

Rudolf Tschesche, Hans-Joachim Hoppe, Günther Snatzke, Günter Wulff und Hans-Wolfram Fehlhaber

Über Glykoside mit lacton-bildendem Aglykon, III¹⁾

Über Parasorbosid, den glykosidischen Vorläufer der Parasorbinsäure, aus Vogelbeeren²⁾

Aus dem Institut für Organische und Biochemie der Universität Bonn

(Eingegangen am 19. Januar 1971)

Aus den bitter schmeckenden Früchten der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.) wurde Parasorbosid (**2**), der glykosidische Vorläufer der Parasorbinsäure (**1**), isoliert. Die Struktur von **2** wurde als (3*S*:5*S*)-3-[β-D-Glucopyranosyloxy]-hexanolid-(5.1) bestimmt. Bei der Aufarbeitung des Pflanzenmaterials mit Methanol bzw. Äthanol entstanden weitere Glucoside **5** und **6** als Folgeprodukte von **2** durch Veresterung der Carboxylfunktion des geöffneten Lactonringes. Enzymatische Spaltung lieferte die bisher unbekanntenen Aglykone (3*S*:5*S*)-3-Hydroxy-hexanolid-(5.1) (**4**) (aus **2**) und (3*S*:5*S*)-3.5-Dihydroxy-hexansäure-methylester (**10**) (aus **5**).

On Glycosides with Lactone-forming Aglycones, III¹⁾

On Parasorboside, the Glycosidic Precursor of Parasorbic Acid, from Berries of Mountain Ash²⁾

From the bitter tasting fruits of the mountain ash (*Sorbus aucuparia* L.) parasorboside (**2**) was isolated, presenting the glycosidic precursor of parasorbic acid (**1**). The structure of **2** was determined as (3*S*:5*S*)-3-(β-D-glucopyranosyloxy)-5-hexanolide. — On treatment of the plant material with methanol or ethanol further glycosides **5** and **6** were formed from **2** by esterification of the carboxyl group of the opened lactone ring. Enzymatic hydrolysis produced the yet unknown aglycones (3*S*:5*S*)-3-hydroxy-5-hexanolide (**4**) (from **2**) and methyl (3*S*:5*S*)-3.5-dihydroxyhexanoate (**10**) (from **5**).

1859 gewann Hofmann³⁾ aus Vogelbeeren, den Früchten der Eberesche (*Sorbus aucuparia* L.), eine von ihm Parasorbinsäure (**1**) benannte Substanz. Kuhn und Jerchel⁴⁾ bewiesen 1943 durch Synthese die Struktur als die des rechtsdrehenden δ-Lactons der 5-Hydroxy-hexen-(2)-säure. 1962 konnten unabhängig voneinander Kuhn und Kum⁵⁾ sowie Lukeš und Mitarbb.⁶⁾ die (5*S*)-Konfiguration des chiralen Zentrums durch Abbau ermitteln.

¹⁾ II. Mitteil.: R. Tschesche, F.-J. Kämmerer und G. Wulff, Chem. Ber. **102**, 2057 (1969).

²⁾ Auszug aus der Dissertation von H.-J. Hoppe, Univ. Bonn 1971.

³⁾ A. W. Hofmann, Liebigs Ann. Chem. **110**, 129 (1859).

⁴⁾ R. Kuhn und D. Jerchel, Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 413 (1943).

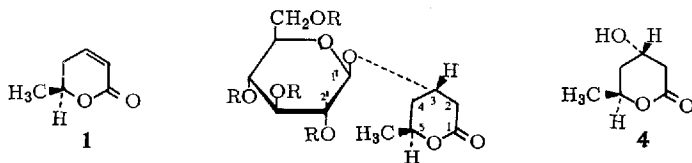
⁵⁾ R. Kuhn und K. Kum, Chem. Ber. **95**, 2009 (1962).

⁶⁾ R. Lukeš, J. Jarý und J. Němec, Collect. czechoslov. chem. Commun. **1962**, 735; *Chimia* [Aarau, Schweiz] **13**, 336 (1959).

1 ist jedoch in freier Form nicht in nennenswerten Mengen in den Früchten vorhanden. *Letzig*⁷⁾ isolierte 1964 mittels Papierchromatographie [Laufmittel: n-Butanol/Eisessig/Wasser (8:1:5)] eine fast farblose, glasartige Substanz mit dem R_F -Wert 0.69 ($[\alpha]_D^{20} \approx -13^\circ$), in der er den Bitterstoff der Früchte vermutete. Aus analytischen Daten und einer IR-Messung folgte er, daß es sich hier um das Glucosid des Wasseranlagerungsproduktes der Parasorbinsäure (**1**) handelte. Im Rahmen unserer Untersuchungen über antibiotisch aktive Inhaltsstoffe aus höheren Pflanzen¹⁾ beschlossen wir, die Untersuchungen über die Vorstufe der Parasorbinsäure wieder aufzunehmen. Es interessierte die Struktur des vermuteten Glykosids und seine antibiotische Wirksamkeit.

