

## ÜBER TRITERPENE—XXIX<sup>1</sup>

### ZUR STRUKTUR DES AVENACINS\*

R. TSCHESCHE, H. CHANDRA JHA und G. WULFF  
Institut für Organischechemie und Biochemie der Universität Bonn

(Received in Germany 4 October 1972; Received in the UK for publication 18 October 1972)

**Zusammenfassung**—Aus den Wurzeln des Hafers (*Avena sativa*) wurde ein zweites antibiotisch aktives Glykosid, Avenacin B, neben dem Hauptglykosid Avenacin A, isoliert. Im Aglykon von A konnte im Gegensatz zu Literaturangaben keine Doppelbindung nachgewiesen werden, stattdessen fand sich neben der Keto- noch eine Aldehydgruppe. Der bisherige Strukturvorschlag für das Avenamin muß daher revidiert werden. Im Aglykon von B, dem Avenamin B, ist eine CH<sub>2</sub>OH-Gruppe des A durch CH<sub>3</sub> ersetzt. Die Zuckerkette im Avenacin A wurde als [ $\beta$ -D-Glucopyranosyl (1  $\rightarrow$  4)]- [ $\beta$ -D-glucopyranosyl (1  $\rightarrow$  2)]- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1)- und die in B als  $\beta$ -D-Glucopyranosyl (1  $\rightarrow$  4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1)- bestimmt.

**Abstract**—From the roots of oat (*Avena sativa*) a second antibiotic active glycoside, avenacine B, was isolated in addition to the main glycoside avenacine A. In the aglycone of A the double bond could not be established contrary to the statement in the literature but an aldehyde group in addition to the keto group was identified and therefore the proposed structure has to be revised. In the aglycone of B the —CH<sub>2</sub>OH-group of A has been substituted by CH<sub>3</sub>. The structures of the sugar chains in both glycosides have been determined, in avenacine A as [ $\beta$ -D-glucopyranosyl(1  $\rightarrow$  4)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1  $\rightarrow$  2)]- $\alpha$ -L-arabinosyl (1)- and in B as [ $\beta$ -D-glucopyranosyl (1  $\rightarrow$  4)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1)-.

Goodwin und Kavanagh zeigten 1948<sup>2</sup> und 1954,<sup>3</sup> dass Wurzelspitzen des Hafers (*Avena sativa*) ein im UV stark blau fluoreszierendes Glykosid enthalten; 1964 isolierten Maizel *et al.*<sup>4</sup> diese Substanz in reiner Form und gaben ihr den Namen Avenacin. Sie erkannten, dass der Hafer durch sie gegen die Infektion durch den Mikroorganismus *Ophiobolus graminis* (Erreger der take-all disease) geschützt wird.<sup>5</sup> Sie postulierten die Saponinnatur der Verbindung mit einem Aglykon, für das sie die Struktur eines  $\Delta^{18}$ -Oleanen-derivates mit 4 OH-, einer Keto- und einer Acyloxygruppe annahmen. Als Acyl fanden sie im Avenacin N-Methyl-anthranilsäure, auf die auch die blaue Fluoreszenz zurückgeht. Für den Zuckeranteil des Moleküls, dessen Natur ebenfalls nicht vollkommen geklärt werden konnte, wurden als Komponenten D-Glucose und ein unbekannter Zucker im Verhältnis 2:1 bestimmt.

Im Rahmen unserer Untersuchungen über antibiotisch wirksame Inhaltsstoffe höherer Pflanzen und auf Grund der angenommenen Saponinnatur des Avenacins war eine endgültige Strukturermittlung für uns von besonderem Interesse. Die Neubearbeitung zeigte, dass die Wurzeln neben dem Hauptglykosid (nunmehr als Avenacin A bezeichnet) einen sehr nahe verwandten Begleiter

im Verhältnis 10:1 (Avenacin B) enthalten, der ebenfalls eine starke antibiotische Wirksamkeit besitzt. Während wir für Avenacin A die Summenformel C<sub>55</sub>H<sub>83</sub>O<sub>21</sub>N bestätigen können, hat Avenacin B die Zusammensetzung C<sub>50</sub>H<sub>75</sub>O<sub>16</sub>N. Avenacin B enthält wie A 1 Mol N-Methyl-anthranilsäure esterartig gebunden, die Zuckerkette besteht jedoch nur aus 2 Mol. D-Glucose, die in 1  $\rightarrow$  4 verknüpft sind. Die Bestimmung der Bindung erfolgte in üblicher Weise durch Permethylierung und anschließende saure Hydrolyse. Dabei traten als Methylzucker 2,3,6-Tri-O-methyl-D-glucose und 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose auf.

