# 238. Isolierung und Konstitution des Echinacosids, eines Glykosids aus den Wurzeln von Echinacea angustifolia D. C.

6. Mitteilung über antibakterielle Stoffe[1])

von **A. Stoll, J. Renz** und **A. Brack.**

(2. IX. 50.)

## I. Zur Geschichte der Echinacea.

Echinacea angustifolia D. C. ist eine im südlichen und mittleren Nordamerika verbreitete Pflanze aus der Familie der Compositen. Sie wächst dort in den Prärien und trockenen Wäldern in Gemeinschaft mit den beiden Arten E. purpurea Moench und E. pallida Nutt. E. angustifolia ist besonders mit der letzteren morphologisch nahe verwandt[2]), weshalb diese beiden Arten meistens unter dem Namen „E. angustifolia" medizinisch gebraucht worden sind. Nicht nur die blühenden Pflanzenteile, sondern hauptsächlich die im Herbst gesammelten Wurzelstöcke[3]) finden pharmazeutische Verwendung.

Die Anwendung der Droge in der Medizin geht auf die indianische Urbevölkerung Nordamerikas zurück. Die Wurzeln wurden von den Indianern in Nebraska und in Missouri[4]) mit Erfolg bei eitrigen Wunden und bei Schlangenbissen gebraucht. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts stand die Droge in Nordamerika allgemein in Gebrauch[5]); später wurde sie auf Grund von zahlreichen Angaben über gute Wirkungen auch in Europa eingeführt[6]). Die hauptsächlichsten Indikationen waren auch auf diesem Kontinent schlecht heilende Wunden und eitrige Entzündungen. Nach neueren Untersuchungen soll der Echinacea keine direkte antibakterielle Wirkung zukommen; hingegen wird angeblich durch die lokale Anwendung des Extraktes eine beschleunigte Wundheilung erzielt[7]).

Eine chemische Bearbeitung der Droge setzte erst ein, nachdem im Jahre 1909 der „Council of Pharmacy and Chemistry" in Amerika[8]) die Droge für den medizinischen Gebrauch mit der Begründung, dass keine zuverlässigen Daten über wirksame Inhalts-

---

[1]) 5. Mitteilung, Exper. **3**, 115 (1947).

[2] Über die systematische Einteilung der Arten von Echinacea siehe *W. M. Sharp*, Missouri Bot. Gard. **22**, 84 (1935). Synonyme des Gattungsnamens Echinacea sind Brauneria Necker und Rudbeckia L. Vgl. auch *H. Schindler*, Pharm. Zentralhalle **81**, 579, 589 (1940).

[3]) *H. Zörnig*, Arzneidrogen Bd. II, p. 455, Leipzig 1911; *H. Kraemer*, Scientific and Applied Pharmacognosy, Philadelphia 1915, p. 805; *H. Kraemer & M. Sollenberger*, Am. J. Pharm. **83**, 315 (1911).

[4]) *M. R. Gilmore*, Uses of Plants by the Indians of Missouri River, 1919; *S. H. Culter*, Bull. of the Univ. of Wisconsin, Ser. 1785, No. 1571, 8 (1931).

[5]) *J. U. Lloyd*, Pharm. Review **22**, 9 (1904); *G. M. Beringer*, Am. J. Pharm. **83**, 324 (1911).

[6]) *H. Beckurts*, Apoth.-Ztg. **12**, 816 (1897); **13**, 68 (1898); *H. Neugebauer*, Pharmazie **4**, 137 (1949).

[7]) *O. Kriebisch*, Diss. Köln 1939; *E. Koch*, in *G. Madaus*, Echinacea purpurea Moench, Med.-biol. Schriftenreihe, Heft **13**, 12 (1939). Für diese Versuche wurde z. T. ein wässeriger Auszug der Droge verwendet, der „Echinacin" genannt wurde. *G. Albus & H. Hering*, Med. Klinik **37**, 276 (1941).