Als Ausgangsmaterial dienten bitter schmeckende, vollreife Vogelbeeren, deren stark saurer Preßsaft zunächst papierchromatographisch mit dem von *Letzig*⁷⁾ benutzten Lösungsmittelsystem aufgetrennt wurde. Nach Anfärben mit dem Reagenz nach *Dedonder*⁸⁾ (Silbernitrat in Aceton) konnten 5 Substanzen festgestellt werden, von denen die mit den R_F -Werten 0.12 und 0.16 als Glucose und Fructose identifiziert wurden. Ein Fleck mit dem R_F -Wert 0.32 kommt dem gesuchten Vorläufer der Parasorbinsäure (**1**) zu, der von uns die Bezeichnung Parasorbosid (**2**) erhielt. In geringerer Intensität traten noch Flecke mit den R_F -Werten 0.53 und 0.61 auf, die vermutlich Reaktionsprodukten aus **2** zuzuordnen sind. Bei Anwendung des Lösungsmittelsystems Essigester/Pyridin/Wasser (35 : 8 : 11)⁹⁾ waren sie im Chromatogramm nicht mehr nachzuweisen.

Zur Isolierung von Parasorbosid (**2**) wurde der Preßsaft durch Gefriertrocknung weitgehend konzentriert und das erhaltene dünnflüssige Öl unter Turbinieren in Aceton eingetragen. Das ausgefallene Öl wurde noch zweimal so behandelt, wodurch vor allem ein Teil der freien Zucker ausgefällt wurde. Den löslichen Anteil chromatographierte man an einer Säule aus Kieselgel mit Aceton als Laufmittel und erhielt so aus dem Saft von 100 g Beeren 0.7 g Parasorbosid (**2**) als kristallines Monohydrat. Durch Acetylierung wurde das Tetraacetat **3** dargestellt. Die Spaltung von **2** mit einer β -Glucosidase aus *Aspergillus wentii*¹⁰⁾ lieferte Glucose, die papierchromatographisch identifiziert wurde, und das genuine Aglykon **4** (Schmp. 69°). Durch schwach alkalische Hydrolyse von **2** und Ansäuern wurde Parasorbinsäure (**1**) erhalten.



2: R = H

3: R = Ac

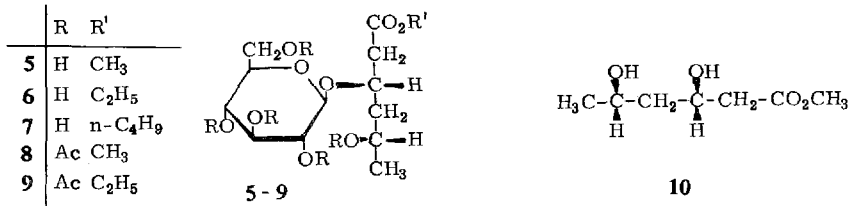
⁷⁾ *E. Letzig*, *Nahrung* **8** (1), 49 (1964).

⁸⁾ *R. Dedonder*, *Bull. Soc. chim. France* **1952**, 874.

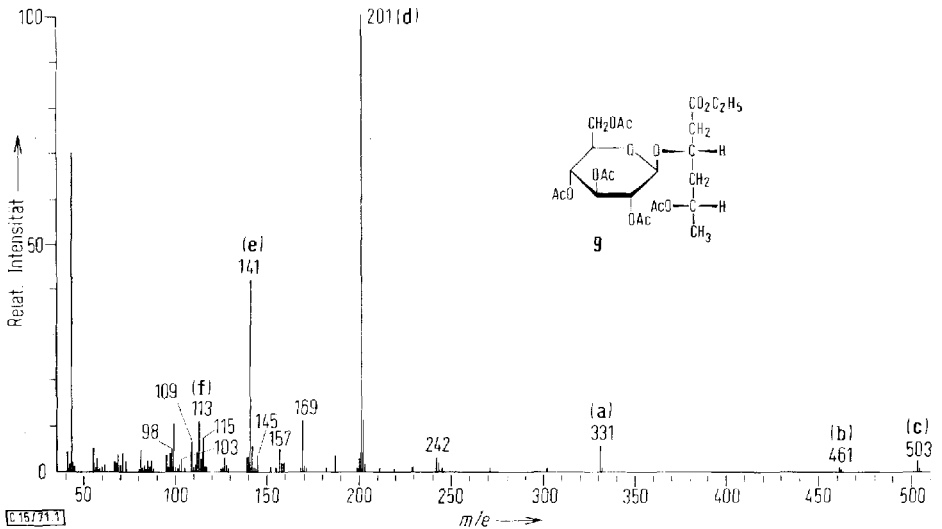
⁹⁾ *P. Colombo, D. Corbetta, A. Pirota, G. Ruffini* und *A. Sartori*, *J. Chromatogr.* [Amsterdam] **3**, 343 (1960).

¹⁰⁾ *G. Legler*, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* **348**, 1359 (1967).

