 6–7 Hz, sie müssen also jeweils an ein tertiäres C-Atom gebunden sein. Zwei davon fallen zusammen bei  $\tau = 9.20$ , sie dürften der Isobutylgruppe des in das Ringsystem eingebauten Leucins zuzuordnen sein; ein weiteres befindet sich bei  $\tau = 9.00$  und ist dem sek.-Butylrest des *N,N*-Dimethyl-isoleucins zuzuschreiben; die letzten beiden erscheinen bei  $\tau = 8.77$  und  $8.72$  und sollten der Isopropylgruppe des  $\beta$ -Hydroxy-leucin-Teils zugehören. Das für die endständige Methylgruppe des *N,N*-Dimethyl-isoleucins zu fordernde Triplett liegt, teilweise verdeckt, bei  $\tau = 9.13$  ( $J = 7$  Hz). Die Dimethylaminogruppe ist durch ein Singulett bei  $\tau = 7.46$  charakterisiert. — Verwendete man Trifluoressigsäure als Lösungsmittel, so beobachtete man für alle C-Methyl-Signale nur einen nicht aufgelösten Signal-komplex um  $\tau = 8.9$ – $9.05$ ; das *N*-Methyl-Signal erlitt dann erwartungsgemäß eine paramagnetische Verschiebung um etwa 0.7 ppm<sup>11)</sup>.

### Hydrolysen

Nach einer Totalhydrolyse des Frangulanins mit 6*n* HCl im Bombenrohr bei 110° konnten papierchromatographisch drei mit Ninhydrin reagierende, freie Aminosäuren sowie durch Anfärbung mit Thymolblau<sup>12)</sup> eine *N,N*-Dimethyl-aminosäure erkannt werden. Durch Vergleich mit authentischen Verbindungen wurden sie als Leucin,  $\beta$ -Hydroxy-leucin, Glycin und *N,N*-Dimethyl-isoleucin identifiziert. Das Glycin lag nach der Fleckintensität nur in sehr geringer Menge vor; es ist — neben etwas Leucin — offensichtlich unter den Hydrolysenbedingungen erst aus dem  $\beta$ -Hydroxy-leucin entstanden<sup>13)</sup>. Für das  $\beta$ -Hydroxy-leucin ließ sich nachweisen, daß es der *threo*-Reihe angehört; *threo*- und *erythro*-Form dieser Aminosäure sind papierchromatographisch gut unterscheidbar<sup>14)</sup>.

Im Hydrolysat des Dihydrofrangulanins fand sich neben den erwähnten Aminosäuren noch Tyramin. Es entstammt der im Frangulanin ursprünglich vorhanden gewesenen *p*-Hydroxy-styrylamin-Einheit, die unter den Hydrolysenbedingungen zersetzt wird und sich damit dem direkten Nachweis entzieht<sup>1,4)</sup>.

### Massenspektrum

Frangulanin verhielt sich bei der Elektronenstoß-induzierten Fragmentierung völlig analog zu den in der vorstehenden Mitteilung<sup>1)</sup> beschriebenen Alkaloiden Integerressin und Integerrenin. Das an Hand dieser beiden Peptid-Alkaloide abge-

