

DIGITANOLGLYKOSIDE—XIX¹

DIE STRUKTUR DER KONDURANGOGLYKOSIDE A, A₁ UND C, C₁

R. TSCHESCHE und H. KOHL

Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn

(Received in Germany 21 December 1967; accepted for publication 12 January 1968)

Zusammenfassung—Aus der Rinde von *Marsdenia cundurango* Rchb.f. wurden die ätherlöslichen Kondurangoglykoside A und C isoliert, deren Zuckerketten identisch sind und als 3-O-Methyl-6-desoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-cymaropyranose ermittelt wurden. Das ätherunlösliche Kondurangin enthält zur Hauptsache die Kondurangoglykoside A₁ und C₁, die ebenfalls identische Zuckerketten besitzen. Für sie wurde die Struktur einer β -D-Glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2 oder 4)-3-O-Methyl-6-desoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-cymaropyranose abgeleitet. In den Kondurangoglykosiden A und A₁ bzw. C und C₁ ist das Kondurangogenin jeweils mit dem 3 β -OH wahrscheinlich β -glykosidisch mit der D-Cymarose verknüpft.

Abstract—From the bark of *Marsdenia cundurango* the ether-soluble kondurangoglycosides A and C have been isolated. Their sugar-chains are identical and have been identified as 3-O-methyl-6-deoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-cymaropyranose. The main part of the ether-insoluble kondurangin contains the kondurangoglycosides A₁ and C₁. Their sugar-chains are also found to be identical. Physical and chemical methods have been employed to prove the structure of the sugar part to be β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2 or 4)-3-O-methyl-6-deoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-cymaropyranose. In the kondurangoglycosides A, A₁, and C, C₁ the kondurangogenines A and C are probably β -glycosidically connected with D-cymarose by the 3 β -OH group.

AUS der Rinde von *Marsdenia cundurango* Rchb.f. isolierten Tschesche *et al.* die ätherlöslichen, nicht kristallisierenden Kondurangoglykoside A und C.² Nach schonender Hydrolyse gewannen sie daraus die Kondurangogenine A und C. Für das Kondurangogenin A (I) wurde die Struktur eines 3 β ,14-Dihydroxy-11 α -cinnamoyloxy-12 β -acetoxy-5 α ,14 β -pregnan-20-ons abgeleitet; Kondurangogenin C stellt die 20-Dihydroverbindung II von Kondurangogenin A (I) dar.²⁻⁵ Massenspektroskopische Befunde deuten darauf hin, dass in der Pflanze auch Verbindungen spurenweise vorkommen, die anstelle von Zimtsäure Benzoesäure esterartig gebunden enthalten.²

Wir konnten jetzt aus dem ätherunlöslichen Anteil des Methylenchlorid-extraktes³ der Kondurangorinde die ebenfalls nicht kristallisierenden Kondurangoglykoside A₁ und C₁ isolieren, deren schonende Hydrolyse die Kondurangogenine A (I) und C (II) lieferte. Da sich die Kondurangoglykoside A und A₁ durch Reduktion mit NaBH₄ in die Glykoside C und C₁ überführen lassen, liegen in ihnen jeweils identische Zuckerketten vor.

Bei der sauren Hydrolyse des ätherunlöslichen Glykosidgemischs Kondurangin^{2,3} nach Mannich und Siewert⁶ erhielt Korte⁷ ein kristallisiertes Disaccharid aus je einem Molekül D-Glucose und angeblich D-Thevetose, die sog. Kondurangobiose. Unter schonenden Hydrolysebedingungen erhielt er weiterhin neben D-Glucose zwei Desoxyzucker: D-Cymarose und "D-Thevetose". Nähere Aussagen über die

Struktur des Zuckeranteils der Kondurangoglykoside wurden bis dahin nicht gemacht.

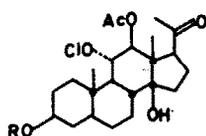
Als Ausgangsmaterial unserer Untersuchungen diente ein käuflicher "Spissum-extrakt" der Kondurangorinde.* Die Identität der aus der Rinde isolierten äther-löslichen und — unlöslichen Glykoside sowie der aus dem Spissumextrakt erhaltenen wurde durch Dünnschichtchromatographie und IR-Spektroskopie gesichert. Über ihre Gewinnung haben wir in früheren Arbeiten berichtet.^{2,3} Aus dem *ätherlöslichen* Glykosidgemisch konnten Kondurangoglykosid A und das polarere Glykosid C durch Säulen- und präparative Schichtchromatographie in reiner Form erhalten werden.⁸ Beide Glykoside reduzieren Fehling- und Tollens-Reagenz nicht, reagieren jedoch stark positiv mit Xanthidrol- und Keller-Kiliani-Reagentien⁹ auf 2-Desoxyzucker, haben nach den NMR-Spektren jeweils drei Methoxygruppen im Zuckeranteil und besitzen im IR Banden bei 1210, 1150, 1115, 1080, 1050, 1025, 990 und 920 cm^{-1} , die bei den Aglykonen I und II fehlen.¹⁰ Die Kondurangoglykoside A und C werden von Schneckenferment nicht angegriffen. Aus dem Versagen der enzymatischen Zucker-
abspaltung schloss Korte⁷ auf eine direkte Bindung eines Desoxyzuckers mit dem Aglykon. Dieser Befund wird durch die hohe Empfindlichkeit der Glykoside gegenüber verdünnten Mineralsäuren gestützt, deren Zuckerkette in kurzer Zeit quantitativ abgespalten wird.¹¹ Die dünnschicht- und papierchromatographische Analyse des so erhaltenen Zuckersirups zeigte, dass als Bausteine der Zuckerkette die Desoxyzucker D-Cymarose, D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose anzusprechen sind.† Letztere wurde zuerst aus *Pachycarpus lineolatus* isoliert und bereitete als Diastereomeres der D-Thevetose zunächst hinsichtlich der Identifizierung Schwierigkeiten.¹² Aus dem UV-Spektrum der Kondurangoglykoside A und C errechnet sich ein mittleres Molekulargewicht von 1000. Die quantitative Methoxybestimmung steht bei Annahme dieses Molekulargewichts in Einklang mit dem NMR-Spektrum, aus dem wie bereits erwähnt die Existenz dreier Methoxygruppen hervorgeht. Nach schonender Säurehydrolyse konnten von beiden Kondurangoglykosiden je ein Monosid (III und IV), je zwei Disaccharide (V und VI) und je ein Trisaccharid (VII) gefasst werden. Die beiden Monoside III und IV waren in allen Eigenschaften mit dem Monosid A' und Dihydromonosid A'³ identisch. Durch vorsichtige Spaltung mit $n/100\text{-H}_2\text{SO}_4$ in Methanol wurden aus ihnen die Kondurangogenine A und C sowie D-Cymarose erhalten. Von den Disacchariden V und VI, die sich auf der Kieselgelplatte beim Besprühen mit alkoholischer *p*-Toluosulfonsäure charakteristisch grün bzw. dunkelblau anfärbten, konnte nur V bisher in kristalliner Form erhalten werden. Es handelt sich bei Disaccharid V um die 3-O-Methyl-6-desoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4) D-andropyranose,‡ die positiv auf

* Bezogen von der Firma Reisholz K.G., Düsseldorf, und der Firma H. Finzelberg's Nachf., Chemische Werke, Andernach/Rh. Ein in Lit. 2 erwähntes, aber nicht näher untersuchtes Monosid B' konnte aus den käuflichen Extrakten nicht isoliert werden.

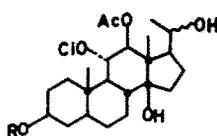
† Wir danken Herrn Prof. Dr. T. Reichstein auch hier bestens für die Überlassung von Proben D-Cymarose, D-Thevetose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose sowie von sechs Biosen, darunter Pachybiose.