Durch Säurehydrolyse erhält man aus Avenacin B das Aglykon, Avenamin B, das noch N-Methyl-anthranilsäure enthält. Im Massenspektrum findet man für Avenamin B ein Molekularion von *m/e* = 621, entsprechend C<sub>38</sub>H<sub>55</sub>O<sub>6</sub>N, damit besitzt es eine OH-Gruppe weniger als das Avenamin A. Aus dem NMR-Spektrum ergibt sich, dass die primäre CH<sub>2</sub>OH-Gruppe von A fehlt und in B durch CH<sub>3</sub> ersetzt ist, dementsprechend erhält man statt 6 jetzt 7 Singulett für Methylgruppen bei  $\tau$  8.77, 8.78, 8.83, 8.95, 9.03, 9.08 und 9.17. Abgesehen von diesem Unterschied und dem Fehlen des Signals für die Methylprotonen der CH<sub>2</sub>—OH-Gruppe in B sind die NMR-Spektren von Avenamin B und A sowie von ihren einander entsprechenden Derivaten weitgehend identisch.

\*Herrn Prof. Dr. E. Ziegler, Graz, mit herzlichen Wünschen zum 60. Geburtstag gewidmet.

Das Aglykon des Avenacin A soll nach den amerikanischen Autoren<sup>5</sup> eine Doppelbindung enthalten, die wir jedoch nicht nachweisen konnten. Hydrierungsversuche und die Tetranitromethanprobe verliefen negativ; wesentlicher ist aber, dass auch eine Aufspaltung des Moleküls mit Rutheniumtetroxid<sup>6</sup> nicht auftrat. Dagegen findet sich eine Aldehydgruppe, die das Defizit von 2H gegenüber einer gesättigten Verbindung erklärt. Im NMR lässt sich bei  $\tau$  0.09 das Signal eines Protons beobachten, das nicht gegen D austauschbar ist und auf das H einer Aldehydgruppe hinweist. Dem würde auch das Auftreten von nur 6-Methylgruppen im NMR entsprechen, wenn man die übliche Zahl von 8 angulären  $\text{CH}_3$ -Gruppen im Grundkörper annimmt. Avenamin A hat die Summenformel  $\text{C}_{38}\text{H}_{55}\text{O}_7\text{N}$  (Gef: 637.3967, Ber: 637.3979 durch hochauflösende Massenspektroskopie).

Wird Avenamin A mit  $\text{LiAlH}_4$  zum Avenagenol A reduziert, und anschließend in das Hexaacetat<sup>5</sup> übergeführt, lässt sich  $M^+$  zu 760, 4385 ermitteln, gegenüber 759, die früher gefunden worden waren.<sup>5</sup> Avenagenol-A-hexa-acetat  $\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{12}$  enthält daher 2H mehr als bisher angenommen wurde, die auf die Reduktion der Aldehydgruppe zurückgehen. Avenamin A ergibt entsprechend unseren Vorstellungen nur ein Triacetat (die Literatur gibt ein Tetraacetat an), das durch Acetylierung der ursprünglich vorhandenen 2OH Gruppen, sowie einer dritten OH-Gruppe die durch Hydrolyse der Glykosidbindung entstanden ist, gebildet wurde. Avenagenol A hat wie auch bisher angenommen<sup>5</sup> wurde 6 freie OH-Gruppen, zu den 3 im Avenamin A vorhanden gewesenen, kommen 2 durch Reduktion der Keto- bzw. Aldehydgruppe hinzu, die 6. stammt aus der hydrierenden Abspaltung der N-Methyl-anthranilsäure. Die Zuordnung des Avenagenols A zu einem der bekannten Typen der Triterpene war wegen der fehlenden Doppelbindung bisher nicht möglich.

Die Untersuchung der Struktur der Zuckerkette im Avenacin A geschah in der üblichen Weise durch Permethylierung, Säurehydrolyse und Bestimmung der entstandenen Methylzucker.