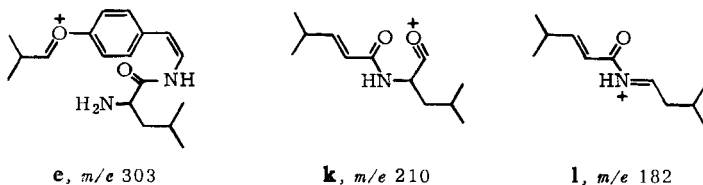
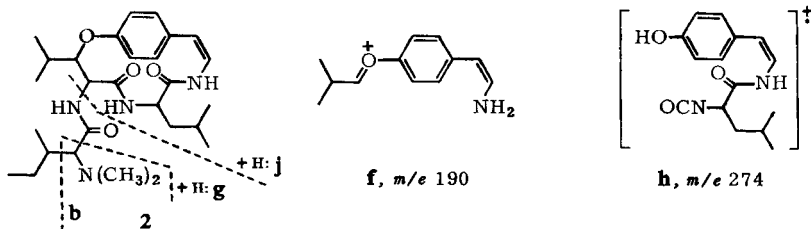
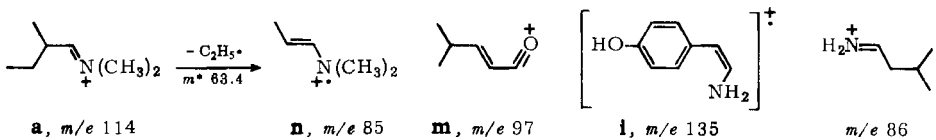
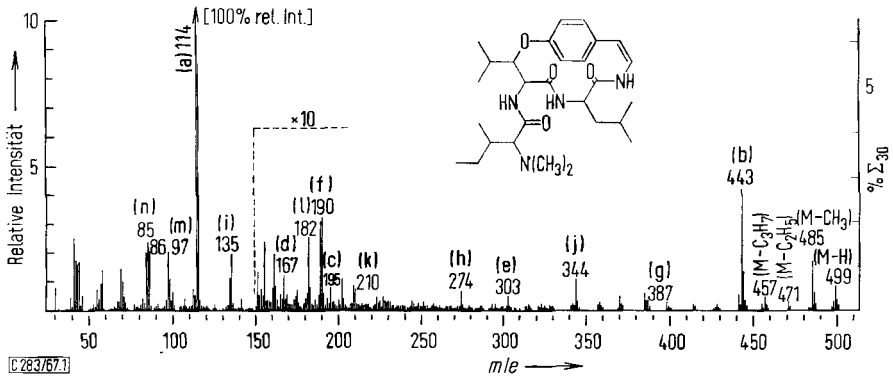
<sup>11)</sup> J. C. N. Ma und E. W. Warnhoff, *Canad. J. Chem.* **43**, 1849 (1965).

<sup>12)</sup> J. M. Hais und K. Macek, *Handbuch der Papierchromatographie*, Bd. I, S. 597, G. Fischer Jena 1963.

<sup>13)</sup> Th. Wieland, H. Cords und E. Keck, *Chem. Ber.* **87**, 1312 (1954).

<sup>14)</sup> H. W. Buston und J. Bishop, *J. biol. Chemistry* **215**, 217 (1955).

leitete Zerfallsschema erlaubte es daher, die Verknüpfung der drei Aminosäuren und des *p*-Hydroxy-styrylamins in eindeutiger Weise zu bestimmen. Da die Abbauege und -mechanismen bereits eingehend diskutiert wurden<sup>1)</sup>, beschränken wir uns hier allein auf die Wiedergabe der für das Frangulanin charakteristischen Bruchstücke. Um ihre Beziehung zu dem allgemeinen (das Frangulanin einschließenden) Fragmentierungsschema<sup>1)</sup> zu wahren, wurden die dort festgelegten Bezeichnungen der Formeln übernommen. — Alle bedeutenden Peaks des Massenspektrums (Abbild.) wurden durch hochauflösende Massenspektrometrie ausgemessen, die ermittelten Summenformeln (Tab. im Versuchsteil) stützen die getroffenen Zuordnungen.



Der *base peak* des Spektrums stammt, wie stets bei diesen Alkaloiden, von dem „Aminfragment“ der *N,N*-Dimethyl-aminosäure (**a**). Dessen Sekundärzerfall unter Abspaltung eines Äthyl-Radikals zu **n** ist typisch für *N,N*-Dimethyl-isoleucin<sup>1)</sup>. Die übrigen drei „Bausteine“ des Moleküls lassen sich an dem für die  $\beta$ -Hydroxy-aminosäure charakteristischen Ion **m**, dem *p*-Hydroxy-styrylamin-Ion **i** sowie dem „Aminfragment“ des Leucins, *m/e* 86, erkennen. Eine Reihe von Bruchstücken entsteht durch den stufenweisen Abbau der *N,N*-Dimethyl-isoleucinamid-Seitenkette, wie in Formel 2 markiert; darunter befindet sich auch das zu a komplementäre Fragment **b**, das sich durch seine relativ große Stabilität auszeichnet<sup>1)</sup>. Durch Sekundärreaktionen von **b** werden noch zwei weitere Bruchstücke gebildet<sup>1)</sup> (Peaks **c** und **d** in der Abbild.), die hier nicht aufgeführt wurden, da sie für die Strukturermittlung keine große Bedeutung haben.

