

Die Strukturen der „Kaffee-Atractyloside“

Hugo Obermann und Gerhard Spiteller*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen,
Tammannstraße 2, D-3400 Göttingen

Eingegangen am 4. März 1976

Die aus Bohnenkaffee isolierten „Kaffee-Atractyloside“ **1** und **7** haben die Strukturen 2-*O*- β -D-Glucopyranosylattractyligenin (**1**) bzw. 2-*O*-(3-*O*- β -D-Glucopyranosyl-2-*O*-isovaleryl- β -D-glucopyranosyl)attractyligenin (**7**).

The Structures of the "Coffee Atractylosides"

The "coffee atractylosides" **1** and **7**, isolated from coffee, possess the structures 2-*O*- β -D-glucopyranosylattractyligenin (**1**) and 2-*O*-(3-*O*- β -D-glucopyranosyl-2-*O*-isovaleryl- β -D-glucopyranosyl)attractyligenin (**7**).

Kürzlich wiesen wir im Röstkaffee das Diterpenoid Atractyligenin (**2**) nach¹⁾, nachdem wir bereits vorher ein Stoffwechselprodukt des Atractyligenins, das 15-Oxo-16,17-dihydroattractyligenin (**3**) im menschlichen Harn entdeckt hatten²⁾.

2 war vorher nur als Bestandteil der auf Sizilien und in Nordafrika beheimateten Pflanze *Atractylis gummifera* L. bekannt^{3,4,5)}, in der es als Atractylosid (**4**) enthalten ist⁶⁾. Dieses Atractylosid wurde interessant, weil es hemmend in den Energiestoffwechsel der Zelle eingreift⁷⁾.

Isolierung von **1** und **7** aus grünen Kaffeebohnen

Fein gemahlene grüne Kaffeebohnen⁸⁾ wurden zur Gewinnung der Glycoside im Soxhlet mit Methanol extrahiert. Der eingedampfte Methanolextrakt wurde dann zwischen Wasser und Methylchlorid verteilt. **1**, **2** und andere Glycoside wurden durch Servachrom XAD-2-Extraktion⁹⁾ aus der wäßrigen Lösung herausgeholt. Die Abtrennung von **1** und **7** von den anderen Glycosiden und Beimengungen erfolgte durch mehrere Chromatographieschritte:

1. Sephadex LH 20; 2. Kieselgel-Säule; 3. Kieselgel-Dünnschichtplatten.

Um die attractyligenin-haltigen Fraktionen aufzuspüren, wurde jeweils ein kleiner Teil von ihnen einer enzymatischen Spaltung unterworfen¹⁾ und nach Methylierung mittels Diazomethan in der Kombination Gaschromatograph-Massenspektrometer analysiert.

¹⁾ H. Ludwig, H. Obermann und G. Spiteller, Chem. Ber. 107, 2409 (1974).

²⁾ H. Obermann, G. Spiteller und G.-A. Hoyer, Chem. Ber. 106, 3506 (1973).

³⁾ M. Lefrane, J. Pharm. Chim 4, (9), 81 (1869).

⁴⁾ F. Piozzi, A. Quilico, R. Mondelli, T. Ajello, V. Sprio und A. Melera, Tetrahedron 22, 515 (1966).

⁵⁾ T. Ajello, F. Piozzi, A. Quilico und V. Sprio, Gazz. Chim. Ital. 93, 867 (1963).

⁶⁾ F. Piozzi, A. Quilico, C. Fuganti, T. Ajello und V. Sprio, Gazz. Chim. Ital. 97, 935 (1967).

⁷⁾ M. Klingenberg, K. Grebe und H. W. Heldt, Biochem. Biophys. Res. Commun. 39, 344 (1970).

⁸⁾ Den gemahlenden Rohkaffee stellte uns Herr Dr. O. G. Vitzthum, Kaffee-HAG AG, zu Verfügung.

⁹⁾ H. L. Bradlow, Steroids 11, 265 (1968).

Mit den Enzymen aus *Helix pomatia* ließ sich **1** zu Atractyligenin und Glucose spalten.

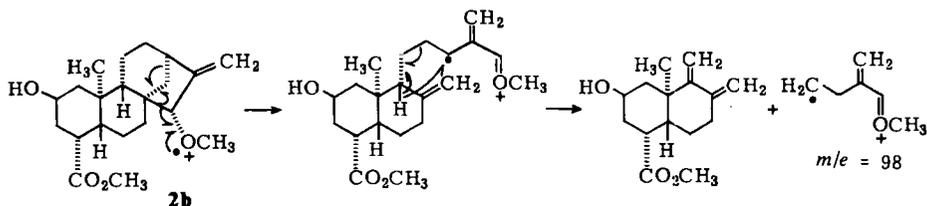
Nach Solvolyse mit methanolischer Salzsäure und Trimethylsilylierung konnten gaschromatographisch trimethylsilyliertes Methyl- α - und - β -D-glucopyranosid (**5a**) sowie 2,15-Bis-O-(trimethylsilyl)attractyligenin-methylester (**2a**) neben Umlagerungsprodukten von **2a** nachgewiesen werden. Die Retentionszeiten und die Massenspektren der Zucker-Solvolyseprodukte sind identisch mit denen von authentischem Material.

Aus dem $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **1** läßt sich aus dem Dublett von 1'-H bei $\delta = 5.12$ ppm mit $J = 8.5$ Hz die β -glycosidische Verknüpfung des Zuckers mit dem Atractyligenin ableiten. Eine Bestätigung für das Vorliegen eines β -Glucosids liefert die enzymatische Spaltung: Mit β -Glucosidase aus Süßmandeln wird **1** rasch gespalten, während die mit α -Glucosidase aus Hefe versetzte Lösung unverändert bleibt.

Bei der Acetylierung entsteht aus **1** das Pentaacetat **1a**. Die Acetylsignale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Acetats **1a** und des Methylesteracetats **1b** zeigen 3 Singulets bei $\delta = 1.97 - 2.04$ (**1a**) bzw. 5 Singulets bei 2.01 - 2.09 ppm (**1b**). Dies läßt auf eine alläquatoriale Stellung schließen, die nur bei der Sesselform eines D-Glucopyranosids beobachtet wird¹⁰⁾.

Um zu entscheiden, ob der Zuckerrest an die 2- oder 15-ständige Hydroxylgruppe des Atractyligenins (**2**) gebunden ist, wurde der Methylester von **1** (**1c**) in das Permethylderivat **1d** mittels Methyljodid und Silberoxid übergeführt. Das Massenspektrum von **1d** weist die erwartete Molekülmasse von 566 mit der Bruttoformel $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_9$ (Hochauflösung) auf.