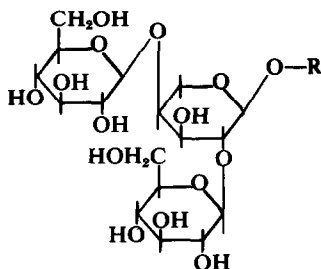
Es wurde als Glucosederivat nur die 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose und ferner die 3-Mono-O-methyl-L-arabinose gefunden. Die Tetramethyl-glucose wurde in kristalliner Form, die Monomethyl-arabinose als Osazon, durch Vergleich mit authentischen Derivaten identifiziert. Der von den amerikanischen Autoren<sup>5</sup> nicht bestimmte Zucker ist daher die L-Arabinose. Das Auftreten von 3-Mono-O-methyl-arabinose und von nur Tetra-O-methyl-glucose beweist zugleich die verzweigte Natur der Zuckerkette und dass die Arabinose mit dem Aglykon verknüpft sein muss. Die quantitative Zuckerbestimmung mittels Gaschromatographie der Silylderivate der abgespaltenen Zucker zeigte 2 Mol. Glucose und 1 Mol. Arabinose im Avenacin-A. Die Annahme einer  $\alpha$ -glykosidischen Bindung für die L-Arabinose stützt sich lediglich auf Analogien,<sup>7</sup> die  $\beta$ -glykosidische Bindung der Glucosen ergibt sich aus ihrer Abspaltung durch eine  $\beta$ -Glucosidase aus *Aspergillus ventii*. Es ergibt sich somit im Avenacin A für den Zuckeranteil die Formel 1 und für Avenacin B 2.

Avenacin B besitzt wie A eine starke antibiotische vor allem antimykotische Aktivität. So tritt gegenüber *Trichoderma viride*, *Ophiobolus graminis* und *Rhizoetonia solani* bei 100  $\gamma$ /ml starke bis vollständige und bei 10  $\gamma$ /ml noch deutliche Hemmung des Mycelwachstums auf.

Die hämolytische Aktivität des Avenacins A wurde zu 0.3  $\gamma$ /ccm die von Avenacin B zu 0.2  $\gamma$ /ccm bestimmt.<sup>8</sup> Die Avenamine A und B sowie Avenogenol A zeigen keine bemerkenswerte hämolytische Wirksamkeit. In äthanolischer Lösung konnte Fällbarkeit mit Cholesterin nicht festgestellt werden.

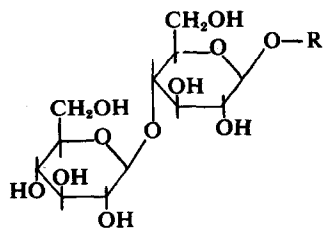
#### BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Mikroskop-Heiztisch nach Weygand, die optischen Drehungen mit dem Perkin-Elmer-Polarimeter 141 bestimmt. Die IR-Spektren wurden mit dem Perkin-Elmer Spektrophotometer, Modell 221 mit Gitter-Prismen-Austauscheinheit, aufgenommen. Die Massenspektren wurden mit dem CH 4 (M.A.T.) und MS 9 (AEI) im Direkt-Einlaß-Verfahren bei einer Elektronen-energie von 70 eV und einer Ionenquellentemperatur von ca. 70° aufgenommen. Die



1

R = Rest des Avenamins A



2

R' = Rest des Avenamins B

Mikroanalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium von Dr. F. Pascher, Bonn, ausgeführt.

Die Dünnschichtchromatographie (DC) an Kieselgel G (Merck) wurde wie üblich durchgeführt.<sup>9</sup> Angefärbt wurde mit Chlorsulfonsäure/Eisessig (1:2) oder mit Anilinphtalat in Isobutylalkohol.<sup>10</sup> Zur Papierchromatographie wurde das Papier 2043b (Schleicher & Schüll) verwendet. Die Chromatogramme wurden absteigend entwickelt. Zur Säulenchromatographie benutzte man Kieselgel (Gebr. Hermann, Köln).