Den Aufbau des Ringsystems im Frangulanin beweisen folgende Bruchstück-Ionen: **f**<sup>15)</sup>, **h** und **e** zeigen, daß *p*-Hydroxy-styrylamin einerseits mit dem  $\beta$ -Hydroxy-leucin veräthert, andererseits als Amid an Leucin geknüpft ist; beide Aminosäuren sind aber auch, wie **k** und **l** belegen, *miteinander* verbunden. Frangulanin muß also einen aus  $\beta$ -Hydroxy-leucin, Leucin und *p*-Hydroxy-styrylamin bestehenden Ring enthalten. Zusammen mit den übrigen Daten, insbesondere den Informationen über die Seitenkette (2), ergibt sich damit zwingend die Strukturformel 1.

Da Frangulanin (1) die gleiche Summenformel wie das von *Goutarel* und Mitarbb.<sup>16)</sup> aus *Waltheria americana* (Sterculiaceae) isolierte, in seiner Struktur aber noch nicht aufgeklärte Adouetin X besitzt, baten wir Prof. *Goutarel* um eine Vergleichsprobe. Die Alkaloide erwiesen sich im Dünnschichtchromatogramm jedoch als verschieden. Ein vom Adouetin X aufgenommenes Massenspektrum glich dem des Frangulanins bis auf zwei charakteristische Abweichungen: Der dem Fragment **b** entsprechende Peak *m/e* 443 wies eine wesentlich geringere Intensität auf und anstelle eines Peaks bei der Massenzahl 85 fand man einen bei *m/e* 72; das „Aminfragment“ der *N,N*-Dimethyl-aminosäure (*m/e* 114) zerfiel also nicht (wie beim Frangulanin) weiter unter Abspaltung eines Äthyl-Radikals (*m/e* 85), sondern unter Eliminierung von Propen (*m/e* 72; *m\** gef. 45.5, ber. 45.5 für 114  $\rightarrow$  72). Dieses Verhalten ist typisch für *N,N*-Dimethyl-leucin<sup>1)</sup>. Adouetin X<sup>16)</sup> ist demnach also analog dem Frangulanin (1) aufgebaut, besitzt als Seitenkette aber *N,N*-Dimethyl-leucin; offen bleibt allerdings noch die genaue Struktur der *ringständigen*  $\alpha$ -Aminosäure, da das Massenspektrum für diese eine Differenzierung zwischen Leucin und Isoleucin nicht erlaubt<sup>16a)</sup>.

Herrn Prof. Dr. *R. Goutarel*, C. N. R. S., Gif-sur-Yvette, danken wir sehr für die freundliche Überlassung von Adouetin X. Den Herren Dr. *G. Legler* und Dr. *R. Welters* möchten wir für ihre Anregungen und Diskussionen und der *Stiftung Volkswagenwerk* für die Mittel zur Anschaffung des Massenspektrometers danken.

<sup>15)</sup> Im Gegensatz zum Integerressin und zum Integerrenin<sup>1)</sup> tritt beim Frangulanin neben dem Ion **f** auch ein um ein H-Atom leichteres Fragment auf (*m/e* 189); Ähnliches konnte beim Scutianin<sup>4)</sup> beobachtet werden. Anscheinend ist dies von der Art der  $\beta$ -Hydroxy-aminosäure abhängig, denn Integerressin und Integerrenin enthalten  $\beta$ -Hydroxy-phenylalanin, Frangulanin und Scutianin aber  $\beta$ -Hydroxy-leucin; das zusätzlich abgespaltene H-Atom dürfte demnach aus der Alkylseitenkette des  $\beta$ -Hydroxy-leucins stammen.

<sup>16)</sup> *M. Pais, J. Mainil und R. Goutarel*, Ann. pharmac. franç. 21, 139 (1963).

<sup>16a)</sup> *Ann. b. d. Korr.* (2. 10. 1967): Inzwischen konnten *M. Pais, J. Marchand, F.-X. Jarreau und R. Goutarel*, Bull. Soc. chim. France, im Druck, die Struktur des Adouetin X vollständig aufklären; es besitzt im Ring Isoleucin.