Die Spaltung von **1d** durch methanolische Salzsäure ergibt α - und β -Methyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl-D-glucopyranosid (**5b**) und eine Verbindung **2b**, deren Massenspektrum durch ein intensives Ion bei $m/e = 98$ ($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}$, Hochauflösung) gekennzeichnet ist. Das Ion der Masse 98 kann nur entstehen, wenn **2b** eine 15-Methoxy-Gruppe trägt:



Im Massenspektrum von Dihydro-**2b** (**6**) ist das Ion der Masse 98 verschwunden, weil nun durch das Fehlen der Methylengruppe die oben abgeleitete Abbaureaktion nicht mehr möglich ist. Damit muß in der Ausgangsverbindung der Zuckerrest an die 2-ständige Hydroxylgruppe des Atractyligenins gebunden sein. **1** ist demzufolge die Struktur 2-O- β -D-Glucopyranosylattractyligenin zuzuschreiben.

Bestimmung der Struktur von **7**

Die Analyse von **7** liefert die Summenformel $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{15}$. Das FD-Massenspektrum zeigt eine Molekülmasse von 751 an. Nach der Analyse muß sie jedoch 728 betragen. Bei der FD-Spektrenaufnahme war Natrium an das Molekül angelagert worden, so daß $m/e = 751$ ein $\text{M}^+ + \text{Na}$ darstellt.

Im IR-Spektrum von **7** erscheint neben der Säurecarbonylbande bei 1715 eine Ester-C=O-Bande bei 1735 cm^{-1} .

¹⁰⁾ D. Horton und J. H. Lauterbach, Carbohydr. Res. 43, 9 (1975).

Durch alkalische Hydrolyse von **7** erhält man die Verbindung **7a** und Isovaleriansäure, die massenspektrometrisch als freie Säure und als Methylester sowie durch das IR-Spektrum nachgewiesen wurde.

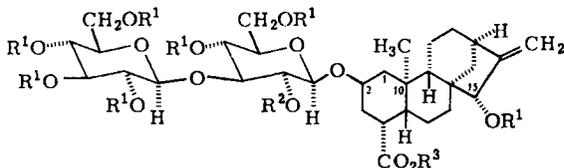
Die Gegenwart der Isovaleriansäure läßt sich auch aus den beiden Dubletts (Integral: 6H) im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **7** bei $\delta = 1.02$ und 1.04 ppm, $J = 7$ Hz, erkennen.

Das FD-Massenspektrum von **7a** zeigt wieder nur das Molekül-Ion $m/e = 667$ des Natriumadduktes an, die Molekülmasse von **7a** beträgt daher 644.

Das 7-Acetylderivat (**7b**) zeigt 7 äquatoriale Acetylgruppen bei $\delta = 1.96 - 2.06$ ppm im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, das **7a**-Acetylderivat (**7c**) 8 äquatoriale Acetylgruppen, die bei $\delta = 1.94 - 2.09$ ppm in Resonanz treten.

Zur Bestimmung der Zuckerkomponenten wurde **7** mit methanolischer Salzsäure gespalten und trimethylsilyliert. Es wird ein ähnliches Gaschromatogramm wie bei analoger Spaltung von **1** erhalten (der bei der Hydrolyse entstehende Isovaleriansäure-methylester entweicht beim Eindampfen), jedoch sind die α - und β -Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-trimethylsilyl-D-glucopyranosid-Peaks, verglichen mit dem des Atractyligeninderivates, doppelt so hoch wie im Gaschromatogramm der Spaltprodukte von **1**. **7** besteht also aus zwei Molekülen Glucose, einem Molekül Atractyligenin und einem Molekül Isovaleriansäure.

Zur Bestimmung, ob die Zuckerreste an der 2- und 15-OH-Gruppe von **2** oder nur an eine der OH-Funktionen des Atractyligenins gebunden sind, stellte man von **7** und **7a** die Methylester **7f** und **g** her, aus denen die Permethylderivate **7h** und **i** erhalten wurden.



	R ¹	R ²	R ³		R ¹	R ²	R ³
7	H	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	7e	COCH ₃	COCH ₃	CH ₃
7a	H	H	H	f	H	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃
b	COCH ₃	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	g	H	H	CH ₃
c	COCH ₃	COCH ₃	H	h	CH ₃	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃
d	COCH ₃	COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	CH ₃	i	CH ₃	CH ₃	CH ₃

Das Massenspektrum von **7h** (Abb.) (M^+ $m/e = 840$, $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_{15}$, Hochauflösung) zeigt am Auftreten des Ions der Masse 98 eine 15-OCH₃-Gruppe. Die beiden Glucosemoleküle sind also als Kette an das 2-O-Atom des Atractyligenins (**2**) gebunden. Aus dem Bruchstück $m/e = 605$, das dem Verlust eines Permethylglucose-Radikals entspricht, geht hervor, daß die Isovaleriansäure nicht an den endständigen Glucoserest geknüpft sein kann.

Die Befunde werden weiter untermauert durch Solvolyse von **7i** (Permethylderivat von **7a**) mit methanolischer Salzsäure. Sie liefert 15-*O*-Methylattractyligenin-methylester (**2b**) sowie α - und β -Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-D-glucopyranosid (**5b**) und Methyl-2,4,6-tri-*O*-methyl- α , β -D-glucopyranosid (**5c**). Die gaschromatographischen Retentionszeiten und

die Massenspektren der Zuckercomponenten sind identisch mit denen von authentischem Material und verschieden von denen der 2,4- und 6-OH-Isomeren¹¹⁾.