[8]) Report of the Council of Pharmacy and Chemistry, J. Am. Med. Assoc. **53**, 1836 (1909).

stoffe vorlägen, abgelehnt hatte. Eine eingehende Analyse der beiden Arten E. angustifolia und E. purpurea wurde etwas später publiziert[1]). Ein von früheren Autoren vermutetes Vorkommen eines Alkaloids konnte jetzt nicht mehr bestätigt werden. Auf Grund der Untersuchung von Extrakten, die mit verschiedenen Lösungsmitteln aus den Wurzeln gewonnen wurden, stellten die Autoren fest, dass diese keine Stärke, aber Inulin und inulinartige Stoffe, ferner Rohrzucker, Pentosane und etwas reduzierende Zucker enthalten.

Da nach Angaben früherer Autoren den Harzstoffen die besondere Wirkung der Droge zukommen sollte, war jetzt die harzige Fällung eines alkoholischen Extraktes mit Wasser Gegenstand einer eingehenden Untersuchung Doch gelang es nicht, daraus ausser einer geringen Menge eines Phytosterins irgendeinen kristallisierten oder sonst charakteristischen Stoff zu isolieren.

In einer folgenden Arbeit[2]) wurde über weitere Versuche zur Fraktionierung des alkoholischen Extraktes berichtet. Es gelang jetzt, eine Spur einer kristallisierten Phenolcarbonsäure ($C_9H_{10}O_5$, Smp. 207°) zu isolieren, bei der es sich wahrscheinlich um eine Trioxyphenylpropionsäure handelte. Das wasserunlösliche Harz des Alkoholextraktes enthielt Ölsäure, Linolsäure, Cerotinsäure, Palmitinsäure und 3 Phytosterine (Smp. 154,5—156,5°; 236—237° und 280—290°). Der in Wasser lösliche Anteil des Alkoholauszugs gab mit basischem Bleiacetat eine Fällung, die nach der Zerlegung eine stark gefärbte Lösung lieferte, die keine Tanninreaktion gab, aber mit Eisenchlorid eine schwache Grünfärbung zeigte.

Nach neueren Untersuchungen wird das ätherische Öl als der Hauptträger der Echinaceawirkung angesehen[3]). Das in den Wurzeln enthaltene, mit Wasserdampf flüchtige Öl besteht grösstenteils aus einem ungesättigten aliphatischen Kohlenwasserstoff, dem die Formel $C_{15}H_{28}$ zukommt[4]). Auch die anorganischen Bestandteile der Wurzel wurden analysiert[5]). Neuerdings prüfte man Wurzel, Blätter und Blüten der Frischpflanze auf ihren Gehalt an Enzymen und Vitamin C[6]).

## II. Isolierung und Eigenschaften des Echinacosids.

Die bisherigen chemischen Untersuchungen liessen keinen spezifischen Wirkstoff der Echinacea-Droge erkennen. Bei unserer eigenen Arbeit gingen wir von den in der Literatur mehrfach erwähnten Befunden aus, dass die Droge bei eitrigen Prozessen oder bei schlecht heilenden Wunden eine Heilwirkung entfalte, so dass es nahe lag, die Echinacea auf bakteriostatische Wirkung zu untersuchen. Es wurde deshalb die zerkleinerte Wurzel in wässeriger Aufschwemmung im Lochplattentest gegen Staphylococcus aureus geprüft und gefunden, dass solche Zubereitungen eine wenn auch schwache so doch deutliche wachstumshemmende Wirkung besitzen. Mit Hilfe dieses Testes haben wir die dieser Wirkung zugrunde liegende Substanz zu isolieren versucht. Sie wird der Droge sowohl mit Wasser als auch mit Alkoholen entzogen; sie ist ätherunlöslich und hitze- sowie einigermassen

---

[1]) *F. W. Heyl & J. F. Staley*, Am. J. Pharm. **86**, 450 (1914).

[2]) *F. W. Heyl & M. C. Hart*, Am. Soc. **37**, 1709 (1915).