## Beschreibung der Versuche<sup>17)</sup>

*Isolierung des Frangulanins (I)*: Je 300 g eines bis zur sirupösen Konsistenz eingeeigneten methanolischen Extraktes<sup>18)</sup> aus 100 kg Rinde von *Rhamnus frangula* L. wurden mit Methanol/Wasser (3 : 2) verdünnt, mit konz. Ammoniak auf pH 9 eingestellt und fünfmal mit je 500 ccm Benzol ausgeschüttelt. Die vereinigten benzolischen Phasen extrahierte man fünfmal mit je 300 ccm 5proz. wäbr. Citronensäurelösung, brachte diese daraufhin mit konz. Ammoniak auf pH 9 und zog mehrmals mit Chloroform aus. Die nach dem Abdampfen des Chloroforms erhaltenen Rohalkaloide (Ausb. insgesamt 5.6 g aus 10 kg Rinde) bestanden laut Titration zu etwa 40–45% aus Basen, der Rest vorwiegend aus Farbstoffen. Ein großer Teil davon konnte durch Adsorption an Aluminiumoxid der Aktivitätsstufe IV entfernt werden; dazu löste man das Rohbasengemisch in Chloroform/Methanol (4 : 1) und gab die Lösung über eine Säule mit 100 g Adsorptionsmittel. Zur Auftrennung der Alkaloide wurde die präparative Schichtchromatographie benutzt: Je 200 mg Alkaloidgemisch wurden auf Kieselgel-PF<sub>254</sub>-Schichten (50 g auf Platten der Größe 20 × 40 cm) durch zweifache Entwicklung mit Chloroform/Methanol (9 : 1) chromatographiert. Durch Ansprühen mit Dragendorffs<sup>6)</sup> oder Mayers<sup>7)</sup> Reagenz ließen sich sechs Substanzen mit den *R<sub>F</sub>*-Werten 0.07, 0.23, 0.38, 0.42, 0.77 und 0.96 identifizieren. Die Komponente mit dem *R<sub>F</sub>*-Wert 0.77 stellt das Hauptalkaloid *Frangulanin* dar, es wurde mit Chloroform/Methanol (4 : 1) vom Kieselgel abgelöst. Nach viermaligem Umkristallisieren aus Chloroform/Petroläther erhielt man insgesamt 200 mg farblose Nadeln vom Schmp. 275–276°;  $[\alpha]_D^{25}$ :  $-288^\circ$  ( $c = 0.1$ , Chloroform).

$C_{28}H_{44}N_4O_4$  (500.6) Ber. C 67.17 H 8.86 N 11.19 Gef. C 66.78 H 8.96 N 10.61

IR (KBr): 3275 (NH), 2784 (NCH<sub>3</sub>), 1630 (Amide) und 1228/cm (Phenoläther).

Summenformeln der Fragment-Ionen des Frangulanins. Sie wurden mit dem A. E. I.-Massenspektrometer MS 9 bei einem Auflösungsvermögen von 13000 (10%-Tal-Definition) und Perfluor-tributylamin als Referenzsubstanz ermittelt

Ion	Summenformel	Meßwert	Abweichung in mmu
M—H	$C_{28}H_{43}N_4O_4$	499.3277	−0.7
M—C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	$C_{26}H_{39}N_4O_4$	471.2977	+0.6
M—C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	$C_{25}H_{37}N_4O_4$	457.2829	+1.4
a	$C_7H_{16}N$	114.1283	—
b	$C_{24}H_{35}N_4O_4$	443.2654	−0.2
c	$C_{10}H_{15}N_2O_2$	195.1130	−0.3
d	$C_9H_{15}N_2O$	167.1184	—
e	$C_{18}H_{27}N_2O_2$	303.2079	+0.7
f	$C_{12}H_{16}NO$	190.1226	−0.6
f—H	$C_{12}H_{15}NO$	189.1152	−0.2
g	$C_{21}H_{29}N_3O_4$	387.2139	−1.7
g—H <sub>2</sub>	$C_{21}H_{27}N_3O_4$	385.2005	+0.4
h	$C_{15}H_{18}N_2O_3$	274.1313	−0.4
i	$C_8H_9NO$	135.0681	−0.3
i—H	$C_8H_8NO$	134.0605	−0.1
j	$C_{20}H_{28}N_2O_3$	344.2100	—
k	$C_{12}H_{20}NO_2$	210.1492	−0.2
l	$C_{11}H_{20}NO$	182.1544	−0.1
m	$C_8H_9O$	97.0654	+0.1
n	$C_5H_{11}N$	85.0890	−0.1
m/e 86	$C_5H_{12}N$	86.0968	−0.2

<sup>17)</sup> Bezüglich der benutzten Geräte und allgemeinen Arbeitsmittel siehe l. c. 1).