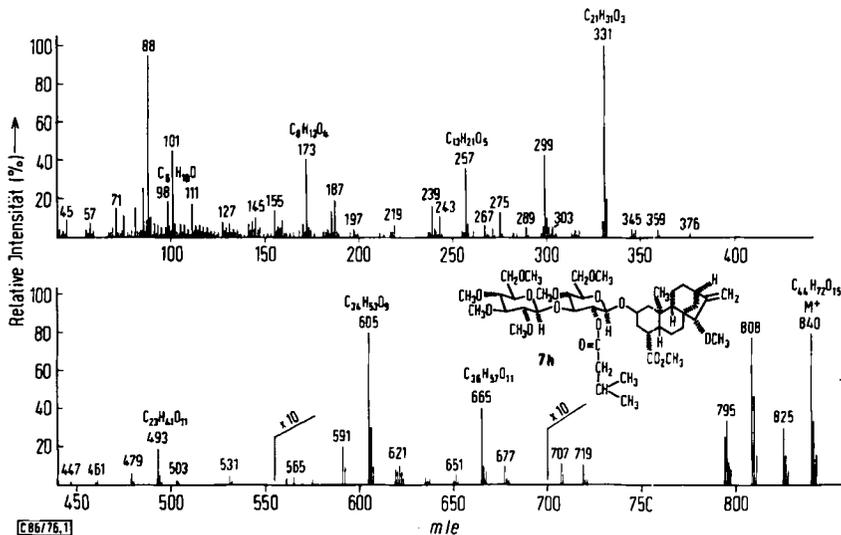


Abb.: Massenspektrum von 2-O-[2-O-Isovaleryl-4,6-di-O-methyl-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-methyl- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl]-15-O-methylatractyligenin-methylester (7h)

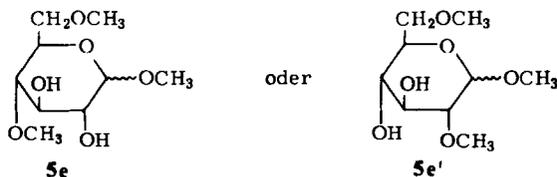
Zur Bestätigung dieser Befunde wurden die Solvolyseprodukte von 7i mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid (MSTFA) trimethylsilyliert und in der GC-MS-Kombination analysiert: Man erhielt α - und β -Methyl-2,3,4,6-tetra-*O*-methyl-D-glucopyranosid (5b), α - und β -Methyl-2,4,6-tri-*O*-methyl-3-*O*-trimethylsilyl-D-glucopyranosid (5d) und 15-*O*-Methyl-2-*O*-(trimethylsilyl)atractyligenin-methylester (2c). Die Retentionszeiten und die Massenspektren der Glucosederivate sind identisch mit den Daten von authentischem Material.

Die β -glycosidische Verknüpfung beider Glucosemoleküle ergibt sich aus den ¹H-NMR-Spektren, in denen die 1'-H- und 1''-H-Protonen jeweils durch 1-Protonendoublets mit einer Kopplungskonstante von 8.5 Hz angezeigt werden (siehe exp. Teil).

Bestätigt wird das Vorliegen der β -glycosidischen Bindungen durch die leichte Spaltbarkeit mit β -Glucosidase. 7a ist somit Atractyligenin-2-(3-*O*- β -D-glucopyranosyl)- β -D-glucopyranosid).

Um die Verknüpfung der Isovaleriansäure mit dem am Atractyligenin (2) gebundenen Glucosemolekül in 7 zu ermitteln, unterwarf man das 7-Permethylderivat (7h) einer sauren Solvolyse. Sie ergab neben 15-*O*-Methylatractyligenin-methylester (2b) sowie α - und β -Methyl-2,3,4,6-tetramethyl-D-glucopyranosid (5b) auch das erwartete Methyl-di-*O*-methylglucopyranosid 5e. Nach der Struktur von 7a ist die eine freie OH-Gruppe an C-3 zu lokalisieren, die zweite freie OH-Gruppe kann in Stellung 2 oder 4 sitzen.

¹¹⁾ N. K. Kochetkov, N. S. Wulfson, O. S. Chizhov und B. M. Zolotarev, Tetrahedron 19, 2209 (1965).



Hinweise auf die Struktur von **5e** ergeben sich aus dem Massenspektrum seines Trimethylsilylderivates **5f**. Methylierte und trimethylsilylierte Zucker brechen im Massenspektrometer bevorzugt unter Bildung von 2-Kohlenstoff-Bruchstücken. Ein Spaltstück der Masse 88 ($\text{CH}_3\text{O}^+ = \text{CH} - \text{CH} - \text{OCH}_3$) entsteht in hoher Intensität, wenn im Pyranose-Ring nachbarständige Methoxy-Gruppen vorliegen¹¹). Das Fehlen des Peaks m/e 88 im Massenspektrum von **5f** zeigt, daß in **5f** keine vicinale Dimethoxy-Gruppierung enthalten ist. Dies ist nur der Fall, wenn die zweite OH-Gruppe die Position 2 einnimmt, also **5e** und nicht **5e'** vorliegt.

Die Isovaleriansäure ist also mit dem 2'-O-Atom verestert. Um diese Annahme zu beweisen, wurden **5e** und **f** synthetisiert. Ein Vergleich der Massenspektren mit denen von natürlichem Material bestätigt die Strukturen. Damit kommt der Verbindung **7** die Struktur Atractyligenin-2-(3-O- β -D-glucopyranosyl-2-O-isovaleryl- β -D-glucopyranosid) zu.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

Herrn Dr. O. G. Vitzthum, Kaffee-HAG, Bremen, danken wir für die Überlassung des Rohkaffees, Herrn Dr. U. Rapp, Varian MAT, Bremen, für die Messungen der FD-Massenspektren und den Herren Dr. G. Remberg und Dr. M. Ende für die Bestimmung der Bruttoformeln durch hochauflösende Massenspektrometrie.

Experimenteller Teil

Die Massenspektren wurden mit einem Varian MAT CH 4-Massenspektrometer (E-4B-Ionenquelle), einem Varian CH 7-Massenspektrometer bzw. einem Varian MAT 731-Massenspektrometer durch Direkteinführung der Proben in die Ionenquelle sowie mit dem Varian MAT CH 7-Massenspektrometer, kombiniert mit einem Varian-1700-Gaschromatographen, bei 70 eV aufgenommen. In den Massenspektren werden im unteren Massenbereich Ionen, deren Intensität 5% unterschreitet, nicht angegeben. Alle Bruttoformeln wurden durch „peak matching“ auf einem Varian MAT 731-Massenspektrometer bestimmt.

Die FD-Massenspektren wurden an einem Varian MAT 711-Massenspektrometer bei einer Beschleunigungsspannung von 8 kV gemessen.

NMR-Spektren: Varian HA 100 und Varian XL 100, TMS als interner Standard. – IR-Spektren: Perkin-Elmer PE 621. – Optische Drehung: Perkin Elmer 141-Polarimeter, in Äthanol (Mikro-küvette) bei 20°C. – Schmelzpunkte (unkorrigiert): Kofler-Apparatur. – Molekülmasse-Bestimmungen: Mecrolab-Osmometer 301 A.