Folgende Fließmittelsysteme wurden für die Säulen- und Dünnschichtchromatographie angewendet:

A: Chloroform/Methanol/Wasser	65:35:10 <sup>11</sup>
B: Chloroform/Methanol/Wasser	65:30:10
C: Benzol/Aceton	10:5
D: Benzol/Methanol	10:2
Fließmittelsystem für die Papierchromatographie:	
E: Essigester/Pyridin/Wasser	3·6:1:1·15 <sup>12</sup>
	obere Phase
F: Essigester/Pyridin/Wasser	2:1:2 <sup>13</sup>
	obere Phase
G: Benzol/Äthanol/Wasser/NH <sub>3</sub> aq. (konz.)	200:47:14:1 <sup>14</sup>
	obere Phase
H: Methyläthylketon gesättigt mit 2% wässrigem Ammoniak <sup>15</sup>	

Aufzucht und Kultur der Haferpflanzen wurde im wesentlichen nach den amerikanischen Angaben vorgenommen.<sup>4</sup> Von den gesamten Wurzeln (10 kg, feucht) wurden jeweils 1·5 kg verarbeitet und mit dem Ultraturax in 5 l Methanol so lange extrahiert bis keine Fluoreszenz in dem Extrakt mehr beobachtet werden konnte. Die gesammelten Auszüge wurden unter Vakuum bei 40° eingedampft. Das trockene Rohprodukt (180 g) wurde mehrmals mit 96% Äthanol extrahiert, bis nur noch eine sehr schwache Fluoreszenz im UV-Licht beobachtbar war. Der trockene Äthanol-Extrakt ergab, 60 g angereichertes Glykosid. Dieses wurde in Methanol (200 ml) gelöst und auf Kieselgel (250 g) aufziehen gelassen. Es wurde oben auf eine Säule mit 1·8 kg Kieselgel aufgebracht und in folgender Weise chromatographiert:

1. Chloroform	2:5 l
2. Chloroform/Methanol (65:20)	2 l
3. Chloroform/Methanol (65:30)	2 l
4. Chloroform/Methanol/Wasser (65:30:5)	2·5 l
5. Chloroform/Methanol/Wasser (65:30:10)	
	bis zum Ende.

Avenacin A und B wurden mit dem letztgenannten Lösungsmittelsystem eluiert und die Fraktionen, die Avenacin-A und -B enthielten, wurden bis zur Trockne eingedampft (14·3 g). Das verbliebene Material enthielt ausser Farbstoffen noch eine polarere, nicht fluoreszierende Verunreinigung.

**Trennung der Saponine.** Das Rohprodukt (14·3 g), in Methanol gelöst und auf Kieselgel (60 g) aufgezogen, wurde auf eine Kieselgelsäule (100×8 cm) mit dem Lösungsmittel Chloroform:Methanol, 65:30 aufgebracht. Zur Trennung benutzte man das Lösungsmittelsystem B. Es ließ sich so Avenacin-A (3·1 g) von Avenacin-B (0·32 g) gut trennen.

**Avenacin A.** Das chromatographisch einheitliche Avenacin A wurde in Methanol gelöst und zur Lösung Wasser bis zur Trübung zugegeben. Nachdem dies durch

Erhitzen beseitigt war, wurde abgekühlt. Der im Kühlschrank über Nacht gebildete Niederschlag wurde abzentrifugiert und mehrmals aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Man erhielt nadelförmige Kristalle vom Schmp. 250–53°,  $[\alpha]_D^{25} = +36\cdot0^\circ$  (c 1, H<sub>2</sub>O) Lit.,<sup>5</sup> Schmp. 248–50°,  $[\alpha]_D^{24} = 35\cdot7^\circ$ . (C<sub>55</sub>H<sub>85</sub>O<sub>21</sub>N Ber: 1094, Gef: MG 1150 (Dampfdruckmethode). C<sub>55</sub>H<sub>85</sub>O<sub>21</sub>N·H<sub>2</sub>O Ber: C, 59·38; H, 7·70. Gef: C, 59·13; H, 7·89%); UV-Spektrum (Äthanol)  $\lambda_{\max}$  356 nm ( $\epsilon = 5902$ ), 255 nm ( $\epsilon = 8088$ ) 222 nm ( $\epsilon = 26013$ ); IR-Spektrum (KBr) 3390 cm<sup>-1</sup> (breite Kurve für OH und -NH), 2910 cm<sup>-1</sup> (aliphatisches Methyl), 1712 cm<sup>-1</sup> (Carbonyl), 1675 cm<sup>-1</sup> (Estercarbonyl), 1260 cm<sup>-1</sup> (C—O Valenzschwingung vom Ester).

