

178. Die Struktur des Harpagosids

2. Mitteilung über Iridoide [1]

von H. Lichti und A. von Wartburg

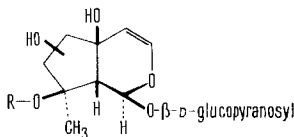
(14. V. 66)

Aus den getrockneten Wurzeln der südafrikanischen Teufelskralle *Harpagophytum procumbens* DC (*Pedaliaceae*) [2] isolierten TUNMANN & LUX einen amorphen glykosidischen Bitterstoff, den sie Harpagosid nannten [3] [4]. Das Glykosid entfärbt Brom- und KMnO_4 -Lösung, wird durch Säuren zu D-Glucose und dunkel gefärbten Zeretzungsprodukten hydrolysiert und zeigt damit ein ähnliches Verhalten wie Aucubin [5] und Asperulosid [6]. Alkalien verseifen Harpagosid zu *trans*-Zimtsäure und Harpagid (= Descinnamoyl-harpagosid). Dieses Sekundärglykosid liegt auch genuin in der Droge vor [4]¹). TUNMANN *et al.* schlugen für Harpagosid die Bruttoformel $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{10}$ vor [3] [4] [7]. Die Konstitution des Naturstoffs wurde nicht aufgeklärt; KUHN-ROTH-Bestimmungen, Hydrierungsreaktionen, Ozonolyse, Farbreaktionen und die Interpretation der IR.-Spektren liessen im Aglykanteil eine C-Methylgruppe und eine C=C-Doppelbindung, bzw. eine Enoläther-Funktion in Form eines Furan- oder eines Dihydrofuran-Rings vermuten [3] [4] [7].

Eigene Arbeiten mit *H. procumbens* zielten dahin, den von ZORN [9] an Rheumamodellen (Formaldehyd-Arthritis der weissen Ratte) nachgewiesenen entzündungshemmenden Wirkstoff der Droge aufzuspüren. Im Verlaufe dieser Untersuchung gewannen wir ein amorphes, bitter schmeckendes, farbloses Glykosid, das sich mit Harpagosid auf Grund seiner chemischen und physikalischen Eigenschaften als identisch erwies.

Wie wir in unserer ersten Mitteilung [1] erwähnten, können die von TUNMANN *et al.* angegebenen Bruttoformeln nicht zutreffen; sie sind durch die um $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$ reicheren Formeln $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$ (Harpagosid) und $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$ (Harpagid) zu ersetzen.

Auf Grund von Abbaureaktionen und NMR.-Spektren postulierten wir für Harpagosid die folgende Struktur [1]:



R-cinnamoyl-Harpagosid, R-H: Harpagid

Demnach gehören Harpagosid und Harpagid in die Gruppe natürlicher Enoläther, die als Iridoide [10] bezeichnet werden.

Im folgenden berichten wir über Reaktionen und Spektren, die uns erlaubten, die bisher noch unsichere Haftstelle der sekundären Hydroxylgruppe zu bestimmen und die Struktur und Stereochemie des Harpagosids (**1**) aufzuklären.

¹) Kürzlich konnten Harpagid und 8-O-Acetyl-harpagid auch aus der in Europa heimischen *Melittis melissophyllum* (*Labiatae*) isoliert werden, siehe SCARPATI, GUIISO & PANIZZI [8].

Aus spektroskopischen (vgl. IR.-Spektrum Fig. 1, NMR.-Spektrum Fig. 3) und analytischen Untersuchungen ergaben sich für Harpagosid (**1**) die folgenden funktionellen Gruppen: 1 Cinnamoyloxyrest, 1 β -*cis*-substituierte Enoläther-Gruppierung, 1 Methylgruppe an einem quaternären C-Atom und 1 Glucosidrest. Das NMR.-Spektrum von Harpagosid (Fig. 3) zeigte 24 C- und 6 O-Protonen an; Harpagosid besitzt somit sechs Alkoholfunktionen, und zwar eine primäre, vier sekundäre und eine tertiäre Hydroxylgruppe.

Die Acetylierung von Harpagosid (**1**) lieferte je nach Bedingungen ein Penta-O-acetylderivat **2**, das noch eine freie tertiäre Hydroxylgruppe enthielt, oder das Hexa-O-acetylderivat **3**.

Die Umsetzung mit Phenylisocyanat in Pyridin führte Harpagosid (**1**) in das Hexaphenylurethan **4** über. Durch säurekatalysierte Methanolyse konnte daraus β -Methyl-D-glucosid-2,3,4,6-tetraphenylurethan (**7**) gewonnen werden. Der Glucosidrest des Harpagosids liegt somit in der Pyranosidform vor; die Cinnamoylgruppe muss an ein Hydroxyl des Aglykanteils gebunden sein.

Isoharpagosid und Harpagid. Die Behandlung von Harpagosid (**1**) mit wässriger NaOH- oder Ba(OH)₂-Lösung führte, wie bereits erwähnt, unter Verlust von Zimtsäure zu Harpagid (**12**). Verfolgte man die Verseifungsreaktion mittels Dünnschichtchromatographie, so zeigte sich, dass zuerst ein mit Harpagosid isomeres Zwischenprodukt (Isoharpagosid, **8**) auftrat, das durch Wanderung des Cinnamoylrests an eine sekundäre Hydroxylgruppe (an C-6) gebildet wurde. Durch Überführen des Isoharpagosids (**8**) in das Pentaphenylurethan **11**, und anschließende Methanolyse zum β -Methyl-D-glucosid-2,3,4,6-tetraphenylurethan (**7**) liess sich feststellen, dass die Acylwanderung innerhalb des Aglykanteils erfolgte.

Die Acetylierung von Isoharpagosid (**8**) lieferte bei Zimmertemperatur ein Gemisch aus Tetra- (**9**) und Penta-O-acetyl-isoharpagosid (**10**); bei 40° bildete sich aus-

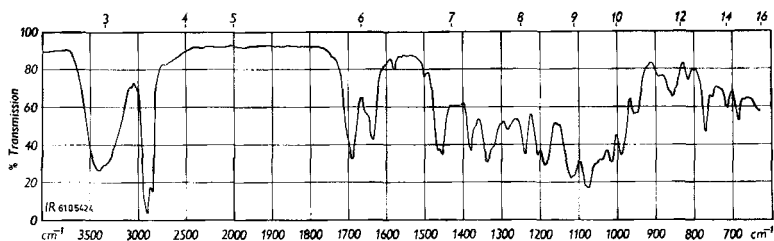


Fig. 1. IR.-Absorptionsspektrum von Harpagosid (**1**) in Nujol

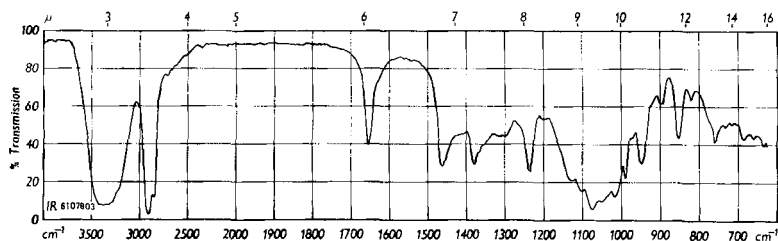


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum von Harpagid (**12**) in Nujol

schliesslich das Penta-O-acetylderivat **10**. Das Hexa-O-acetylderivat entstand selbst bei 100° nur spurensweise und konnte nicht in reiner Form gewonnen werden. Aus den NMR.-Spektren ist ersichtlich, dass im Isoharpagosid **1** primäre, 3 sekundäre und 2 tertiäre Hydroxylgruppen vorliegen, von denen die eine mittelschwer, die andere nur sehr schwer acetylierbar ist.

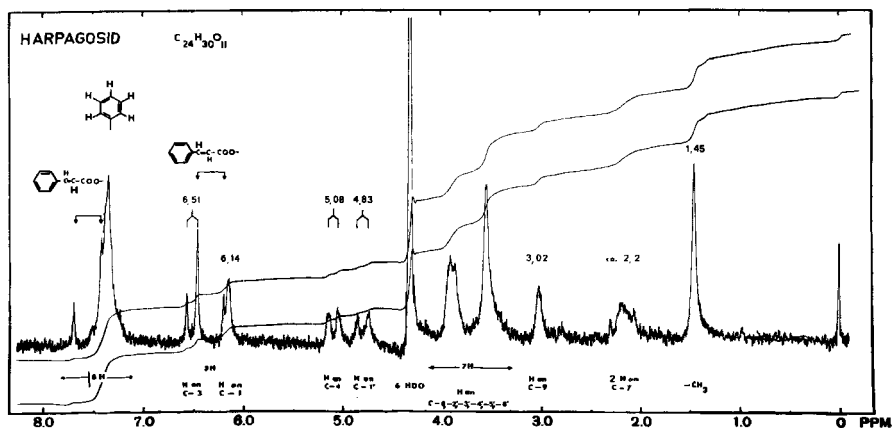


Fig. 3. NMR.-Spektrum von Harpagosid (**1**) in D_2O bei 80°

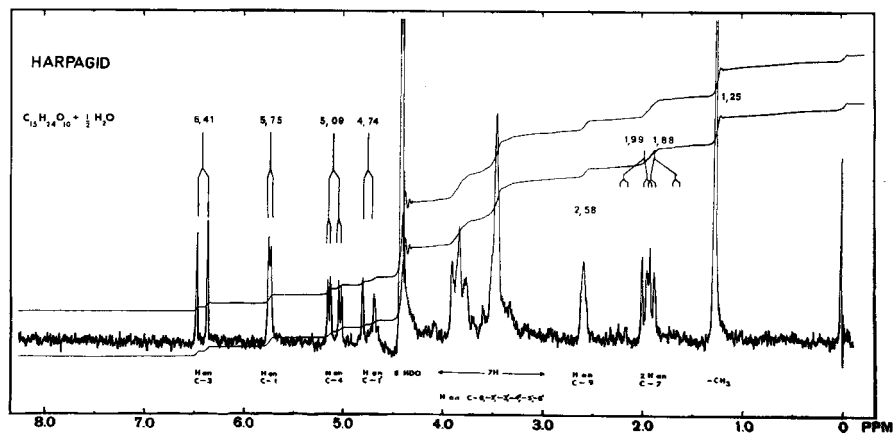
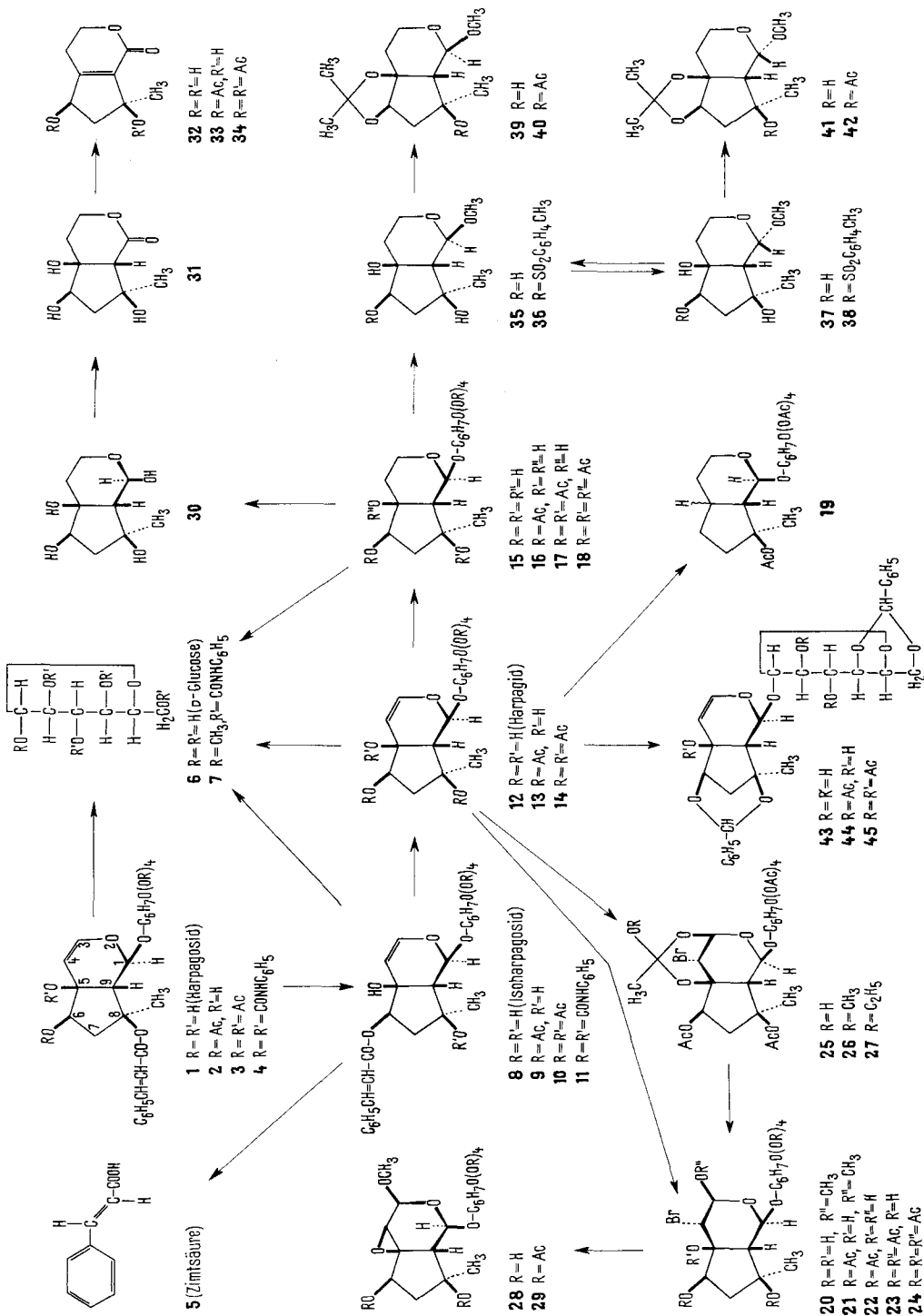


Fig. 4. NMR.-Spektrum von Harpagid (**12**) in D_2O bei 60°

Bei längerer Einwirkung wässriger Basen gingen Harpagosid (**1**), bzw. Isoharpagosid (**8**) in das Descinnamoylderivat Harpagid (**12**), $C_{15}H_{24}O_{10}$, über, das die unveränderte Alkoholkomponente des Harpagosids darstellt. Dies ergab sich aus der Identität der Cinnamoyl-Derivate von Harpagosid und Harpagid (Penta-O-cinnamoyl-harpagosid = Hexa-O-cinnamoyl-harpagid, s. exper. Teil).

Die NMR.-Spektren der Acetylderivate (**13**, **14**) zeigten, dass Harpagid (**12**) sieben Hydroxylgruppen enthält. Von diesen sind sechs (1 primäre, 4 sekundäre, 1 tertiäre) leicht, das siebente Hydroxyl (tertiär) nur schwer acetylierbar. Aus der Anzahl und der Natur der Alkoholgruppen in **1**, **8** und **12** folgt, dass der Zimtsäurerest im Harpagosid



(1) an eine tertiäre, im Isoharpagosid (8) an die sekundäre OH-Gruppe des Aglykonteils gebunden ist.

Für die Lokalisierung des Cinnamoylrests im Harpagosid (1) diene folgende Beobachtung: das NMR.-Spektrum des Harpagosids zeigte das Signal der Methylgruppe bei 1,45 (D_2O , 80°), bzw. 1,47 ppm (Dimethylsulfoxid = DMSO); beim Harpagid (12) trat das Methylsignal bei 1,25 (D_2O), bzw. 1,09 ppm (DMSO) auf. Die Verlagerung um 0,2–0,4 ppm nach höhern Feldern ist damit zu erklären, dass die Cinnamoyloxygruppe des Harpagosids am gleichen C-Atom haftet wie die Methylgruppe. Im Harpagid ist die durch Abspaltung der Zimtsäure freigelegte OH-Gruppe demnach geminal zum C-Methyl angeordnet. Da das Methylsignal von Hexa-O-acetylharpagid (13) wieder bei tieferen Feldstärken erscheint (1,47 ppm in $CDCl_3$, bzw. 1,43 ppm in DMSO), muss es sich hier um die leichter acetylierbare tertiäre OH-Gruppe handeln.

Hydrierungsreaktionen. Die katalytische Hydrierung von Harpagid (12) lieferte unter Absättigung der Doppelbindung Dihydroharpagid (15). Hydrierte man Hexa-O-acetylharpagid (13), so trat ebenfalls nur die Absättigung der Doppelbindung ein (Hexa-O-acetyl-dihydroharpagid, 17); bei der Hydrierung von Hepta-O-acetylharpagid (14) trat hingegen nebst der Bildung der Dihydroverbindung 18 hydrogenolytische Abspaltung von Essigsäure ein. Dieser Befund spricht für das Vorliegen einer Acetoxygruppe in Allylstellung. Das unterschiedliche Verhalten der beiden Acetyl-derivate (13, 14) ist darauf zurückzuführen, dass die allylische O-Funktion im Hexa-O-acetylharpagid (13) als Hydroxyl- (schwer acetylierbar, tertiär), im Hepta-O-acetylharpagid (14) dagegen als Acetoxygruppe vorliegt.

In der Mutterlauge von Hepta-O-acetyl-dihydroharpagid (18) fand sich als einziges Nebenprodukt ein Stoff der Zusammensetzung $C_{25}H_{36}O_{13}$ (19). Es handelte sich um das Penta-O-acetyl-derivat eines Bisdesoxy-dihydroharpagids; der Aglykonteil trug nur noch eine Acetoxygruppe. Hepta-O-acetylharpagid (14) muss bei der Hydrogenolyse nicht nur die allylische (tertiäre), sondern noch eine zweite Acetoxygruppe verloren haben. Diese Reaktion erinnert an die Eliminierung einer allylischen und einer homoallylischen Hydroxylgruppe bei der Hydrogenolyse von Monotropein [11].

Bromierungsreaktionen. Die Einwirkung von Brom auf eine methanolische Lösung von Harpagid (12) oder Hexa-O-acetylharpagid (13) führte, wie für Enoläther zu erwarten war [5] [12]²⁾, zu Methoxybromiden (20, bzw. 21). Die Bromierung von Hexa-O-acetylharpagid in Dioxan-Wasser lieferte das Hydroxybromid 22. Dieses war leicht acetylierbar und ergab das Acetoxybromid 23 vom Smp. $165\text{--}167^\circ$ ($C_{29}H_{39}O_{18}Br$ mit 7 Acetyl- und 1 tertiären Hydroxyl-Gruppe). Unter sehr energischen Bedingungen konnte daraus das Octa-O-acetyl-derivat 24 bereitet werden.

Einen überraschenden Verlauf nahmen die Bromierungsreaktionen an Hepta-O-acetylharpagid (14). In Dioxan-Wasser entstand nicht das entsprechende Hydroxybromid, sondern ein Zwischenprodukt (25), das sich rasch in zwei Sekundärprodukte umwandelte: in eine leicht zersetzliche Verbindung und ein relativ beständiges, kristallisiertes Derivat, $C_{29}H_{39}O_{18}Br$, vom Smp. 168° ; dieses war mit dem oben beschriebenen Acetoxybromid 23 identisch.