Gaschromatographische Trennungen: Varian 1700-Gaschromatograph des GC-MS-Kombinationsgerätes; 1,80-m-Glassäule (Innendurchmesser 2 mm, 2% SE 30 auf Chromosorb W AW-DMCS, 80–100 mesh), Injektortemp. 270°C, Säulentemp. von 100–300°C mit 10°C/min programmiert, Trägergas Helium, 20 ml/min, Temperatur des Separators (Biemann-Watson-Typ) und der GC-MS-Verbindungskapillare 240°C. Als GC-Detektor diente die Totalionenstromanzeige des Massenspektrometers.

Isolierung von 1 und 7 aus Rohkaffee

5 kg feingemahlene Bohnen von *Coffea arabica*¹⁾ wurden in Portionen zu 1 kg mit je 4 Liter Methanol 24 h im Soxhlet extrahiert. Den Methanolextrakt engte man im Rotationsverdampfer ein und verteilte den Rückstand (je kg-Ansatz) zwischen 1 Liter Methylenchlorid und 1.3 Liter dest. Wasser. Nach der Phasentrennung wurde die organische Phase 2mal mit je 200 ml Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. eingedampft.

Der wäßrigen Phase wurde das Waschwasser der organischen Phase zugesetzt. Nach zweimaligem Extrahieren der wäßrigen Phase (Extrakt und Waschwasser) mit je 300 ml CH₂Cl₂ wurde zur Vertreibung des gelösten Methylenchlorids auf 40°C erwärmt und unter Rühren über Nacht ein Stickstoffstrom über die Lösung geleitet. Die Methylenchloridphase wurde verworfen.

Nach dem Abkühlen adsorbierte man die Glycoside der wäßrigen Phase an 1 kg Servachrom XAD-2⁹⁾, wusch die Säule mit 2 Liter dest. Wasser nach und eluierte – nach Trockensaugen der Säule an der Wasserstrahlpumpe – mit 2 Liter Methanol. Die Methanollösung dampfte man im Rotationsverdampfer ein. Insgesamt erhielt man aus 5 kg (Gewichtsverlust: 1.41 kg):

Methanolextrakt 765 g; Eindampfrückstand der CH₂Cl₂-Phase 278 g; Eindampfrückstand des Servachrom XAD-2-Eluats 82 g (glycosidische Fraktion).

Der Rückstand des Methanoleluats (82 g) wurde an 500 g Sephadex LH 20 chromatographiert (Elutionsmittel: Methanol). Nach 900 ml Eluat wurden Fraktionen zu je 20 ml genommen. Von jeder 5. Fraktion unterwarf man einen kleinen Teil (etwa 1–5%) einer enzymatischen Spaltung^{1,2)} und analysierte die mit Diazomethan methylierten Spaltprodukte in der GC-MS-Kombination. Die Fraktionen 1–40 (900–1700 ml Eluat) enthielten Atractyligenin (2).

Zur weiteren Abtrennung der atractyligeninhaltigen Fraktionen wurde an 1.5 kg Kieselgel (Korngröße 0.02–0.2 mm) chromatographiert. Als Elutionsmittel dienten 1.5 Liter Chloroform, 2. 4 Liter Methylenchlorid + 5% Methanol, 3. 6 Liter CH₂Cl₂ + 10% Methanol, 4. 7 Liter CH₂Cl₂ + 20% Methanol, 5. 12 Liter CH₂Cl₂/Methanol/Wasser 65:30:5, 6. 6 Liter Methanol. Man nahm Fraktionen zu je 250 ml.

Die Trennleistung der Säule wurde dünnschichtchromatographisch geprüft (Kieselgel, Schichtdicke: 0.25 mm, Laufmittel: CHCl₃/Methanol/Wasser 65:30:5¹²⁾, Sprühreagenz: Anisaldehyd/Schwefelsäure). Fraktionen, die auf der DC-Platte gleiches Fleckenmuster aufwiesen, wurden vereinigt.

Mit dem Laufmittel 5. eluierte man unter anderem 3 Fraktionen, die nach Aussage der GC-MS-Analyse der enzymatisch gespaltenen und mit Diazomethan methylierten Proben Atractyligenin enthielten:

Fraktionen 30–36: 2.5 g mit 7; 37–39: 1.4 g mit 7 und 1; 40–46: 2.4 g mit 1.

Zur weiteren Auftrennung wurden die Fraktionen 37–39 (1.4 g) an 100 g Sephadex LH 20 chromatographiert. Als Elutionsmittel diente CHCl₃ + 25% Methanol. Zwischen 170 und 190 ml eluierte man 510 mg mit 7 als Hauptkomponente, zwischen 200 und 220 ml 570 mg mit 1 als Hauptbestandteil.

Die Fraktionen 30–36 und 40–46 chromatographierte man zur weiteren Auftrennung an je 20 DC-Platten (20 × 20 cm, Kieselgel HR, Schichtdicke 1 mm, Laufmittel CHCl₃/Methanol/Wasser 65:30:5), indem man das Laufmittel nach Trocknen der Platten ein zweites Mal aufsteigen ließ:

30–36: 7 Zonen, aus Zone 4 wurden im Soxhlet mit Äthanol 590 mg 7 extrahiert. 40–46: 5 Zonen; Zone 3 enthielt 630 mg 1.

Die Wiederholung der Dünnschichtchromatographie zur weiteren Reinigung von 7 und 1 lieferte insgesamt 1160 mg 7 und 1030 mg 1. Die Umkristallisation aus Methanol brachte 628 mg 7 und 580 mg 1.

¹²⁾ R. Tschesche, A. M. Javellana und G. Wulff, Chem. Ber. 107, 2828 (1974).

Ausführung der Reaktionen zur Derivatbildung

Methylester: Die Probe wird in Methanol gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung behandelt. Danach dampft man im Stickstoffstrom ein.

Acetate: 10–20 mg werden in 1 ml Pyridin gelöst, mit 1 ml Acetanhydrid versetzt und über Nacht bei Raumtemp. im Dunkeln stehengelassen. Danach verdampft man das Reagenz im Stickstoffstrom und trocknet im Vakuumtrockenschrank (50°C; 10^{-3} Torr).

Methyläther: 20–30 mg werden in 1 ml Dimethylformamid gelöst, mit 0.3 ml Methyljodid und 300 mg frisch gefälltem Silberoxid versetzt und 24 h bei Raumtemp. gerührt. Danach verdünnt man mit 50 ml Chloroform und filtriert die Silbersalze ab¹³⁾. Das Filtrat dampft man im Rotationsverdampfer ein und chromatographiert an einer Kieselgeldünnschichtplatte (20 × 20 cm, Schichtdicke 0.25 mm, Laufmittel Benzol/Methanol 9:1, Sprühreagenz Anisaldehyd/Schwefelsäure). Die abgekratzte Zone, die das Reaktionsprodukt enthält, wird mit Chloroform/Aceton (3:1) extrahiert.