**Avenamin A<sup>5</sup>.** Avenacin A (500 mg) wurde mit verdünnter Schwefelsäure (1n, 25 ml) auf dem Ölbad (100°) erhitzt. Das suspendierte Saponin löste sich nach etwa 15 Min., eine halbe Std. später begann das Genin auszufallen. Nach 2 Stdn. wurde gekühlt und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Den Rückstand löste man in Benzol/Methanol 1:1 und zog die Lösung an Kieselgel (600 mg) auf. Das Material wurde oben auf eine kleine Kieselgelsäule (25 g SiO<sub>2</sub>) gebracht und anschließend chromatographiert. Die Polarität des Lösungsmittels erhöhte man in folgender Weise: Benzol/Aceton-Gemisch (10:1, 10:2, 10:3). Die Avenamin A-haltige Fraktion wurde zur Trockne eingedampft und aus Methanol umkristallisiert. Die prismatischen Kristalle schmolzen bei 210–11°,  $[\alpha]_D^{20} = -16\cdot4^\circ$  (c 1, CH<sub>3</sub>OH). C<sub>38</sub>H<sub>55</sub>O<sub>7</sub>N Ber: 637·3979, Gef: 637·3967 (±19). Die Summenformel wurde zur Trockne auflösende MS bestimmt. (C<sub>38</sub>H<sub>55</sub>O<sub>7</sub>N·CH<sub>3</sub>OH (669·8) Ber: C, 69·91; H, 8·92. Gef: C, 69·84; H, 8·76%); UV-Spektrum (Äthanol)  $\lambda_{\max}$  355 nm ( $\epsilon = 4841$ ), 253 nm ( $\epsilon = 7007$ ), 222 nm (23186); IR-Spektrum (KBr) 3400 cm<sup>-1</sup> (-OH und -NH), 2930 cm<sup>-1</sup> (aliphatisches Methyl), 1720 cm<sup>-1</sup> (Carbonyl), 1690 cm<sup>-1</sup> (Estercarbonyl); NMR-Spektrum (CDCl<sub>3</sub>),  $\tau$  1·9–3·3 (Multiplett, aromatische Protonen)  $\tau$  4·9 (Protonen neb. sek. -OH),  $\tau$  7·1 (-N-CH<sub>3</sub>),  $\tau$  6·4 (Protonen neben prim. -OH),  $\tau$  8·77, 8·82, 8·88, 8·41, 9·09, 9·24. (Methyl),  $\tau$  0·09 (Aldehydproton); MS *m/e* 637, 486 (M<sup>+</sup>-N-methylantranilsäure).

**Avenagenol A** hergestellt nach Lit.<sup>5</sup> Schmp. 320–1°, *R<sub>f</sub>*-Wert im System D 0·19. (C<sub>30</sub>H<sub>52</sub>O<sub>6</sub>·CH<sub>3</sub>OH (540·7) Ber: C, 68·65; H, 10·44. Gef: C, 68·44; H, 9·82%); IR: keine Bande im Carbonyl-Bereich.

**Avenagenol-A-hexaacetat** (hergestellt nach Lit.<sup>5</sup>) (C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>12</sub> (760·4) Ber: C, 66·31; H, 8·12. Gef: C, 66·41; H, 8·21%); MS (M<sup>+</sup>) 760·4385 (±76), Ber: 760·4398; *m/e* 700 (M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>COOH), 640 (M<sup>+</sup>-2CH<sub>3</sub>COOH), 580 (M<sup>+</sup>-3CH<sub>3</sub>COOH), 520 (M<sup>+</sup>-4CH<sub>3</sub>COOH), 460 (M<sup>+</sup>-5CH<sub>3</sub>COOH), 400 (M<sup>+</sup>-6CH<sub>3</sub>COOH).

**Nachweis der Zucker.** Das Filtrat der salzsauren Hydrolyse nach Abtrennung des Avenamins A, wurde mit Dowex 3 neutralisiert, papierchromatographisch in mehreren Lösungsmittelsystemen konnten Glucose und Arabinose festgestellt werden.