‡ Die Formulierung der Zucker in der Pyranoseform ist im Falle der Desoxyzucker nicht streng bewiesen. Furoide Ringe dürften aber ausgeschlossen sein, da die entsprechenden Glykoside häufig um Zehnerpotenzen leichter hydrolysierbar sind als die mit pyranoider Struktur.¹³ In einer Privatmitteilung vom 8.1.68 teilte uns Herr Prof. Dr. T. Reichstein dankenswerterweise mit, dass die Pachybiose als 3-O-Methyl-6-desoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranose ermittelt wurde. Die pyranoider Struktur sowie die β -glykosidische Verknüpfung der Zucker konnte durch kernmagnetische Messungen abgeleitet werden.

Fehling- und Tollens-Reagenz anspricht. Nach Spaltung unter schonenden Bedingungen lassen sich D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose nachweisen. Im NMR-Spektrum treten zwei Methoxylsignale bei $\tau = 6.3$ und 6.58 im Protonenverhältnis 1:1 auf; die quantitative Methoxylbestimmung spricht eindeutig für Disaccharid V. Damit in Einklang steht die CH-Analyse, welche die Summenformel $C_{14}H_{26}O_8$ für ein Disaccharid aus je einem Molekül D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose bestätigt. Die Reduktion von V mit $NaBH_4$ ¹⁴ ergab ein sehr polares Produkt, aus dem nach saurer Spaltung als unveränderte Zuckerkomponente die 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose erhalten wurde. Nach der Oxydation von V mit Brom¹⁵ und anschliessender saurer Hydrolyse konnte D-Oleandronsäurelacton isoliert und als D-Oleandronsäurephenylhydrazid identifiziert werden. Hieraus folgt, dass die freie glykosidische OH-Gruppe im Disaccharid V der D-Oleandrose zuzuordnen ist. Schliesslich zeigt Disaccharid V in allen chemischen und physikalischen Eigenschaften beste Übereinstimmung mit der aus *Pachycarpus lineolatus* gewonnenen Pachybiose, für die Struktur V abgeleitet worden ist.¹² Das bisher nicht kristallisierende Disaccharid VI ist als D-Oleandropyranosyl(1→4)-D-cymaropyranose



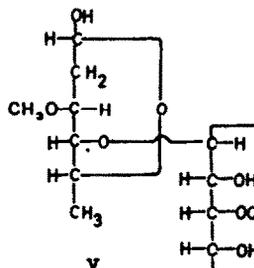
I: R = H



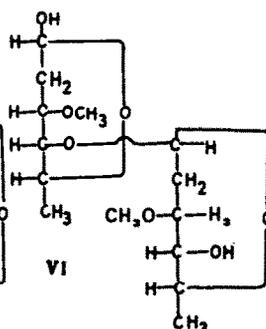
II: R = H

III: R = D-Cymarosylrest

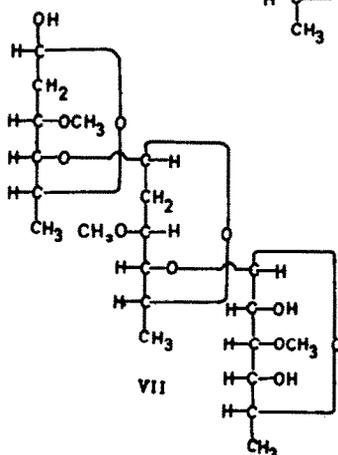
IV: R = D-Cymarosylrest



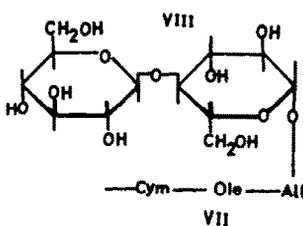
V



VI



VII



VIII

Ac = Acetyl
 All = 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose
 Cl = Cinnamoyl
 Cym = D-Cymarose
 Ole = D-Oleandrose

anzusprechen, da es sich durch grosse Säureempfindlichkeit auszeichnet und schon an Kieselgel zum Teil in je ein Molekül D-Cymarose und D-Oleandrose gespalten wird. Das NMR-Spektrum zeigt zwei Methoxylsignale bei $\tau = 6.59$ und 6.66 im Protonenverhältnis 1:1. Im IR treten OH-Banden bei 3660, 3585 und stark verbreitert bei 3450 cm^{-1} auf, eine deutliche Bande bei 2830 (OCH_3) und solche bei 1230, 1105, 1090, 1040, 970, 940, 895 und 850 cm^{-1} finden sich im IR-Spektrum von Disaccharid VI.^{2,3} Das sehr gut kristallisierende Trisaccharid VII besitzt im NMR-Spektrum drei Methoxylsignale bei $\tau = 6.3$, 6.58 und 6.66 im Protonenverhältnis 1:1:1. Die quantitative Methoxylbestimmung spricht für ein Trisaccharid. Aus der CH-Analyse lässt sich bei Annahme von je einem Molekül D-Cymarose, D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose zwanglos die Summenformel $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_{11}$ ableiten. Unter milden Hydrolysebedingungen mit $n/100\text{-H}_2\text{SO}_4$ in Methanol spaltet Trisaccharid VII ein Molekül D-Cymarose ab und geht dünnschichtchromatographisch gut verfolgbar in das Disaccharid V über. Härtere Spaltbedingungen führen zur quantitativen Hydrolyse von Disaccharid V.¹⁶ Ebenso wie das Disaccharid VI zeigt auch Trisaccharid VII eine positive Reaktion mit Fehling- und Tollens-Reagenz.

Die durch milde Säurespaltung erhaltenen Zuckerbruchstücke fügen sich widerspruchslos zur vollständigen Zuckerkette der Kondurangoglykoside A und C aneinander. Demnach liegt in den ätherlöslichen Kondurangoglykoside A und C als Zuckeranteil die 3-O-Methyl-6-desoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-cymaropyranose vor.¹³ Die aus den Summenformeln der beiden Glykoside A und C sich ergebenden Molgewichte von 987.3 ($\text{C}_{53}\text{H}_{78}\text{O}_{17}$) und 989.3 ($\text{C}_{53}\text{H}_{80}\text{O}_{17}$) liegen im Bereich der Messgenauigkeit des aus UV-Extinktionsmessungen erhaltenen mittleren Molekulargewichts von 1000. Im Einklang damit stehen die CH-Analysen, welche die Summenformeln für beide Kondurangoglykoside bestätigen.

Aus dem ätherunlöslichen Kondurangin konnten durch Säulen- und präparative Schichtchromatographie die Kondurangoglykoside A_1 und C_1 in reiner Form, aber nicht kristallisiert, isoliert werden. Beide Glykoside, die mengenmässig den Hauptbestandteil des Kondurangins ausmachen, finden sich dort in etwa gleichem Verhältnis. Sie zeigen mit Fehling- und Tollens-Reagenz keine Reaktion. Die dünnschicht- und papierchromatographische Analyse der Zucker ergibt D-Glucose, D-Cymarose, D-Oleandrose und wiederum 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose. Ebenso wie bei den Kondurangoglykosiden A und C verläuft auch hier die saure Spaltung der Zucker unter analog milden Bedingungen und liefert die Kondurangogenine A und C. Aus diesem Verhalten musste auf eine glykosidische Bindung des Aglykons mit einem 2-Desoxyzucker geschlossen werden.¹¹ Die Spaltung der Glykoside A_1 und C_1 nach Mannich und Siewert⁶ wurde nach dem von Korte beschriebenen Verfahren durchgeführt, und papierchromatographisch die Kondurangobiose nachgewiesen.⁷ Aus den UV-Spektren der Kondurangoglykoside A_1 und C_1 lässt sich ein mittleres Molekulargewicht von 1300 ermitteln. Die quantitative Methoxylbestimmung spricht für das Vorhandensein dreier Desoxyzucker in der Zuckerkette. Dies geht ebenfalls aus den NMR-Spektren hervor, die drei Methoxysignale bei $\tau = 6.3$, 6.52 und 6.6 im Protonenverhältnis 1:1:1 zeigen. Im IR finden sich OH-Banden bei 3580 und sehr stark verbreitert bei 3400 cm^{-1} . Die von den Zuckern herrührenden Banden treten wieder bei 1150, 1080, 1065, 1050 und 995 cm^{-1} auf.¹⁰ Nach Spaltung der permethylierten Kondurangoglykoside A_1 und C_1 ,¹⁷ konnten dünnschicht- und papierchromatographisch 2,3,4,6-Tetramethyl- und 2,3,6-Trimethyl-D-glucose nach-