Trimethylsilylierung: 0.1 mg werden in 10 µl Methanol gelöst und in ein Schmelzpunktröhrchen übergeführt. Nach Absaugen des Lösungsmittels wird mit 10–20 µl *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid versetzt, zugeschmolzen und 0.5–1 h auf 50°C erhitzt. Die Probe wird mit dem Reagens auf die Trennsäule des Gaschromatographen gespritzt.

Enzymatische Spaltung

a) Enzyme aus *Helix pomatia*^{1, 2)}: 1–5 mg werden in 10–50 ml Acetatpuffer (0.5 M, pH 4.75) gelöst und mit 0.5 ml β-Glucuronidase/Arylsulfatase (Rohenzym, Boehringer) 24 h bei 37°C inkubiert. Danach wird 2 mal mit je 20 ml Äthylacetat extrahiert. Zur Isolierung der Zuckerkomponenten verdünnt man mit 50 ml Methanol und entsalzt an einem Amberlyst 15-Kationenaustauscher. Die entsalzte Lösung dampft man i. Vak. ein.

b) β-Glucosidase: 1 mg wird in 2 ml Acetatpuffer (0.5 M, pH 4.75) gelöst und mit 0.5 ml β-Glucosidase aus Süßmandeln 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Danach extrahiert man mit 2 ml Äthylacetat. Der Extrakt wird im Stickstoffstrom eingedampft.

Saure Spaltung: 1–5 mg erhitzt man mit 5–10 ml 5proz. methanolischer Salzsäure im geschlossenen Kolben 5 h auf 90°C. Nach dem Abkühlen entsäuert man an einem Amberlyst A-26-Ionenaustauscher und dampft i. Vak. ein.

Physikalische Konstanten

2-O-β-D-Glucopyranosylatractyligenin (1): R_F 0.35 (Kieselgel, CHCl_3 /Methanol/Wasser); Schmp. 263–264°C; $[\alpha]_D^{20} = -79.3 \pm 2^\circ$ ($c = 1.18$, Äthanol p. a.); Mol.-Masse 470 ± 23 . – FD-MS: $m/e = 482$ (100%, M^+); 464 (73, $M^+ - \text{H}_2\text{O}$); 446 (59, $M^+ - 2\text{H}_2\text{O}$); 320 (61); 302 (57). – IR (KBr): 3600–2400 (OH und CO_2H), 1710 (C=O), 1655 und 1635 (C=C), 1010 cm^{-1} (C–O). – ¹H-NMR ($[\text{D}_5]$ Pyridin): $\delta = 1.11$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 3.84–4.49 (CH–OH); 5.12 (1H, d, $J = 8.5 \text{ Hz}$, 1'-H); 5.12 und 5.40 ppm (2H, s, C=CH₂).

$\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_9$ (482.6) Ber. C 62.22 H 7.94 Gef. C 62.15 H 8.00

2-O-(3-O-β-D-Glucopyranosyl-2-O-isovaleryl-β-D-glucopyranosyl)atractyligenin (7): R_F 0.40 (Kieselgel, CHCl_3 /Methanol/Wasser, 65:30:5); Schmp. 267°C; $[\alpha]_D^{20} = -61.5 \pm 2^\circ$ ($c = 0.65$, Äthanol); Mol.-Masse 697 ± 35 , FD-MS: $m/e = 751$ ($M^+ + \text{Na}$). – IR (KBr): 3300–2400 (OH und CO_2H); 3030, 1655, 1635 (C=CH₂); 1735 (CO_2C); 1715 (CO_2H); 1070, 1030, 1010 cm^{-1} (C–O–H). – ¹H-NMR ($[\text{D}_5]$ Pyridin): $\delta = 1.02$ und 1.04 (6H, d, $J = 7 \text{ Hz}$, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1.07 (3H, s, 10α -

¹³⁾ R. Kuhn, I. Löw und H. Trischmann, Chem. Ber. 90, 203 (1957).

CH₃); 3.60–4.80 (m, CH–OH); 4.90 und 5.07 (je 1 H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 5.11 und 5.41 (je 1 H, s, C=CH₂); 5.54 ppm (1 H, m, 2'-H).

C₃₆H₅₆O₁₅ (728.8) Ber. C 59.32 H 7.74 Gef. C 59.19 H 7.66

Derivate

15-O-Acetyl-2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)atractyligenin (1a): R_F 0.32 (Kieselgel, Benzol + 10% Methanol); ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.97$ (3H, s, 10 α -CH₃); 1.97 (3H, s, COCH₃); 2.01 (6H, s, COCH₃); 2.04 (6H, s, COCH₃); 3.60–3.78 (1H, m, 5'-H); 4.04–4.52 (4H, m, 2 α -, 15 β -, 6'-H); 4.63 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'-H); 4.83–5.23 ppm (5H, m, 2'-, 4'-, 3'-H, C=CH₂).

15-O-Acetyl-2-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)atractyligenin-methylester (1b): R_F 0.44 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9 : 1); ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.92$ (3H, s, 10 α -CH₃); 2.01, 2.03, 2.05, 2.07, 2.09 (15H, 5s, 5 äquatoriale OCOCH₃); 3.70 (3H, s, CO₂CH₃); 3.70–4.29 (m, 2 α -, 15 β -, 6'-H); 4.69 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'-H); 4.89–5.27 ppm (5H, m, 2'-, 4'-, 3'-H, C=CH₂).

2-O-β-D-Glucopyranosylatractyligenin-methylester (1c): R_F 0.45 (Kieselgel, CHCl₃/Methanol/Wasser 65 : 30 : 5). – FD-MS: $m/e = 519$ (M⁺ + Na). – ¹H-NMR ([D₅]Pyridin): $\delta = 0.86$ (3H, s, 10 α -CH₃); 3.60 (3H, s, CO₂CH₃); 3.83–4.80 (CH–OH); 5.06 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'-H); 5.13 und 5.41 ppm (2H, s, C=CH₂).