²⁾ Vgl. die analogen Reaktionen bei Plumierid [13] und Asperulosid [6].

Auch in Methanol trat bei der Bromierung des Hepta-O-acetyl-harpagids (**14**) zuerst ein Zwischenprodukt (**26**) auf; es wandelte sich allmählich in Sekundärprodukte um, von denen nur eines stabil und kristallisierbar war. Das Zwischenprodukt **26** enthielt eine Methoxygruppe; im NMR.-Spektrum liessen sich nur 6 Acetylreste nachweisen, dafür aber eine zweite C-Methylgruppe³⁾. Das kristallisierte Sekundärprodukt dagegen war methoxyfrei, enthielt wieder 7 Acetylgruppen wie das Ausgangsmaterial (**14**) und erwies sich als das bereits bekannte Acetoxybromid **23**.

In analoger Weise reagierte Hepta-O-acetyl-harpagid (**14**) mit Brom und Äthanol zum Zwischenprodukt **27** und weiter zum Acetoxybromid **23**.

Diese Befunde lassen sich leicht verstehen, wenn man annimmt, dass bei der Bromierung von **14** eine Wanderung der angulären Acetylgruppe stattfindet: nach Anlagerung des Br⁺ an C-4 wird C-3 nicht durch das Lösungsmittel, sondern durch den Carbonyl-Sauerstoff der angulären Acetoxygruppe substituiert; dabei bilden sich unter Beteiligung des jeweiligen Lösungsmittels (Wasser, Methanol, Äthanol) Orthoacetate (**25**, **26**, bzw. **27**), die unter Umlagerung in das Acetoxybromid **23** übergehen.

Aus den Methoxybromiden **20** und **21** konnte leicht HBr abgespalten werden; die Reaktionsprodukte erwiesen sich als Epoxide (**28**, **29**)⁴⁾ Damit ist ein zusätzlicher Beweis für die Allylstellung der schwer acetylierbaren Hydroxylgruppe erbracht. Die Leichtigkeit der Epoxidbildung liefert gleichzeitig einen Hinweis auf die *trans*-Anordnung der angulären Hydroxylgruppe gegenüber dem Br-Atom in den Verbindungen **20** und **21**. Zum gleichen Ergebnis führt ein Vergleich der NMR.-Spektren von **23** und **24**⁵⁾. Zieht man ferner in Betracht, dass bei allen Bromierungsprodukten (**20** bis **24**) zwischen den H-Atomen an C-3 und C-4 eine Spinkopplung um ca. 9 Hz (siehe Tab. 2) auftritt, die nur mit der bisaxialen *trans*-Anordnung der betreffenden H-Atome erklärt werden kann, und dass die Bromierung von Hepta-O-acetyl-harpagid (**14**) schliesslich zum gleichen Produkt (Acetoxybromid **23**) führt wie die Acetylierung des Hydroxybromids **22**, so lässt sich ableiten, dass alle Bromierungsprodukte räumlich gleich gebaut sind: die O-Substituenten an C-3 und C-5 sind *cis*-ständig, das Br-Atom an C-4 ist ihnen gegenüber *trans*-ständig angeordnet. Dass dies auch für das Bromierungsprodukt aus Harpagid (Methoxybromid **20**) gilt, folgt aus der Identität seines Acetylierungsprodukts mit dem oben erwähnten Methoxybromid **21**, bzw. aus der Identität des Acetylierungsprodukts von **28** mit dem aus **21** durch HBr-Abspaltung gewonnenen Hexa-O-acetyl-epoxid **29**.

Dihydroharpagenin und Derivate. Weitere Einblicke in die Konstitution des Harpagosids erlaubten die zuckerfreien Abbauprodukte. Im Unterschied zu den ungesättigten Glykosiden (**1**, **12**) liess sich Dihydroharpagid (**15**) mit verdünnten wässrigen oder methanolischen Säuren ohne Zersetzung des Aglykanteils spalten. Besonders

³⁾ Drei Linien unterschiedlicher Höhe bei 1,64; 1,59 und 1,42 ppm (CDCl₃); die Summe ihrer Intensitäten entspricht 3 H. Der Grund für die Aufspaltung dürfte darin zu suchen sein, dass die Zwischenprodukte (**26**, **27**) als Gemische verschiedener Konformationen und Konfigurationen auftreten.

⁴⁾ Charakteristische NMR.-Signale des «Epoxid-H» (H an C-4) siehe in Tab. 1 und 2.

⁵⁾ Die Acetylierung der angulären Hydroxylgruppe (Übergang von **23** in **24**) hat am Signal des H-4 eine Verlagerung von 4,61 nach 5,72 ppm (CDCl₃) zur Folge. Eine derart starke Verlagerung lässt sich nur verstehen, wenn die O-Funktion an C-5 und das H-Atom an C-4 *cis*-ständig sind.

günstig verlief die säurekatalysierte Methanolyse; sie führte zu den beiden epimeren Methyläthern **37** und **35**⁶⁾.

Auch die enzymatische Spaltung, die bei Harpagosid (**1**) und Harpagid (**12**) erfolglos verlief, gelang bei Dihydroharpagid (**15**). Nach Einwirkung von β -Glucosidasen (Emulsin, Schneckenferment) fassten wir D-Glucose (**6**) und das intakte Dihydrogenin in kristallisierter Form. Dihydroharpagenin (**30**) zeigte NMR.-Signale von 12 C- und 4 O-Protonen entsprechend der Bruttoformel $C_9H_{16}O_5$. Im Gegensatz zu den Glykosiden **1**, **8**, **12**, **15** reduzierte das Dihydroaglykon **30** FEHLING'sche, bzw. BENEDICT'sche Lösung und verriet damit das Vorliegen einer Cyclohalbacetal-Gruppierung. Die Haftstelle des Glucosidrests (an C-1) darf deshalb als gesichert gelten. Wässrige Bromlösung oxydierte Dihydroharpagenin (**30**) zu Dihydroharpagenon (**31**), das auf Grund seiner IR.-Absorption bei 1700 cm^{-1} als sechsgliedriges Lacton⁷⁾ zu formulieren ist.

Durch wasserabspaltende Mittel, z. B. Silicagel bei 50° , wurde Dihydroharpagenon (**31**) in ein α, β -ungesättigtes Lacton **32** ($\lambda_{max} = 217\text{ nm}$, $\log \epsilon = 3,92$) übergeführt. Die Leichtigkeit der Wasserabspaltung spricht für das Vorliegen eines β -Hydroxylactons (**31**)⁸⁾. Im NMR.-Spektrum des Anhydrolactons **32** traten keine Signale von Olefinprotonen auf; somit muss die Doppelbindung tetrasubstituiert sein.

Die Dehydratisierung erfolgte auch bei der Acetylierung mit Essigsäureanhydrid in Pyridin. Aus Dihydroharpagenon (**31**) entstand Di-O-acetyl-anhydro-dihydroharpagenon (**34**) in etwa 20-proz. Ausbeute. Die Acetylierung von Anhydro-dihydroharpagenon (**32**) führte dagegen in guter Ausbeute zum Mono- (**33**) und zum Di-O-acetylderivat (**34**).

Mit den bisher besprochenen Reaktionen und Spektren ist der Tetrahydropyranring des Dihydroharpagenins (**30**) inklusive der Substituenten an C-1 (OH), C-5 (tert. OH) und C-9 (1 H-Atom) gesichert. Die verbleibenden 4 C-, 8 H- und 2 O-Atome⁹⁾ können nur in Form der Gruppierungen $-\text{CHOH}-$, $-\text{CH}_2-$ und $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{OH})-$ vorliegen, und zwar in einem annellierten Fünfring; alle übrigen Strukturen, z. B. solche mit Drei- oder Vierringen, stehen im Widerspruch zur Natur der OH-Gruppen oder zu den NMR.-Spektren. Mit diesen Argumenten ist das Iridoid-Gerüst des Dihydroharpagenins und damit auch des Harpagosids höchst wahrscheinlich.

Oxydationen mit Natriumperjodat. Ergänzende Informationen über die Anordnung der Hydroxylgruppen lieferten Oxydationsversuche mit NaJO_4 . 1 α -O-Methyl-dihydroharpagenin (**37**) verbrauchte 1 Mol.-Äqu. NaJO_4 und besitzt demnach

⁶⁾ Die Konformation des Tetrahydropyranrings in **35** und **37** lässt sich aus den NMR.-Spektren nicht mit Sicherheit ermitteln. Trotzdem vermuten wir auf Grund der Drehwerte, bzw. der Rotationsdifferenz zwischen den beiden Epimeren, dass der stärker rechts drehenden Verbindung (**37**) die α -Konfiguration, dem negativer drehenden Derivat (**35**) die β -Konfiguration an C-1 zukommt.

⁷⁾ Die IR.-Absorption bei 1700 cm^{-1} lässt an sich auch die Möglichkeit eines sieben- oder mehrgliedrigen Lactonrings zu. Die im folgenden erwähnten Befunde lassen sich jedoch nur mit dem Vorliegen eines sechsgliedrigen Lacton-, bzw. Lactolrings erklären.

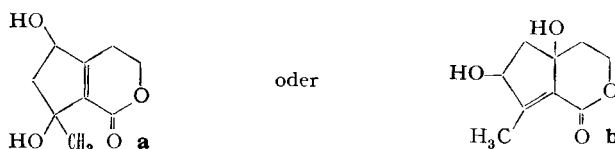
⁸⁾ Die Anwesenheit eines H-Atoms in α -Stellung zum Carbonyl, bzw. zum C-Atom der Cyclohalbacetal-Gruppierung von Dihydroharpagenin (**30**) geht auch aus der Dublettatur des Signals hervor, das wir dem H an C-1 zuordnen: 4,93 ppm (D_2O , $J = 5,5\text{ Hz}$). Dieselbe Kopplungskonstante tritt bei einem Dublett wieder auf, das bei 2,00 ppm (D_2O) liegt und dem Proton am α -C-Atom (C-9) zugeteilt werden muss.

⁹⁾ Bzw. 3 C, 3 H, 1 sek. OH, 1 tert. OH, 1 tert. CH_3 .

1 Glykolgruppierung. Das durch Veresterung der sekundären Hydroxylgruppe erhaltene Mono-O-tosylderivat **36**¹⁰⁾ war dagegen oxydationsbeständig. Damit ist für die Glykolgruppierung die ditertiäre Natur ausgeschlossen.

Auch Dihydroharpagenin (**30**) und Dihydroharpagenon (**31**) verbrauchten je 1 Mol.-Äqu. NaJO_4 ; Anhydro-dihydroharpagenon (**32**) war gegen NaJO_4 resistent. Aus diesen Beobachtungen ist zu schliessen, dass jene tertiäre Hydroxylgruppe, die beim Übergang von **31** in **32** eliminiert wird, zur Glykolgruppierung gehört.

Da die Glykolgruppierung in **31**, wie erwähnt, nicht ditertiär ist und da im NMR.-Spektrum von **32** kein Olefin-Signal auftritt, kommen für Anhydro-dihydroharpagenon (**32**) nur folgende zwei Strukturen in Frage:



Die Entscheidung zwischen den beiden Formeln erlaubten die NMR.-Spektren der Substanzen **32–34**. Im Anhydrolacton **32** tritt das Signal der Methylgruppe bei 1,46 ppm (D_2O), bzw. 1,55 ppm (CDCl_3)¹¹⁾ auf, was gegen die 8:9-Stellung der Doppelbindung spricht¹²⁾. Das Mono-O-acetylderivat **33** zeigt das Methyl-Singulett im gleichen Bereich (1,56 ppm, CDCl_3); die Acetylierung der zweiten (tertiären) Hydroxylgruppe (Di-O-acetylderivat **34**) bringt indessen eine Verlagerung nach 1,70 ppm (CDCl_3). Die Verlagerung des Methylsignals um ca. 0,15 ppm wäre schwer verständlich, wenn die Methylgruppe an der Doppelbindung und die schwerer acetylierbare Hydroxylgruppe an C-5 haften; sie wird jedoch plausibel, wenn die tertiäre Hydroxylgruppe geminal zur Methylgruppe (an C-8) angenommen wird. Damit ist für die Doppelbindung der Anhydrolactone **32–34** die interannulare Lage (C-5:9), für die sekundäre Hydroxylgruppe die 6-Stellung abgeleitet (Formel **a**)¹³⁾.

Mit diesen chemischen und spektralanalytischen Angaben ist die Struktur des Aglykanteils von Harpagosid (**1**) und Harpagid (**12**) bewiesen.

Jetzt blieb noch die Konfiguration der Zuckerverknüpfung zu bestimmen. Auf Grund der oben erwähnten leicht verlaufenden enzymatischen Spaltung von Dihydroharpagid (**15**) mit β -Glucosidasen (Emulsin) war eine β -glykosidische Bindung der Glucose anzunehmen. Eine eindeutige Bestätigung lieferten die NMR.-Spektren: Harpagosid (**1**), Isoharpagosid (**8**), Harpagid (**12**) und Dihydroharpagid (**15**) weisen

¹⁰⁾ Die beiden 1-O-Methyl-dihydroharpagenine (**35**, **37**) gingen mit Toluolsulfonsäurechlorid und Pyridin in die entsprechenden Mono-O-tosylderivate **36**, **38** über, von denen allerdings nur das Derivat aus 1β -O-Methyl-dihydroharpagenin (**36**) einigermaßen beständig war.

¹¹⁾ Anhydro-dihydroharpagenon (**32**) ist in Chloroform schwerlöslich; das Methyl-Singulett ist jedoch noch deutlich zu erkennen.

¹²⁾ Die an der Doppelbindung haftende Methylgruppe (Formel **b**) müsste wegen ihrer cisoiden Anordnung zum Carbonyl bei viel tieferen Feldstärken als 1,5 ppm in Resonanz treten. So erscheint z. B. das entsprechende Methylsignal des Isoplumericins (C-14) bei 2,28 ppm (CDCl_3) [14].

¹³⁾ Nach Abschluss unserer experimentellen Arbeiten ist die 6-Stellung der sekundären Hydroxylgruppe von SCARPATI, GUISSO & PANIZZI bewiesen worden [8]. Beim Abbau von 8-O-Acetylharpagid mit NaJO_4 wurde 2-Hydroxy-4-methyl-isophthalaldehyd isoliert, dessen Bildung nur mit dem Vorliegen einer 5:6-Glykolgruppierung erklärt werden kann.

nämlich im Bereich um 4,7 ppm (D_2O) Dublette mit Kopplungskonstanten von 7 Hz auf (H an C-1'), die der bis-axialen *trans*-Anordnung der Protonen an C-1 und C-2 des Glucosidrests entsprechen [15]. Harpagosid und seine Derivate sind somit β -Glucoside.

Diskussion von NMR.-Spektren. Die NMR.-Spektren der besprochenen Verbindungen liefern nebst den oben diskutierten Informationen eine Reihe zusätzlicher Indizien, mit denen sich einzelne charakteristische Strukturelemente auf unabhängige Weise ableiten, bzw. bestätigen lassen.

So kann beispielsweise die Bindung des Cinnamoylrests an ein tertiäres OH auch dadurch nachgewiesen werden, dass beim Übergang von Harpagosid (**1**) in Harpagid (**12**) keine Signalverlagerung feststellbar ist, die für die Verseifung einer primären oder sekundären Estergruppe charakteristisch wäre (vgl. Tab. 1)¹⁴).

Zur Acylwanderung des Cinnamoylrests ist nachzutragen, dass neben der Verlagerung des Methylsignals beim Übergang von Harpagosid (**1**) in Isoharpagosid (**8**) eine Verlagerung einer Protonenresonanz (H an C-6) von ca. 3,9 ppm¹⁵) nach 4,95 ppm (D_2O) stattfindet. Dieser «deshielding effect» ist typisch für die Veresterung einer sekundären Alkoholgruppe¹⁴). Die Verseifung von **8** macht die Verlagerung des H_{C-6} -Signals rückgängig, vgl. Tab. 1.

Ein Indiz für die Gruppierung $-CH(OH)-CH_2-$ in einem Fünfring und damit ein unabhängiger Hinweis auf das Iridoid-Grundgerüst ergibt sich aus den folgenden Beobachtungen: Dihydroharpagenon (**31**) zeigt bei 3,99 ppm (D_2O , 1 H) ein aus zwei Dubletten bestehendes Signal, das dem C-Proton der Gruppe $-CH(OH)-$ (= H an C-6) zugehört und den X-Teil eines ABX-Systems ($J_{AX} = 6,5$ Hz, $J_{BX} = 8$ Hz) darstellt. Durch die Wasserabspaltung zum Anhydrolacton **32** wird das Signal nach 4,80 ppm (D_2O , 80°)¹⁶), durch die Acetylierung (Derivate **33** und **34**) weiter nach 5,72 ppm ($CDCl_3$) verlagert. Die Signale des A- und des B-Teils (CH_2 -Gruppe, bzw. 2 H an C-7) treten bei hohen Feldstärken auf und sind im Spektrum des Anhydrolactons **32** besonders leicht nachweisbar; es handelt sich hier um zwei Doppeldublette mit Schwerpunkt bei 1,91¹⁷) und 2,61 ppm¹⁸) (D_2O , 80°, je 1 H). Lage, Intensität, Multiplizität und Kopplungskonstanten zeigen, dass den drei Signalen (ABX-System) die Gruppierung $-C-CH_2-CH(OH)-C-$ (**31**), bzw. $-C-CH_2-CH(OR)-C=C-$ (**32**: R = H, **33** und **34**: R = CH_3CO) in einem Fünfring zugrundeliegen muss.

Einen sehr starken, von Vergleichssubstanzen und -spektren unabhängigen Hinweis auf die interannulare Lage der Doppelbindung in den Anhydrolactonen (**32-34**) und damit auf die 6-Stellung der sekundären Hydroxylgruppe (vgl. Formel a) liefert das NMR.-Spektrum des Diacetylderivats **34**. Besonders auffällig ist hier ein Tripletts bei 4,49 ppm ($CDCl_3$, $J = 6,2$ Hz), dessen Intensität 2 H-Atomen entspricht; es ist

¹⁴) Die Veresterung eines primären Alkohols bringt bekanntlich die Verlagerung von 2 Protonenresonanzen um ca. 0,5, eines sekundären Alkohols die Verlagerung von 1 Protonenresonanz um ca. 1,0-1,2 ppm nach tieferen Feldern mit sich [16]. Die Verseifung primärer und sekundärer Ester hat entsprechende Signalverlagerungen in umgekehrter Richtung zur Folge,

¹⁵) Überlagert von den Signalen anderer $-CH(OH)-$ Gruppen.

¹⁶) Typisch für die Allylstellung zur neuen Doppelbindung.

¹⁷) $J_{AB} = 13,5$ Hz, $J_{AX} = 6,5$ Hz.