**Nachweis der Arabinose in Avenacin A.** Das neutralisierte Filtrat wurde bei 40° im Vakuum zur Trockne eingedampft und in Methanol aufgenommen. Die Zucker wurden papierchromatographisch im System E aufgetrennt. Der unpolare Anteil wurde aus dem Papier mit Methanol/Wasser 1:1 eluiert, das Eluat zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit Pyridin/Essigsäureanhydrid acetyliert. Das MS des Acetats zeigte an, daß ein Pentoseacetat vorlag.

**Quantitative Bestimmung der Zucker.**<sup>16</sup> Zur quantitativen Zuckerbestimmung wurde Avenacin A (30 mg) mit 5%-iger methanolischer HCl abgespalten und die Methylglykoside der Zucker in die Silylverbindungen übergeführt. Die gaschromatographische Bestimmung bei 180° ergab ein Zucker Verhältnis Glucose zu Arabinose von 2:1.

**Methylierung von Avenacin A.** 0.75 g Avenacin-A wurden unter Rühren in 60 ccm Dimethylsulfoxid gelöst. Innerhalb einer Stde. wurden etwa 1.2 g Natriumhydrid in kleinen Portionen hinzugegeben, die Lösung färbte sich hellgelb. Dann wurden im Zeitraum von 2 Stdn. 3 ccm Methyljodid hinzugesetzt. Nach 2 Tagen Rühren bei Raumtemperatur wurden erneut die gleichen Mengen Natriumhydrid und Methyljodid wie vorher zugefügt (insgesamt dreimal) und für weitere 3 Tage gerührt.

Zur Aufarbeitung wurde der Ansatz langsam in 0.5 l Wasser gegeben. Die ausgefallenen Methylierungsprodukte wurden abgesaugt und das Ungelöste in Chloroform aufgenommen. Durch 5-maliges Extrahieren mit je 60 ccm Chloroform wurden noch gelöste Methylierungsprodukte aus der wäßr. Phase gewonnen. Die vereinigten Chloroform-Auszüge wurden anschließend 5 mal mit je 25 ml Wasser gewaschen, um das Dimethylsulfoxid zu entfernen. Die organische Phase wurde mit Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer zur Trockne eingedampft. Es fielen 0.9 g eines dunkelbraunen Öls an, das an 200 g SiO<sub>2</sub> im System D gereinigt wurde. Man erhielt 0.54 g permethyliertes Avenacin A (keine OH-Bande mehr im IR).

**Hydrolyse des permethylierten Avenacins A.** 0.5 g des Methylierungsproduktes wurden mit 30 ccm 5proz. methanolischer HCl 6 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde mit 30 ccm Wasser verdünnt, das Methanol i. Vak. abdestilliert und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde i. Vak. auf 20 ccm eingeeengt, mit 20 ccm 2 n HCl versetzt und zur Hydrolyse der Methylglykoside 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Danach waren dünnschichtchromatographisch im System Chloroform/Methanol (10:1), zwei mit Anilinphtalat anfärbbare methylierte Zucker nachzuweisen. Die Säure wurde über Ionenaustauscher (Dowex 3, OH Form) entfernt und die Lösung i. Vak. eingedampft. Das resultierende Zuckergemisch (0.24 g) wurde an 50 g Kieselgel (71–90 µ) chromatographiert. Man eluierte mit Chloroform/Methanol-Gemisch (10:0.2, 10:0.35, 10:0.7) und erhielt 123 mg 1 und 41 mg 2. Ihre R<sub>F</sub>-Werte im Dünnschichtchromatogramm im System Chloroform/Methanol (10:1) liegen bei (0.48) für a1 und (0.13) für b2.

**2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose.** Schmp. 92–94° (aus Petroläther);  $[\alpha]_D^{20} + 77.9^\circ$  (Enddrehung),  $c = 1.06$  Wasser, nach Mischschmelzpunkt IR-Spektrum und chromatographischem Verhalten identisch mit authent. Material. (C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub> (236.3) Ber: C, 50.83; H, 8.53. Gef: C, 50.97; H, 8.65%).