gewiesen und isoliert werden. Die Abspaltung der D-Glucosen gelang glatt durch ein β -Glucosidasengemisch aus *Aspergillus wentii** sowie durch Schneckenferment,† wohingegen eine aus Mandelemulsin gewonnene β -Glucosidase‡ unter gleichen Bedingungen fast keine Wirkung zeigte. Nach Abspaltung der D-Glucose ging Kondurangoglykosid A₁ bzw. C₁ in Glykosid A bzw. C über, wie chromatographisch und IR-spektroskopisch eindeutig gezeigt werden konnte. Das UV-spektroskopisch ermittelte Molekulargewicht von 1300 spricht für die Existenz von maximal zwei D-Glucosen in den Kondurangoglykosiden A₁ und C₁. Für das Vorliegen eines Pentasaccharids liefern die CH-Analysen einen zusätzlichen Beleg, welche die Summenformeln C₆₅H₉₈O₂₇ (1311.6) und C₆₅H₁₀₀O₂₇ (1313.7) bestätigen. Die beiden D-Glucosen sind als β -D-Glucopyranosyl(1→4)-D-glucopyranose (VIII) β -glucosidisch an die endständige 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose der Zuckerkette von Kondurangoglykosid A bzw. C (VII) gebunden.‖ Ebenso sind die beiden D-Glucosen β -glucosidisch miteinander verknüpft. Dies geht aus der Bildung eines Zwischenprodukts hervor, das bei der enzymatischen Spaltung gebildet wurde, jedoch nur in geringer Menge fassbar war. Die CH-Analyse spricht für ein Monoglucosederivat der Kondurangoglykoside A₁ und C₁. Dies wird dadurch bestätigt, dass aus ihm bei längerer Enzymeinwirkung Kondurangoglykosid A bzw. C entsteht.

Die Anwendung der Regel von Klyne¹⁹ erlaubt Aussagen über die Stereochemie der Verknüpfung von Zucker und Aglykon zu machen. Aus den molaren Drehungen von Kondurangogenin A und Monosid III bzw. Kondurangogenin C und Monosid IV lässt sich in beiden Glykosiden mit grösserer Wahrscheinlichkeit eine β -glykosidische Verknüpfung ableiten, wie es für Zucker der D-Reihe die Regel ist.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die physikalischen Eigenschaften und die Spektren wurden mit folgenden Geräten gemessen und aufgenommen: *Schmelzpunkte*: Mikroskopheiztisch nach Weygand (Leitz). *Optische Drehungen*: Perkin-Elmer-Polarimeter, Modell 141; wenn nicht anders angegeben, wurde in CH₃OH-Lösung gemessen. *IR*: Perkin-Elmer-Spektrophotometer, Modell 221 mit Gitter-Prismen-Austauscheinheit; aufgenommen in CHCl₃-Lösung, wenn nicht anders angegeben. *UV*: Cary 14, gemessen in CH₃OH-Lösung. *NMR*: Varian A-60; aufgenommen in CDCl₃-Lösung mit TMS als internem Standard. *CH-Analysen* wurden in der Analytischen-Abteilung unseres Instituts angefertigt. *Methoxylbestimmung*: Ausgeführt vom Mikroanalytischen Laboratorium: Dr. F. Pascher, Bonn.

Für die analytische Dünnschichtchromatographie nach Stahl²⁰ und Tschesche *et al.*²¹ wurde Kieselgel G (Merck), zur präparativen Schichtchromatographie nach Halpaap²² und Tschesche *et al.*²³ Kieselgel PF₂₅₄ (Merck) verwendet. Als Sprühmittel zur Anfärbung der Zucker und Zuckerspaltprodukte auf der Dünnschichtplatte diente eine 10-proz. äthanolische Lösung an *p*-Toluolsulfonsäure.²⁴ Die Chromatogramme wurden nach dem Besprühen 3 bis 5 Minuten auf 120° erhitzt. Zur Papierchromatographie wurde das Papier von Schleicher & Schüll, 2043b, benutzt. Die Chromatogramme wurden absteigend entwickelt. Anfärbt wurden die Zucker mit Anilinhydrogenphthalat.²⁵ Das für die Säulenchromatographie benutzte Kieselgel wurde von der Firma Herrmann, Köln, bezogen.

* β -Glucosidasen-Fraktion A aus *Aspergillus wentii*, spezif. Aktivität 18 μ Mol PNPG.Min⁻¹.ml⁻¹: G. Legler, Zeitschr. physiol. Chemie 1967 im Druck. Wir danken Herrn Dr. G. Legler, Organ. Chem.-Institut Bonn, sehr für die Überlassung einer Probe dieser Enzymfraktion.

† *Helix pomatia*-Enzym, standardisiert von der Firma Industrie Biologique Francaise S.A., Gennevilliers (Seine).

‡ β -Glucosidase (reinst) bezogen von der Firma Serva, Entwicklungslabor-Heidelberg.

‖ Die Verknüpfung der D-Glucose mit dem C-2- oder C-4-OH der 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allopyranose ist nicht geklärt. Vgl. hierzu auch die Arbeiten über das Thevetin.¹⁸

Sämtliche Eindampfoperationen erfolgten im Vakuum bei maximal 50°. Die Keller-Kiliani-Reaktion und die Xanthydroprobe wurden nach Angaben von Reichstein und Mitarbb. ausgeführt.⁹ Übliche Aufarbeitung bedeutet: Reaktionsgemisch 6-mal mit Chloroform ausschütteln, 2-mal mit destilliertem Wasser waschen, Chloroformphase über Na₂SO₄ trocknen und das Lösungsmittel abdampfen.

Folgende Abkürzungen werden verwendet: Ac = Diäthyläther; Äth = Äthanol; An = Aceton; nBu = n-Butanol; Bzl = Benzol; Chf = Chloroform; Cy = Cyclohexan; DMF = N,N-Dimethylformamid; DMSO = Dimethylsulfoxid; Ee = Essigsäureäthylester; Me = Methanol; Mk = Methyläthylketon; Pā = Petroläther (60–80°); n(i)Pr = n-(iso-)Propanol; Py = Pyridin; Te = Tetrachlorkohlenstoff; To = Toluol; pTos = p-Toluolsulfonsäure; W = Wasser.

Kondurangoglykosid A

Isolierung nach Lit. 2. Nicht kristallisierender Schaum mit schwachem Gelbstich. Auf der Dünnschichtplatte zeigte Kondurangoglykosid A nach Besprühen mit äthanolischer pTos eine grau-schwarze Anfärbung und im UV-Licht (366 nm) Löschung. Es reagierte positiv auf Xanthydro- und Keller-Kiliani-Reagentien. IR (cm⁻¹): OH-Banden: 3655 (Schulter), 3600 (Schulter), 3400 (verbreitert); Acetatbanden: 1730 und 1375; Cinnamatbanden: 1705 (CO) und 1630 (C=C); 1695 (Schulter, C-20-Keton); Zuckerbanden: 920, 955, 990, 1020, 1055, 1085, 1115, 1150 und 1210. NMR (τ-Werte): 9.05 (CH₃-18); 8.90 (CH₃-19); 8.11 (Acetat an C-12); 7.83 (CH₃-21); 6.3, 6.51 und 6.58 (OCH₃); Multiplett um 2.45 (Zimtsäureprotonen). UV: 280 nm (4.31); 224 nm (4.18); 217 nm (4.20) [α]_D²⁵ + 39.4 ± 2° (c = 1.8). [C₅₃H₇₈O₁₇ (987.3). Ber: C, 64.6; H, 7.98; OCH₃, 9.44. Gef: C, 64.53; H, 8.1; OCH₃, 9.60%].