¹⁸) $J_{AB} = 13,5$ Hz, $J_{BX} = 7,5$ Hz.

Tabelle 1. NMR.-Signale der Gerüstprotonen¹⁹⁾20), in D₂O

Verbindung Nr.	H an C-1	H an C-3	H an C-4	H an C-6	H an C-7	H an C-9	Methyl- gruppe
1 ²¹⁾	6,14 <i>s</i> *	6,51 <i>d</i> (6,5)	5,08 <i>d</i> *	ca. 3,9	ca. 2,2 <i>m</i> (2)	3,02 <i>s</i> *	1,45 <i>s</i>
8	5,81 <i>s</i> *	6,48 <i>d</i> (6,5)	5,26 <i>d</i> *	4,95 <i>t</i> *	2,12 <i>d</i> * (2) (5)	2,70 <i>s</i> *	1,33 <i>s</i>
12 ²²⁾	5,75 <i>d</i> (1,2)	6,41 <i>d</i> (6,5)	5,09 <i>dd</i> (6,5/1,2)	ca. 3,9	1,99 <i>dd</i> (14,5/5) 1,88 <i>dd</i> (14,5/4,5)	2,58 <i>s</i> *	1,25 <i>s</i>
15	5,45 <i>s</i> *	4,5–3,3 (2)	2,5–1,5 (2)	4,5–3,3	2,5–1,5 (2)	2,27 <i>s</i> *	1,33 <i>s</i>
20	5,61 <i>d</i> (2,5)	5,21 <i>d</i> (9)	4,01 <i>d</i> (9)	4,5–3,3	2,6–1,6 (2)	2,66 <i>d</i> (2,5)	1,35 <i>s</i>
28	5,19 <i>d</i> (9)	5,22 <i>s</i>	3,45 <i>s</i>	4,30 <i>dd</i> (9/6,5)	2,33 <i>dd</i> (13/6,5) 1,97 <i>dd</i> (13/9)	2,41 <i>d</i> (9)	1,36 <i>s</i>
30	4,93 <i>d</i> (5,5)	4,3–3,3 (2)	1,9–1,6 (2)	3,98 <i>dd</i> (7,5/6)	2,32 <i>dd</i> (15/7,5) ca. 1,9 (überlagert)	2,00 <i>d</i> (5,5)	1,33 <i>s</i>
31	—	4,49 <i>m</i> (2)	2,2–1,8 (2)	3,99 <i>dd</i> (8/6,5)	2,3–1,8 (2)	3,05 <i>s</i>	1,26 <i>s</i>
32 ¹⁸⁾	—	4,50 <i>t</i> * (2) (6,2)	2,62 <i>t</i> * (2) (6,2)	4,80 <i>t</i> * (ca. 7)	2,61 <i>dd</i> (13,5/7,5) 1,91 <i>dd</i> (13,5/6,5)	—	1,46 <i>s</i>
35	ca. 4,8	4,3–3,4 (2)	2,5–1,5 (2)	4,3–3,4	2,5–1,5 (2)	2,5–1,5	1,32 <i>s</i>
37	4,81 <i>d</i> (4,5)	4,0–3,6 (2)	2,0–1,5 (2)	4,24 <i>dd</i> (8,5/5)	2,40 <i>dd</i> (15/8,5) 1,74 <i>dd</i> (15/5)	2,20 <i>d</i> (4,5)	1,35 <i>s</i>

¹⁹⁾ NMR.-Signale der Substituenten (Cinnamoyl- und Glucosyl-Rest, Hydroxyl-, Methoxyl- und Acetylgruppen usw.) *s. exper. Teil.*

²⁰⁾ *s* = Singulett, *d* = Dublett, *dd* = doppeltes Dublett, *t* = Triplett, *m* = Multiplett. *s**, *d**, *t** = Singulett, Dublett, Triplett mit Feinstruktur, bzw. singulett-, dublett-, triplettähnliche Signale. Die Zahlen geben die Resonanzlagen in δ -Werten (ppm) gegenüber Tetramethylsilan (0 ppm) an, die eingeklammerten Zahlen unterhalb der Angabe der Resonanzlage bedeuten die Kopplungskonstanten in Hz. Eine eingeklammerte 2 zeigt an, dass die Intensität des Signals 2 H-Atomen entspricht. Die Signale der C-Methylgruppe entsprechen in allen Fällen der Intensität von 3 H-Atomen.

²¹⁾ bei 80°.

²²⁾ bei 60°.

Tabelle 2. NMR.-Signale der Gerüstprotonen¹⁹⁾ 20), in CDCl₃

Verbindung Nr.	H an C-1	H an C-3	H an C-4	H an C-6	H an C-7	H an C-9	Methyl- gruppe
2	6,22 <i>d</i> * (1,2)	6,41 <i>d</i> (6,5)	5,2–5,0	5,4–4,8	2,7–1,9 (2)	3,17 <i>s</i> *	1,57 <i>s</i>
3	6,12 <i>d</i> * (1,2)	6,39 <i>d</i> (6,5)	5,54 <i>dd</i> (6,5/1,2)	5,5–4,8	2,9–2,3 (2)	3,29 <i>s</i> *	1,57 <i>s</i>
9	5,69 <i>d</i> * (1,2)	6,29 <i>d</i> (6)	5,09 <i>dd</i> (6/1,2)	5,3–4,7	2,6–1,7 (2)	2,87 <i>s</i> *	1,33 <i>s</i>
10	6,09 <i>d</i> * (1,2)	6,33 <i>d</i> (6,5)	5,3–4,7	5,3–4,7	2,6–1,7 (2)	3,13 <i>s</i> *	1,51 <i>s</i>
13	6,13 <i>d</i> * (1,2)	6,38 <i>d</i> (6,5)	5,07 <i>dd</i> (6,5/1,2)	5,4–4,9	2,5–2,0 (2)	3,06 <i>s</i> *	1,47 <i>s</i>
14	6,03 <i>s</i> *	6,38 <i>d</i> (6,5)	5,52 <i>d</i> * (6,5)	5,5–4,8	2,7–1,8 (2)	3,19 <i>s</i> *	1,52 <i>s</i>
16	5,3–4,7	4,3–3,3 (2)	2,8–1,4 (2)	5,3–4,7	2,8–1,4 (2)	2,8–1,4	1,38 <i>s</i>
17	5,88 <i>s</i>	4,1–3,4 (2)	2,4–1,9 (2)	5,4–4,6	2,4–1,9 (2)	2,52 <i>s</i>	1,61 <i>s</i>
18	5,86 <i>s</i>	4,1–3,4 (2)	2,8–1,4 (2)	5,6–4,7	2,8–1,4 (2)	2,88 <i>s</i>	1,58 <i>s</i>
19	4,73 <i>d</i> (8)	4,1–3,1 (2)	2,2–1,2 (2)	2,2–1,2 (2)	2,2–1,2 (2)	2,4 <i>d</i> * (8)	1,42 <i>s</i>
21	5,72 <i>s</i>	4,85 <i>d</i> (8,5)	4,46 <i>d</i> (8,5)	5,4–4,8	2,6–2,1 (2)	2,78 <i>s</i>	1,57 <i>s</i>
22	5,76 <i>s</i>	5,17 <i>d</i> ²³⁾ (8,5)	4,52 <i>d</i> (8,5)	5,5–4,8	2,6–2,2 (2)	2,87 <i>s</i>	1,58 <i>s</i>
23	5,85 <i>s</i>	6,25 <i>d</i> (9,5)	4,61 <i>d</i> (9,5)	5,3–4,7	2,6–2,3 (2)	2,84 <i>s</i>	1,58 <i>s</i>
24	5,77 <i>s</i>	6,37 <i>d</i> (9,5)	5,72 <i>d</i> (9,5)	5,5–4,7	2,7–2,3 (2)	3,41 <i>s</i>	1,62 <i>s</i>
29	5,4–4,8	5,4–4,8	3,39 <i>s</i>	5,4–4,8	2,9–2,4 (2)	2,9–2,4	1,53 <i>s</i>
32	—	ca. 4,5 (2) undeutlich.				1,55 <i>s</i>
33	—	4,49 <i>t</i> (2) (6,5)	2,53 <i>t</i> * (2) (6,5)	5,72 <i>dd</i> * (ca. 7)	2,62 <i>dd</i> (14/7) 2,10 <i>dd</i> (14/ca. 7)	—	1,56 <i>s</i>
34	—	4,49 <i>t</i> (2) (6,2)	2,53 <i>t</i> * (2) (6,2)	5,72 <i>t</i> * (ca. 7)	2,90 <i>dd</i> (14/8) 2,42 <i>dd</i> (14/6)	—	1,70 <i>s</i>
36	4,34 <i>d</i> (5)	4,2–3,1 (2)	1,65 <i>t</i> (2) (6)	4,66 <i>t</i> (6)	2,13 <i>d</i> (2) (6)	2,10 <i>d</i> (5)	1,27 <i>s</i>
39	4,55 <i>d</i> (2,5)	4,3–3,3 (2)	2,3–1,8 (2)	4,34 <i>t</i> (4,5)	2,12 <i>d</i> (2) (4,5)	2,3–1,8	1,29 <i>s</i>

²³⁾ nach Schütteln mit D₂O.

Tabelle 2 (Fortsetzung)

Verbin- dung Nr.	H an C-1	H an C-3	H an C-4	H an C-6	H an C-7	H an C-9	Methyl- gruppe
40	4,89 <i>s</i>	4,3–3,3 (2)	2,3–1,7 (2)	4,20 <i>t*</i> (ca. 5)	2,48 <i>d*</i> (2) (ca. 5)	2,54 <i>s</i>	1,56 <i>s</i>
41	4,69 <i>d</i> (4)	3,82 <i>t*</i> (2) (6)	2,5–1,7 (2)	4,51 <i>dd</i> (6/2)	2,5–1,7 (2)	2,5–1,7	1,28 <i>s</i>
42	4,47 <i>d</i> (4)	3,83 <i>m</i> (2)	2,5–1,7 (2)	4,46 <i>dd</i> (6/2)	2,5–1,7 (2)	3,03 <i>d*</i> (4)	1,56 <i>s</i>
43	5,50 <i>s*</i>	6,43 <i>d</i> (6,5)	5,21 <i>d*</i> (6,5)	4,6–3,1	2,09 <i>d*</i> (2) (ca. 5)	2,81 <i>s*</i>	1,26 <i>s</i>
44	5,39 <i>d</i> (3,5)	6,43 <i>d</i> (6,5)	5,23 <i>d*</i> (6,5)	4,32 <i>t*</i> (ca. 5)	2,13 <i>d*</i> (2) (ca. 5)	2,75 <i>d</i> (3,5)	1,31 <i>s</i>
45	5,76 <i>s*</i>	6,43 <i>d</i> (6,5)	5,20 <i>d*</i> (6,5)	ca. 4,3	ca. 2,5 (2)	2,98 <i>s*</i>	1,28 <i>s</i>

den Protonen an C-3 zuzuordnen. Da bekanntlich ein Triplett der Intensität von 2 H nur dann auftreten kann, wenn die beiden zugrundeliegenden Protonen unter sich identisch ($J_{AA} = 0$) und die Kopplungen zu den vicinalen Protonen (2 H an C-4) gleich sind ($J_{AX} = J_{A'X} = J_{AX'} = J_{A'X'}$), fällt eine Struktur mit exocyclischer Doppelbindung (Formel **b**) grundsätzlich ausser Betracht, indem hier die beiden C-3-Protonen niemals identisch sein könnten²⁴). Bei interannularer Lage der Doppelbindung (Formel **a**) dagegen nimmt der Sechsring eine Halbsessel-Konformation ein, die durch Umklappen in ihr Spiegelbild übergeht. Sobald diese Umklappung genügend rasch erfolgt, sind sowohl die beiden C-3- als auch die beiden C-4-Protonen unter sich identisch. Als Kopplungskonstanten sind sodann nicht mehr die Werte zu erwarten, die den starren Grenzformen, d.h. den Extremwerten der Winkel zwischen den C-3- und den C-4-Protonen (ca. 60° und 180°: ca. 2 und ca. 10 Hz) entsprechen, sondern ein Mittelwert von ca. 6 Hz. Dieser Fall trifft offensichtlich zu; das Triplett mit $J = 6,2$ Hz findet durch die Struktur mit interannularer Lage der Doppelbindung (Formel **a** mit der Acetoxygruppe an C-6) eine befriedigende Erklärung. Mit diesen ergänzenden Befunden ist die für Harpagosid abgeleitete Konstitution (**1**) als gesichert anzusehen.

Zur Stereochemie des Harpagosids. Harpagosid (**1**) enthält im Aglykanteil fünf Asymmetriezentren: C-1, C-5, C-6, C-8 und C-9. Als Bezugspunkt für die Ableitung der relativen Konfiguration wählten wir das C-Atom Nr. 5 und formulierten dessen OH-Gruppe willkürlich nach der β -Seite (oberhalb der Zeichenebene). Die Korrelation mit den übrigen Asymmetriezentren konnte durch chemische Reaktionen und Interpretation der NMR.-Spektren erreicht werden.

²⁴) In einer Struktur mit exocyclischer Doppelbindung (Formel **b**) müsste der Sechsring entweder in Pseudosessel- oder in Pseudowannenform vorliegen. Derartige Konformationen können zwar ineinander umgeklappt werden, sind jedoch nicht spiegelbildlich. Anhand von Modellen lässt sich leicht zeigen, dass die beiden Protonen an C-3 nicht identisch sein können, da die Abschirmung auf der Vorder- und der Rückseite der Molekel verschieden ist.

Die β -Anordnung der Hydroxylgruppe an C-6 ergab sich aus der leicht verlaufenen Umsetzung der anomeren 1-O-Methyl-dihydroharpagenine (**35**, **37**) zu den entsprechenden 5:6-0:0-Isopropylidenderivaten (**39**, **41**). Die postulierten Strukturen von **39** und **41**, bzw. der Acetate **40** und **42**, stützen sich auf die NMR.-Spektren. Beim Acetonid **39** treten drei Methylsignale auf: zwei gleich hohe Singulette bei 1,38 und 1,56 ppm, die der Isopropylidengruppe zuzuordnen sind, und ein Singulett bei 1,29 ppm, spitzer als die beiden andern, das der Methylgruppe an C-8 entspricht. Im Acetylderivat **40** tritt das Signal der Methylgruppe an C-8 nicht bei 1,29 ppm sondern bei 1,56 ppm auf, während die beiden andern Methylsignale ihre Lage fast unverändert beibehalten haben (1,36, bzw. 1,56 ppm, CDCl_3). Die Verlagerung zeigt, dass die Acetylierung von **39** am isolierten, zur Methylgruppe an C-8 geminal angeordneten Hydroxyl erfolgt²⁵). Die Isopropylidengruppe in den Verbindungen **39**, **40**, **41** und **42** ist demnach mit den O-Funktionen an C-5 und C-6 zu einem fünfgliedrigen Ring verknüpft. Dies ist nur möglich, wenn die beteiligten OH-Gruppen *cis*-ständig sind.

Mit der β -Anordnung der Hydroxylgruppe an C-6 ist auch die relative Konfiguration der OH-Gruppe an C-8 festgelegt. Die oben beschriebene, durch Basen bewirkte Wanderung des Cinnamoylrests von C-8 (Harpagosid) nach C-6 (Isoharpagosid) setzt die *cis*-Stellung der beteiligten Hydroxylgruppen voraus. Einen zweiten Beweis für die *cis*-Situation der beiden Hydroxyle liefert das 6:8,4':6'-Di-0:0-benzylidenderivat **43**, das aus Harpagid (**12**) durch Umsatz mit Benzaldehyd entstand. Bei der Acetylierung von **43** bei Zimmertemperatur bildete sich das Di-O-acetylderivat **44**, in dem lediglich die beiden Zucker-Hydroxyle (sek. Hydroxylgruppen an C-2' und C-3') verestert sind²⁶); bei 40° wurde dagegen auch die tertiäre OH-Gruppe an C-5 acetyliert (Tri-O-acetylderivat **45**). Wesentlich ist, dass in allen Benzylidenverbindungen (**43–45**) das Signal der Methylgruppe seine Lage behält (1,26; 1,31; bzw. 1,28 ppm) und durch die Acetylierung nicht beeinflusst wird. Die Benzylidengruppe des Aglykonanteils nimmt somit die 6:8-Stellung ein; das Hydroxyl an C-8 muss wie das Hydroxyl an C-6 β -ständig vorliegen.

Die stereochemischen Verhältnisse an C-1 lassen sich ebenfalls aus NMR.-Daten ableiten. So zeigen Harpagosid und die meisten seiner Derivate mehr oder weniger scharfe Singulette²⁷), die den Protonen an C-1 und C-9 zukommen (siehe Tab. 1 und 2). Auf Grund der fehlenden Spinkopplung müssen diese Protonen zueinander unter einem Winkel von ca. 90° stehen²⁸). Mit DREIDING-Modellen lässt sich nur *eine* Struktur konstruieren, welche diese Bedingung zwanglos erfüllt: ein Gerüst, dessen Ringe

²⁵) Eine analoge Signalverlagerung tritt bei den Derivaten des anomeren 1 α -O-Methyl-dihydroharpagenins (**41**, bzw. **42**) auf. Die Methyl-Singulette der Acetonid-Gruppierung erscheinen vor der Acetylierung (**41**) bei 1,40 und 1,54 ppm, nach der Acetylierung (**42**) bei 1,37 und 1,50 ppm, während das Singulett der C-8-Methylgruppe, spitzer als die beiden andern, infolge der Acetylierung eine Verlagerung von 1,28 nach 1,56 ppm (CDCl_3) erfährt.

²⁶) Dabei treten Verlagerungen zweier Protonenresonanzen (H an C-2' und C-3') von 4,2–3,2 nach 5,5–4,9 ppm (CDCl_3) auf.

²⁷) Die in einigen Verbindungen (z. B. bei Harpagid) zu beobachtende geringe Aufspaltung des $\text{H}_{\text{C}-1}$ -Signals ($J = \text{ca. } 1,2 \text{ Hz}$) ist auf eine «long range»-Kopplung mit $\text{H}_{\text{C}-4}$ zurückzuführen, vgl. in Tabelle 1 und 2.

²⁸) Im Gegensatz zu Harpagosid ist bei verschiedenen andern Iridoiden, z. B. bei Aucubin, eine Kopplung zwischen den Protonen an C-1 und C-9 zu beobachten ($J = 5\text{--}6 \text{ Hz}$), was mit der bisaxialen *trans*-Anordnung dieser H-Atome verträglich ist.

cis-verknüpft sind und bei dem der O-Substituent an C-1 axial nach der β -Seite ragt²⁹). Bei allen andern Strukturen mit *cis*-verknüpften Ringen treten zwischen H_{C-1} und H_{C-9} Winkel auf, die zu einer deutlichen Spinkopplung zwischen den H an C-1 und C-9 führen müssten. Nimmt man die *trans*-Verknüpfung der Ringe an, so ist ein passendes Modell schwieriger zu konstruieren; aber auch in diesem Fall ist für den Glucosidrest an C-1 die axiale β -Lage zu fordern. Zusammenfassend ergeben die vorgebrachten Argumente, dass sämtliche O-Substituenten des Aglykanteils auf der gleichen Seite der Molekel liegen, d. h. die β -Konfiguration besitzen.