**3-Mono-O-methyl-L-arabinose.** Sirup,  $[\alpha]_D^{20} = +100.0^\circ$  (c, 1.42, H<sub>2</sub>O).

**3-Mono-O-methyl-L-arabinose-phenylosazon.** 50 mg Phenylhydrazinhydrochlorid wurden in der Hitze in 1 ccm 20%-iger Natriumacetat-Lösung eingetragen. Nach Filtration wurden 25 mg 3-Mono-O-methyl-L-arabinose zugegeben und die Mischung 30 Min. auf 100° erhitzt. Das beim Abkühlen ausfallende Osazon konnte durch Umkristallisieren aus Äthanol/Wasser in gelben Nadeln erhalten werden. Schmp. 161° (Lit.<sup>17</sup> Schmp. 163–65°). Mischschmelzpunkt mit authent. Substanz zeigte keine

Depression. (C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub> Ber: N, 16.00; Gef: N, 16.18%).

**Avenacin B.** Das erhaltene Avenacin B wurde aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Schmp. 250–51°,  $[\alpha]_D^{25} = +12.5$  (c = 1.0 H<sub>2</sub>O). (C<sub>30</sub>H<sub>75</sub>O<sub>16</sub>N·H<sub>2</sub>O (963.8) Ber: C, 62.30; H, 7.99. Gef: C, 62.71; H, 7.53%); Mol.-Gew. Gef. 1020 (Dampfdruckmethode); UV-Spektrum (Äthanol)  $\lambda_{\max}$  355 nm ( $\epsilon = 1890$ ), 253 nm ( $\epsilon = 3780$ ), 222 nm ( $\epsilon = 15498$ ); IR-Spektrum (KBr) 3400 cm<sup>-1</sup> (-OH und -NH), 2910 cm<sup>-1</sup> (aliph. Methyl), 1720 cm<sup>-1</sup>, 1678 cm<sup>-1</sup> (Carbonyl), 1600 cm<sup>-1</sup>, 1570 cm<sup>-1</sup> (aromat. Ring), 1370 cm<sup>-1</sup>, 1230 cm<sup>-1</sup> (Ester).

**Saure Hydrolyse von Avenacin B.** 100 mg Avenacin B wurden in verd. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1 n, 10 ccm) aufgenommen und auf dem Ölbad (100°) 1½ Stdn. erhitzt. Das Glykosid löste sich bald auf und nach 20 Min. begann das Genin auszufallen. Das erhaltene Avenamin B wurde durch Chromatographie über eine Dünnschichtplatte (20 × 20 cm, 25 g Kieselgel G) im System C gereinigt. Die Umkristallisation ergab aus Methanol Nadeln vom Schmp. 178–80°. (C<sub>30</sub>H<sub>55</sub>O<sub>6</sub>N·CH<sub>3</sub>OH (653.8) Ber: C, 71.58; H, 9.02. Gef: C, 71.41; H, 8.92%); UV-Spektrum (Äthanol)  $\lambda_{\max}$  355 nm ( $\epsilon = 4500$ ), 253 nm ( $\epsilon = 6632$ ), 222 nm (23500); IR-Spektrum (CHCl<sub>3</sub>) 3605 cm<sup>-1</sup> und 3410 cm<sup>-1</sup> (-OH und -NH) 2725 cm<sup>-1</sup> (C—H Schwingung von Aldehyd), 1720 cm<sup>-1</sup>, 1698 cm<sup>-1</sup> (Carbonylbanden), 1240 cm<sup>-1</sup> (Ester); NMR-Spektrum (CDCl<sub>3</sub>)  $\tau$  1.9–3.3 (Multiplett für arom. Protonen),  $\tau$  4.85 (Proton neben sek. -OH),  $\tau$  5.65–6.8 (CH neben -OH),  $\tau$  7.08 (-N-CH<sub>3</sub>),  $\tau$  8.7, 8.78, 8.83, 8.95, 9.03, 9.08, 9.17 (7 CH<sub>2</sub> Gruppen),  $\tau$  0.09 (Aldehyd-Proton) MS Molekulargewicht m/e 621 (M<sup>+</sup>).