Kondurangoglykosid C

Isolierung nach Lit. 2. Nicht kristallisierender, farbloser Schaum. Gleiche Anfärbung mit pTos wie bei Kondurangoglykosid A, zeigte ebenso im UV-Licht Löschung. Positive Xanthydro- und Keller-Kiliani-Reaktion. IR (cm⁻¹): Vgl. Kondurangoglykosid A. Die Schulter bei 1965 fehlt. NMR (τ-Werte): 6.3, 6.55 und 6.60 (OCH₃). Ansonsten vgl. Kondurangoglykosid A. UV: Vgl. Kondurangoglykosid A. [α]_D²⁵ + 12 ± 2° (c = 3.8). [C₅₃H₈₀O₁₇ (989.3) Ber: C, 64.5; H, 8.2; OCH₃, 9.44. Gef: C, 64.2; H, 8.3; OCH₃, 9.29%].

Reduktion von Kondurangoglykosid A mit NaBH₄

Kondurangoglykosid A (60 mg) wurde in 1.7 ml DMF gelöst und mit einer Lösung von 18.2 mg NaBH₄ in 0.1 ml W und 1 ml DMF versetzt. Nach 20-stündigem Rühren bei Raumtemperatur stellte man mit In-HCl unter Eiskühlung auf pH 3 ein, verdünnte mit 12 ml W und arbeitete wie üblich auf, wobei die Chf-Phase 2-mal mit je 10 ml 5 proz. wässriger KHCO₃-Lösung gewaschen wurde. Ausbeute: 50 mg. Reinigung durch präparative Schichtchromatographie im System Bzl/An (7:3), 4-fache Entwicklung. Das reduzierte Produkt war in allen untersuchten Eigenschaften ([α]_D, IR, R_f-Werte) identisch mit Kondurangoglykosid C.

Saure Hydrolyse von Kondurangoglykosid A bzw. C²⁴

Kondurangoglykosid A (6 g) wurde in 150 ml Me gelöst und mit 150 ml 0.1 n-H₂SO₄ versetzt. Man erhitzte 10 Stdn. unter Rückfluss, fügte anschliessend 200 ml W hinzu und entfernte den grössten Teil an Me im Vakuum. Das eingeeengte wässrige Gemisch liess man noch 1 Std. bei 75° stehen und schüttelte 4-mal mit je 50 ml Chf aus. Die vereinigten Chf-Phasen wurden 3-mal mit je 20 ml W gewaschen, wobei das erste Waschwasser mit der wässrigen Phase des Hydrolysegemischs vereinigt wurde. Nach der Entfernung von Chf-Resten im Vakuum erfolgte Neutralisation der wässrigen Lösung mit frisch gefälltem und neutral gewaschenem BaCO₃. Vom ausgefallenen BaSO₄ wurde abfiltriert, und das Filtrat mit wenig BaCO₃ eingedampft. Nach Auflösen des Rückstands mit 150 ml Me erfolgte erneute Filtration. Als Rückstand des eingedampften Filtrats blieb ein gelber Sirup (1.4 g) zurück. Das Dünnschichtchromatogramm der Chf-Phase (4.4 g) im System Bzl/An (2:1) zeigte, dass noch grössere Mengen Kondurangoglykosid A vorhanden waren. Daher wurde der Chf-Extrakt nachhydrolysiert. Hierbei wurden 900 mg des gelben Zuckersirups erhalten. In gleicher Weise verlief die Hydrolyse von Kondurangoglykosid C.

Chromatographischer Nachweis der Zucker

(a) Papierchromatographisch:

System I: nBu/Py/W (3:1:3), leichte Phase.^{7, 26} Laufzeit: 15 Stdn.

R_f-Werte (gefunden):

R_f-Werte (Lit. 7, 26):

| | |
|------------------------------------|------|
| D-Cymarose: 0.73 | 0.72 |
| D-Oleandrose: 0.73 | — |
| 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose: 0.58 | — |
| D-Thevetose: 0.58 | 0.57 |

System II: Ee/Py/W (2:1:2).^{7, 26} Laufzeit: 15 Stdn.

| | |
|------------------------------------|----------------------------|
| R_f -Werte (gefunden): | R_f -Werte (Lit. 7, 26): |
| D-Cymarose: 0.78 | 0.77 |
| D-Oleandrose: 0.78 | — |
| 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose: 0.60 | — |
| D-Thevetose: 0.59 | 0.58 |

System III—To-nBu (4:1)/W (33%).^{124, *} Laufzeit: 5 und 36 Stdn.

Vergleichszucker: D-Thevetose, 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose, D-Cymarose; und D-Oleandrose aus Pachybiose

System IV: To-Mk (1:1)/W (33%).^{124, *} Laufzeit 5 und 44 Stdn.

Vergleichszucker wie oben.

Ergebnis: Während in den Systemen I und II eine Unterscheidung zwischen D-Thevetose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose sowie D-Cymarose und D-Oleandrose nicht zu erreichen war, lagen in den System III und IV die relativen R_f -Werte beider diastereomerer Zuckerpaare genügend auseinander, um eine Zuordnung zu ermöglichen. (Ähnliche Chromatogramme sind in Lit.¹²⁴ massgetreu abgebildet).

(b) *Dünnschichtchromatographisch*:

System 1: Ee/Chf/Me(2:2:1),²⁷ 1-fache Entwicklung.

System 2: Bzl/An (2:1), 3-fache Entwicklung. Vergleichszucker wie oben.

TABELLE I

| Zucker | Relative R_f -Werte* (auf D-Cymarose bezogen) | Anfärbbarkeit mit pTos |
|------------------------------|---|---------------------------|
| D-Cymarose | 1.00 | grau-blau |
| Disaccharid V | 0.50 | grün-schwarz |
| Disaccharid VI | 1.30 | dunkelblau |
| Trisaccharid VII | 1.10 | grün |
| Monosid III | 1.54 | violett-blau |
| Monosid IV | 1.41 | violett-blau |
| D-Thevetose | 0.32 | gelb-ocker |
| 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose | 0.48 | gelb |

* Die relativen R_f -Werte stellen mittlere Werte dar und beziehen sich auf System 2. D-Cymarose und D-Oleandrose besitzen hier den gleichen R_f -Wert.

System 3: Ee/iPr/Me (70:15:15).²⁷

Dieses System gestattete eine gute Unterscheidung zwischen D-Thevetose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose.

Isolierung von D-Cymarose und Disaccharid V.

Ein Teil des sirupösen Zuckergemisches (600 mg) wurde durch präparative Schichtchromatographie (20 × 20 cm²-Platte, 15 g Kieselgel PF₂₅₄, Belastung pro Platte: 100 mg) im System Bzl/An (2:1) nach 3-facher Entwicklung aufgetrennt. Nach Elution der Plattenzonen mit 100 ml nPr-An (1:1) wurden 403 mg Disaccharid V in chromatographisch reiner Form und 129 mg nicht reine D-Cymarose-D-Cymarose* isoliert. Letztere würde erneut chromatographiert. Ausbeute an reiner D-Cymarose: 80 mg.

* Wie sich nachträglich herausstellte, konnte als Begleitsubstanz nach 6-fachem Umkristallisieren aus wenig Ae/Pä D-Oleandrose (16 mg) in Form feiner Nadeln erhalten werden. Schmp. 61–64°, $[\alpha]_D^{20}$ –13 ± 2° (c = 0.7, aus W); Lit. 12f: Schmp. 62–63°, $[\alpha]_D^{19}$ –12.5°.