Für die postulierte *cis*-Verknüpfung der beiden Ringe liegen verschiedene Argumente vor. So ist die leichte Bildung des 6:8,4':6'-Di-O:0-benzylidenderivats **43** nur plausibel, wenn der Fünfring eine «envelope»-Konformation einnimmt, d. h. wenn die Substituenten an C-5 (OH) und C-9 (H-Atom) *cis*-ständig sind. Ein weiterer Hinweis auf die *cis*-Verknüpfung ergibt sich aus dem NMR.-Spektrum des Acetoxybromids **23**. Wie oben abgeleitet, stehen die O-Funktionen an C-3, C-5 und C-1 auf der β -, das Br-Atom an C-4 auf der α -Seite der Molekel. Während die H-Atome an C-3 und C-4 unter sich einen Winkel von ungefähr 180° bilden, stehen die Protonen an C-1 und C-9 beinahe rechtwinklig zueinander (vgl. die Kopplungskonstanten in Tab. 2). Diese Winkelgrößen sind nur dann möglich, wenn die *cis*-Verknüpfung vorliegt und der Sechsring im Mittel die im Formelschema angedeutete Wannenform einnimmt. Einen zusätzlichen Hinweis auf die *cis*-Anordnung der Ringe bildet die Verlagerung des H_{C-9} -Signals von 2,84 nach 3,41 ppm ($CDCl_3$) bei der Acetylierung von **23** zum Octa-O-acetylderivat **24**. Die Verlagerung um 0,57 ppm nach tieferen Feldern ist nur plausibel, wenn die O-Funktion an C-5 und das H-Atom an C-9 *cis*-ständig sind³⁰). Mit diesen Ableitungen ist die postulierte *cis*-Verknüpfung der Ringe im Harpagosid gut begründet. Harpagosid weist somit in dieser Hinsicht gleiche Verhältnisse auf wie die bisher untersuchten Vertreter der Iridoid-Gruppe. Einen wesentlichen sterischen Unterschied bildet hingegen die axiale Orientierung des O-Glucosylrests, indem die übrigen Iridoide, soweit untersucht, den Zuckerrest in äquatorialer β -Anordnung tragen.

Experimenteller Teil

unter Mitarbeit von K. BAUMGARTNER

Die Schmelzpunkte wurden mit einem KOFLER-Block bestimmt. Substanzproben zur Elementaranalyse und zur Bestimmung der optischen Drehung wurden in der Regel 1–2 Stunden im Hochvakuum bei 60–100° getrocknet. Zur Entwicklung von Dünnschichtchromatogrammen dienten ausser dem GODIN'schen Reagens (Vanillin + Perchlorsäure [18]) auch Natriumperjodat + Benzidin [19], alkalische $KMnO_4$ -Lösung³¹) und verdünnte Chromschwefelsäure³²). «Übliche Aufarbeitung» bedeutet: Eindampfen des Reaktionsgemischs, Ausschütteln zwischen 3–5 Portionen

²⁹) Die bei Harpagid beobachtete Resonanzlage des H an C-1, 5,75 ppm (D_2O), entspricht der geforderten äquatorialen Orientierung. Im Aucubin ist das Proton an C-1 axial angeordnet; das dazu gehörende Signal liegt dementsprechend bei höheren Feldern und erscheint bei 5,25 ppm (D_2O). Die Differenz der Resonanzlagen ist charakteristisch für den Unterschied zwischen äquatorialen und axialen H-Atomen [17].

³⁰) Eine analoge Verlagerung des H_{C-9} -Signals (um 0,44 ppm) ist beim Übergang von Harpagosid (1) in Harpagid (**12**) zu beobachten, vgl. in Tabelle 1.

³¹) 0,5 g $KMnO_4$, gelöst in 100 ml 1N Na_2CO_3 -Lösung. Beim Besprühen entstehen weisse bis hellgelbe Flecke auf violettem Grund.

³²) 2,67 g CrO_3 und 2,3 ml konz. H_2SO_4 in 100 ml Wasser. Nach 15minütigem Heizen der besprühten Platten auf 100° sind graugrüne Flecke auf gelbem Grund sichtbar.

Essigester (bzw. einem andern mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel) und je 3–5 Portionen wässriger 2N Salzsäure, 10-proz. KHCO_3 -, gelegentlich auch 2N Na_2CO_3 -Lösung und Wasser (oder gesättigter Na_2SO_4 -Lösung), Trocknen der organischen Phase über Na_2SO_4 und Eindampfen im Vakuum bei ca. 35°. Die NMR.-Spektren wurden mit einem VARIAN-Spektrographen, Modell A-60, bei 60 MHz und einer Feldänderungsgeschwindigkeit von 1 Hz/s gemessen; die Lage der Signale ist in δ -Werten (ppm) angegeben, intern auf Tetramethylsilan (0 ppm) bezogen.

Extraktion von Harpagophytum procumbens. 4,125 kg getrocknete Wurzeln von *Harpagophytum procumbens* DC wurden portionenweise mit insgesamt 40 l Methanol durch Homogenisieren bei 20–35° extrahiert. Nach Filtration wurde der Extrakt im Durchlauferhitzer unter Vakuum eingengt, mit Wasser verdünnt und wieder eingengt, bis 6 l wässriges Konzentrat vorlagen. Sie wurden im Gegenstromverfahren gegen je 10 l Äther, Methylenchlorid, Methylenchlorid-Butanol-(4:1), Chloroform-Butanol-(1:1) und Butanol ausgeschüttelt. Durch Eindampfen gewann man folgende Rückstände:

Ätherextrakt	17,9 g = 0,4% der Droge
Methylenchloridextrakt	3,9 g = 0,1% der Droge
Methylenchlorid-Butanol-(4:1)-Extrakt	56,5 g = 1,4% der Droge
Chloroform-Butanol-(1:1)-Extrakt	40,0 g = 1,0% der Droge
Butanolextrakt	28,0 g = 0,7% der Droge
wässrige Phase	928,5 g = 22,5% der Droge

Harpagosid war nur im Methylenchlorid-Butanol-(4:1)-Extrakt nachweisbar. Die andern Extrakte wurden nicht weiter untersucht.

Isolierung von Harpagosid (I). Der Methylenchlorid-Butanol-(4:1)-Extrakt wurde in Portionen zu je 4 g an je 800 g Diatomitstein-Pulver [20], die mit je 400 ml Wasser beladen waren, chromatographiert. Als Elutionsmittel diente wassergesättigter Essigester. Wir prüften die einzelnen Fraktionen im Dünnschichtchromatogramm (Silicagel/Chloroform-Äthanol-(3:2)) mit dem GODIN'schen Reagens [18] und fügten sie zu folgenden Präparaten zusammen: 1. 2,570 g GODIN-negatives Material; 2. 6,167 g Gemisch von Harpagosid mit andern GODIN-positiven Substanzen; 3. 40,166 g rohes Harpagosid; 4. 2,964 g Gemisch von Harpagosid mit andern GODIN-positiven Substanzen und 5. 1,307 g Material, das sich erst mit Methanol aus der Säule auswaschen liess. Durch Nachchromatographieren der Präparate Nr. 2 und 4 gewann man weitere 2,413 g Material, das dem Präparat Nr. 3 entsprach. Das rohe Harpagosid (39,172 g Präparat Nr. 3) wurde in entsprechender Weise nachchromatographiert und lieferte 31,361 g Material, das im Dünnschichtchromatogramm einheitlich erschien. 27,056 g dieses Materials wurden ein drittes Mal chromatographiert und ergaben 25,074 g einheitliches Harpagosid (I). Die Kristallisation gelang nicht. Die Substanz war hygroskopisch. Sie ergab mit dem GODIN'schen Reagens eine kirschrote Färbung. Die FEHLING'sche Probe fiel negativ aus. Mit Hydroxylamin, NaOH und $[\text{Fe}(\text{OH}_2)_6]\text{Cl}_3$ (Ausführung nach ANGLIKER *et al.* [21]) konnte der Fe^{III} -Komplex der Cinnamoylhydroxamsäure dargestellt und papierchromatographisch nachgewiesen werden. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -27,7^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,194$), $-42,6^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol, $c = 0,990$), $-37,5^\circ \pm 3^\circ$ (Wasser, $c = 0,670$).

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{11} + 0,8 \text{H}_2\text{O}^{33}$ (508,905) Ber. C 56,6 H 6,3 O 37,1% Gef. C 56,9 H 6,0 O 37,4%

NMR.-Spektrum (D_2O , 80°): Ca. 7,35 ppm: 5 Phenyl-H. 7,54 und 6,31 ppm (je 1 Dublett mit $J = 16$ Hz): 2 *trans*-ständige Olefin-H des Zimtsäurerests. 4,79 ppm (Dublett, $J = 7$ Hz): H an C-1' (β -Glucopyranosid). Weitere Signale siehe in Tabelle 1. – UV.-Spektrum (Methanol)³⁴: λ_{max} bei 215,5; 221,5 und 276 nm ($\log \epsilon = 4,19$; 4,12 und 4,36)³⁵.

Saure Hydrolyse von Harpagosid (I) (KILIANI-Spaltung). 1,002 g rohes Harpagosid wurden in 30 ml «KILIANI-Mischung» (Eisessig-Wasser-konz. HCl-(7:11:2)) gelöst und 1 Std. auf 100° geheizt. Das Gemisch wurde mit 30 ml Wasser verdünnt, auf 30 ml konzentriert und gegen 5 Por-

³³) Trocknung: 5 Std., 100°. Stärkeres Trocknen hatte Zersetzung zur Folge.

³⁴) Berechnet auf $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{O}_{11}$, $M = 494,5$.

³⁵) Vgl. UV.-Spektrum von Methylcinnamat: λ_{max} bei 216; 221 und 273 nm ($\log \epsilon = 4,20$; 4,14 und 4,36) in Methanol. In Methylenchlorid: λ_{max} bei 276 nm ($\log \epsilon = 4,34$); in Chloroform: λ_{max} bei 277 nm ($\log \epsilon = 4,32$).

tionen Methylchlorid-Äther-(1:2) ausgeschüttelt; die organischen Phasen passierten noch 3 Portionen Wasser und 4 Portionen 2N Sodalösung. Die sauren wässrigen Phasen (Reaktionsgemisch + 3 Portionen Wasser) wurden vereinigt und mit Ag_2CO_3 neutralisiert. Nach Filtration wurde H_2S -Gas eingeleitet, der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat eingengt. Aus Wasser-Äthanol kristallisierten 226 mg D-Glucose vom Smp. 143–144°, durch Umkristallisieren 131 mg Kristalle vom Smp. 144–148° (6), $[\alpha]_D^{25} = +102,1^\circ \pm 2^\circ$ (Wasser, $c = 0,745$, nach 5 Min.), $+51,8^\circ \pm 2^\circ$ (Wasser, $c = 1,340$, nach 17 Std.); $[\alpha]_D^{25} = +61,2^\circ \pm 2^\circ$ (Pyridin, $c = 1,295$, nach 24 Std.). Die Kristalle waren auf Grund von Smp., Mischprobe, optischer Drehung, Rf-Wert und IR.-Spektrum mit authentischer D-Glucose identisch.

Aus den alkalisch-wässrigen Phasen konnten nach Ansäuern, Extraktion mit Methylchlorid, Eindampfen und Sublimation im Hochvakuum 190 mg Zimtsäure (5) vom Smp. 132–134° gewonnen werden.

Acetylierung von Harpagosid (1). – a) *Penta-O-acetyl-harpagosid (2)*: 3,528 g rohes Harpagosid wurden mit je 35 ml Pyridin und Essigsäureanhydrid versetzt und 1 Tag bei 25° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung ergab 4,852 g farblosen Schaum. Aus Methylchlorid-Tetrachlorkohlenstoff/Pentan Kristalle vom Smp. 208°; nach Umkristallisieren aus Aceton/Äther-Pentan insgesamt 4,080 g Kristalle vom Smp. 213–214°, einheitlich im Dünnschichtchromatogramm: **2**, $[\alpha]_D^{25} = -60,2^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 0,760$).

$\text{C}_{34}\text{H}_{40}\text{O}_{16}$ (704,678) Ber. C 58,0 H 5,7 O 36,3% Gef. C 57,9 H 5,7 O 36,2%

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Singulette bei 2,17; 2,09; 2,04 ppm (je 3 H); 2,07 ppm (6 H): 5 O-Acetylgruppen. Dublette bei 7,74 und 6,65 ppm (je 1 H, $J = 16$ Hz): 2 *trans*-ständige Olefin-H des Zimtsäurerests. Ca. 7,5 ppm: 5 Phenyl-H. Ca. 4,3 ppm: 2 H an C-6'. Ca. 3,7 ppm (breites Multiplett): H an C-5'. 3,07 ppm: tert. Hydroxylgruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2. – UV.-Spektrum: in Methanol λ_{max} bei 216; 221,5 und 276 nm ($\log \epsilon = 4,30$; 4,21 und 4,41); in Methylchlorid λ_{max} bei 276,5 nm ($\log \epsilon = 4,37$); in Chloroform λ_{max} bei 279 nm ($\log \epsilon = 4,34$)³⁵.

b) *Hexa-O-acetyl-harpagosid (3)*: 3,000 g Harpagosid (1) wurden in 60 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) gelöst und 4 Tage auf 40° erwärmt. Die übliche Aufarbeitung ergab 4,079 g farblosen Schaum. Nach Chromatographie an 120 g Aluminiumoxid und Elution mit Petroläther-Benzol-(1:4) lagen 1,807 g einheitliches Hexa-O-acetyl-harpagosid (3) vor; Benzol und Benzol-Methylchlorid-Gemische brachten 288 mg Gemisch, 877 mg einheitliches Penta-O-acetyl-harpagosid (2) und ca. 1 g schwerer eluierbare Anteile. Die Fraktionen des Hexa-O-acetyl-harpagosids kristallisierten aus Äthanol/Wasser: 1,509 g Kristalle vom Doppel-Smp. 171–172°/190°; nach Umkristallisieren aus Essigester/Pentan, anschliessend aus Benzol/Pentan 648 mg Kristalle vom Smp. 193–194°, $[\alpha]_D^{25} = -80,4^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 0,920$) (3).

$\text{C}_{36}\text{H}_{42}\text{O}_{17}$ (746,715) Ber. C 57,9 H 5,7 O 36,4% Gef. C 57,8 H 5,6 O 36,4%

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Singulette bei 2,14; 2,04; 2,02; 2,00; 1,97 und 1,95 ppm (je 3 H): 6 O-Acetylgruppen. Dublette bei 7,61 und 6,32 ppm (je 1 H, $J = 16$ Hz): 2 *trans*-ständige Olefin-H des Zimtsäurerests. Ca. 7,5 ppm: 5 Phenyl-H. 5,15 ppm (Dublett, $J = 6,5$ Hz): H an C-1'. Ca. 4,3 ppm: 2 H an C-6'. Ca. 3,8 ppm: H an C-5'. Weitere Signale siehe in Tabelle 2. – UV.-Spektrum (Methanol): λ_{max} bei 216; 222,5 und 278 nm ($\log \epsilon = 4,21$; 4,11 und 4,34)³⁵.

Hexa-O-acetyl-harpagosid (3) aus Penta-O-acetyl-harpagosid (2). 146 mg Penta-O-acetyl-harpagosid, Smp. 213–214°, wurden in 2 ml Essigsäureanhydrid-Pyridin-(1:1) einen Monat bei Zimmertemperatur stehengelassen und wie oben aufgearbeitet. Nach Chromatographie an Aluminiumoxid lagen 55 mg einheitliches Hexa-O-acetyl-harpagosid (3), Smp. 191–193°, vor. Das Präparat war in Rf-Wert, Elementaranalyse, IR.-Spektrum und optischer Drehung identisch mit dem oben beschriebenen Präparat.

Penta-O-cinnamoyl-harpagosid. 506 mg reinstes Harpagosid (1) wurden in 20 ml Pyridin gelöst und mit 5 g Cinnamoylchlorid versetzt. Man liess 1 Tag bei 40° stehen, kühlte ab, fügte 10 ml Methanol zu und dampfte nach 2 Std. ein. Nach der üblichen Aufarbeitung lagen 4,221 g hellbraunes Öl vor. Durch Chromatographie an Aluminiumoxid (Elutionsmittel: Petroläther-Benzol-(4:1)) liessen sich 2,645 g Methylcinnamat vom Smp. 35° abtrennen. Mit Benzol und Benzol-Methylchlorid-(9:1) erschienen 1,029 g hellgelber Schaum, die aus Aceton-Äther/Pentan kristallisierten. Die Kristalle wurden an desaktiviertem Silicagel, anschliessend an Aluminiumoxid

nachchromatographiert. Man fasste 281 mg einheitliches Penta-O-cinnamoyl-harpagosid, Smp. 193–195°, $[\alpha]_D^{22} = -109^\circ \pm 2^\circ$ (Pyridin, $c = 1,305$).

$C_{89}H_{60}O_{16}$ (1145,223) Ber. C 72,4 H 5,3 O 22,3% Gef. C 72,4 H 5,4 O 22,2%

UV.-Spektrum: in Methylenchlorid λ_{max} bei 277 nm ($\log \epsilon = 5,13$), in Chloroform λ_{max} bei 279 nm ($\log \epsilon = 5,12$). Aus dem molaren Extinktionskoeffizienten, der hier sechsmal so hoch ist als der von Methylcinnamat³⁵) und den Acetylderivaten **2** und **3** (siehe oben), lässt sich auf insgesamt 6 Cinnamoylreste schliessen.

Harpagosid-hexaphenylurethan (4). 2,441 g Harpagosid (**1**) wurden in 25 ml trockenem Pyridin gelöst und mit 5 ml Phenylisocyanat versetzt. Nach 3 Std. bei 50° wurde auf 0° gekühlt, 5 ml Methanol zugesetzt und 20 Min. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Das Gemisch wurde eingedampft, fünfmal mit je 25 ml Benzol aufgekocht und ergab 7,163 g benzollösliche und 1,451 g benzollösliche Anteile (Diphenylharnstoff). Das benzollösliche Material wurde an 210 g Aluminiumoxid chromatographiert. Petroläther-Benzol- und Benzol-Methylenchlorid-Gemische eluieren 1275 mg Methyl-phenylurethan (GODIN-Reaktion: rosa). Mit Methylenchlorid und Methylenchlorid-Methanol-Gemischen erschienen 4,990 g Material, die im Dünnschichtchromatogramm einen Fleck erzeugten, der fast gleich schnell wie der des Methyl-phenylurethans wanderte, mit dem GODIN'schen Reagens jedoch eine violettrote Farbe ergab. Durch zweimaliges Nachchromatographieren (an 180 g desaktiviertem Silicagel und an 60 g Aluminiumoxid) konnten die Nebenprodukte (Methyl-phenylurethan und Diphenylharnstoff) entfernt und 1,644 g einheitliches Harpagosid-hexaphenylurethan (**4**) als farbloser Schaum gewonnen werden. $[\alpha]_D^{22} = -18,0^\circ \pm 2^\circ$ (Pyridin, $c = 1,150$); $[\alpha]_D^{22} = -28,6^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,575$).