15-O-Methyl-2-O-(2,3,4,6-tetra-O-methyl-β-D-glucopyranosyl)atractyligenin-methylester (1d): R_F 0.44 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9 : 1). – MS (Varian MAT CH 4, Ionenquellentemp. 110°C, Probenverdampfungstemp. 150°C): $m/e = 566$ (5%, M⁺); 535 (7, M⁺ – CH₃OH); 534 (14, M⁺ – CH₃OH), 519 (2), 494 (0.5), 489 (0.3), 465 (0.2), 391 (20), 333 (10), 332 (23), 331 (100), 315 (1.4), 299 (17); 267 (3), 239 (8), 197 (1.4), 187 (15), 185 (3), 159 (3), 157 (3), 155 (6), 147 (6), 146 (1.4), 145 (6), 144 (1), 143 (4), 133 (1), 131 (5), 129 (3), 127 (2), 119 (4), 117 (4), 111 (13), 115 (7), 102 (6), 101 (73), 98 (23), 93 (6), 91 (8), 89 (11), 88 (83), 87 (27), 85 (6), 79 (14), 75 (14), 73 (7), 71 (25), 59 (8), 55 (11), 45 (51), 41 (8). Hochoaufgelöst: C₃₁H₅₀O₉; gef. 566.3446; ber. 566.3440. – ¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 0.86$ (3H, s, 10 α -CH₃); 2.80–3.32 (m, CH–O); 3.37, 3.39, 3.50, 3.55, 3.60 (15H, s, OCH₃); 3.64 (3H, s, CO₂CH₃); 4.20 (1H, tt, $J = 11$; 4.5 Hz, 2 α -H); 4.39 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'-H); 5.06 und 5.12 ppm (2H, s, C=CH₂).

15-O-Methylatractyligenin-methylester (2b) entsteht bei der sauren Spaltung von 1 und 7 mit methanolischer Salzsäure. – MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): $m/e = 348$ (7%, M⁺), 330 (2), 316 (4), 301 (2), 298 (6), 285 (3), 283 (4), 277 (2), 276 (13), 259 (3), 258 (4), 257 (5), 256 (4), 255 (3), 242 (2), 241 (6), 239 (5), 223 (8), 197 (11), 183 (5), 181 (10), 157 (6), 145 (7), 143 (6), 133 (7), 131 (9), 129 (5), 123 (7), 121 (6), 119 (9), 117 (12), 115 (5), 111 (5), 109 (6), 108 (3), 107 (12), 106 (5), 105 (18), 99 (8), 98 (100), 95 (6), 93 (13), 92 (6), 91 (26), 87 (6), 85 (8), 83 (7), 81 (9), 79 (17), 71 (7), 69 (6), 67 (11), 65 (4), 59 (5), 57 (6), 55 (16), 53 (6), 45 (8), 43 (8), 41 (17).

15-O-Methyl-16β,17-dihydroatractyligenin-methylester (6): Die Produkte der sauren Spaltung von 1 (2 mg) wurden in 1 ml Methanol gelöst und mit 0.5 mg Palladium/Aktivkohle 5 h bei Raumtemp. unter Normaldruck in H₂-Atmosphäre hydriert. – MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): $m/e = 350$ (65%, M⁺); 336 (2), 335 (11), 333 (14), 332 (71), 319 (18), 318 (64), 317 (14), 304 (7), 303 (18), 301 (11), 300 (48), 287 (16), 286 (20), 285 (38), 277 (9), 276 (8), 273 (10), 272 (9), 271 (12), 268 (10), 260 (34), 259 (100), 258 (24), 257 (15), 253 (7), 245 (10), 244 (7), 243 (15), 242 (6), 241 (29), 240 (14), 239 (6), 231 (7), 229 (20), 226 (6), 227 (23), 226 (15), 225 (52), 220 (9), 219 (12), 218 (10), 217 (9), 213 (6), 211 (9), 203 (7), 201 (9), 200 (12), 199 (54), 198 (10), 197 (15), 193 (8), 192 (6), 188 (7), 187 (29), 185 (9), 184 (7), 183 (28), 181 (6), 179 (9), 178 (5), 173 (10), 172 (6), 171 (16), 169 (13), 168 (6), 167 (11), 166 (32), 165 (12), 163 (6), 161 (9), 160 (5), 159 (13), 158 (8), 157 (16), 155 (7), 151 (12), 149 (13), 148 (20), 147 (21), 146 (13), 145 (28), 144 (9), 143 (23), 141 (9), 137 (13), 136 (16), 135 (53); 134 (44), 133 (25), 132 (10), 131 (32), 130 (9), 129 (19), 128 (7), 124 (6), 123 (35), 122 (10), 121 (31),

120 (11), 119 (34), 118 (9), 117 (26), 116 (6), 115 (11), 109 (20), 108 (15), 107 (70), 106 (22), 105 (57), 100 (8), 99 (6), 97 (10).

2-O-(3-O-β-D-Glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)attractyligenin (7a) und *Isovaleriansäure*: Man ließ 100 mg 7 in 20 ml Methanol mit 5 ml 1 N NaOH über Nacht bei Raumtemp. stehen und neutralisierte danach an einem Amberlyst 15-Kationenaustauscher. Nach Verdünnen mit 30 ml Wasser extrahierte man 2 mal mit je 20 ml Äther, trocknete über Natriumsulfat und dampfte auf dem Wasserbad ein: 14 mg Isovaleriansäure, nach MS und IR identisch mit authent. Material.

Die wäßrige Phase dampfte man im Rotationsverdampfer ein: 80 mg 7a. R_F 0.30 (Kieselgel, CHCl_3 /Methanol/Wasser 65:30:5). – FD-MS: $m/e = 667$ ($M^+ + \text{Na}$). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_5]$ -Pyridin): $\delta = 1.14$ ($10\alpha\text{-CH}_3$); 3.57–5.03 (m, CH-O); 5.08 und 5.13 (je 1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 5.15 und 5.44 ppm (je 1H, s, $\text{C}=\text{CH}_2$).

15-O-Acetyl-2-O-[4,6-di-O-acetyl-2-O-isovaleryl-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]attractyligenin (7b): R_F 0.30 (Benzol/Methanol 9:1). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.98$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 1.02 (6H, d, $J = 7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1.96, 1.99, 2.03, 2.06 (21H, s, COCH_3); 3.58–3.84 (2H, m, 5'- und 5''-H); 3.90–4.41 (5H, m, 6', 6''- und $2\alpha\text{-H}$); 4.53 und 4.55 (je 1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 4.80–5.24 ppm (9H, m, 2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 15β-H, $\text{C}=\text{CH}_2$).

15-O-Acetyl-2-O-[3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-2,4,6-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl]attractyligenin (7c): R_F 0.32 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9:1). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.98$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 1.94, 1.98, 2.02, 2.05, 2.09 (24H, s, COCH_3); 3.60–3.80 (2H, m, 5'- und 5''-H); 3.87–4.36 (5H, m, 6', 6''- und $2\alpha\text{-H}$); 4.50 und 4.59 (je 1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 4.79–5.26 ppm (9H, m, 2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 15β-H und $\text{C}=\text{CH}_2$).