3-O-Methyl-6-desoxy- β -D-allopyranosyl(1 \rightarrow 4)-D-oleandropyranose (Disaccharid V)¹²

Farblose Nadelchen aus An-Ee vom Schmp. 159–163° (Lit. 12a: 152–161°, Pachybiose); $[\alpha]_D^{22} + 34.8^\circ$ (nach 15 Min.); 19.7° (nach 17 Stdn.); +16.2° (nach 24 Stdn.), $c = 1.98$; $[\alpha]_D^{24} - 12.7 \pm 2^\circ$ (Endwert aus W, $c = 1.8$; Lit. 12a: $[\alpha]_D^{24} - 13.2 \pm 3^\circ$); IR (cm⁻¹): OH-Banden: 3600, 3550, 3400 (verbreitert); 2830 (OCH₃); 1440, 1370, 1200, 1150, 1120 (scharf), 1075 (scharf), 1055, 1025 (scharf), 985 (scharf)³; NMR (τ -Werte): 6.3 und 6.58 (OCH₃); 5.17 (Dubl., $J = 8$ Hz, H am C-1 der 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose); 8.68 (Dubl., $J = 6$ Hz; CH₃-Gruppe vom Zucker); 8.73 (Dubl., $J = 6$ Hz, CH₃-Gruppe vom Zucker). [C₁₄H₂₆O₈ (322.4). Ber.: C, 52.3; H, 8.2; OCH₃, 19.3. Gef.: C, 52.5; H, 8.34; OCH₃, 19.41%].

D-Cymarose (2,6-Didesoxy-3-O-methyl-ribohexose)

Nach Destillation bei 0.02 mm Hg und 120° aus wenig An/Ae farblose Nadeln vom Schmp. 87–89°. Der Mischschmelzpunkt mit authentischem Material zeigte keine Depression. $[\alpha]_D^{22} + 51.6 \pm 2^\circ$ ($c = 0.6$ in W, Endwert).

D-Cymaronsäurephenylhydrazid¹⁵

D-Cymarose (50 mg) wurde in 0.8 ml W gelöst und mit 71 mg (23 mm³) Brom versetzt. Man schüttelte einige Minuten lang, bis alles Brom in Lösung gegangen war und liess dann 20 Stdn. verschlossen im Dunkeln bei Raumtemperatur stehen. Anschliessend wurde das Brom bei 20 im Vakuum entfernt, und frisch gefälltes Ag₂CO₃ portionsweise eingetragen, bis ein pH von 7 erreicht war. Nach Abfritten des Niederschlages und Waschen mit wenig W wurde das Filtrat mit H₂S-Wasser versetzt. Die hellbraune Lösung wurde über wenig Aktivkohle klar filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde im Vakuum bei 0.03 mm Hg und 80° Badtemperatur destilliert. Das Destillat nahm man mit wenig trockenem Äther auf, versetzte mit 40 mm³ Phenylhydrazin und erwärmte nach Abdestillieren des Äthers 30 Min. auf 100°. Nach dem Erkalten wurde mit wenig Äther versetzt, wobei ein schwach gelb gefärbtes Kristallisat anfiel. Durch Umkristallisation aus Me-Ae konnten 12 mg farblose Nadelchen vom Schmp. 152–153.8 (Lit. 15: 153.5–154°) erhalten werden.

Reduktion von Disaccharid V mit NaBH₄¹⁴

Disaccharid V (20 mg) wurde wie bei der Reduktion von Kondurangoglykosid A beschrieben, reduziert. Man liess 48 Stdn. bei 30° stehen, ehe das Reduktionsprodukt aufgearbeitet wurde. Die Reinigung erfolgte durch präparative Schichtchromatographie im System 1 nach 2-facher Entwicklung. Erhalten wurden 12 mg einer leicht gelben Substanz, die nicht kristallisierte und rasche Zersetzung erlitt. Auf der Dünnschichtplatte färbte sie sich mit pTos kräftig gelb an. IR (cm⁻¹): OH-Banden: 3618, 3610, 3540, 3450 (breit); 2830 (Schulter, OCH₃), 1440, 1365, 1310, 1225, 1155, 1110, 1060, 1010 (Schulter), 990 und 900.³ Die saure Hydrolyse des Reduktionsproduktes mit methanolischer 0.2 n-H₂SO₄ lieferte nach 12-stündigem Sieden unter Rückfluss und üblicher Aufarbeitung als unveränderte Zuckerkomponente 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose.

D-Oleandronsäurephenylhydrazid aus Disaccharid V

Disaccharid V (200 mg) wurde wie bei der Darstellung von D-Cymaronsäurephenylhydrazid beschrieben, in 3 ml W gelöst und mit 150 mg (48 mm³) Brom zum entsprechenden Lacton oxydiert. Die Abspaltung der 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose erfolgte durch 12-stündiges Erhitzen des Lactons mit 5 ml 0.2 n-H₂SO₄ in 5 ml Me unter Rückfluss. Nach der Entfernung der Hauptmenge an Me erfolgte die Neutralisation der Lösung mit frisch gefälltem BaCO₃. Das klare Filtrat wurde zur Trockne eingedampft und der zurückbleibende gelbliche Sirup (195 mg) im Vakuum bei 0.03 mm Hg und 80° Badtemperatur destilliert. Das Destillat (52 mg) wurde wie oben beschrieben mit 90 mm³ Phenylhydrazin umgesetzt. Nach zweifacher Umkristallisation aus Me-An erhielt man 40 mg farblose Nadelchen vom Schmp. 152–154. Sie wurden in 30 ml An gelöst und über eine 50 g Al₂O₃-Säule (Woelm-neutral, Aktivitätsstufe 2) gereinigt. Aus dem stark eingeeengten Eluat kristallisierten auf Zusatz von wenig Me farblose Nadeln (25 mg) vom Schmp. 136–137°, $[\alpha]_D^{23} - 19 \pm 2^\circ$ ($c = 1.2$) [Lit. 12f: Schmp. 134–135°, $[\alpha]_D^{16} - 20.6$]. Aus einem Teil des Destillats (40 mg) der Hochvakuumdestillation kristallisierten nach Zugabe von wenig Me-An Nadeln vom Schmp. 185–186.8°. (Pachybioinsäurelacton) $[\alpha]_D^{24} + 56.7^\circ$, $c = 1.2$ in Chf (Lit. 12a: Schmp. 186.5–187.5, $[\alpha]_D^{24} + 57.8$, $c = 1$ in Chf). Diese Daten sprechen für die Identität von Disaccharid V mit Pachybiose. Lit. 12a,b,c,d,e.

Isolierung von 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose

Kondurangoglykosid A (1 g) wurde in 100 ml Kilianimischung²⁸ (3.5 ml Eisessig, 5.5 ml W und 1 ml

konz. HCl) gelöst und 1 Std. auf 100° erhitzt. Nach dem Eindampfen des Reaktionsgemischs im Vakuum bei 40° kochte man den Rückstand mit 100 ml W auf und extrahierte nach dem Abkühlen 6-mal mit je 20 ml Chf. Die wässrige Phase wurde mit fester Soda neutralisiert und eingedampft. Anschliessend nahm man mit 30 ml Me auf, filtrierte und dampfte das Filtrat ein (420 mg). Der Rückstand wurde durch präparative Schichtchromatographie im System 1 nach 3-facher Entwicklung aufgetrennt. Ausbeute: 84 mg chromatographisch reine 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose, die sich dünnschichtchromatographisch im System 3²⁷ gut von D-Thevetose unterscheiden liess.

Aus An und einer Spur absoluten Äth kristallisierten farblose Drusen vom Schmp. 117–120° (Lit. 12b; 119–121°); $[\alpha]_D^{25} + 3.4 \approx 2^\circ$ ($c = 1$, aus W, Endwert) Lit. 27: $3.8 \pm 2^\circ$. Der Mischschmelzpunkt mit authentischem Material zeigte keine Depression.

Saure Spaltung von Disaccharid V

Disaccharid V (20 mg) wurde in 5 ml Me gelöst und mit 5 ml 0.2 n-H₂SO₄ 12 Stdn. unter Rückfluss gekocht. Es wurde mit frisch gefälltem BaCO₃ neutralisiert, abfiltriert und das Filtrat zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit wenig Me aufgenommen und die etwas trübe Lösung filtriert. Das eingeeengte Filtrat wurde papier- und dünnschichtchromatographisch in den Systemen 1, IV, 2 und 3 untersucht. Neben zwei bis drei nur sehr schwer sichtbaren Flecken, die nicht identifiziert werden konnten,* D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose nachgewiesen.