$C_{66}H_{60}O_{17}N_6$ Ber. C 65,6 H 5,0 O 22,5 N 6,9%
(1209,231) Gef. „ 65,3 „ 5,3 „ 22,7 „ 6,4%

β -Methyl-D-glucosid-2,3,4,6-tetraphenylurethan (7) aus Harpagosid-hexaphenylurethan (4). Eine Lösung von 600 mg Harpagosid-hexaphenylurethan in 60 ml Methansulfonsäure-Methanol-(1:10) wurde 24 Std. bei 60° stehengelassen, abgekühlt und zwischen Essigester und 10-proz. KHCO₃-Lösung verteilt. Die organische Phase ergab nach Trocknen, Einengen, Tierkohle-Behandlung in Aceton, Filtration, Eindampfen und Kristallisation aus Aceton/Äther-Pentan 235 mg Kristalle vom Smp. 230–233°, nach Umkristallisieren aus dem gleichen Gemisch 122 mg Kristalle vom Smp. 221–223° (**7**); $[\alpha]_D^{20} = +9,9^\circ \pm 2^\circ$ (Pyridin, $c = 0,975$). Das Präparat war auf Grund von Smp., Mischprobe, optischer Drehung, IR.-Spektrum und Rf-Wert identisch mit authentischem Material [22].

Verseifung von Harpagosid (1): Harpagid (12). 3,000 g Harpagosid wurden in 50 ml Wasser gelöst, mit 50 ml einer gesättigten Lösung von Ba(OH)₂ in Wasser vermischt und auf der Maschine geschüttelt. Die Mischung wurde gelb und trübe. Nach 6 Std. war sie wieder klar. Man kühlte auf 0°, neutralisierte mit kalter 1N Schwefelsäure, entfernte das ausgeschiedene BaSO₄ durch Filtration und engte das Filtrat auf die Hälfte seines Volumens ein. Mit 0,1N Schwefelsäure wurde auf pH 3 angesäuert. Der Niederschlag (Zimtsäure + wenig BaSO₄) wurde durch Filtration abgetrennt. Das Filtrat wurde durch Extraktion mit Methylenchlorid von Zimtsäure befreit. Die vereinigten Zimtsäure-Fractionen (Niederschlag + Extrakt) ergaben nach Sublimation 620 mg reine Zimtsäure (**5**) vom Smp. 133–134°. Die wässrige Phase wurde sofort mit BaCO₃ neutralisiert, filtriert und eingedampft. Nach Tierkohle-Behandlung (in Methanol) wurden 2,113 g einheitliches Harpagid (**12**) als farbloser, hygroskopischer Schaum gewonnen. Die FEHLING'sche Probe und der Hydroxamsäure-Test [21] fielen negativ aus. Mit dem GODIN'schen Reagens entstand eine rotviolette Färbung. $[\alpha]_D^{22} = -154^\circ \pm 2^\circ$ (Wasser, $c = 1,470$), $-154^\circ \pm 3^\circ$ (Äthanol, $c = 1,135$), $-143^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin, $c = 1,103$).

$C_{15}H_{24}O_{10}$ (364,347)³⁶) Ber. C 49,5 H 6,6 O 43,9% Gef. C 49,2 H 6,6 O 42,7%

NMR.-Spektrum (D₂O, 60°): Dublett bei 4,74 ppm ($J = 7$ Hz): H an C-1' (β -Glucopyranosid); weitere Signale siehe in Tabelle 1. – IR.-Spektrum (Nujol, KBr): Maximum bei 1655 cm⁻¹ (Enoläther).

Benützte man an Stelle von Ba(OH)₂-Lösung 0,1N Natronlauge und Salzsäure an Stelle der Schwefelsäure, so liess sich die Zimtsäure in Ausbeuten bis 90% isolieren; die Gewinnung von reinem Harpagid erforderte dagegen eine Verteilungschromatographie.

³⁶) Trocknung: 3 Std., 80°. Stärkeres Trocknen ergab Zersetzung.

Isoharpagosid (**8**). 2,000 g Harpagosid (**1**) wurden in 20 ml Wasser gelöst, mit 20 ml 2N Ammoniumhydroxidlösung versetzt (Gelbfärbung!) und 2 Std. später im Hochvakuum eingedampft. Nach viermaligem Chromatographieren an je 400 g Kieselgel (Elution mit Essigester-Äthanol-(3:2)) lagen 699 mg reines Isoharpagosid als farbloser Schaum vor. Das Material wanderte auf der Dünnschichtplatte (Kieselgel/Essigester-Äthanol-(3:2)) etwas schneller als Harpagosid und ergab mit dem Gomün'schen Reagens eine braune Färbung. $[\alpha]_D^{24} = -144^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol, $c = 1,275$).

NMR.-Spektrum (D_2O): Multipllett bei ca. 7,4 ppm: 5 Phenyl-H. Dublette bei 7,75 und 6,57 ppm (je 1 H, $J = 16$ Hz): 2 Olefin-H des *trans*-Zimtsäurerests. Dublett bei 4,81 ppm ($J = 7$ Hz): H an C-1'. Weitere Signale siehe in Tabelle 1.

Acetylierung von Isoharpagosid (**8**). 250 mg Isoharpagosid wurden in 5 ml Acetanhydrid-Pyridin-(1:1) gelöst und 2 Tage bei 20° stehengelassen. Die übliche Aufarbeitung ergab 316 mg farblosen Schaum, der zur Hauptsache aus **9** und **10** bestand. Die Chromatographie an Kieselgel mit Methylenchlorid-Methanol-Gemischen brachte eine schwache Anreicherung der weniger polaren Komponente **10**. Die Trennung erfolgte durch fraktionierte Kristallisation aus Benzol-Äther/Pentan und lieferte von beiden Derivaten je 42 mg Kristalle.

a) *Tetra-O-acetyl-isoharpagosid* (**9**): Smp. 217–219°, $[\alpha]_D^{24} = -104^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,975$).

$C_{32}H_{38}O_{15}$ (662,641) Ber. C 58,0 H 5,8 O 36,2% Gef. C 57,7 H 5,9 O 36,3%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Ca. 7,4 ppm: 5 Phenyl-H. 7,76 und 6,51 ppm (Dublette mit je $J = 16$ Hz): 2 *trans*-ständige Olefin-H des Zimtsäurerests. 3,00 und 2,77 ppm: 2 Hydroxylgruppen. Singulette bei 2,13; 2,02 ppm (je 3 H) und 2,04 ppm (6 H): 4 O-Acetylgruppen. Ca. 4,25 ppm (2 H): 2 H an C-6'; ca. 3,8 ppm: H an C-5'. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

b) *Penta-O-acetyl-isoharpagosid* (**10**): Smp. 235–236°, $[\alpha]_D^{24} = -111^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,955$).

$C_{34}H_{40}O_{16}$ (704,678) Ber. C 58,0 H 5,7 O 36,3% Gef. C 57,9 H 5,6 O 35,3%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Ca. 7,4 ppm: 5 Phenyl-H. Dublette bei 7,71 und 6,47 ppm (je $J = 16$ Hz): 2 *trans*-ständige Olefin-H des Zimtsäurerests. 3,09 ppm: Hydroxylgruppe. Singulette bei 2,14; 2,02; 2,00 ppm (je 3 H) und 2,05 ppm (6 H): 5 O-Acetylgruppen. Ca. 4,3 ppm: 2 H an C-6'; ca. 3,8 ppm: H an C-5'. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

c) *Nachacetylierung*: Die Mutterlaugen und kristallisierten Mischfraktionen aus der oben beschriebenen Trennung wurden vereinigt (129 mg) und mit 10 ml Acetanhydrid-Pyridin-(1:1) durch 16stdg. Stehen bei 40° nachacetyliert. Im Dünnschichtchromatogramm war jetzt nur noch Penta-O-acetyl-isoharpagosid (**10**) nachweisbar; die Aufarbeitung wie oben lieferte 50 mg Kristalle vom Smp. 231–233°. Eine Nachacetylierung von 65 mg Penta-O-acetyl-isoharpagosid bei 60 und 80° hatte keine Veränderung des Substrats zur Folge. Erst bei 100° (nach 4 Std.) liess sich eine Substanz nachweisen, die im Dünnschichtchromatogramm schneller lief als das Penta-O-acetyl-derivat **10**. Dreimaliges Chromatographieren an Kieselgel und eine fraktionierte Kristallisation zur Abtrennung des Penta-O-acetyl-derivats lieferte 35 mg amorphes Material (nicht ganz einheitlich), dessen NMR.-Spektrum im Acetylbereich auf ca. 6 O-Acetylgruppen stimmte. Weitere Versuche zur Isolierung des Hexa-O-acetyl-isoharpagosids unterblieben.

Isoharpagosid-pentaphenylurethan (**11**). 198 mg Isoharpagosid (**8**) wurden in 2,1 ml Pyridin gelöst und mit 0,405 ml Phenylisocyanat versetzt. Nach 3 Std. bei 50° wurde abgekühlt und mit 0,5 ml Methanol versetzt. Nach $\frac{1}{2}$ Std. bei Zimmertemperatur wurde eingedampft. Viermaliges Auskochen mit je 5 ml Benzol ergab 85 mg benzolunlöslichen Anteil (Diphenylharnstoff) und 726 mg benzollösliches Gemisch. Viermaliges Chromatographieren an Kieselgel (Elutionsmittel zur Abtrennung von Diphenylharnstoff: Chloroform-Äthanol-(47:3), von Methyl-phenylurethan: Methylenchlorid-Methanol-(24:1)) lieferte 325 mg Isoharpagosid-pentaphenylurethan (**11**) als farblosen Schaum, $[\alpha]_D^{24} = -37,4^\circ \pm 2^\circ$ (Pyridin, $c = 1,455$).

$C_{59}H_{55}O_{16}N_5$ Ber. C 65,0 H 5,1 O 23,5 N 6,4%
(1090,108) Gef. „ 64,8 „ 5,2 „ 23,8 „ 6,6%

β -Methyl-D-glucosid-2,3,4,6-tetraphenylurethan (**7**) aus *Isoharpagosid-pentaphenylurethan* (**11**). 200 mg Isoharpagosid-pentaphenylurethan wurden in 20 ml Methanol-Methansulfonsäure-(9:1) gelöst und 24 Std. auf 60° erhitzt. Nach Abkühlen wurde die Lösung in 50 ml Essigester aufgenom-

men und mit Wasser extrahiert. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 152 mg Rückstand. Durch Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform-Äthanol-(9:1) als Elutionsmittel und wiederholtes Kristallisieren aus Methanol-Äther/Pentan konnten 24 mg reinstes β -Methyl-D-glucosid-2,3,4,6-tetraphenylurethan (**7**) vom Smp. 226–228° gewonnen werden. Das Präparat war auf Grund von Smp., Rf-Wert und IR.-Spektrum identisch mit authentischem Material (siehe oben).

Acetylierung von Harpagid (12). 5,000 g Harpagid wurden in 90 ml Pyridin gelöst, mit 90 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 1 Tag bei 40° stehengelassen. Man engte bis zum zähen Sirup ein, nahm den Rückstand in 180 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) auf und liess weitere 2 Tage bei 40° stehen. Dann wurde wie üblich aufgearbeitet. Der Rückstand der organischen Phase, 7,259 g Schaum, wurde an 300 g desaktiviertem Silicagel (Wassergehalt 10%) chromatographiert. Benzol-Methylenchlorid-(1:4) eluierte 4,428 g farblosen Schaum; aus Tetrachlorkohlenstoff/Äther-Pentan 4,331 g Kristalle (**14**). Mit Benzol-Methylenchlorid-(1:4), Methylenchlorid und Methylenchlorid-Methanol-(19:1) folgten 2,645 g Schaum; aus Chloroform-Tetrachlorkohlenstoff/Äther-Pentan 2,594 g Kristalle (**13**).

a) *Hexa-O-acetyl-harpagid (13)*: Smp. 225–228°, $[\alpha]_D^{22} = -124^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 1,075$).
 $C_{27}H_{36}O_{18}$ (616,569) Ber. C 52,6 H 5,9 O 41,5% Gef. C 52,6 H 5,9 O 41,3%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulette bei 2,16; 2,12; 2,04; 2,03 ppm (je 3 H) und 2,06 ppm (6 H): 6 O-Acetylgruppen. Ca. 4,3 ppm (2 H): 2 H an C-6'; ca. 3,8 ppm (breit): H an C-5'. 3,06 ppm: tert. Hydroxylgruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

b) *Hepta-O-acetyl-harpagid (14)*: Smp. 185–190°, $[\alpha]_D^{22} = -118^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 0,990$).
 $C_{29}H_{38}O_{17}$ (658,606) Ber. C 52,9 H 5,8 O 41,3% Gef. C 52,8 H 5,7 O 41,1%

NMR.-Spektrum (Deuteroaceton): Singulette bei 2,06; 2,01; 2,00; 1,98; 1,95; 1,93 und 1,90 ppm (je 3 H): 7 O-Acetylgruppen. Weitere Signale ($CDCl_3$) siehe in Tabelle 2.

Hexa-O-cinnamoyl-harpagid. 203 mg Harpagid (**12**) wurden in 15 ml Pyridin gelöst, mit 3,5 g Cinnamoylchlorid versetzt und 1 Woche bei Zimmertemperatur stehengelassen. Man fügte 10 ml Methanol zu, dampfte nach 2 Std. ein und schüttelte den Rückstand zwischen Methylenchlorid und den wässerigen Lösungen von HCl (2N), Na_2CO_3 (2N) und Na_2SO_4 (gesättigt) aus. Der Rückstand der organischen Phase wurde an desaktiviertem Silicagel (Wassergehalt 50%) und zweimal an Aluminiumoxid chromatographiert. Aus 55 mg dünnstschichtchromatographisch einheitlichem Material konnten durch zweimaliges Kristallisieren aus Aceton-Äther/Pentan 33 mg Kristalle vom Smp. 189–192° gewonnen werden. Das Präparat war mit Penta-O-cinnamoyl-harpagosid (siehe oben) auf Grund von Smp., Mischprobe, optischer Drehung, IR.-Spektrum und Rf-Wert identisch.

Dihydroharpagid (15). 4,500 g Harpagid (**12**) wurden in 150 ml Feinsprit gelöst und mit 2,5 g Pd auf C (5%) bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 6 Std. blieb die Reaktion stehen; der Wasserstoffverbrauch betrug 1,04 Äquivalente. Nach Filtration und Eindampfen lagen 3,913 g einheitliches Dihydroharpagid als farblos Schaum vor. Die GODIN'sche Farbreaktion war dunkelviolett. Die FEHLING'sche Probe fiel negativ aus. $[\alpha]_D^{21} = -114^\circ \pm 3^\circ$ (Wasser, $c = 0,820$), $[\alpha]_D^{20} = -107^\circ \pm 2^\circ$ (Äthanol, $c = 1,215$), $[\alpha]_D^{21} = -103^\circ \pm 3^\circ$ (Pyridin, $c = 0,995$).

$C_{15}H_{26}O_{10} + H_2O^{37}$ (384,378) Ber. C 46,9 H 7,3 O 45,8% Gef. C 46,6 H 7,3 O 45,8%
 $C_{15}H_{26}O_{10} + 0,7 H_2O^{38}$ (378,973) Ber. C 47,5 H 7,3 O 45,2% Gef. C 47,6 H 7,2 O 45,1%

NMR.-Spektrum (D_2O): Dublett bei 4,70 ppm ($J = 7$ Hz): H an C-1'. Weitere Signale siehe in Tabelle 1.

Acetylierung von Dihydroharpagid (15). 494 mg Dihydroharpagid wurden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 10 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 15 Std. bei 40° stehengelassen. Man dampfte ein, fügte 20 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) zu und liess 1 Tag bei 40° stehen. Durch übliche Aufarbeitung gewann man 782 mg Schaum. Sie wurden an 40 g desaktiviertem Silicagel (Wassergehalt 10%) chromatographiert. Mit Methylenchlorid-Methanol-(99:1) liessen sich 561 mg Gemisch abtrennen, die vorwiegend aus den beiden Haupt-Reaktionsprodukten **17** und **18** bestanden.

³⁷⁾ Ohne Trocknung.

³⁸⁾ Trocknung: 5 Std. bei 80°; bei stärkerem Trocknen tritt zum Teil Zersetzung ein.

Sie wurden an 25 g desaktiviertem Silicagel nachchromatographiert. Benzol-Methylenchlorid-(1:9), Methylenchlorid und Methylenchlorid-Methanol-(99:1) eluierten 530 mg Material, die nur aus den beiden Hauptprodukten bestanden. Durch fraktionierte Kristallisation der einzelnen Fraktionen liessen sich 131 mg reines Hepta-O-acetyl-dihydroharpagid (**18**) und 272 mg reines Hexa-O-acetyl-dihydroharpagid (**17**) gewinnen. Aus den Mutterlaugen und den späteren Chromatographie-Fractionen konnte durch Chromatographie und Kristallisation unter anderem das Penta-O-acetyl-dihydroharpagid **16** isoliert werden.

a) *Penta-O-acetyl-dihydroharpagid (16)*: Smp. 103–105° (aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan), $[\alpha]_D^{22} = -79,1^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,775$).

$C_{25}H_{36}O_{15} + 0,25 H_2O$ (581,052) Ber. C 51,7 H 6,3 O 42,0% Gef. C 51,6 H 6,3 O 42,2%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulette bei 2,13; 2,09; 2,07; 2,04 und 2,02 ppm (je 3 H): 5 O-Acetylgruppen. Ca. 2,9 und 2,6 ppm (je 1 H): 2 Hydroxylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

b) *Hexa-O-acetyl-dihydroharpagid (17)*: Smp. 172–173° (aus Äthanol/Äther), $[\alpha]_D^{22} = -87,0^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,430$).

$C_{27}H_{38}O_{16}$ (618,585) Ber. C 52,4 H 6,2 O 41,4% Gef. C 52,4 H 5,9 O 41,5%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulette bei 2,11; 2,09; 2,08; 2,04; 2,03 und 1,99 ppm (je 3 H): 6 O-Acetylgruppen. 2,62 ppm (Singulett, 1 H): tert. Hydroxylgruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

c) *Hepta-O-acetyl-dihydroharpagid (18)*: Smp. 168–169° (aus Tetrachlorkohlenstoff), $[\alpha]_D^{22} = -124^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 1,255$).