15-O-Acetyl-2-O-[4,6-di-O-acetyl-2-O-isovaleryl-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]attractyligenin-methylester (7d): R_F 0.45 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9:1). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.87$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 1.02 (6H, s, $J = 7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 1.96, 2.00, 2.03, 2.05, 2.07 (21H, s, COCH_3); 3.66 (3H, s, CO_2CH_3); 3.58–3.84 (2H, m, 5'- und 5''-H); 3.89–4.41 (5H, m, 6', 6''- und $2\alpha\text{-H}$); 4.53 und 4.55 (je 1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 4.73–5.29 ppm (9H, m, 2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 15β-H, $\text{C}=\text{CH}_2$).

15-O-Acetyl-2-O-[3-O-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-2,4,6-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl]attractyligenin-methylester (7e): R_F 0.42 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9:1). – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.87$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 1.97, 1.99, 2.01, 2.04, 2.06, 2.10 (24H, s, COCH_3); 3.60–3.80 (2H, m, 5'- und 5''-H); 3.65 (3H, s, CO_2CH_3); 3.88–4.20 (5H, m, 6', 6''- und $2\alpha\text{-H}$); 4.50 und 4.58 (je 1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 4.78–5.25 ppm (9H, m, 2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 15β-H, $\text{C}=\text{CH}_2$).

2-O-(3-O-β-D-Glucopyranosyl-2-O-isovaleryl-β-D-glucopyranosyl)attractyligenin-methylester (7f): R_F 0.46 (CHCl_3 /Methanol/Wasser). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_5]$ Pyridin): $\delta = 0.88$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 0.99 (6H, dd, $J = 7$; 1.5 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 3.59 (3H, s, CO_2CH_3); 3.65–4.60 (CH-OH); 4.83 und 4.95 (je 1H, d, $J = 8.5$ Hz, 1'- und 1''-H); 5.09 und 5.35 (je 1H, s, $\text{C}=\text{CH}_2$); 5.45 ppm (1H, m, 2'-H).

2-O-(3-O-β-D-Glucopyranosyl-β-D-glucopyranosyl)attractyligenin-methylester (7g): R_F 0.34 (Kieselgel, CHCl_3 /Methanol/Wasser 65:30:5). – $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_5]$ Pyridin): $\delta = 0.85$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 3.61 (3H, s, CO_2CH_3); 3.92–5.24 (H-C-OH); 5.14 und 5.43 ppm ($\text{C}=\text{CH}_2$).

2-O-[2-O-Isovaleryl-4,6-di-O-methyl-3-O-(2,3,4,6-tetra-O-methyl-β-D-glucopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]-15-O-methylattractyligenin-methylester (7h): R_F 0.45 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9:1). – MS (Varian MAT CH 7, Ionenquellentemp. 150°C): $m/e = 840$ (0.8%, M^+ , Abb.). Hochaufgelöst: $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_{15}$, gef. 840.4879, ber. 840.4870. – $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.85$ (3H, s, $10\alpha\text{-CH}_3$); 0.97 (6H, d, $J = 7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 3.10 (1H, s, 15β-H); 3.38, 3.40, 3.43, 3.51, 3.57 (s, OCH_3); 3.63

(3H, s, CO₂CH₃); 2.80–3.80 (CH–O); 4.36 und 4.42 (je 1H, d, *J* = 8.5 Hz, 1'- und 1''-H); 4.8 (1H, m, 2'-H); 5.05 und 5.13 ppm (je 1H, s, C=CH₂).

15-O-Methyl-2-O-[3-O-(2,3,4,6-tetra-O-methyl-β-D-glucopyranosyl)-2,4,6-tri-O-methyl-β-D-glucopyranosyl]atractyligenin-methylester (7i): *R*_F 0.47 (Kieselgel, Benzol/Methanol 9 : 1). – MS (Varian MAT 731, Ionenquellentemp. 270°C): *m/e* = 770 (0.1%, M⁺), 739 (0.2), 606 (0.3), 605 (0.4), 596 (0.8), 595 (2), 563 (0.6), 551 (1), 535 (2), 461 (2), 391 (2), 346 (2), 333 (3), 332 (15), 331 (58), 330 (3), 315 (2), 302 (2), 301 (9), 300 (9), 299 (37), 267 (13), 241 (7), 240 (7), 239 (28), 219 (16), 218 (15), 217 (5), 197 (6), 189 (6), 186 (14), 187 (100), 185 (10), 183 (6), 173 (15), 169 (5), 159 (22), 158 (9), 157 (14), 155 (28), 147 (8), 145 (14), 143 (13), 141 (7), 131 (13), 129 (9), 128 (7), 127 (22), 119 (8), 117 (8), 115 (12), 114 (4), 113 (8), 112 (7), 111 (81), 107 (8), 105 (12), 102 (10), 101 (90), 99 (12), 98 (21), 97 (6), 96 (3), 95 (10), 93 (9), 92 (3), 91 (11), 89 (15), 88 (30), 87 (6), 85 (8), 81 (9), 75 (34), 73 (7), 71 (29), 69 (8), 59 (7), 55 (9), 45 (27), 41 (8). Hochoaufgelöst: C₄₀H₆₆O₁₄, gef. 770.4454, ber. 770.4452.

Methyl-2,3,4,6-tetrakis-O-trimethylsilyl-α-D-glucopyranosid (5a, α) entsteht aus **1**, **7** und **7a** durch Solvolyse mit methanolischer Salzsäure und anschließende Trimethylsilylierung. MS identisch mit Lit.-MS¹⁴⁾.

Methyl-2,3,4,6-tetrakis-O-trimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (5a, β) entsteht wie vorstehend nach dem Gaschromatogramm etwa in doppelter Menge von **5a, α**. MS wie **5a, α**, lediglich die Intensitäten der Ionen *m/e* = 482, 467 und 435 liegen etwas tiefer.

Methyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl-α-D-glucopyranosid (5b, α) erhält man bei der Solvolyse (methanolischer Salzsäure) von **7h, l** und **1d**. MS identisch mit Lit.-MS¹¹⁾.

Methyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl-β-D-glucopyranosid (5b, β) entsteht bei der Solvolyse von **1**, **7** und **7a** neben dem α-Epimeren. Das MS unterscheidet sich vom MS des α-Isomeren durch eine geringere Intensität der Ionen *m/e* = 219, 205, 187 und 111.