2 war im sauren pH-Bereich gegen Methanol und Äthanol nicht stabil, so daß diese Alkohole bei der Extraktion des sauren Fruchtsaftes oder bei der Chromatographie mit alkoholhaltigen Laufmitteln zu Nebenprodukten führten. Es entstanden dabei die Glucoside **5** und **6** durch Veresterung der Carboxylfunktion des geöffneten Lactonringes. Eine Trennung von Parasorbosid (**2**) und den Glucosiden **5** und **6** war durch Säulenchromatographie an Cellulosepulver möglich. Sie wurden nicht kristallin erhalten, gaben aber die gut kristallisierbaren Acetate **8** und **9**. Analog zu **2** lieferte die enzymatische Spaltung von **5** neben Glucose das Aglykon **10** (farbloses Öl). Die von Letzig⁷⁾ gewonnene Verbindung dürfte der analoge n-Butylester **7** gewesen sein. Dafür spricht der von ihm angegebene R_F -Wert, wie wir durch Vergleich feststellen konnten.

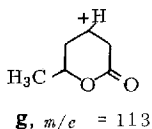
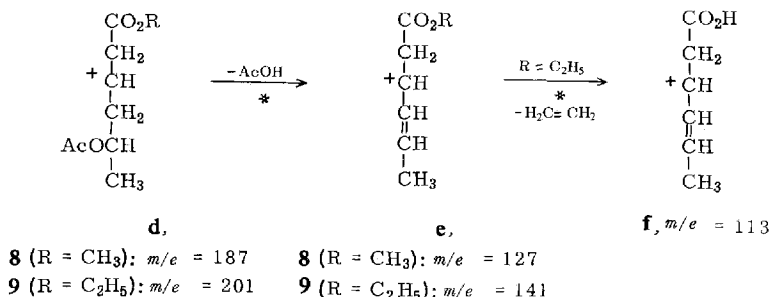
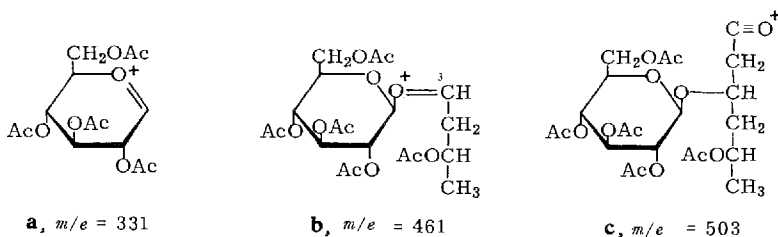


Die Strukturen von **2**, **5** und **6** wurden durch NMR- und hochauflösende Massenspektrometrie ihrer Acetate bestimmt. Die Massenspektren der Acetate **3**, **8** und **9** zeigen die für Tetra-*O*-acetylglucoside typischen Peaks bei m/e 331 (**a**), 242, 200, 169, 157, 145, 115, 109, 103 und 98¹¹⁾. Bei **8** und **9** findet man kein Molekül-Ion, sondern als Peak höchster Masse m/e 503, der das durch Abspaltung des Alkoxy-Radikals



¹¹⁾ K. Heyns, H.-F. Grützmaier, H. Scharmann und D. Müller, Fortschr. chem. Forsch. **5**, 448 (1966); K. Biemann, D. C. De Jongh und H. K. Schnoes, J. Amer. chem. Soc. **85**, 1763 (1963).

entstandene stabile Acylium-Ion **c** kennzeichnet. Nur bei **3** tritt neben Peaks, die durch einfache oder mehrfache Abspaltung von Essigsäure entstehen, ein durch intermolekulare Reaktion gebildetes $[M+1]^+$ -Ion (m/e 461) auf. Die beiden Ester **8** und **9** weisen im höheren Massenbereich neben **c** nur noch ein Fragment in nennenswerter Intensität auf. Es entsteht durch Abspaltung eines Essigester-Radikals (zu **b**) und liefert damit einen Hinweis auf die Anknüpfung der Glucose an C-3 des Aglykons. Als intensivste Fragmente werden stets die Carbonium-Ionen **d** (aus **8** und **9**) bzw. **g** (aus **3**) gefunden. Aus **d** entstehen durch Abspaltung von Essigsäure die Bruchstücke **e**. Die Zuordnung ist gesichert durch die entsprechenden metastabilen Peaks m^* 98.9 bzw. 86.3. Bei **9** erfolgt durch McLafferty-Umlagerung zusätzlich die Abspaltung von Äthylen zu **f** (m/e 113). Zu dieser für einen Äthylester charakteristischen Fragmentierung gehört der metastabile Peak m^* 90.6.



Aus den NMR-Spektren von **8** und **9** entnimmt man je 5 Acetyl-Gruppen [$\tau = 7.90$ (s, 3); 7.99 (s, 9); 8.02 (s, 3)] und für den entsprechenden Aglykon-Teil eine Methoxy- bzw. Äthoxy-Gruppe (s. Tab. 1). Das NMR-Spektrum von **3** weist dagegen 4 Acetyl-Gruppen [$\tau = 7.90$ (s, 3); 7.97 (s, 6) und 7.99 (s, 3)] auf. Die β -glykosidische Verknüpfung, die schon durch enzymatische Spaltung gefunden wurde, ergibt sich auch aus der Kopplung von 1'-H des Glucose-Teils mit 2'-H. Die beobachtete Aufspaltung von 7.5 Hz (bei **2**) ist bei einem β -Glucosid mit *trans*-diaxialen 1'-H und 2'-H zu erwarten¹²⁾. Die relative Verschiebung der Signale der Aglykon-

¹²⁾ J. M. van der Veen, J. org. Chemistry **28**, 564 (1963).