$C_{29}H_{40}O_{17}$ (660,622) Ber. C 52,7 H 6,1 O 41,2% Gef. C 52,7 H 6,0 O 40,9%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulette bei 2,26; 2,14; 2,06; 2,02; 1,81 ppm (je 3 H) und 2,04 ppm (6 H): 7 O-Acetylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Hydrierung von Hexa-O-acetyl-harpagid (13). 204 mg Hexa-O-acetyl-harpagid wurden in 15 ml Feinsprit gelöst und mit 100 mg Pd auf C (5%) bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 9 Min. blieb die Reaktion stehen. Nach Filtration und Einengen lagen 211 mg Schaum vor. Aus Tetrachlorkohlenstoff 200 mg Kristalle (= 98% d. Th.) vom Smp. 172–173°, $[\alpha]_D^{22} = -87,0^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,145$), identisch mit dem oben beschriebenen Produkt **17** auf Grund von Smp., Mischprobe, optischer Drehung, Rf-Wert, GODIN'scher Farbreaktion (braun).

Hydrierung von Hepta-O-acetyl-harpagid (14). 594 mg getrocknetes Hepta-O-acetyl-harpagid wurden in 100 ml Feinsprit gelöst und mit 250 mg Pd auf C (5%) bei Zimmertemperatur hydriert. Nach 25 Min. hörte die Wasserstoffaufnahme auf; der Verbrauch betrug 1,57 Äquiv. Die Lösung reagierte sauer. Sie wurde filtriert und mit 0,05 N NaOH gegen Phenolphthalein titriert. Der Verbrauch an Lauge entsprach dem Vorliegen von 0,54 Mol Essigsäure³⁹⁾ pro Mol Ausgangsmaterial. Die neutralisierte Lösung wurde mit 300 ml Tetrachlorkohlenstoff vermischt und mit 2 N HCl-, 2 N Na_2CO_3 - und ges. Na_2SO_4 -Lösung extrahiert. Die organische Phase hinterliess nach dem Eindampfen einen fast farblosen Schaum. Er wurde in Aceton gelöst, mit Kohle geschüttelt und nach Filtration und Eindampfen aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan kristallisiert: 428 mg (= 72% d. Th.) einheitliche Kristalle vom Smp. 164–165°; nach Umkristallisieren aus Essigester-Äther/Pentan und Tetrachlorkohlenstoff/Pentan Smp. 167–168°, $[\alpha]_D^{22} = -120^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 1,245$). Das Präparat war auf Grund von Smp., Mischprobe, optischer Drehung, GODIN'scher Farbreaktion (violettbraun), Rf-Wert und NMR.-Spektrum identisch mit dem oben beschriebenen Material **18**.

Hydrogenolysenprodukt 19. Die Mutterlaugen, die bei der Kristallisation von **18** (dargestellt durch Hydrierung von **14**) anfielen, wurden zweimal an Kieselgel chromatographiert. Mit Methylenchlorid-Aceton-(9:1) liess sich eine einheitliche Substanz eluieren, die auf der Dünnschichtplatte schneller als Hepta-O-acetyl-dihydroharpagid (**18**) wanderte und mit dem GODIN'schen Reagens eine rotviolette Färbung ergab. Aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan Kristalle vom Smp. 134–135°, $[\alpha]_D^{22} = -10,4^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 0,965$) (**19**).

$C_{25}H_{36}O_{13}$ (544,550) Ber. C 55,1 H 6,7 O 38,2% Gef. C 55,0 H 6,7 O 38,1%

³⁹⁾ In einem Vorversuch wurde die Lösung ohne vorherige Neutralisation eingedampft. Der Rückstand roch nach Essigsäure.

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Singulette bei 2,07; 2,04; 2,03 ppm (je 3 H) und 2,00 ppm (6 H): 5 O-Acetylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Bromierung von Harpagid (12) in Methanol. 1,223 g getrocknetes Harpagid wurden in 40 ml abs. Methanol gelöst, auf 0° gekühlt, mit 12 g BaCO_3 und anschliessend mit einer Lösung von 643 mg Brom (= 120% d. Th.) in 90 ml Methanol versetzt und während 2 $\frac{1}{2}$ Std. im Dunkeln gerührt. Man entfärbte die gelbe Lösung mit 5 ml Tetralin, filtrierte durch Talk und dampfte ein. Der Rückstand wurde zwischen Wasser und Äther ausgeschüttelt; die wässrige Phase hinterliess beim Eindampfen 2,413 g farblosen Schaum, der im Dünnschichtchromatogramm, angefärbt mit dem GODIN'schen Reagens, einen violettbraunen Fleck (20) zeigte. Zur Entfernung von BaBr_2 wurde an 400 g Kieselgel chromatographiert; Chloroform-Äthanol-(3:2) diente als Elutionsmittel. Nach Abtrennen von 43 mg GODIN-negativem Material erschienen 975 mg reines Methoxybromid 20 als farbloser Schaum. Anschliessend folgten 752 mg Gemisch, in denen das Epoxid 28 angereichert war, sowie 211 mg reines Epoxid 28 als farbloser Schaum. Die Reaktionsprodukte liessen sich nicht kristallisieren.

a) *Methoxybromid 20:* $[\alpha]_D^{21} = -49,2^\circ \pm 3^\circ$ (Methanol, $c = 0,930$). – NMR.-Spektrum (D_2O): Singulett bei 3,62 ppm (3 H): O-Methylgruppe; weitere Signale siehe in Tabelle 1.

b) *Epoxid 28:* $[\alpha]_D^{21} = -41,6^\circ \pm 3^\circ$ (Methanol, $c = 1,095$). – NMR.-Spektrum (D_2O): Singulett bei 3,65 ppm (3 H): O-Methylgruppe; Dublett bei 4,87 ppm ($J = 7$ Hz): H an C-1'. Weitere Signale siehe in Tabelle 1.

Acetylierung des Methoxybromids 20. 250 mg rohes Methoxybromid (BaBr_2 -haltig) wurden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 10 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 4 Tage bei 40° stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung lagen 231 mg Schaum vor. Sie wurden an 100 g Kieselgel chromatographiert; Chloroform-Äthanol-(24:1) diente als Elutionsmittel. Man fasste 176 mg einheitliches Material: aus Methanol-Äther/Pentan 88 mg Kristalle vom Smp. 201–208° (21), identisch mit dem unten beschriebenen Präparat, sowie 41 mg polarere Anteile.

Acetylierung des Epoxids 28. 190 mg Epoxid wurden in 10 ml Pyridin gelöst, mit 10 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 3 Tage stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung lagen 246 mg Schaum vor. Sie wurden an 50 g Kieselgel chromatographiert. Chloroform-Äthanol-(99:1) eluierte 132 mg Hexa-O-acetyl-epoxid 29; aus Essigester-Äther/Pentan zweimal kristallisiert: 51 mg Kristalle vom Smp. 133–135°⁴⁰⁾ (29, identisch mit dem unten beschriebenen Präparat).

In den späteren Fraktionen (hauptsächlich mit Chloroform-Äthanol-(49:1) eluiert) folgten 46 mg eines polareren Nebenprodukts, aus Essigester-Äther/Pentan 35 mg Kristalle vom Smp. 174–175°. Es handelte sich auf Grund des NMR.-Spektrums (CDCl_3) um das 6,2', 3', 4', 6'-Penta-O-acetyl-derivat von 28: 5 Acetyl-Singulette bei 2,12; 2,09; 2,08; 2,07 und 2,05 ppm (je 3 H); Singulett der tert. Hydroxylgruppe bei 2,58 ppm; Singulett der C-Methylgruppe bei 1,34 ppm; Singulett bei 3,39 ppm (1 H): H an C-4; 5,4–4,7 ppm (7 H, komplex): H an C-1, -3, -6, -1', -2', -3' und -4'.

Hexa-O-acetyl-epoxid 29 aus dem Hexa-O-acetyl-methoxybromid 21. 501 mg Methoxybromid 21 wurden in 10 ml Formamid gelöst, 1 Std. auf 100° gehitzt, 4 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen und zwischen Wasser und Methylenchlorid ausgeschüttelt. Der Rückstand der organischen Phase, 460 mg, wurde an 100 g Kieselgel chromatographiert. Chloroform-Äthanol-(97:3) eluierte zuerst 32 mg Ausgangsmaterial, anschliessend 385 mg Gemisch, in dem das Epoxid 29 angereichert war. Eine zweite Chromatographie an Kieselgel (Elution mit Chloroform-Äthanol-(49:1)) und Kristallisation aus Essigester/Pentan ergaben 152 mg Kristalle vom Smp. 137–140°, $[\alpha]_D^{21} = +3,3^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,000$) (29).

$\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{O}_{17}$ (646,595) Ber. C 52,0 H 5,9 O 42,1% Gef. C 51,9 H 5,8 O 42,1%

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Multipllett (18 H) bei ca. 2,1 ppm: 6 O-Acetylgruppen. Singulett (3 H) bei 3,60 ppm: O-Methylgruppe. Dublett (2 H, $J = 4$ Hz) bei 4,26 ppm: 2 H an C-6'. Multipllett bei ca. 3,8 ppm: H an C-5'. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Die Substanz war auf Grund von Smp., Mischprobe, Rf-Wert, GODIN'scher Farbreaktion und NMR.-Spektrum identisch mit dem oben beschriebenen Präparat 29.

⁴⁰⁾ Gelegentlich auch Smp. 67-ca. 195° (aus Essigester-Äther/Pentan), Smp. 73–78° (aus Tetrachlorkohlenstoff-Äther/Pentan) oder Smp. 206–210° (aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan).

Bromierung von Hexa-O-acetyl-harpagid (13). – a) *In Methanol:* 992 mg Hexa-O-acetyl-harpagid wurden in 20 ml Methylenchlorid-Methanol-(4:1) gelöst, auf 0° gekühlt, mit 7 g BaCO₃ versetzt und im Dunkeln unter Rühren mit einer Lösung von 309 mg Brom in 42 ml Methanol versetzt. Nach 30 Min. wurde durch Talk filtriert und das Filtrat zwischen Methylenchlorid und den wässerigen Lösungen von KHCO₃ (10%), Na₂S₂O₃ (0,1N) und Na₂SO₄ (gesättigt) ausgeschüttelt. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 1,200 g farblosen Schaum. Aus Essigester-Äther/Pentan 728 mg Kristalle vom Smp. 190–196°; nach Umkristallisieren aus Aceton-Tetrachlorkohlenstoff/Pentan 637 mg Kristalle vom Smp. 203° (**21**), $[\alpha]_D^{21} = -20,3^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,755$).

C ₂₈ H ₃₀ O ₁₇ Br	Ber. C 46,2	H 5,4	O 37,4	Br 11,0	OCH ₃ 4,3%
(727,512)	Gef. „ 46,5	„ 5,4	„ 37,1	„ 11,0	„ 4,3%

NMR.-Spektrum (CDCl₃): Singulette bei 2,10 und 2,03 ppm (je 6 H), 2,04 und 2,00 ppm (je 3 H): 6 O-Acetylgruppen. Singulett bei 3,49 ppm (3 H): O-Methylgruppe; bei 3,14 ppm (1 H): tert. Hydroxylgruppe. Multipllett bei ca. 4,25 ppm (2 H): 2 H an C-6'; bei ca. 3,8 ppm (1 H): H an C-5'. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Die Substanz war auf Grund von Smp., Mischprobe, Rf-Wert, GODIN'scher Farbreaktion und IR.-Spektrum identisch mit dem oben beschriebenen Präparat **21**.

b) *In Dioxan-Wasser:* 617 mg Hexa-O-acetyl-harpagid (**13**) wurden in 30 ml Dioxan gelöst, mit 4 ml Wasser und 5 g BaCO₃ versetzt, gerührt und auf 0° gekühlt. Man gab unter Lichtausschluss tropfenweise eine Lösung von 0,051 ml Brom in 1 ml Dioxan zu. Nach 30 Min. wurde filtriert, das farblose Filtrat in 50 ml Methylenchlorid aufgenommen und gegen 10-proz. KHCO₃-, 0,1N Na₂S₂O₃-, 5-proz. KJ- (angesäuert mit H₃BO₃), 0,1N Na₂S₂O₃-Lösung und Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 768 mg hellgelben Schaum. Aus Methylenchlorid/Tetrachlorkohlenstoff 590 mg Kristalle vom Smp. 134–139°; nach Umkristallisieren aus demselben Lsgm.-Gemisch 401 mg Kristalle vom Smp. 153–155°⁴¹), $[\alpha]_D^{21} = -33,8^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,280$) (**22**).

C ₂₇ H ₃₇ O ₁₇ Br	Ber. C 45,5	H 5,2	O 38,1	Br 11,2%
(713,485)	Gef. „ 45,5	„ 5,2	„ 38,2	„ 11,3%

NMR.-Spektrum (CDCl₃): 2 Singulette bei 2,11 und 2,02 ppm (je 9 H): 6 O-Acetylgruppen. Singulett bei 3,23 ppm (1 H): tert. Hydroxylgruppe. Multipllett bei ca. 4,25 ppm (2 H): 2 H an C-6'; Multipllett bei ca. 3,8 ppm (1 H): H an C-5'. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Aus den Mutterlaugen liess sich durch Chromatographie ein zersetzliches Nebenprodukt isolieren, dessen Rf-Wert ungefähr der oben erwähnten Substanz **22** entsprach, das ebenfalls bei 153° (aus Methylenchlorid/Tetrachlorkohlenstoff-Pentan) schmolz, das aber bei der Mischprobe mit **22** eine deutliche Depression zeigte. $[\alpha]_D^{21} = -22^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform, $c = 0,355$). Das NMR.-Spektrum, im grossen Ganzen ähnlich, zeigte gewisse charakteristische Unterschiede in der Resonanzlage einzelner Signale. Es dürfte sich um ein Isomeres von **22** (OH in 3α-, Br in 4β-Stellung?) handeln.

Acetylierung des Hexa-O-acetyl-hydroxybromids 22. 45 mg Hydroxybromid **22** wurden in 5 ml Pyridin gelöst, mit 5 ml Essigsäureanhydrid versetzt und zwei Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach üblicher Aufarbeitung lagen 26 mg Schaum vor. Aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan 18 mg Kristalle vom Doppel-Smp. 85–87°/164–167°, nach einstündigem Trocknen bei 75° im Hochvakuum Smp. 165–167°, $[\alpha]_D^{21} = -15,6^\circ \pm 4^\circ$ (Chloroform, $c = 0,515$) (**23**); identisch mit dem unten beschriebenen Präparat.

Bromierung von Hepta-O-acetyl-harpagid (14). – a) *In Dioxan-Wasser:* 659 mg Hepta-O-acetyl-harpagid wurden in 40 ml Dioxan gelöst, mit 4 ml Wasser und 5 g BaCO₃ versetzt und auf 0° gekühlt. Unter Rühren tropfte man im Dunkeln langsam 0,062 ml Brom zu. Nach 15 Min. wurde das Eisbad entfernt, nach 2 Std. wurde filtriert und das Filtrat zwischen Methylenchlorid und den wässerigen Lösungen von KHCO₃ und Na₂S₂O₃ ausgeschüttelt. Beim Einengen der organischen Phase blieb als Rückstand ein klebriger gelber Schaum, der im Dünnschichtchromatogramm (Silicagel/Methylenchlorid-Aceton-(93:7)) drei Flecke (Rf-Werte: 0,35; 0,22 und 0,12)

⁴¹) In einem Parallelversuch wurden auch Smp. 128–134° (aus Benzol-Äther-Pentan) und Smp. 171–173° (aus Methylenchlorid/Tetrachlorkohlenstoff) beobachtet.

zeigte, von denen der langsamste (Rf 0,12)⁴²⁾ am stärksten war. Das Gemisch, 777 mg, wurde an 40 g desaktiviertem Silicagel (Wassergehalt 10%) chromatographiert. Mit Benzol-Methylenchlorid-(1:4) und -(1:9) erschienen 519 mg Schaum, Rf-Wert 0,35. Methylenchlorid und Methylenchlorid-Aceton-(19:1) eluierten 224 mg Material vom Rf-Wert 0,22; Methylenchlorid-Aceton-(19:1) und -(9:1) wuschen 37 mg Mischfraktionen aus, deren Hauptbestandteil den Rf-Wert 0,12 besass. Die Fraktionen des Hauptprodukts (519 mg, Rf 0,35) kristallisierten aus Äther und ergaben 441 mg Kristalle vom Smp. 98–100°. Es handelte sich um ätherhaltige Kristalle des Acetoxybromids **23**⁴³⁾.

$C_{29}H_{39}O_{18}Br + 0,5 C_4H_{10}O$	Ber. C 47,0	H 5,6	O 37,3	Br 10,1%
(792,584)	Gef. „ 46,7	„ 5,6	„ 37,5	„ 10,4%

Um ein ätherfreies Präparat zu gewinnen, wurden die Kristalle (808 mg, aus verschiedenen Ansätzen vereinigt) an 40 g desaktiviertem Silicagel chromatographiert. Benzol-Methylenchlorid-(2:3) bis -(1:9) und reines Methylenchlorid eluierten 563 mg einheitlichen Schaum (Rf 0,35). Aus Tetrachlorkohlenstoff 436 mg Kristalle vom Smp. 168° (**23**), $[\alpha]_D^{21} = -14,9^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 0,930$).

$C_{29}H_{39}O_{18}Br$	Ber. C 46,1	H 5,2	O 38,1	Br 10,6%
(755,522)	Gef. „ 45,9	„ 5,3	„ 38,3	„ 10,3%

NMR.-Spektrum (CDCl₃): Singulette bei 2,20; 2,11; 2,10; 2,08; 2,03; 2,02 und 2,01 ppm (je 3 H): 7 O-Acetylgruppen. Singulett bei 3,24 ppm (1 H): tert. Hydroxylgruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Das Präparat war auf Grund von Smp., Mischprobe, Rf-Wert, optischer Drehung und IR.-Spektrum mit der oben erwähnten Substanz **23** (dargestellt durch Acetylierung von **22**) identisch.

Das Nebenprodukt vom Rf-Wert 0,22 zersetzte sich bei der Isolierung; die Substanz vom Rf-Wert 0,12⁴²⁾ konnte nicht isoliert werden.

b) In Methanol: 200 mg Hepta-O-acetyl-harpagid (**14**) wurden in 12 ml Methanol-Chloroform-(5:1) gelöst, auf 0° gekühlt, mit 2 g BaCO₃ versetzt und gerührt. Man fügte unter Lichtausschluss tropfenweise eine Lösung von 0,016 ml Brom in 7 ml Methanol zu. Nach 1½ Std. wurde filtriert, das farblose Filtrat zwischen Methylenchlorid und KHCO₃-, Na₂S₂O₃-Lösung und Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 230 mg farblosen Schaum (einheitlich), dessen Rf-Wert (Silicagel/Methylenchlorid-Aceton-(93:7)) etwas grösser war als der des Ausgangsmaterials. Die Kristallisation gelang nicht (**26**).