Isolierung von Trisaccharid VII

Aus dem rohen Zuckersirup (800 mg) wurden durch präparative Schichtchromatographie im System Ae/An (50:1) nach 4-facher Entwicklung 210 mg nicht reines Trisaccharid VII isoliert. Wiederholte Schichtchromatographie im System Bnz/An (2:1) und 3-fache Entwicklung ergab 160 mg chromatographisch reines Trisaccharid VII.

3-O-Methyl-6-desoxy-β-D-allopyranosyl(1→4)-D-allopyranosyl(1→4)-D-oleandropyranosyl(1→4)-D-cymaropyranose (Trisaccharid VII)

Farblose Nadeln aus Ae/An vom Schmp. 115–117°; $[\alpha]_D^{22} + 59 \pm 2^\circ$ (Endwert, $c = 1.8$); IR (cm⁻¹): OH-Banden: 3670, 3580 und 3550; 2830 (OCH₃); 1180, 1150, 1120, 1075, 1050, 970 (scharf), 905 (scharf) und 880.³ NMR (τ-Werte): 6.3, 6.58 und 6.66 (OCH₃); 8.63 (Dubl., $J = 5$ Hz) und 8.74 (Dubl., $J = 5$ Hz) 3CH₃-Gruppen vom Zucker; 5.16 (Dubl., $J = 8$ Hz, H am C-1 der 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose [C₂₁H₃₈O₁₁ (466.6). Ber.: C, 54.21; H, 8.20; OCH₃, 19.91. Gef.: C, 54.18; H, 8.32; OCH₃, 19.84%].

Saure Spaltung von Trisaccharid VII

Trisaccharid VII (50 mg) wurde mit 10 ml methanolischer 0.1 n-H₂SO₄ 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Dünnschichtchromatographisch konnte im System 2 Disaccharid V und D-Cymarose nachgewiesen werden. Ersteres erlitt nach 4-stündigem Erhitzen mit 0.2 n-H₂SO₄ unter Rückfluss eine Spaltung in D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose.

Isolierung von Disaccharid VI und Monosid III

Der rohe Zuckersirup (800 mg) wurde an 150 g Kieselgel im System Bnz/Chf (1:1) mit steigenden Mengen An aufgetrennt. 1% An: 60 mg Monosid III; 1–2% An: 210 mg Gemisch von Disaccharid VI und Monosid III; 2–6% An: 310 mg nicht reines Trisaccharid VII. Nach wiederholter Trennung an 50 g Kieselgel wurden 110 mg nicht ganz sauberes Disaccharid VI und 90 mg reines Monosid III erhalten.

D-Oleandropyranosyl(1→4)-D-cymaropyranose (Disaccharid VI)

Nicht kristallisierendes, glasiges Produkt von grosser Empfindlichkeit gegenüber Sauren. Längeres Stehenlassen von VI in Chf rief Zersetzung hervor. Durch 0.01 n-H₂SO₄ in Me bei Raumtemperatur erfolgte rasche Spaltung in D-Cymarose und D-Oleandrose. $[\alpha]_D^{20} + 2.2 \pm 2^\circ$ (Endwert, $c = 1.35$); IR (cm⁻¹): OH-Banden: 3660 und 3585; 2830 (OCH₃), 1105, 1090, 1038 (scharf), 1000, 970, 940, 895 und 850; NMR (τ-Werte): 5.2 (Dubl., $J = 4$ Hz, 1 Proton); 6.59 und 6.66 (OCH₃); 8.71 (Dubl., $J = 6$ Hz, 2 CH₃-Gruppen der Zucker). [C₁₄H₂₆O₇ (306.3). Ber.: C, 55.0; H, 8.56; OCH₃, 20.29. Gef.: C, 55.2; H, 8.44; OCH₃, 20.21%].

* Es handelt sich sehr wahrscheinlich um Zersetzungsprodukte der D-Cymarose durch Einwirkung von Mineralsäuren. Vgl. hierzu Lit. 26.

D-Cymaropyranosyl(1→3)-Kondurangogenin A 3 β ,14-Dihydroxy-11 α -cinnamoyloxy-12 β -acetoxy-5 α ,14 β -pregnan-20-on (Monosid III)

Farblose, nicht kristallisierende Substanz. $[\alpha]_D^{22} + 86 \pm 2^\circ$ ($c = 1.96$) Monosid III war in allen untersuchten Eigenschaften identisch mit dem Monosid A';^{3,4} IR (cm^{-1}): 3555 (OH am C-4 des Zuckers); 3360 (breit, 14 β -OH); Cinnamatbanden: 1710 (CO), 1634 (C=C). Acetatbanden: 1740 (CO); 1355, 1220 (C—O—C), C-20-Keton: 1700 und 1695 (Schulter), 1200, 1220, 1155, 1080, 1055, 995, 955 und 900.³ NMR (τ -Werte): 8.86 (CH₃-18), 9.01 (CH₃-19), 7.83 (CH₃-21), 8.12 (C-12-OAc), 6.55 (OCH₃), 8.71 (Dubl. $J = 6$ Hz, CH₃-Zucker), Multiplett um 2.5 (Zimtsäureprotonen). $[\text{C}_{39}\text{H}_{52}\text{O}_{10}$ (680.8). Ber: C, 68.81; H, 7.72; OCH₃, 4.56. Gef: C, 68.72; H, 7.68; OCH₃, 4.36%].

Isolierung von Monosid IV

Kondurangoglykosid C (1 g) wurde in 20 ml Me/Cy (1:1) gelöst und mit 20 ml 0.1 n-H₂SO₄ 1 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die Cy-Phase wurde abgehoben und die wässrige Phase 4-mal mit je 20 ml Cy ausgeschüttelt. Die vereinigten Cy-Extrakte wurden 2-mal mit je 5 ml 10 proz. KHCO₃-Lösung und 1-mal mit 10 ml W gewaschen. Nach dem Trocknen über Na₂SO₄ und Eindampfen blieben 273 mg Hydrolysenprodukte zurück. Die Isolierung von Monosid IV erfolgte wie beim Monosid III beschrieben. Neben Kondurangogenin C (70 mg) wurden 85 mg reines Monosid IV erhalten.

D-Cymaropyranosyl(1→3-Kondurangogenin C) 3 β ,14,20-Trihydroxy-11 α -cinnamoyloxy-12 β -acetoxy-5 α ,14 β -pregnan (Monosid IV)

Nicht kristallisierende, farblose Substanz, die in allen untersuchten Eigenschaften identisch mit Dihydromonosid A' war.^{3,4} Durch NaBH₄-Reduktion von Monosid III in DMF wurde in guten Ausbeuten Monosid IV erhalten, wobei die Zersetzung von überschüssigem NaBH₄ mit 2n-HCl unterblieb. $[\alpha]_D^{22} + 45 \pm 2^\circ$ ($c = 5.8$); IR (cm^{-1}): 3625 (OH an C-20), 3560 (OH an C-4 des Zuckers), 3385 (breit, 14 β -OH), die übrigen Banden vgl. Monosid III. NMR: Vgl. Monosid III; $[\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_{10}$ (682.8). Ber: C, 68.6; H, 7.97; OCH₃, 4.55. Gef: C, 68.4; H, 7.82; OCH₃, 4.42%].