Protonen bei **3** um ca. 0.15 ppm zu niederem Feld (im Vergleich zu **8** und **9**) läßt sich durch das hier vorhandene Lactonring-System erklären. Die Signale von 4-H werden teilweise durch die der Acetylprotonen verdeckt und waren ähnlich wie die Signale der Protonen an C-3 und C-5, die im Bereich der Signale der Zuckerprotonen liegen, nicht exakt auszumessen.

Tab. 1. Protonenresonanzen von **2**, **3**, **8** und **9** (τ -Werte, J in Hz)*

	Alkoxy-Gruppe	2-H	6-H	1'-H
Parasorbosid (2)	—	7.15 (m, 2)	8.77 (d, 3) $J_{6,5} = 6.0$	5.20 (d) $J_{1',2'} = 7.5$
Tetra- <i>O</i> -acetat 3 **)	—	7.37 (m, 2)	8.62 (d, 3) $J_{6,5} = 6.4$	5.38 (d) $J_{1',2'} = 7.5$
Penta- <i>O</i> -acetat 8	Methoxy-: 6.32 (s, 3)	7.50 (d, 2) $J_{2,3} = 6.0$	8.76 (d, 3) $J_{6,5} = 6.0$	5.38 (d) $J_{1',2'} = 7.5$
Penta- <i>O</i> -acetat 9	Äthoxy-: 8.75 (t, 3) $J = 7.0$ 5.85 (q, 2) $J = 7.0$	7.50 (d, 2) $J_{2,3} = 6.0$	8.76 (d, 3) $J_{6,5} = 6.0$	5.38 (d) $J_{1',2'} = 7.5$

* TMS als interner Standard, $\tau = 10$ (Meßtemp. 35°). **2** wurde in Pyridin- d_5 , alle anderen in $CDCl_3$ gemessen.
 ** **3** wurde bei 90 MHz, alle anderen bei 60 MHz gemessen.

Die relative und absolute Konfiguration der chiralen Zentren C-3 und C-5 des Aglykons **4** und seine Konformation wurden durch hochauflösende NMR-Spektroskopie und CD-Messungen bestimmt. Das Signal des 5-Protons ist der durch Kopplung mit den Protonen der Methylgruppe weiter aufgespaltene X-Teil eines ABX-Spektrums. Nach Entkopplung durch Einstrahlen der Frequenz des Signals der Methylprotonen wurde das Spektrum zu einem ABX-Typ vereinfacht, wobei man für den X-Teil ein Quartett ($\tau = 5.20$; $|J_{AX} + J_{BX}| = 14$ Hz; Intensität etwa 1:1:1:1) findet. Für die Summe der Kopplungskonstanten vicinaler Protonen in sechsgliedrigen Ringsystemen erwartet man für $|J_{aa} + J_{ee}|$ Werte im Bereich zwischen 12 und 18 Hz und für $|J_{ae} + J_{ce}|$ 4 bis 10 Hz. Der gefundene Betrag von 14 Hz zeigt, daß somit das Proton an C-5 axial stehen muß. Nach NMR-Untersuchungen von *Carroll* und *Blackwell*¹³⁾ an stereoisomeren 3,5-Dimethyl-valerolactonen wird für eine äquatoriale 5-Methylgruppe eine chemische Verschiebung von $\tau = 8.67$ angegeben. Bei **4** ist daher der gefundene Wert $\tau = 8.67$ ein zusätzlicher Hinweis auf die äquatoriale Lage der Methylgruppe an C-5. Das Signal des Methin-Protons des chiralen Zentrums C-3 ist der X-Teil eines ABA'B'X-Spektrums. Ein ABX-Typ entsteht daraus durch Einstrahlung der Absorptionsfrequenz des A'B'-Teils (2-Protonen), wobei das Signal des 3-Protons zu einem Triplet ($\tau = 5.70$; $|J_{AX} + J_{BX}| = 7$ Hz; Intensität 1:2:1) aufspaltet. Daraus ergibt sich, daß das Proton an C-3 äquatorial steht. Aus der Kopplung der 2-Methylenprotonen ($\tau = 7.44$) mit dem 3-Proton (A'B'X-Teil) berechnet sich aus der A'B'-Signalgruppe $|J_{A'X} + J_{B'X}| = 9$ Hz¹⁴⁾. Dieser Betrag fordert ebenfalls ein äquatoriales 3-Proton und damit eine axiale OH-Gruppe. Die außergewöhnlich große chemische Verschiebung des Protons an C-5¹³⁾ ist ebenfalls nur mit einer *cis*-1,3-diaxialen Wechselwirkung mit dieser axialen OH-Gruppe vereinbar. Eine im NMR-Spektrum beobachtete Fernkopplung

¹³⁾ F. I. Carroll und J. T. Blackwell, *Tetrahedron Letters* [London] **48**, 4173 (1970).