<sup>18)</sup> Hersteller: H. Finzelberg's Nachfolger, Andernach/Rhein.

NMR (Pyridin):  $\tau = 9.20$  (d,  $J = 6$  Hz,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  in Leu),  $9.13$  (t,  $J = 7$  Hz,  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ),  $9.00$  (d,  $J = 7$  Hz,  $\text{>CH}-\text{CH}_3$  in  $(\text{CH}_3)_2\text{Ile}$ ),  $8.77$  und  $8.72$  (je d,  $J = 7$  Hz,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  in 3 Hyle) und  $7.46$  (s,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ).

UV (Methanol): Schultern bei  $252$  ( $\log \epsilon = 3.74$ ) und  $279$   $\text{m}\mu$  ( $\log \epsilon = 3.13$ ).

CD (Dioxan):  $\Delta\epsilon_{\text{max}} = -20.2$  ( $239$   $\text{m}\mu$ ) und  $+2.0$  ( $287$   $\text{m}\mu$ ).

*Dihydrofrangulanin*:  $20$  mg **1** wurden in  $5$  ccm Methanol über  $100$  mg  $\text{PtO}_2$  bei Normaldruck und Raumtemp. hydriert. Es wurden dabei  $1.1$  ccm *Wasserstoff* ( $\approx 1.2$  Äquivv.) aufgenommen. Man filtrierte vom Katalysator ab, dampfte das Lösungsmittel i. Vak. ab, kristallisierte aus Methanol/Petroläther um und erhielt so lange farblose Nadeln vom Schmp.  $298^\circ$ ;  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -7^\circ$  ( $c = 0.1$ , Chloroform).

IR (KBr):  $3280$  (NH),  $2786$  ( $\text{NCH}_3$ ),  $1630$  (Amide) und  $1230/\text{cm}$  (Phenoläther).

UV (Methanol):  $\lambda_{\text{max}}$   $231$  ( $\log \epsilon = 3.83$ ) und  $278$   $\text{m}\mu$  ( $\log \epsilon = 2.94$ ), Schulter bei  $286$   $\text{m}\mu$  ( $\log \epsilon = 2.85$ ).

*Totalhydrolyse des Frangulanins (I)*:  $10$  mg **1** wurden mit  $1$  ccm  $6n$  HCl in ein starkwandiges Glasrohr eingeschmolzen und die Lösung  $24$  Stdn. auf  $110^\circ$  erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde im Exsikkator über festem KOH zur Trockne gebracht. Dann nahm man in  $0.5$  ccm Wasser auf und chromatographierte zusammen mit den authent. Vergleichsverbindungen absteigend auf Papier Schleicher und Schüll Nr. 2043 bMgl in folgenden Fließmittelsystemen<sup>19)</sup>: n-Butanol/Eisessig/Wasser ( $4:1:5$ , leichte Phase); n-Butanol/Eisessig/Wasser ( $9:1:1$ ); mit Wasser gesättigter Benzylalkohol; Amylalkohol/Pyridin/Wasser ( $7:7:6$ ); n-Butanol/Benzylalkohol ( $7:3$ ), gesättigt mit Boratpuffer vom pH 8.4. Es wurden die Aminosäuren *3Hyle*, *Gly*, *Leu* (Anfärbung mit Ninhydrin) und *(CH\_3)\_2Ile* (Anfärbung mit Thymolblau<sup>12)</sup> oder Joddampf) identifiziert.

*Totalhydrolyse des Dihydrofrangulanins*:  $10$  mg wurden, wie oben beschrieben, gespalten und das Reaktionsprodukt aufgearbeitet. Es konnten die gleichen Aminosäuren wie bei **1** nachgewiesen werden. Außerdem ließ sich dünn-schicht- (mit Chloroform/Methanol  $6:4$ ) und papierchromatographisch (mit n-Butanol/Eisessig/Wasser  $4:1:1$ <sup>20)</sup>) *Tyramin* identifizieren (Anfärbung mit Diazosulfanilsäure).

<sup>19)</sup> I. c. 12), S. 522–528.

<sup>20)</sup> H. K. Berry, H. E. Sutton, L. Cain und J. S. Berry, Univ. Texas Publ. 5109, 22 (1951).