Isolierung von Kondurangoglykosid A₁ und C₁

Kondurangin³ (380 g) wurde durch Säulenchromatographie an 2 kg Kieselgel im System Chf/Ee/Me (12:3:2) vorgetrennt. Es wurden 6 Hauptfraktionen zu je 4 l. Elutionsgemisch gesammelt, von denen die Fraktionen 3 bis 5 Mischfraktionen darstellten, die mit den Kondurangoglykosiden A₁ und C₁ stark angereichert waren. Aus der Fraktion 6 erhielt man 15 g eines Glykosidgemisches von A₁ und C₁, von dem ein Teil durch präparative Schichtchromatographie aufgetrennt wurde. Verwendet wurden 80 × 20 cm² Platten (50 g Kieselgel-PF₂₅₄-Merck, Belastbarkeit pro Platte 300 mg); als System mit ausreichender Trennwirkung diente Chf/Ee/Me (12:3:1) nach 3-facher Entwicklung. Die Reinsolierung der Glykoside A₁ und C₁ erfolgte durch präparative Schichtchromatographie auf 20 × 20 cm²-Platten (Kieselgel-G-Merck + Fluoreszenzindikator,²³ Belastbarkeit: 40 mg pro Platte) im System Chf/Me (9:1)³ nach 6-facher Entwicklung. Aus 1 g Glykosidgemisch der Säulenfraktion 6 wurden 420 mg reines Kondurangoglykosid A₁ und 395 mg reines C₁ erhalten.

Kondurangoglykosid A₁

Farbloser, nicht kristallisierender Schaum. Positive Xanthhydrol- und Keller-Kiliani-Reaktion. $[\alpha]_D^{23} + 38 \pm 2^\circ$ ($c = 1.7$); IR (cm^{-1}): OH-Banden: 3580, 3400 (sehr stark verbreitert), Cinnamat: 1710 (C=O), 1640 (C=C), Acetat: 1730 und 1360; 1265, 1150, 1080, 1065, 1050, 995, 855.³ NMR: schlecht aufgelöstes Spektrum in CDCl₃-Lösung, Lage der Signale wie bei Kondurangoglykosid A; UV: 279 nm (4.32), 223 nm (4.14), 217 nm (4.21). $[\text{C}_{65}\text{H}_{98}\text{O}_{27}$ (1311.6). Ber: C, 59.5; H, 7.53; OCH₃, 7.1. Gef: C, 60.0; H, 7.32; OCH₃, 7.32%].

Kondurangoglykosid C₁

Farbloser, nicht kristallisierender Schaum. Positive Xanthhydrol- und Keller-Kiliani-Reaktion. $[\alpha]_D^{19} + 23 \pm 2^\circ$ ($c = 1.6$); IR-, NMR- und UV-Spektren vgl. Kondurangoglykosid A₁. $[\text{C}_{65}\text{H}_{100}\text{O}_{27}$ (1313.7). Ber: C, 59.49; H, 7.7; OCH₃, 7.09. Gef: C, 59.20; H, 7.62; OCH₃, 7.13%].

Saure Hydrolyse von Kondurangoglykosid A₁ und C₁

Kondurangoglykosid A₁ bzw. C₁ (je 50 mg) wurde unter gleichen Bedingungen mit methanolischer 2 n-H₂SO₄ 12 Std. unter Rückfluss erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgte wie bei der Spaltung von Disaccharid V beschrieben. Das Papierchromatogramm von beiden Hydrolysenansätzen im System I

zeigte neben D-Cymarose, D-Oleandrose und 3-O-Methyl-6-desoxy-D-allose noch D-Glucose. Um eine deutliche Unterscheidung von D-Thevetose zu erreichen, wurden A₁ und C₁ mit Kiliani-Mischung²⁸ hydrolysiert und die Hydrolysenprodukte im System 3 mit D-Thevetose als Vergleichssubstanz chromatographiert. Es zeigte sich, dass die Hydrolysate keine D-Thevetose enthielten.

NaBH₄-Reduktion von Kondurangoglykosid A₁

Kondurangoglykosid A₁ (50 mg) wurde wie bei der Reduktion von Kondurangoglykosid A beschrieben, reduziert. Das Reduktionsprodukt stimmte in allen untersuchten Eigenschaften mit Kondurangoglykosid C₁ überein.

Methylierung von Kondurangoglykosid A₁¹⁷

Kondurangoglykosid A₁ (200 mg) wurde in 10 ml DMSO gelöst und unter Rühren während 1 Std. mit 500 mg NaH versetzt. Anschliessend wurden 1-4 ml Methyljodid tropfenweise zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur weitergerührt. Das methylierte Produkt versetzte man mit 30 ml W und extrahierte 4-mal mit je 20 ml Chf. Die vereinigten Chf-Phasen wurden 3-mal mit je 10 ml W gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum bei 40° eingedampft. Es hinterblieb ein gelbes, glasiges Produkt (107 mg), das durch präparative Schichtchromatographie im System 2 gereinigt wurde. (160 mg); IR (cm⁻¹): 3400 (verbreitert, 14β-OH), 2830 (OCH₃), Acetat- und Cinnamatbanden: vgl. Glykosid A₁, 1150, 1090, 1050, 1000, 975 (Schulter) und 955; NMR (τ-Werte): Im Bereich von 6:35 bis 6:6 nicht gut aufgelöste Methoxylsignale.

Saure Spaltung des permethylierten Kondurangoglykosids A₁

Permethyliertes Kondurangoglykosid A₁ (80 mg) wurde in 5 ml 5 proz. methanolischer HCl gelöst und 30 Min. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach Zusatz von 5 ml W dampfte man das Me weitgehend ab, extrahierte die wässrige Lösung 3-mal mit je 20 ml Chf und trocknete die vereinigten organischen Phasen über Na₂SO₄. Die wässrige Phase wurde mit 2 ml 2 n-HCl versetzt und 3 Stdn. auf 100° erhitzt. Das Hydrolysat neutralisierte man über eine Dowex-3-Säule (OH-Form) und engte das Eluat ein. (Hydrolysat A, 27 mg) Der Rückstand der Chf-Phase wurde in wenig Me aufgenommen, mit 5 ml 2 n-HCl versetzt und 3-5 Stdn. bei 100° gehalten. Nach Neutralisation mit fester Soda dampfte man das Me weitgehend ab und extrahierte die wässrige Lösung 3-mal mit je 20 ml Chf. Aus dem Chf-Extrakt verblieben beim Eindampfen 179 mg fester Rückstand (Hydrolysat B). Die Fraktionen A und B wurden papierchromatographisch im System nBu/W/Te (4:4:3)²⁹ untersucht. Als Vergleichssubstanzen dienten 2,3,4,6-Tetramethyl-α-D-glucose, 3,4,6-, 2,3,6-, 2,3,4-, 2,4,6-Trimethyl- und 4,6-Dimethyl-α-D-glucose. Das Papierchromatogramm zeigte deutlich die Anwesenheit von 2,3,4,6-Tetramethyl-D-glucose und 2,3,6-Trimethyl-D-glucose im Hydrolysat von A und B. Dünnschichtchromatographisch konnte die 2,3,4,6-Tetramethyl-D-glucose auch gut im System Chf/Bzl/Me (5:5:1) nach 2-facher Entwicklung von den Trimethylglucosen unterschieden werden.

Isolierung von 2,3,4,6-Tetramethyl- und 2,3,6-Trimethyl-D-glucose

Die Hydrolysenfraktionen A und B (insgesamt 150 mg) wurden an 100 g Kieselgel im System Bzl/An aufgetrennt. Es wurden jeweils 100 ml Fraktionen gesammelt.

TABELLE 2

| Fraktionen: (100 ml) | System: (Bzl/An) | Menge: (mg) |
|-------------------------|---------------------|---|
| I-III | 10:1 | 20 (nicht weiter untersucht) |
| IV-V VI | 10:2 | 30 (2,3,4,6-Tetramethyl-D-glucose) |
| VII | 10:6 | 28 (2,3,6-Trimethyl-D-glucose) |
| VIII-X | 10:10 | 50 (Mischfraktion, angereichert an Kondurangenin A) |

2,3,4,6-Tetramethyl- α -D-glucose. Lange farblose Nadeln aus Ae/Pä vom Schmp. 94–96°, $[\alpha]_D^{22} + 82^\circ$ (Endwert aus W, $c = 1.8$; Lit. 30: Schmp. 96°, $[\alpha]_D^{20} + 84^\circ$, Endwert aus W).

2,3,6-Trimethyl- α -D-glucose. Farblose Nadelchen aus Ae/An vom Schmp. 120–122°, $[\alpha]_D^{22} + 88^\circ$ (Endwert aus W, $c = 1.2$; Lit. 31: Schmp. 121–123°, $[\alpha]_D^{20} + 90.2$, Endwert aus W).