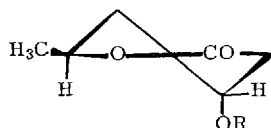
¹⁴⁾ P. Sohár, *Mágneses magrezonancia spektroszkópia*, Tankönyvkiadó, Teil 1, S. 174, Budapest 1970.

zwischen 2-H_e und 4-H_e ($\tau = 7.46$; q, Intensität etwa 1:1:1:1; $^4J_{2e,4e} = 1.0$ Hz) ist nur in einer angenäherten Halbsesselkonformation möglich, bei der die äquatorialen 2- und 4-Protonen in W-Form coplanar angeordnet sind¹³).

Aus diesen NMR-spektroskopischen Untersuchungen ergeben sich als mögliche Strukturen die (3*S*:5*S*)- und (3*R*:5*R*)-Konfiguration (beide in einer Halbsesselkonformation mit äquatorialer CH₃- und axialer OH-Gruppe), zwischen denen durch CD-Messungen entschieden wurde. Nach den Regeln von *Wolf*¹⁵ sowie *Legrand* und *Bucourt*¹⁶ muß bei gefundenem positiven Cotton-Effekt ($\Delta\varepsilon = +0.29$, Acetonitril) die absolute Konformation **11** mit (3*S*:5*S*)-Konfiguration vorliegen. Dieses Ergebnis stimmt damit überein, daß aus **2** unter den Bedingungen der Aufarbeitung nach *Kuhn* und *Jerchel*⁴) Parasorbinsäure (**1**) mit (5*S*)-Konfiguration entsteht. In Parasorbosid (**2**) bleibt die Konformation des Aglykons im wesentlichen erhalten (CD: $\Delta\varepsilon = +0.44$, Acetonitril).

11: R = H

12: R = β -D-Glucopyranosyl-



Tab. 2. Protonenresonanzen der Aglykone **4** und **10** (τ -Werte, J in Hz) *)

	2-H	3-H	4-H	5-H	6-H	OCH ₃	OH
4	7.44 (m, 2)	5.70 (m, 1)	8.22 (m, 2)	5.20 (m, 1)	8.67 (d, 3) $J_{6,5} = 6.4$	—	~6.0 (s, 1)
10	7.50 (d, 2) $J_{2,3} = 6$	~5.8 (m, 1)	~8.4 (m, 2)	~5.9 (m, 1)	8.79 (d, 3) $J_{6,5} = 6.5$	6.30 (s, 3)	~6.8 (s, 2)

*) TMS als interner Standard, $\tau = 10$ (Meßtemp. 35°). **4** (90 MHz-Spektrum) wurde in Aceton-d₆, **10** (60 MHz-Spektrum) in CDCl₃ gemessen.

Da die β -glykosidische Verknüpfung der Glucose in **2** durch enzymatische Spaltung festgelegt wurde, ergibt sich aus dem Vergleich der Molrotation von **2**, **4** und β -D-Methylglucosid nach *Klyne*¹⁷), daß in Parasorbosid und seinen Folgeprodukten die Glucose in der D-Form vorliegt. Parasorbosid (**2**) ist daher (3*S*:5*S*)-3-[β -D-Glucopyranosyloxy]-hexanolid-(5.1). Seine Folgeprodukte **5** und **6** sind entsprechend (3*S*:5*S*)-5-Hydroxy-3-[β -D-glucopyranosyloxy]-hexansäure-methylester (**5**) bzw. -äthylester (**6**). Die Aglykone lassen sich als (3*S*:5*S*)-3-Hydroxy-hexanolid-(5.1) (**4**) und (3*S*:5*S*)-3.5-Dihydroxy-hexansäure-methylester (**10**) bzw. -äthylester bezeichnen.

Die antibiotische Untersuchung der isolierten Verbindungen ergab, daß bei **2** und **5** im Reihenverdünnungstest gegen *Bacillus subtilis* bis 2200 μ g/ccm keine Wachstumshemmung auftrat. Bei den Aglykonen **4** und **10** wurde eine Hemmung erst oberhalb 1450 μ g/ccm gefunden. Die als α,β -ungesättigtes Lacton mehrfach geprüfte Parasorbinsäure (**1**) zeigte eine antibiotische Wirksamkeit oberhalb 950 μ g/ccm. Eine fungistatische Wirkung konnte beim Bio-Test von **2** und **4** gegen *Phythium debaryanum* nicht festgestellt werden. Nach diesen Befunden scheint es fraglich, ob die antibiotische Aktivität des Vogelbeersaftes auf eine der untersuchten Verbindungen zurückzuführen ist, zumal der stark saure pH-Wert des Saftes allein schon eine Wachstumshemmung bei Bakterien bewirkt.

¹⁵) *H. Wolf*, Tetrahedron Letters [London] **42**, 5151 (1966).

¹⁶) *M. Legrand* und *R. Bucourt*, Bull. Soc. chim. France **1967**, 2241.

¹⁷) *W. Klyne*, Biochem. J. **47**, XLI (1950).

Parasorbosid (2) weist eine weitgehende Analogie zu einem Glucosid des Mevalolactons^{18,19)} aus der Mispel (*Mespillus germanica* L.) auf, die wie die Eberesche der Familie der Rosaceen angehört. Es ist bemerkenswert, daß hier ein anderer Glucosid-Typus vorliegt als bei den antibiotisch hochwirksamen Acyl-glucosen Tuliposid A und B¹⁾ aus der Tulpe (*Tulipa gesneriana* L.).