$C_{30}H_{41}O_{18}Br$	Ber. C 46,8	H 5,4	O 37,4	Br 10,4	OCH ₃ 4,0%
(769,549)	Gef. „ 46,5	„ 5,4	„ 36,9	„ 10,6	„ 3,9%

NMR.-Spektrum (CDCl₃): 5,9–4,8 ppm (7 H, komplex): H an C-1, -3, -6, -1', -2', -3' und -4'. 4,6–3,5 ppm (4 H): H an C-4, C-5' und 2 H an C-6'. 3,3–3,0 ppm (2 starke Singulette bei 3,29 und 3,25 ppm, 2 schwache Singulette bei 3,14 und 3,00 ppm, zusammen 3 H): O-Methylgruppe⁴⁴⁾. 2,7–1,8 ppm (21 H): 6 O-Acetylgruppen, H an C-9 und 2 H an C-7. 1,7–1,4 ppm (Singulette bei 1,64; 1,59; 1,55 und 1,42 ppm, zusammen 6 H): C-Methylgruppe der Orthoacetat-Gruppierung⁴⁴⁾ und Methylgruppe an C-8. Total: 41 H-Atome.

Nach Chromatographie an 100 g Kieselgel traten drei Stoffe auf. Methylenchlorid-Aceton-(23:2) eluierte 96 mg Schaum (Orthoacetat **26**); mit Methylenchlorid-Aceton-(9:1) folgten 10 mg Gemisch und 40 mg Acetoxybromid **23**, das aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan 27 mg Kristalle vom Smp. 164–166° ergab. Das Präparat war auf Grund von Smp., Mischprobe, Rf-Wert und NMR.-Spektrum identisch mit der oben beschriebenen Verbindung. Mit Methylenchlorid-Aceton-Gemischen höheren Acetongehalts folgten 53 mg Gemisch, in denen ein leicht zersetzliches Nebenprodukt angereichert war.

⁴²⁾ Vermutlich das Orthoacetat **25**.

⁴³⁾ Im NMR.-Spektrum (CDCl₃) waren die für Äthyläther charakteristischen Signale bei 1,20 (Triplet, $J = 7$ Hz) und 3,49 ppm (Quadruplett, $J = 7$ Hz) im Intensitätsverhältnis 3:2 festzustellen. Aus der Intensität der Äther-Signale gegenüber den Signalen von **23** berechnet man ca. 0,5 Mol Äther pro Mol Acetoxybromid.

⁴⁴⁾ Der Sechsring des Aglykongerüsts kann in zwei verschiedenen Konformationen, der Sechsring der Orthoacetat-Gruppierung in zwei verschiedenen Konfigurationen mit je zwei Konformationen auftreten.

c) *In Äthanol*: 132 mg Hepta-O-acetyl-harpagid (**14**) wurden in 15 ml Äthanol gelöst, gerührt, bei 0° mit 3 g BaCO₃ und anschliessend mit einer Lösung von 0,011 ml Brom in 2 ml Äthanol versetzt und gleich aufgearbeitet wie oben. Das Reaktionsprodukt, 148 mg einheitlicher Schaum (**27**), wurde an 7,5 g desaktiviertem Silicagel (Wassergehalt 10%) chromatographiert. Mit Benzol-Methylenchlorid-(1:1) liessen sich 112 mg amorphes Orthoacetat **27** eluieren, anschliessend folgten 22 mg Gemisch, die u. a. das Acetoxybromid **23** enthielten. Das NMR.-Spektrum des Hauptprodukts (**27**) stimmte im wesentlichen mit dem des Methoxyorthoacetats **26** überein, nur dass die Signale der O-Methylgruppe fehlten und an ihrer Stelle ein Triplett bei 1,16 ppm (3 H, $J = 7$ Hz) und ein Quadruplett bei 3,55 ppm (2 H, $J = 7$ Hz) als Signale der O-Äthylgruppe erschienen.

d) *In Chloroform*: 659 mg Hepta-O-acetyl-harpagid (**14**) wurden in 10 ml trockenem, alkoholfreiem Chloroform gelöst und bei 0° langsam mit einer Lösung von 240 mg Brom (= 150% d. Th.) in 10 ml abs. Chloroform versetzt. Die Entfärbung erfolgte anfänglich fast momentan. Nach 1/2 Std. wurde die hellbraune Lösung eingedampft und der Rückstand in 20 ml abs. Dioxan aufgenommen. 18 ml dieser Lösung wurden zu einer Aufschlammung von BaCO₃ in 24 ml Dioxan-Wasser-(5:1) getropft. Nach 30 Min. wurde filtriert und zwischen Methylenchlorid und KHCO₃-, Na₂S₂O₃-Lösung und Wasser ausgeschüttelt. Der Rückstand der organischen Phase ergab bei der Kristallisation aus Äther 216 mg farblose Kristalle vom Smp. 96–98°, nach einstündigem Trocknen bei 90° im Hochvakuum Doppel-Smp. 99–101°/ca. 175° (Zers.). Es handelte sich um das Ätherat des Acetoxybromids **23**. Das Material war auf Grund von Smp., Mischprobe, Rf-Wert, optischer Drehung und NMR.-Spektrum identisch mit dem oben beschriebenen Präparat **23**.

Acetylierung des Acetoxybromids 23. 200 mg Acetoxybromid wurden in 10 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) gelöst, 2 Tage bei 40°, anschliessend 5 Tage bei 50° und schliesslich 2 Tage bei 60° stehengelassen. Im Dünnschichtchromatogramm waren jetzt zwei Flecke nachweisbar. Nach üblicher Aufarbeitung liessen sich aus der organischen Phase 226 mg Schaum gewinnen. Sie wurden an 200 g Kieselgel chromatographiert. Methylenchlorid-Aceton-(9:1) eluierte zuerst 135 mg Schaum vom Rf-Wert 0,43 (Silicagel/Methylenchlorid-Aceton-(93:7)), nachher 51 mg Ausgangsmaterial (Rf 0,35). Das Reaktionsprodukt (Rf 0,43) kristallisierte aus Tetrachlorkohlenstoff und ergab 221 mg Kristalle vom Smp. 170–172° (**24**), $[\alpha]_D^{21} = -22,6^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,115$).

C ₃₁ H ₄₁ O ₁₉ Br	Ber. C 46,7	H 5,2	O 38,1	Br 10,0%
(797,559)	Gef. „ 46,4	„ 5,2	„ 37,6	„ 10,1%

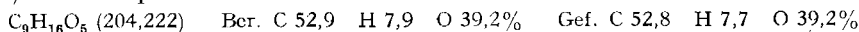
NMR.-Spektrum (CDCl₃): Singulette bei 2,22; 2,15; 2,08; 2,03; 2,02 und 1,98 ppm (je 3 H), 2,09 ppm (6 H): 8 O-Acetylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Saure Hydrolyse von Dihydroharpagid (15). 1,001 g Dihydroharpagid wurden in 50 ml 0,1N wässriger Salzsäure gelöst und 4 Std. auf 35° erwärmt. Man neutralisierte mit Ag₂CO₃, filtrierte durch Talk und konzentrierte das Filtrat auf die Hälfte. Nach Einleiten von H₂S und Zugabe von Tierkohle filtrierte man durch Talk und engte das Filtrat ein. Der Rückstand, ein gelber Sirup, wurde in Alkohol gelöst und mit Tierkohle aufgekocht. Nach Filtration und Eindampfen lagen 957 mg farbloser Sirup vor, die im Dünnschichtchromatogramm einen schwachen und drei starke Flecke zeigten. Durch Verteilungschromatographie zwischen Wasser (bzw. wassergesättigtem Silicagel und wasserbeladenem Diatomitstein [20]) und Essigester-Äthanol-(17:3) gelang die Anreicherung der einzelnen Reaktionsprodukte. Aus 100 mg Reaktionsgemisch, die an 36 g Silicagel (beladen mit 47 ml Wasser) chromatographiert wurden, liessen sich die folgenden Präparate abtrennen: 1. 7 mg Vorfraktionen, 2. 14 mg Nebenprodukt⁴⁶⁾, 3. 39 mg Dihydroharpagenin (**30**), identisch mit dem unten beschriebenen Präparat, und 4. 41 mg D-Glucose (**6**).

Enzymatische Hydrolyse von Dihydroharpagid (15). – a) *Mit Schneckenferment*: 3,00 g Dihydroharpagid wurden in 100 ml Wasser gelöst und mit 15 ml Schneckenferment (Hepatopankreas-Saft der Weinbergschnecke, *Helix pomatia*, [23]) versetzt. Das Gemisch hatte pH 5,5. Man überschichtete mit 5 ml Toluol und liess 3 Tage bei 35° stehen. Dann rührte man die Lösung in 800 ml siedenden Alkohol, fügte 10 g Celite 545 hinzu, filtrierte durch Celite 545 und dampfte ein. Der Rückstand wurde mehrmals mit Benzol hochgezogen, in 500 ml heissem Alkohol gelöst, 15 Min. mit Tierkohle geschüttelt, filtriert und eingedampft. Der Rückstand, 3,24 g farbloser Sirup, zeigte im Dünnschichtchromatogramm zwei Flecke. Er wurde an 450 g Kieselgel mit Chloroform-Ätha-

⁴⁶⁾ Vermutlich 1-*epi*-Dihydroharpagenin.

nol-(1:1) chromatographiert. Nach 78 mg Vorfraktionen erschien 1361 mg Dihydroharpagenin (**30**), anschliessend 163 mg eines Nebenprodukts und 1304 mg glucosehaltige Fraktionen. Die Fraktionen, die nur den Fleck des Dihydroharpagenins zeigten (9,088 g aus verschiedenen Ansätzen vereinigt), wurden aus Aceton kristallisiert und ergaben 2,811 g Kristalle vom Smp. 123–126°, nach Umkristallisieren aus Methanol-Benzol 1,399 g Kristalle vom Smp. 126–128°, $[\alpha]_D^{25} = -33,0^\circ \pm 2^\circ$ (Wasser, $c = 1,125$) (**30**). NMR.-Spektrum siehe in Tabelle 1. Die FEHLING-, bzw. BENEDICTSCHE⁴⁶⁾ Probe war positiv.



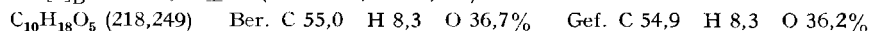
Aus den Mutterlaugen liessen sich nach Chromatographie weitere Mengen an Dihydroharpagenin gewinnen sowie zwei Nebenprodukte, die sich rasch zersetzten. Das eine dieser Nebenprodukte zeigte im NMR.-Spektrum das Signal einer freien Aldehydgruppe (Singulett bei 10,00 ppm in D₂O).

Aus 12,5 g Zuckerfraktionen (aus verschiedenen Ansätzen vereinigt) gewann man nach zweimaligem Chromatographieren 3,15 g D-Glucose (**6**) vom Smp. 143–148°, $[\alpha]_D^{25} = +42,3^\circ \pm 2^\circ$ (Wasser, $c = 1,275$, nach 30 Std.).

b) *Mit Emulsin*: 23,6 g Dihydroharpagid (**15**) wurden in 575 ml wässrigem Acetatpuffer (pH 5, 0,02M) gelöst, mit 11,8 g Emulsin versetzt und unter gelindem Rühren 3 Tage bei 36° stehengelassen. Die Lösung wurde in 1 l siedendes Äthanol gegossen, mit 50 g Celite 545 vermischt, 30 Min. bei 80° gehalten, abgekühlt und durch Celite 545 filtriert. Das Filtrat wurde eingengt, mit Benzol mehrmals hochgezogen, in Äthanol aufgenommen und mit Tierkohle geschüttelt. Nach Filtration und Eindampfen lagen 22,9 g klebriger Schaum vor. Die Chromatographie an 1 kg Kieselgel (Elution mit Chloroform-Äthanol-(7:3) und -(3:2)) trennte in 8,740 g Dihydroharpagenin-Fraktionen und 10,314 g Zuckerfraktionen (D-Glucose angereichert) auf. Die Fraktionen des Aglykons wurden an 1 kg Kieselgel mit Chloroform-Methanol-Wasser-(14:5:1) nachchromatographiert und ergaben 1,848 g Gemisch (Dihydroharpagenin und Nebenprodukt, siehe unten) sowie 6,215 g reines Dihydroharpagenin (**30**): aus Aceton/Äther 4,600 g Kristalle vom Smp. 126–127°. Aus den Gemisch-Fraktionen liessen sich 255 mg Kristalle eines zersetzlichen Nebenprodukts abtrennen, Smp. 154–156° (aus Äthanol/Äther-Pentan). Das NMR.-Spektrum (D₂O) deutete auf ein Gleichgewichtsgemisch zwischen 8:9-Anhydro-dihydroharpagenin, dessen an C-1 Anomerem (je ca. 10%) und dem Stoff, der durch Öffnung des Lactolrings entsteht (ca. 80%): Singulett der C-Methylgruppe (an einer Doppelbindung!) bei 2,23 ppm (3 H); 4 weitere Protonenresonanzen (komplex) zwischen 2,9 und 1,7 ppm (je 2 H an C-4 und C-7); 4,4–3,3 ppm (3 H); 2 H an C-3 und H an C-6; Singulett bei 9,97; 5,82 und 5,41 ppm (zusammen 1 H): H an C-1 (Aldehydgruppe, bzw. H der Cyclohalbacetal-Gruppierung); total 11 C-Protonen. 3 O-Protonen als 3 HDO bei 4,77 ppm.

Saure Methanolyse von Dihydroharpagid (15). 1009 mg Dihydroharpagid wurden in 10 ml Methanol gelöst und mit 10 ml Methanol-Methansulfonsäure-(9:1) versetzt. Nach 5 Min. wurde mit 20 ml Methanol verdünnt und mit 4 g BaCO₃ neutralisiert. Im Dünnschichtchromatogramm, angefärbt mit GODIN'schem Reagens, waren etwas Ausgangsmaterial und zwei Substanzen mit grösserem R_f-Wert nachweisbar, von denen die schnellere erst gegen Ende der Reaktionsperiode auftrat. Das Gemisch wurde filtriert, das Filtrat eingedampft und an 200 g Kieselgel chromatographiert. Mit Chloroform-Äthanol-(9:1) als Elutionsmittel erschienen zuerst 26 mg Vorfraktionen, anschliessend 83 mg einheitliches 1α-O-Methyl-dihydroharpagenin (**37**), 102 mg Gemisch der beiden Anomeren und 286 mg einheitliches 1β-O-Methyl-dihydroharpagenin (**35**). Die beiden Reaktionsprodukte liessen sich durch Chromatographie mit Chloroform-Methanol-Wasser-(72:7:1) weiter reinigen und konnten schliesslich kristallisiert werden. In Lösung wandelten sich die beiden 1-O-Methyl-dihydroharpagenine langsam ineinander um.

a) *1β-O-Methyl-dihydroharpagenin (35)*: Smp. 75–79° (aus Tetrachlorkohlenstoff/Pentan), zersetzlich. $[\alpha]_D^{24} = -77,6^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol, $c = 0,985$).



⁴⁶⁾ Das BENEDICT'sche Reagens [24] eignet sich vorzüglich zum Anfärben von Dünnschichtchromatogrammen: 17,3 g Natriumcitrat + 10,0 g Soda in etwas Wasser lösen, eine Lösung von 1,73 g CuSO₄ · 5H₂O in etwas Wasser dazu, mit Wasser auf 100 ml auffüllen. Dünnschichtplatte besprühen, 5 Min. auf 100° heizen: Cyclohalbacetale (und andere «FEHLING-positive» Substanzen) ergeben kupferrote Flecke. Erfassungsgrenze: ca. 25 µg Glucose.

NMR.-Spektrum (D_2O): Singulett bei 3,41 ppm (3 H): O-Methylgruppe. Singulett bei 4,73 ppm (3 H): 3 HDO aus 3 Hydroxylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 1.

b) *1 α -O-Methyl-dihydroharpagenin (37)*: Smp. 100° (aus Äther/Pentan), ohne Zersetzung sublimierbar, hygroskopisch. $[\alpha]_D^{22} = +85,7^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol, $c = 0,950$).

$C_{10}H_{18}O_5 + 0,2 H_2O$ (221,852) Ber. C 54,1 H 8,4 O 37,5% Gef. C 54,3 H 8,4 O 37,7%

NMR.-Spektrum (D_2O): Singulett bei 3,35 ppm (3 H): O-Methylgruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 1.

Tosylierung der beiden 1-O-Methyl-dihydroharpagenine. – a) *6-O-Tosyl-1 β -O-methyl-dihydroharpagenin (36)*: 500 mg 1β -O-Methyl-dihydroharpagenin (**35**) wurden in 20 ml Pyridin gelöst, mit 1,745 g *p*-Toluolsulfonsäurechlorid versetzt und 18 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Man gab 80 ml Essigester und 20 ml wässrige 10-proz. $KHCO_3$ -Lösung zu, schüttelte das Gemisch 15 Min. und verteilte anschließend zwischen Essigester und 10-proz. $KHCO_3$, 2N HCl-, 10-proz. $KHCO_3$ -Lösung und Wasser. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 765 mg Schaum. Sie wurden an 700 g Kieselgel (Elution: wassergesättigtes Isopropylacetat) chromatographiert und lieferten 27 mg Vorfraktionen, 138 mg Gemisch, das aus **36** + wenig **38** bestand, 514 mg einheitliches 6-O-Tosylderivat **36** und 154 mg Nachfraktionen. 276 mg des einheitlichen Tosylderivats **36** ergaben nach zweimaliger Kristallisation aus Äther/Pentan 188 mg Kristalle vom Smp. 96–98°, $[\alpha]_D^{21} = -34,9^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,000$). Das Präparat zersetzte sich im Laufe der Zeit.

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Dublette bei 7,82 und 7,35 ppm (je 2 H, $J = 8,5$ Hz): 4 H des *p*-Tosylrests. Singulett bei 3,40 ppm (3 H): O-Methylgruppe. 3,5–3,0 ppm (2 H): 2 Hydroxylgruppen. Singulett bei 2,46 ppm (3 H): Methylgruppe des Tosylrests. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

b) *6-O-Tosyl-1 α -O-methyl-dihydroharpagenin (38)*: 50 mg Gemisch der beiden 1-O-Methyl-dihydroharpagenine (**35** und **37**) wurden in 2 ml Pyridin gelöst, mit 175 mg *p*-Toluolsulfonsäurechlorid versetzt und 1 Tag stehengelassen. Man arbeitete wie oben auf und erhielt 81 mg rohes Gemisch. Die Chromatographie an 80 g Kieselgel (Elution mit wassergesättigtem Isopropylacetat) ergab 5 mg Vorfraktionen, 24 mg einheitliches Tosylderivat **38**, 7 mg Gemisch und 28 mg einheitliches Tosylderivat **36**, identisch mit dem oben beschriebenen Präparat. Die Substanz **38** kristallisierte aus Methanol-Äther/Pentan: 23 mg Kristalle vom Smp. 124–126°, Zersetzung innert weniger Tage.