Enzymatische Abspaltung der D-Glucosen

(a) Kondurangoglykosid A_1 und C_1 (je 50 mg) wurden in je 5 ml Acetatpufferlösung (pH = 4.5) gelöst, mit je 1 ml Helix pomatia-Enzym-Gemisch versetzt und 2 Tage bei 30° stehen gelassen. Anschliessend wurde das Enzym durch Zugabe von 10 ml An gefällt, abfiltriert, das Filtrat mit Soda neutralisiert und eingedampft. Den Rückstand löste man mit 3 ml Chf, erwärmte 15 Min. auf 35° und filtrierte ab. Das klare Filtrat wurde dünnschichtchromatographisch im System 2 untersucht. Als Vergleichssubstanzen dienten Kondurangoglykosid A und C. Es zeigte sich, dass Kondurangoglykosid A_1 bzw. C_1 in Glykosid A bzw. C übergeführt worden war, wie durch gleiche R_f -Werte in verschiedenen Trennsystemen und identische IR-Spektren bewiesen werden konnte.

(b) Die gleichen Versuche wurden mit einem β -Glucosidasengemisch aus Aspergillus wentii durchgeführt. * Schon nach 2 Stdn. war eine deutliche Abspaltung beider D-Glucosen nachweisbar. Als Zwischenprodukt wurden je ca. 10 mg einer Substanz isoliert (Bzl/An = 2:1), deren CH-Analysen für die Summenformeln $C_{59}H_{87}O_{22}$ (1148.5) bzw. $C_{59}H_{89}O_{22}$ [(1150.5) sprechen. Ber.: C, 61.60 (61.50); † H, 7.65 (7.62). Gef.: C, 61.57 (61.54); H, 7.61 (7.64)%].

Die bei der enzymatischen Spaltung entstehenden Zwischenprodukte stellen höchstwahrscheinlich die Monoglucosederivate der Kondurangoglykoside A_1 bzw. C_1 dar, da sie bei weiterer Enzymeinwirkung in die Kondurangoglykoside A bzw. C übergeführt wurden. Die Kondurangoglykoside A_1 und C_1 wurden bei längerem Stehen (3–5 Tage) in Acetatpufferlösung (pH 4.5) wie auch von Maltase in Phosphatpufferlösung (pH 7) nicht verändert.

Papierchromatographischer Nachweis der "Kondurangobiose"[†]

Kondurangoglykosid A_1 (1 g) wurde in 50 ml 44 proz. acetonischer HCl gelöst und 14 Tage bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach der Ausfällung der Chloridjone mit Ag_2CO_3 versetzte man die filtrierte Lösung mit frisch bereitetem H_2S -Wasser und filtrierte über wenig Aktivkohle. Die fast farblose, klare Lösung wurde eingedampft, und der Rückstand in wenig Me/W (1:2) gelöst. Es folgte die übliche Aufarbeitung. Die wässrige Phase wurde eingedampft, in wenig Me aufgenommen und papierchromatographisch in den Systemen I und II untersucht.

| R_f -Wert-Kondurangobiose (gefunden) | R_f -Wert (Lit. 7) |
|--|----------------------|
| System I 0.34 | 0.35 |
| System II 0.43 | 0.43 |

Danksagung—Wir danken Frau Fricke, Frl. Winterfeld, Frl. Gerusel und Herrn Lander für die Ausführung der Analysen bzw. Aufnahme der Spektren. Frl. Schäfer danken wir für geschickte experimentelle Mitarbeit und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Förderung dieser Arbeit.

LITERATUR

- ¹ XVIII. Mitteilung: R. Tschesche, G. Berscheid, H.-W. Fehlhaber und G. Snatzke, *Chem. Ber.* **100**, 3289 (1967).
- ² R. Tschesche, H. Kohl und P. Welzel, *Tetrahedron* **23**, 1461 (1967).
- ³ R. Tschesche, P. Welzel und G. Snatzke, *Ibid.* **21**, 1777 (1965).
- ⁴ R. Tschesche, P. Welzel und H.-W. Fehlhaber, *Ibid.* **21**, 1797 (1965).
- ⁵ R. Tschesche, M. Baumgarth und P. Welzel, *Ibid.* **23**, 249 (1967).
- ⁶ C. Mannich und G. Siewert, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **75**, 737 (1942).
- ⁷ F. Korte, *Chem. Ber.* **88**, 1527 (1955).
- ⁸ Experimentelle Einzelheiten siehe Lit. 2.

† Die in Klammern stehenden Werte beziehen sich auf das Zwischenprodukt von Kondurangoglykosid C_1 .

- ⁹ J. v. Euw und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **31**, 883 (1948); M. L. Lewbart, W. Wehrli, H. Kaufmann und T. Reichstein, *Ibid.* **46**, 517 (1963).
- ¹⁰ Vgl. hierzu auch Lit. 2 und 3.
- ¹¹ T. Reichstein, *Advances in Carbohydrate Chemistry* **17**, 65 (1962); R. U. Lemieux, *Ibid.* **9**, 5 (1954); F. Shafizadeh, *Ibid.* **13**, 33 (1958).
- ¹² ^a E. Abisch, Ch. Tamm und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **42**, 1014 (1959);
^b A. F. Krasso und Ek. Weiss, *Ibid.* **49**, 1113 (1966);
^c J. S. Brimacombe und D. Portsmouth, *J. Chem. Soc. (C)*, 499 (1966);
^d L. Sawlewicz, Ek. Weiss und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **50**, 504 (1967); *Ibid.* **50**, 530 (1967);
^e K. A. Jaeggi, Ek. Weiss, W. Wehrli und T. Reichstein, *Ibid.* **50**, 1201 (1967).
^f E. Vischer und T. Reichstein, *Ibid.* **27**, 1332 (1944).
- ¹³ T. Reichstein, *Angew. Chem.* **63**, 412 (1963); Dort wird auch auf weitere Literatur verwiesen.
- ¹⁴ E. Schenker, *Angew. Chem.* **73**, 81 (1961); Dort findet sich eine Literaturübersicht über die NaBH₄-Reduktion von Zuckern und Zuckerderivaten.
- ¹⁵ C. W. Shoppee und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **23**, 975 (1940).
- ¹⁶ Vgl. hierzu Lit. 13 und 12a.
- ¹⁷ D. M. W. Anderson und G. M. Cree, *Carbohydrate Research* **2**, 162 (1966).
- ¹⁸ H. Helfenberger und T. Reichstein, *Helv. Chim. Acta* **31**, 1470 (1948); R. Bloch, S. Rangaswami und O. Schindler, *Ibid.* **43**, 652 (1960).
- ¹⁹ W. Klyne, *Biochem. J.* **47**, xli (1950).
- ²⁰ E. Stahl, *Chemiker Ztg.* **82**, 875 (1958).
- ²¹ R. Tschesche, W. Freytag und G. Snatzke, *Chem. Ber.* **92**, 3053 (1959).
- ²² H. Halpaap, *Chemie-Ing.-Techn.* **35**, 488 (1963).
- ²³ R. Tschesche, G. Biernoth und G. Wulff, *J. Chromat.* **12**, 342 (1963).
- ²⁴ Siehe Lit. 12a.
- ²⁵ S. M. Partridge, *Nature, Lond.* **164**, 443 (1949).
- ²⁶ F. Korte und J. Rippbahn, *Liebigs Ann.* **621**, 58 (1959).
- ²⁷ Siehe Lit. 12b.
- ²⁸ H. Kiliani, *Archiv Pharmaz.* **251**, 567 (1913), zit. nach Lit. 12a.
- ²⁹ R. Tschesche und G. Wulff, *Tetrahedron* **19**, 621 (1963).
- ³⁰ J. C. Irvine und J. W. H. Oldham, *J. Chem. Soc.* **119**, 1744 (1921).
- ³¹ J. C. Irvine und E. L. Hirst, *Ibid.* **121**, 1213 (1922).