Herrn Prof. Dr. F. Schönbeck, Institut für Pflanzenkrankheiten, Universität Bonn, danken wir für die mikrobiologischen Untersuchungen sowie Herrn Prof. Dr. G. Legler aus unserem Institut für die zur Verfügung gestellten Enzympräparate. Dem Landesamt für Forschung beim Ministerpräsidenten des Landes Nordrhein-Westfalen sind wir für die finanzielle Unterstützung dankbar. Für die zur Verfügung gestellten Spektrometer danken wir der Stiftung Volkswagenwerk und der Deutschen Forschungsgemeinschaft. H.-J. Hoppe dankt dem Kultusministerium des Landes Nordrhein-Westfalen für ein Promotionsstipendium.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden nach Kofler in der Anordnung nach Weygand (Mikroskop-Heiztisch) bestimmt. Die IR-Spektren sind mit dem Perkin-Elmer Modell 221, die NMR-Spektren mit den Geräten Varian A 60 beziehungsweise Spektrospin (90 MHz), die Massenspektren mit dem CH 4 der M. A. T. bei einer Elektronenenergie von 70 eV und dem MS 9 der A. E. I. (Hochauflösung) gemessen worden. Zur Bestimmung der optischen Drehwerte verwendete man das Polarimeter 141 von Perkin-Elmer, und die CD-Messungen wurden mit dem Dichrograph II von Roussel-Jouan, Paris, durchgeführt. Die C,H-Analysen und Mol.-Gew.-Bestimmungen sind im Mikroanalytischen Laboratorium der Fa. Dr. F. Pascher, Bonn, angefertigt worden.

Zur Säulenchromatographie (SC) benutzte man ungesiebtes Kieselgel der Fa. Gebr. Hermann, Köln, und Munktell's Cellulosepulver Nr. 400.

Die Dünnschichtchromatographie (DC) führte man in der bei Tschesche, Freytag und Snatzke²⁰⁾ beschriebenen Form aus (Kieselgel G zur DC von Merck). Nach dem Trocknen wurde mit Chlorsulfonsäure/Eisessig (1 : 2) angesprüht und erreichte nach Erhitzen bei 150° (Glucoside und Acetate 5 Min., Aglykone 15 Min.) eine Anfärbung der Substanzen. Als Laufmittel dienten: CHCl₃/CH₃OH/H₂O (65 : 35 : 10) (für Glucoside), Benzol/Aceton (8 : 1) (für Acetate), CCl₄/Dioxan (2 : 1) (für Aglykone).

Zur Papierchromatographie (PC) verwendete man das Papier von Schleicher & Schüll, Nr. 2043 b. Die Chromatogramme wurden absteigend entwickelt. Angefärbt wurde mit AgNO₃ in Aceton nach Dedonder⁸⁾. Als Laufmittel dienten: System A: n-Butanol/Eisessig/Wasser (8 : 1 : 5)⁷⁾ (obere Phase, Laufzeit 14 Stdn.), System B: Essigester/Pyridin/Wasser (35 : 8 : 11)⁹⁾ (obere Phase, Laufzeit 6 Stdn.).

Isolierung von Parasorbosid ((3S:5S)-3-[[β-D-Glucopyranosyloxy]-hexanolid-(5.1) 2): 100 g vollreife Vogelbeeren wurden mit einer Pflanzenpresse (450 atü Maximaldruck) ausgepreßt und der erhaltene stark saure Saft (69 g) durch Gefrierdrying zu einem dünnflüssigen Öl eingengt, das unter starkem Rühren (Ultra-Turrax) in 1 l Aceton eingetragen wurde. Von dem ausgefallenen Öl dekantierte man und wiederholte den Vorgang zweimal mit je 300 ccm Aceton. Nach Einengen der vereinigten Acetonphasen i. Vak. (Badtemp. 35°) blieben 16 g eines Rohprodukts zurück, das auf 40 g Kieselgel aufgezogen wurde. Nach SC an 1.5 kg Kieselgel mit über CaCl₂ dest. Aceton konnten 0.72 g 2 isoliert werden. Aus wäß-

¹⁸⁾ S. G. Stanimirović und D. L. Stanimirović, Bull. Soc. chim. Belgrade **28**, 173 (1963); C. A. **62**, 8117 (1965).

¹⁹⁾ K. Struckmeyer, Diplomarbeit, Univ. Bonn 1970.

²⁰⁾ R. Tschesche, W. Freytag und G. Snatzke, Chem. Ber. **92**, 3053 (1959).

rigem Aceton kristallisierte ein Monohydrat mit einem Doppel-Schmp. 68–69° und 143 bis 144° (Nadeln); nach Trocknen bei 80° i. Vak. Schmp. 143–144°; $[\alpha]_D^{20}$: –22° ($c = 0.95$, Wasser); PC, System A: R_F 0.32.

IR (KBr): 3600–3200 (assoziertes OH), 1710/cm (C=O); – NMR: vgl. Tab. 1.