Methyl-2,4,6-tri-O-methyl-α,β-D-glucopyranosid (5c) entsteht aus **7i** durch Solvolyse mit methanolischer Salzsäure. Die Epimeren trennten sich nicht im Gaschromatographen. MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): *m/e* = 205 (0.4, M – 'OCH₃), 204 (0.2), 187 (1.2), 173 (1), 162 (0.7), 161 (0.4), 159 (0.6), 155 (0.9), 146 (0.3), 144 (0.9), 143 (0.5), 142 (0.2), 141 (0.8), 135 (1), 132 (0.3), 131 (1.9), 130 (0.5), 129 (1), 128 (0.3), 127 (1.5), 119 (0.5), 118 (0.5), 117 (1.9), 116 (1), 115 (2.5), 114 (2), 113 (1.5), 112 (1), 111 (2.8), 103 (5), 102 (30), 101 (51), 99 (7), 89 (8), 88 (25), 87 (25), 85 (10), 75 (24), 74 (68), 73 (13), 72 (10), 71 (100), 69 (5), 61 (5), 59 (20), 58 (14), 57 (10), 55 (5), 47 (5), 45 (59), 44 (3), 43 (12), 42 (8), 41 (19). MS identisch mit dem von authent. Material, das nach Kuhn¹³⁾ dargestellt wurde.

Methyl-2,4,6-tri-O-methyl-3-O-trimethylsilyl-α-D-glucopyranosid (5d, α): Die Solvolyseprodukte von **7i** wurden trimethylsilyliert. MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): *m/e* = 293 (0.1%, M – CH₃), 278 (0.1), 277 (0.8, M – 'OCH₃), 263 (0.2), 262 (0.3), 261 (2.8), 245 (2), 229 (3), 217 (4), 213 (2), 211 (2), 189 (2), 188 (2), 187 (12), 185 (4), 177 (1), 176 (1), 175 (6), 174 (9), 173 (2), 169 (1), 161 (2), 160 (3), 159 (19), 158 (1), 157 (2), 155 (2), 149 (3), 148 (8), 147 (23), 146 (100), 145 (3), 143 (2), 142 (2), 135 (3), 134 (8), 133 (68), 132 (4), 131 (29), 127 (4), 121 (2), 119 (1), 117 (4), 116 (13), 115 (2), 114 (1), 113 (2), 112 (1), 111 (10), 109 (1), 105 (3), 103 (4), 102 (7), 101 (31), 99 (8), 97 (2), 95 (2), 91 (3), 90 (4), 89 (44), 88 (19), 87 (2), 85 (6), 75 (35), 74 (8), 73 (76), 72 (6), 71 (38), 59 (29), 55 (5), 45 (68), 43 (7), 41 (13). MS identisch mit dem von authent. Material.

Methyl-2,4,6-tri-O-methyl-3-O-trimethylsilyl-β-D-glucopyranosid (5d, β) wurde wie **5d, α** erhalten. MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): *m/e* = 261 (1.2%, M – (CH₃OH + CH₃)), 245 (0.5), 243 (0.5), 229 (1.5), 219 (0.3), 217 (0.3), 203 (1), 201 (1), 185 (1), 187 (4), 185 (2), 175 (3),

¹⁴⁾ D. C. DeJongh, T. Radford, J. D. Hribar, S. Hanesson, M. Bieber, G. Dawson und C. C. Sweely, J. Amer. Chem. Soc. **91**, 1728 (1969).

174 (4), 173 (2), 161 (1), 160 (2), 159 (11), 149 (1), 148 (4), 147 (15), 146 (100), 145 (1), 135 (1), 134 (4), 133 (33), 132 (2), 131 (19), 129 (2), 127 (2), 117 (3), 116 (8), 115 (1), 113 (1), 111 (3), 105 (2), 103 (3), 102 (3), 101 (19), 89 (21), 88 (13), 75 (23), 74 (4), 73 (46), 72 (3), 71 (18), 59 (15), 45 (38), 43 (5), 41 (8). MS identisch mit dem von authent. Material.

Methyl-4,6-di-O-methyl- α,β -D-glucopyranosid (5e) entsteht bei der Solvolyse von 7h mit methanolischer Salzsäure. MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): $m/e = 204$ (0.2%, $M^+ - H_2O$), 191 (0.4), 190 (0.2), 187 (0.5), 177 (0.7), 174 (0.5), 173 (4), 162 (0.5), 161 (0.7), 159 (1.7), 158 (0.8), 155 (0.3), 149 (0.5), 148 (1.2), 147 (4), 145 (1.5), 144 (1), 143 (0.5), 142 (0.4), 141 (2), 135 (2), 131 (1.6), 130 (4), 129 (0.7), 127 (1.8), 119 (2), 118 (1), 117 (2.5), 116 (1), 115 (2), 114 (1), 113 (2.7), 112 (1.6), 111 (2.5), 103 (7), 102 (30), 101 (29), 99 (9), 89 (10), 88 (22), 87 (65), 85 (10), 75 (33), 74 (95), 73 (13), 72 (13), 71 (100), 70 (7), 69 (7), 68 (14), 61 (10), 60 (19), 59 (25), 58 (15), 57 (10), 55 (7), 45 (65), 43 (12), 42 (8), 41 (19). MS identisch mit dem von authent. Material, das nach Bell und Lorber¹⁵⁾ dargestellt wurde.

Methyl-4,6-di-O-methyl-2,3-bis-O-trimethylsilyl- α,β -D-glucopyranosid (5f) entsteht durch Solvolyse von 7h mit methanolischer Salzsäure und anschließende Trimethylsilylierung. MS (GC-MS-Kombination, Ionenquellentemp. 150°C): $m/e = 366$ (0.05%, M^+), 351 (0.1), 337 (0.1), 336 (0.2), 335 (0.5), 319 (1.4), 303 (0.5), 287 (0.8), 277 (1.2), 261 (1.6), 259 (0.8), 245 (2), 233 (3), 232 (7), 229 (1), 218 (1), 217 (7), 207 (3), 206 (8), 205 (20), 204 (96), 159 (26), 149 (5), 147 (20), 146 (25), 134 (6), 133 (56), 131 (9), 129 (5), 116 (7), 101 (9), 99 (5), 89 (24), 75 (16), 74 (9), 73 (100), 72 (5), 71 (25), 59 (16), 55 (3), 47 (2), 46 (1), 45 (46), 41 (5). MS identisch mit dem MS von synthetischem 5f.

¹⁵⁾ D. J. Bell und J. Lorber, J. Chem. Soc. 1940, 453.