**Permethylierung von Avenacin B.** 300 mg Avenacin B wurden wie beim Avenacin A beschrieben, methyliert. Das Reaktionsgemisch (350 mg) wurde an 30 g Kieselgel mit System D gereinigt. Man erhielt so 220 mg Permethylierungsprodukt, das im IR-Spektrum keine OH-Bande mehr aufwies. Nach einer Hydrolyse mit 5proz. methanolischer HCl und Abdestillieren des Methanols i. Vak. wurde mit 5 ccm 2 n HCl nachhydrolysiert. Nach Neutralisieren am Ionenaustauscher erhielt man 2,3,4,6-Tetra-O-methyl-D-glucose (50 mg) und 2,3,6-Tri-O-methyl-D-glucose (41 mg).

**2,3,6-Tri-O-methyl-D-glucose.** Schmp. 118–21° (lange Nadeln aus Äther/Petroläther),  $[\alpha]_D^{20} = +71.5^\circ$  (Enddrehung) (c = 1.04, H<sub>2</sub>O). Nach Mischschmp., IR-Spektrum und chromatographischem Verhalten identisch mit authent. Material. Durch Papierchromatographie in dem System G konnten die anderen möglichen Trimethylglucosen ausgeschlossen werden.

**2,3,6-Tri-O-methyl-glucose** hatte den R<sub>F</sub>-Wert 0.23 im System G. (C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>6</sub> (222.2) Ber: C, 48.64; H, 8.16. Gef: C, 48.52; H, 8.20%).

Wir danken Herrn Dr. H.-W. Fehlhaber und Herrn Dr. G. Eckhardt für wertvolle Unterstützung, Frl. I. Winterfeld und Herrn H. Rindermann für die Aufnahme der Spektren, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Stiftung Volkswagenwerk für die zur Verfügung gestellten Spektrometer und dem Landesamt für Forschung beim Ministerpräsidenten des Landes Nordrhein-Westfalen für die finanzielle Unterstützung; H. Ch. J. dankt dem Akademischen Austauschdienst für die Gewährung eines Stipendiums.

Herrn Prof. Dr. F. Schönbeck und Herrn Priv.-Doz. Dr. E. Schösser, Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn, danken wir für die Bestimmung der antibiotischen bzw. der hämolytischen Aktivität unserer Substanzen.

## LITERATURVERZEICHNIS

- <sup>1</sup>XXVIII. Mitt.: R. Tschesche, H. Rehkämper und G. Wulff, *Liebigs Ann.* 726, 125 (1969).
- <sup>2</sup>R. H. Goodwin und F. Kavanagh, *Bull. Torrey Bot. Club* 75, 1–17 (1948).
- <sup>3</sup>R. H. Goodwin und F. Kavanagh, *Am. J. Bot.* 41, 516 (1954).
- <sup>4</sup>J. V. Maizel, H. J. Burckhardt und K. H. Mitchell, *Biochemistry* 3, 424 (1964).
- <sup>5</sup>J. V. Maizel, H. J. Burckhardt und K. H. Mitchell, *Ibid.* 3, 426 (1964).
- <sup>6</sup>G. Snatzke und H.-W. Fehlhaber, *Liebigs Ann.* 663, 123 (1963).
- <sup>7</sup>W. Klyne, *Biochem. J.* 47, xli (1950).
- <sup>8</sup>E. Schlösser und G. Wulff, *Z. Naturforsch.* 24b, 1284 (1969).
- <sup>9</sup>R. Tschesche, W. Freytag und G. Snatzke, *Chem. Ber.* 92, 3053 (1959).
- <sup>10</sup>S. M. Partridge, *Nature, Lond* 164, 443 (1949).
- <sup>11</sup>T. Kawasaki und K. Miyahara, *Chem. Pharmac. Bull. Tokyo* 11, 1546 (1963).
- <sup>12</sup>P. Colombo, D. Corbetta, A. Pirota, G. Ruffini und A. Sartori, *J. Chromatogr. Amsterdam* 3, 343 (1960).
- <sup>13</sup>R. Kuhn, H. H. Baer und A. Gauhe, *Chem. Ber.* 89, 2514 (1956).
- <sup>14</sup>H. C. Srivastava und G. A. Adams, *Canad. J. Chem.* 40, 1415 (1962).
- <sup>15</sup>S. C. Williams und J. K. N. Jones, *Ibid.* 45, 275 (1966).
- <sup>16</sup>G. Wulff, *J. Chromatogr. Amsterdam* 18, 285 (1965).
- <sup>17</sup>S. C. Williams und J. K. N. Jones, *Canad. J. Chem.* 43, 3440 (1965).