CD: 230.5 nm, $\Delta\epsilon = +0.44$ (Acetonitril).

$C_{12}H_{20}O_8 \cdot H_2O$ (310.3) Ber. C 46.45 H 7.15 Gef. C 46.42 H 6.99

Gewichtsverlust nach Trocknung: 6.10% (Ber. 5.9% für 1 Mol H_2O).

Glucosid 5 ((3*S*:5*S*)-5-Hydroxy-3-[β -*D*-glucopyranosyloxy]-hexansäure-methylester): 100 g Saft (siehe Isolierung von **2**) wurden durch Gefriertrocknung bis zu einem zähen Sirup eingengt, der in 200 ccm *Methanol* gelöst wurde. Durch Zugabe von 300 ccm Aceton unter starkem Rühren (Ultra-Turrax) fällte man einen Teil der Nebensubstanzen aus. Nach Stehenlassen über Nacht wurde die *Methanol*/Aceton-Phase i. Vak. eingengt (Badtemp. 35°) und der Rückstand (34 g) auf 70 g Kieselgel aufgezogen. Nach SC an 1.5 kg Kieselgel mit dem System Chloroform/*Methanol*/Wasser (65:25:10) erhielt man 0.92 g eines Gemischs aus **2** und **5**, das auf 2.5 g Cellulosepulver aufgezogen und an 120 g desselben Trägermaterials mit dem System Essigester/*Pyridin*/Wasser (35:4:10) säulenchromatographiert wurde. Neben 0.43 g **2** erhielt man 0.31 g **5** als schwach gelbliche, glasartige Substanz. PC, System A: R_F 0.45.

IR ($CHCl_3$): 3600–3200 (assoziertes OH), 1720/cm (C=O).

Glucosid 6 ((3*S*:5*S*)-5-Hydroxy-3-[β -*D*-glucopyranosyloxy]-hexansäure-äthylester): 40 g des durch Gefriertrocknung gewonnen Sirups (vgl. Isolierung von **5**) wurden 2 Tage mit 150 ccm *Äthanol* bei Raumtemp. geschüttelt. Man dekantierte vom Ungelösten und engte die Lösung i. Vak. (Badtemp. 35°) ein. Der Rückstand (7 g) wurde auf 15 g Kieselgel aufgezogen. Durch SC an 700 g Kieselgel mit dem System Chloroform/*Methanol*/Wasser (65:25:10) konnte **6** von einem Gemisch aus **2** und während der Chromatographie entstandendem **5** abgetrennt werden. Nach erneuter SC erhielt man 320 mg **6** als schwach gelbliche, glasartige Substanz. PC, System A: R_F 0.57.

IR ($CHCl_3$): 3600–3200 (assoziertes OH), 1720/cm (C=O).

Glucosid 7 ((3*S*:5*S*)-5-Hydroxy-3-[β -*D*-glucopyranosyloxy]-hexansäure-butylester): 100 mg **2** wurden in 30 ccm *Butanol* gelöst und mit 5 mg *Citronensäure* 2 Tage bei Raumtemp. stehengelassen. Anschließend gab man 1 g Kieselgel zu und dampfte das Lösungsmittel i. Vak. (Badtemp. 35°) ab. Aus dem so auf Kieselgel aufgezogenen Rohprodukt wurden durch SC an 25 g Kieselgel mit über $CaCl_2$ dest. Aceton 29 mg **7** von nicht umgesetzten **2** abgetrennt (Ausb. 23%), schwach gelbliche, glasartige Substanz. PC, System A: R_F 0.69.

IR ($CHCl_3$): 3600–3200 (assoziertes OH), 1725/cm (C=O).

(3*S*:5*S*)-5-Acetoxy-3-[2.3.4.6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-glucopyranosyloxy]-hexansäure-äthylester (9): 100 mg **6** wurden in 2 ccm *Pyridin* mit 1 ccm *Acetanhydrid* über Nacht stehengelassen. Dann wurde in 10 ccm Eiswasser gegossen und zweimal mit je 20 ccm Chloroform extrahiert. Die vereinigten Extrakte engte man dreimal mit 40 ccm Toluol im Rotationsverdampfer (Badtemp. 35°) bis zur Trockne ein. Nach SC an Kieselgel [Benzol/Aceton (12:1)] ließ sich das so gereinigte Rohprodukt aus Äther/Petroläther kristallisieren. Man erhielt 124 mg **9** als farblose Nadeln vom Schmp. 66°; $[\alpha]_D^{20}$: –9° ($c = 0.99$, Aceton).

IR ($CHCl_3$): 1755–1725/cm (C=O); – NMR: s. Tab. 1. – MS: s. Abbild.

$C_{24}H_{36}O_{14}$ (548.5) Ber. C 52.55 H 6.62 Gef. C 53.01 H 6.75

2'.3'.4'.6'-Tetra-*O*-acetyl-parasorbosid (3) und (3*S*:5*S*)-5-Acetoxy-3-[2.3.4.6-tetra-*O*-acetyl- β -*D*-glucopyranosyloxy]-hexansäure-methylester (8): 1.0 g eines Gemischs aus **2** und **5**

wurden wie bei der Darstellung von **9** acetyliert und aufgearbeitet. Aus der Lösung des Rohprodukts in Äther kristallisierten 0.63 g **3** in Prismen vom Schmp. 157–158°; $[\alpha]_D^{20}$: -17° ($c = 0.94$, Aceton).