Dihydroharpagenon (31). 204 mg kristallisiertes Dihydroharpagenin (**30**) wurden in 2,5 ml Wasser gelöst. Unter Rühren wurden 200 mg $BaCO_3$ und 0,050 ml Brom hinzugefügt. Nach 10 Min. war die Mischung farblos. Man gab 5 ml Aceton zu, filtrierte durch Talk und dampfte das Filtrat ein. Die Chromatographie an 200 g Kieselgel (Elution: Chloroform-Äthanol-(7:3)) brachte zuerst 37 mg Nebenprodukt (**32**), anschließend 133 mg Dihydroharpagenon (**31**). In den späteren Fraktionen (55 mg) waren Dihydroharpagenon und Ausgangsmaterial nachweisbar. Nach Behandeln mit Tierkohle in Äthanol liessen sich 123 mg farbloser Sirup gewinnen (**31**). $[\alpha]_D^{22} = -7,9^\circ \pm 2^\circ$ (Wasser, $c = 1,150$).

$C_9H_{14}O_5 + 0,7 H_2O$ (214,816) Ber. C 50,3 H 7,2 O 42,5% Gef. C 50,1 H 7,2 O 41,9%

NMR.-Spektrum siehe Tabelle 1. – IR.-Spektrum (Sirup): Absorption bei 1700 cm^{-1} (δ -Lacton).

5:9-Anhydro-dihydroharpagenon (32). Eine Lösung von 689 mg Dihydroharpagenon (**31**) in 10 ml Äthanol wurde mit 40 ml Chloroform verdünnt. Man gab 15 g Kieselgel zu und liess 1 Tag bei 50° stehen. Nach Filtration und Einengen lagen 523 mg Sirup vor. Die Chromatographie an 150 g Kieselgel brachte mit Chloroform-Äthanol-(19:1) bis -(17:3) 47 mg Nebenprodukte. Mit Chloroform-Äthanol-(4:1) folgten 310 mg einheitlicher Sirup (**32**). Die späteren Fraktionen enthielten etwas Ausgangsmaterial. Die 310 mg Sirup ergaben aus Essigester-Äther-Pentan 223 mg einheitliche Kristalle vom Smp. 141–143°, $[\alpha]_D^{23} = +134^\circ \pm 2^\circ$ (Methanol, $c = 1,125$); weitere Kristalle aus der Mutterlauge.

$C_9H_{12}O_4$ (184,191) Ber. C 58,7 H 6,6 O 34,7% Gef. C 58,7 H 6,4 O 34,3%

NMR.-Spektrum (D_2O): Singulett bei 4,77 ppm (2 H): 2 HDO aus 2 Hydroxylgruppen; weitere Signale siehe in Tabelle 1. – UV.-Spektrum (Methanol): λ_{max} bei 217 nm ($\log \epsilon = 3,92$).

Acetylierung von 5:9-Anhydro-dihydroharpagenon (32). – a) *6-O-Acetyl-5:9-anhydro-dihydroharpagenon (33)*: 150 mg Anhydro-dihydroharpagenon wurden in 1,5 ml Pyridin gelöst, mit 1,5 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 4 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen. Die Lösung wurde bei 35° im Hochvakuum eingedampft; der Rückstand wurde sofort an 50 g Kieselgel chromatographiert. Chloroform-Äthanol-(97:3) eluierte 13 mg Vorfraktionen und 158 mg 6-O-Acetyl-anhydro-dihydroharpagenon (**33**) als farblosen Sirup. Das Präparat zersetzte sich im Laufe der Zeit.

$C_{11}H_{14}O_5$ (226,228) Ber. C 58,4 H 6,2 O 35,4% Gef. C 58,2 H 6,3 O 35,6%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulett bei 2,12 ppm (3 H): O-Acetylgruppe. Ca. 3,1 ppm (1 H, breit): Hydroxylgruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

Führte man die Acetylierung bei 0° durch, so entstanden innerhalb von 3 Tagen die beiden Acetylderivate **33** und **34** im Verhältnis 2:1.

b) *6,8-Di-O-acetyl-5:9-anhydro-dihydroharpagenon (34)*: Liess man das Acetylierungsgemisch 3 Tage bei 35° stehen, so entstand 6,8-Di-O-acetyl-5:9-anhydro-dihydroharpagenon. Aus 98 mg Anhydro-dihydroharpagenon (**32**), gelöst in 10 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1), gewann man 142 mg Öl, nach Kristallisation aus Tetrachlorkohlenstoff-Pentan 118 mg Kristalle vom Smp. 130–132°, $[\alpha]_D^{25} = +153^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,015$) (**34**).

$C_{13}H_{16}O_6$ (268,265) Ber. C 58,2 H 6,0 O 35,8% Gef. C 58,2 H 6,1 O 36,1%

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulette bei 2,12 und 2,03 ppm (je 3 H): 2 O-Acetylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2. – UV.-Spektrum (Methanol): λ_{max} bei 212 nm ($\log \epsilon = 4,01$).

Dasselbe Produkt (**34**) entstand auch bei der Acetylierung von 6-O-Acetyl-5:9-anhydro-dihydroharpagenon (**33**) und von Dihydroharpagenon (**31**); nach Chromatographie Kristalle vom Smp. 134–136°, bzw. Smp. 131–132°.

Oxydationsversuche mit $NaJO_4$ (Glykolspaltung). Je 0,05 mMol der Substanzen wurde in etwas Wasser gelöst, mit 5,00 ml wässriger 0,1M $NaJO_4$ -Lösung und 1 Tropfen konz. Ammoniumhydroxidlösung versetzt und die Lösung mit Wasser auf 25 ml aufgefüllt. Nach 3, 6, 12, 30, 60, 90 Min. wurden Proben zu 2,5 ml entnommen, mit KJ-Lösung (Überschuss) und 500 mg H_3BO_3 versetzt und gegen 0,02N $Na_2S_2O_3$ -Lösung titriert. Die Titrationswerte wurden mit dem Thio-sulfat-Verbrauch einer Blindprobe verglichen. Dihydroharpagenin (**30**) verbrauchte innerhalb der ersten 3 Minuten 0,46 ml Thiosulfat (entspr. 0,92 Glykolgruppierung) weniger als die Blindprobe; anschliessend erfolgte eine langsame Überoxydation. Bei Dihydroharpagenon (**31**) blieb der Verbrauch an Thiosulfat von der 12. Minute an konstant: 0,45 ml \pm 0,02 ml Minderverbrauch gegenüber der Blindprobe (entspr. 0,90 Glykolgruppierung). Bei 1 α -O-Methyl-dihydroharpagenin (**37**) war nach 6 Min. ein Knickpunkt der Titrationskurve festzustellen; der Verbrauch an Thio-sulfat (0,62 ml weniger als bei der Blindprobe) entsprach 1,24 Glykolgruppierungen. Anhydro-dihydroharpagenon (**32**) und 6-O-Tosyl-1 β -O-methyl-dihydroharpagenin (**36**) waren gegen $NaJO_4$ resistent. Die Titrationskurve von Dihydroharpagid (**15**) zeigte keinen Knickpunkt (rasche Überoxydation).

5:6-0:0-Isopropyliden-1 β -O-methyl-dihydroharpagenin (39). 200 mg 1 β -O-Methyl-dihydroharpagenin (**35**) wurden in 1 ml Aceton gelöst, mit einer Lösung von 200 mg $SnCl_2$ in 1,2 ml Aceton versetzt und nach 1 Std. zwischen Chloroform und $KHCO_3$ -Lösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Der Rückstand wurde zweimal an Kieselgel chromatographiert, wobei Essigester und Essigester-Methanol-(99:1) 133 mg einheitliches Isopropylidenderivat **39** als farblosen Schaum eluierten. $[\alpha]_D^{25} = -63,8^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,135$).

NMR.-Spektrum ($CDCl_3$): Singulette bei 3,41 ppm (3 H): O-Methylgruppe; 3,08 ppm (1 H): tert. Hydroxylgruppe; 1,56 und 1,38 ppm (je 3 H): Isopropylidengruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

8-O-Acetyl-5:6-0:0-isopropyliden-1 β -O-methyl-dihydroharpagenin (40). 70 mg Isopropyliden-derivat **39** wurden in 3 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) gelöst und zwei Tage auf 80° geheizt. Nach üblicher Aufarbeitung liessen sich 72 mg öliges Material gewinnen. Nach Chromatographie an 100 g Kieselgel, Elution mit Essigester-Methanol-(99:1), lagen 61 mg einheitliches farbloses Öl vor, $[\alpha]_D^{24} = -38,6^\circ \pm 2^\circ$ (Chloroform, $c = 1,175$) (**40**).

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Singulette (je 3 H) bei 3,43 ppm: O-Methylgruppe; 2,05 ppm: O-Acetylgruppe; 1,56 und 1,36 ppm: Isopropylidengruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

5:6-0:0-Isopropyliden-1 α -O-methyl-dihydroharpagenin (**41**). 128 mg 1 α -O-Methyl-dihydroharpagenin (**37**) wurden in 0,65 ml Aceton gelöst und mit einer Lösung von 100 mg SnCl_2 in 0,6 ml Aceton versetzt. Nach 1 Std. wurde das Reaktionsgemisch mit Chloroform verdünnt, zwischen Chloroform und 10-proz. KHCO_3 -Lösung ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 105 mg hellgelbes Öl, das spontan kristallisierte. Nach Chromatographie an 120 g Kieselgel (Elution: Essigester-Methanol-(99:1)) und Sublimation im Hochvakuum bei 60° lagen 68 mg Kristalle vom Smp. 79–81° vor, $[\alpha]_D^{22} = +116^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,735$) (**41**).

$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}_6$ (258,314) Ber. C 60,4 H 8,6 O 31,0% Gef. C 60,2 H 8,3 O 31,2%

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Singulette bei 3,87 ppm (1 H): tert. Hydroxylgruppe; 3,32 ppm (3 H): O-Methylgruppe; 1,54 und 1,40 ppm (je 3 H): Isopropylidengruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

8-O-Acetyl-5:6-0:0-isopropyliden-1 α -O-methyl-dihydroharpagenin (**42**). 44 mg Isopropyliden-derivat **41** wurden in 1 ml Pyridin gelöst, mit 1 ml Essigsäureanhydrid versetzt und 1 Tag bei 100° stehengelassen. Man dampfte ein, schüttelte zwischen Essigester und 0,1N H_2SO_4 , 10-proz. KHCO_3 -Lösung und Wasser aus, chromatographierte den Rückstand der organischen Phase an 50 g Kieselgel mit Essigester als Elutionsmittel und erhielt 23 mg einheitliches Acetylderivat **42** als farbloses Öl, $[\alpha]_D^{24} = +92,1^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 0,820$).

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Singulette (je 3 H) bei 3,31 ppm: O-Methylgruppe; 2,01 ppm: O-Acetylgruppe; 1,50 und 1,37 ppm: Isopropylidengruppe. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

6:8,4':6'-Di-0:0-benzyliden-harpagid (**43**). 986 mg Harpagid (**12**) wurden in 30 ml Benzaldehyd gelöst, auf 0° gekühlt und mit 1 g SnCl_2 versetzt. Nach 2 Std. wurden 100 ml wässrige 2N Na_2CO_3 -Lösung zugesetzt. Die Mischung wurde zwischen Chloroform-Isopropylalkohol-(2:1) und 2N wässriger Sodalösung und Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase hinterliess beim Eindampfen 2,24 g Rückstand. Die Chromatographie an 500 g Kieselgel lieferte zuerst 327 mg Benzaldehyd, eluiert durch Isopropylacetat, und 34 mg Vorfraktionen. Mit Isopropylacetat-Methanol-(199:1) erschien 128 mg einheitliches Di-0:0-benzyliden-harpagid (**43**) als farbloser Schaum, $[\alpha]_D^{22} = -103^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform, $c = 0,650$). Die späteren Fraktionen enthielten u. a. Ausgangsmaterial und Benzoesäure.

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Ca. 7,45 ppm: 10 Phenyl-H. Singulette bei 5,98 und 5,49 ppm (je 1 H): Acetal-H der Benzylidenreste. Dublett bei 4,70 ppm (1 H, $J = 7$ Hz): H an C-1'. Ca. 4,0–2,8 ppm: 3 Hydroxylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

2',3'-Di-O-acetyl-6:8,4':6'-di-0:0-benzyliden-harpagid (**44**). 105 mg Di-0:0-benzyliden-harpagid (**43**) wurden in 4 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) gelöst. Im Dünnschichtchromatogramm war nach 5 Std. nur noch ein einziger Fleck nachweisbar. Man dampfte ein und chromatographierte den Rückstand an 100 g Kieselgel mit Benzol-Essigester-(17:3) als Elutionsgemisch. Nach 18 mg Vorfraktionen (verworfen) folgten 99 mg einheitliches Di-O-acetylderivat. Aus Tetrachlorkohlenstoff 91 mg Kristalle vom Smp. 218–220°, $[\alpha]_D^{22} = -145^\circ \pm 5^\circ$ (Chloroform, $c = 0,450$) (**44**).

$\text{C}_{33}\text{H}_{36}\text{O}_{12}$ (624,639) Ber. C 63,5 H 5,8 O 30,7% Gef. C 63,7 H 5,8 O 30,4%

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Ca. 7,4 ppm: 10 Phenyl-H. Singulette bei 6,00 und 5,51 ppm (je 1 H): Acetal-H der Benzylidenreste. 4,6–4,2 ppm: H an C-4'. 4,0–3,6 ppm: H an C-5' und 2 H an C-6'. 2,67 ppm (Singulett, 1 H): tert. Hydroxylgruppe. Singulette bei 2,03 und 1,99 ppm (je 3 H): 2 O-Acetylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

5,2',3'-Tri-O-acetyl-6:8,4':6'-di-0:0-benzyliden-harpagid (**45**). 50 mg Di-O-acetyl-di-0:0-benzyliden-harpagid (**44**) wurden in 2 ml Pyridin-Essigsäureanhydrid-(1:1) gelöst und 3 Tage bei 40° stehengelassen. Nach Eindampfen im Hochvakuum bei 40° lagen 54 mg gelblicher Schaum vor. Sie wurden an 50 g Kieselgel chromatographiert, wobei Benzol-Essigester-(17:3) als Elutionsmittel diente. Nach 1 mg Vorfraktionen folgten 36 mg Tri-O-acetylderivat **45**, später 17 mg Ausgangsmaterial. Aus Tetrachlorkohlenstoff/Pentan 11 mg Kristalle vom Smp. 92–97°, $[\alpha]_D^{24} = -138^\circ \pm 3^\circ$ (Chloroform, $c = 1,115$) (**45**).

NMR.-Spektrum (CDCl_3): Ca. 7,4 ppm: 10 Phenyl-H. Singulette bei 6,05 und 5,52 ppm (je 1 H): Acetal-H der Benzylidenreste. 4,6–4,2 ppm: H an C-4'; 4,0–3,6 ppm: H an C-5' und 2 H an C-6'. Singulette bei 2,02; 1,93 und 1,92 ppm (je 3 H): 3 O-Acetylgruppen. Weitere Signale siehe in Tabelle 2.

SUMMARY

The structure and configuration of harpagoside, a bitter principle from the roots of *Harpagophytum procumbens* DC, have been elucidated by degradation reactions and NMR. spectra. The hitherto uncertain position of a secondary hydroxyl group could be assigned to C-6 of the aglycone moiety. As earlier postulated, harpagoside (**1**) as well as its saponification product, harpagide (**12**), belong to a series of natural enol ethers known as iridoids.

Pharmazeutisch-chemische Forschungslaboratorien
SANDOZ AG., Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. LICHTI & A. VON WARTBURG, *Tetrahedron Letts.* **1964** (Nr. 15), 835.
- [2] J. M. WATT & M. G. BREYER-BRANDWIJK, *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern Africa*, Edinburgh 1932.
- [3] R. E. LUX, Diss. Würzburg 1960; P. TUNMANN & R. LUX, *Dtsch. Apoth.-Ztg.* **102**, 1274 (1962).
- [4] N. J. STIERSTORFER, Diss. Würzburg 1961.
- [5] W. HAEGELE, F. KAPLAN & H. SCHMID, *Tetrahedron Letts.* **1967** (Nr. 3), 110; A. J. BIRCH, J. GRIMSHAW & H. R. JUNEJA, *J. chem. Soc.* **1967**, 5194.
- [6] L. H. BRIGGS & B. F. CAIN, *J. chem. Soc.* **1954**, 4182; J. GRIMSHAW, *Chemistry & Ind.* **1967**, 403; L. H. BRIGGS, B. F. CAIN, P. W. LE QUESNE & J. N. SHOOLERY, *J. chem. Soc.* **1965**, 2595.
- [7] K. FICKENTSCHE, Diss. Würzburg 1963.
- [8] M. L. SCARPATI, M. GUISSO & L. PANIZZI, *Tetrahedron Letts.* **1965** (Nr. 39), 3439.
- [9] B. ZORN, *Z. Rheumaforsch.* **17**, 134 (1958).
- [10] L. H. BRIGGS, B. F. CAIN, P. W. LE QUESNE & J. N. SHOOLERY, *Tetrahedron Letts.* **1963** (Nr. 2), 69.
- [11] H. INOUE, T. ARAI & Y. MIYOSHI, *Chem. pharm. Bull.* **12**, 888 (1964); J. M. BOBBITT, K. VENKATESWARA RAO & D. E. KIELY, *Chemistry & Ind.* **1964**, 931.
- [12] M. W. WENDT, W. HAEGELE, E. SIMONITSCH & H. SCHMID, *Helv.* **43**, 1440 (1960).
- [13] H. SCHMID, H. BICKEL & Th. M. MEIJER, *Helv.* **35**, 415 (1952); O. HALPERN & H. SCHMID, *Helv.* **41**, 1109 (1958).
- [14] G. ALBERS-SCHÖNBERG & H. SCHMID, *Helv.* **44**, 1447 (1961).
- [15] J. M. VAN DER VEEN, *J. org. Chemistry* **28**, 564 (1963).
- [16] L. M. JACKMAN, *Applications of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry*, Oxford, London, New York, Paris 1959, S. 55.
- [17] R. F. ZÜRCHER, *Helv.* **44**, 1380 (1961).
- [18] P. GODIN, *Nature* **174**, 134 (1954); A. P. MACLENNAN, H. M. RANDALL & W. D. SMITH, *Analyt. Chemistry* **31**, 2020 (1959).
- [19] M. VISCONTINI, D. HOCH & P. KARRER, *Helv.* **45**, 642 (1955).
- [20] A. STOLL & W. KREIS, *Helv.* **34**, 1431 (1951); A. VON WARTBURG, E. ANGLIKER & J. RENZ, *Helv.* **40**, 1331 (1957).
- [21] E. ANGLIKER, F. BARFUSS & J. RENZ, *Helv.* **41**, 479 (1958).
- [22] M. KUHN & A. VON WARTBURG, *Helv.* **46**, 2127 (1963).
- [23] H. HUBER, F. BLINDENBACHER, K. MOHR, P. SPEISER & T. REICHSTEIN, *Helv.* **34**, 46 (1951).
- [24] N. A. LANGE, *Handbook of Chemistry*, 10th Ed., New York 1961, S. 988; H. RÖMPP, *Chemie-Lexikon*, 5. Aufl., Stuttgart 1962, S. 479.