IR (CHCl₃): 1755–1725/cm (C=O); — NMR: vgl. Tab. 1.

MS: m/e 461 (0.2%, [M+1]⁺), 400 (2.3%, M–AcOH), 340 (10.5%, M–2AcOH), 331 (4.9%, **a**), 280 (3.3%, M–3AcOH), 242 (26%, aus **a**), 200 (20%, aus **a**), 169 (21%, aus **a**), 113 (100%, **g**). Die Elementarzusammensetzung aller Ionen wurde durch hochauflösende Massenspektroskopie ermittelt.

C₂₀H₂₈O₁₂ (460.4) Ber. C 52.17 H 6.13

Gef. C 52.39 H 6.09 Mol.-Gew. 463 (Dampfdruckmessung in Aceton)

Der Rückstand der Mutterlauge von **3** wurde durch SC an Kieselgel [Benzol/Aceton (8:1)] gereinigt. Man erhielt 0.48 g **8** vom Schmp. 78° (farblose Nadeln aus Äther/Petroläther); $[\alpha]_D^{20}$: -9° ($c = 0.97$, Aceton).

IR (CHCl₃): 1755–1725/cm (C=O); — NMR: vgl. Tab. 1.

MS: m/e 503 (1.2%, **c**), 461 (0.4%, **b**), 331 (5.5%, **a**), 242 (2.9%, aus **a**), 200 (2.5%, aus **a**), 127, 187 (100%, **d**), 169 (7.0%, aus **a**), 127 (34%, **e**). Die Elementarzusammensetzung aller Ionen wurde durch hochauflösende MS ermittelt.

C₂₃H₃₄O₁₄ (534.6) Ber. C 51.66 H 6.44

Gef. C 51.92 H 6.37 Mol.-Gew. 523 (Dampfdruckmessung in Aceton)

Enzymatische Spaltung von 2 und 5: 1.2 g eines Gemisches aus **2** und **5** wurden in 100 ccm Wasser mit 0.2 mg β -Glucosidase aus *Aspergillus wentii* (oder Emulsin aus Mandeln) versetzt. Mit verd. Salzsäure stellte man pH 5 ein, überschichtete die Lösung mit einigen Tropfen Toluol und ließ 2 Tage bei Raumtemp. stehen. Das durch anschließende 16stdg. Perforation der Lösung mit Äther erhaltene Rohprodukt wurde über Kieselgel mit dem System CCl₄/Dioxan (2:1) säulenchromatographisch aufgetrennt. Man erhielt 168 mg **4** und 123 mg **10**. (Bei analoger Isolierung von **4** aus **2** betrug die Ausb. 72%.)

(3S:5S)-3-Hydroxy-hexanolid-(5.1) (**4**): Schmp. 69° (Sintern ab 52°), Blättchen aus Äther, $[\alpha]_D^{20}$: $\approx 0^\circ$ ($c = 0.98$, H₂O), $[\alpha]_D^{20}$: -22° ($c = 0.92$, Aceton).

CD: 234 nm, $\Delta\epsilon = +0.29$ (Acetonitril).

IR (KBr): 3600–3200 (assoziiertes OH), 1700/cm (C=O).

NMR: s. Tab. 2.

MS: $m/e = 130$ (4.7%, [M]⁺), 115 (4.6%, M–CH₃), 112 (1.2%, M–H₂O), 44 (100%).

C₆H₁₀O₃ (130.1) Ber. C 55.37 H 7.75 Gef. C 55.35 H 7.51

(3S:5S)-3,5-Dihydroxy-hexansäure-methylester (**10**): Farbloses Öl; — IR (CHCl₃): 3700 bis 3100 (assoziiertes OH) mit einer Schulter bei 3600 (OH), 1720/cm (C=O); — NMR: s. Tab. 2.

Versuch zur sauren Hydrolyse von 2: 200 mg **2** wurden in 10 ccm verd. Schwefelsäure (pH 2) 5 Stdn. bei 80° erhitzt. Dünnschichtchromatographisch wurde festgestellt, daß keine wesentliche Spaltung eingetreten war.

Schwach alkalische Hydrolyse von 2 (Aufarbeitung nach Kuhn und Jerchel⁴): Die Lösung von 500 mg **2** in 15 ccm Wasser wurde mit wäßriger Ca(OH)₂-Lösung auf pH 8 eingestellt. Nach 15 Min. Erwärmen auf 40° war **2** quantitativ gespalten. Die Lösung wurde mit verd. Schwefelsäure angesäuert (pH 2) und nach 3stdg. Erhitzen auf 80° mit (NH₄)₂SO₄ gesättigt und ausgeäthert. Der Ätherextrakt wurde eingeengt und der Rückstand i. Vak. destilliert. Man erhielt 114 mg *Parasorbinsäure* (**1**) als schwach gelbliches Öl; $[\alpha]_D^{20}$: $+208^\circ$ ($c = 0.54$, absol. Methanol).