[3]) Vgl. *H. Neugebauer*, Pharmazie **4**, 137 (1949).

[4]) *F. Bischoff*, J. Am. Pharm. Assoc. **13**, 898 (1924); *E. L. Woods*, Am. J. Pharm. **102**, 611 (1930).

[5]) *S. H. Culter*, J. Am. Pharm. Assoc. **19**, 121 (1930).

[6]) *A. Kuhn*, in *G. Madaus*, Echinacea purpurea Moench, Med.-biol. Schriftenreihe, Heft **13**, 7 (1939).

alkalibeständig. Die wachstumshemmende Substanz ist mit Bleiacetat fällbar und befindet sich nach der Zerlegung des Bleiniederschlags mit Schwefelwasserstoff quantitativ im Filtrat des Bleisulfids. Parallel mit der Wirksamkeit konnte eine mit Eisenchlorid auftretende intensive Grünfärbung der aktiven Fraktionen beobachtet werden. Es gelang schliesslich, aus solchen Fraktionen eine aus absolutem Alkohol in winzigen Nädelchen kristallisierende Substanz zu isolieren, der fast die gesamte Wirksamkeit der Ausgangsdroge innewohnte, und die mit Eisenchlorid die charakteristische Grünfärbung gab. Bei möglichst quantitativer Aufarbeitung von guter Droge betrug die Ausbeute an dieser Substanz etwa 1% der lufttrockenen Wurzeln. Es sei hervorgehoben, dass die wirksame Substanz bei unvorsichtigem Extrahieren durch enzymatische Einflüsse leicht zerstört wird.

Die neue kristallisierte Verbindung, die wir „Echinacosid" nennen, zeigt keinen scharfen Schmelzpunkt; sie ist optisch aktiv ($[\alpha]_D^{20} = -56{,}5^0$ [in Wasser]) und spielend löslich in Wasser und Methanol, dagegen unlöslich in allen Fettlösungsmitteln. Die reinsten Präparate wurden durch Umkristallisieren aus absolutem Alkohol erhalten.

Aus den Ergebnissen der Analysen des Echinacosids und seiner Derivate sowie von verschiedenen Abbauprodukten konnte die Bruttoformel $C_{35}H_{46}O_{20}$ abgeleitet werden. Das Echinacosid enthält keine Methoxylgruppen; es setzt sich mit Carbonylreagenzien nicht um, ist aber acylierbar.

## III. Abbau und Konstitution des Echinacosids.

Bei der Acylierung des Echinacosids mit Säureanhydriden in Pyridinlösung werden 10 Acylgruppen aufgenommen; so entsteht das in sehr feinen Nadeln kristallisierende Deka-acetylderivat ($C_{55}H_{66}O_{30}$) sowie die Dekapropionylverbindung ($C_{65}H_{86}O_{30}$). Doch sind in diesen Derivaten offenbar nicht alle freien Hydroxylgruppen besetzt worden, da beim Behandeln mit Diazomethan noch Methylgruppen eintreten, und keine Carboxylgruppen vorhanden sind. Die so gewonnenen Methyläther konnten allerdings nicht kristallisiert erhalten werden.

Nicht nur der hohe Gehalt an acylierbaren Hydroxylgruppen, sondern auch einige für Zucker charakteristische Farbreaktionen, die im experimentellen Teil erwähnt sind, sprachen für die Glykosidnatur des Echinacosids. Bei der sauren Hydrolyse konnte allerdings kein kristallisiertes Aglykon gefasst werden, da dabei eine starke Verharzung eintritt. Die ätherlöslichen Harze geben die Grünfärbung mit Eisenchlorid zwar immer noch. In der wässerigen Lösung, die nach der sauren Hydrolyse nach Abtrennung der ätherlöslichen und der ätherunlöslichen Harze erhalten wird, konnten sowohl Rhamnose als auch Hexosen (als Phenylosazone) nachgewiesen werden.

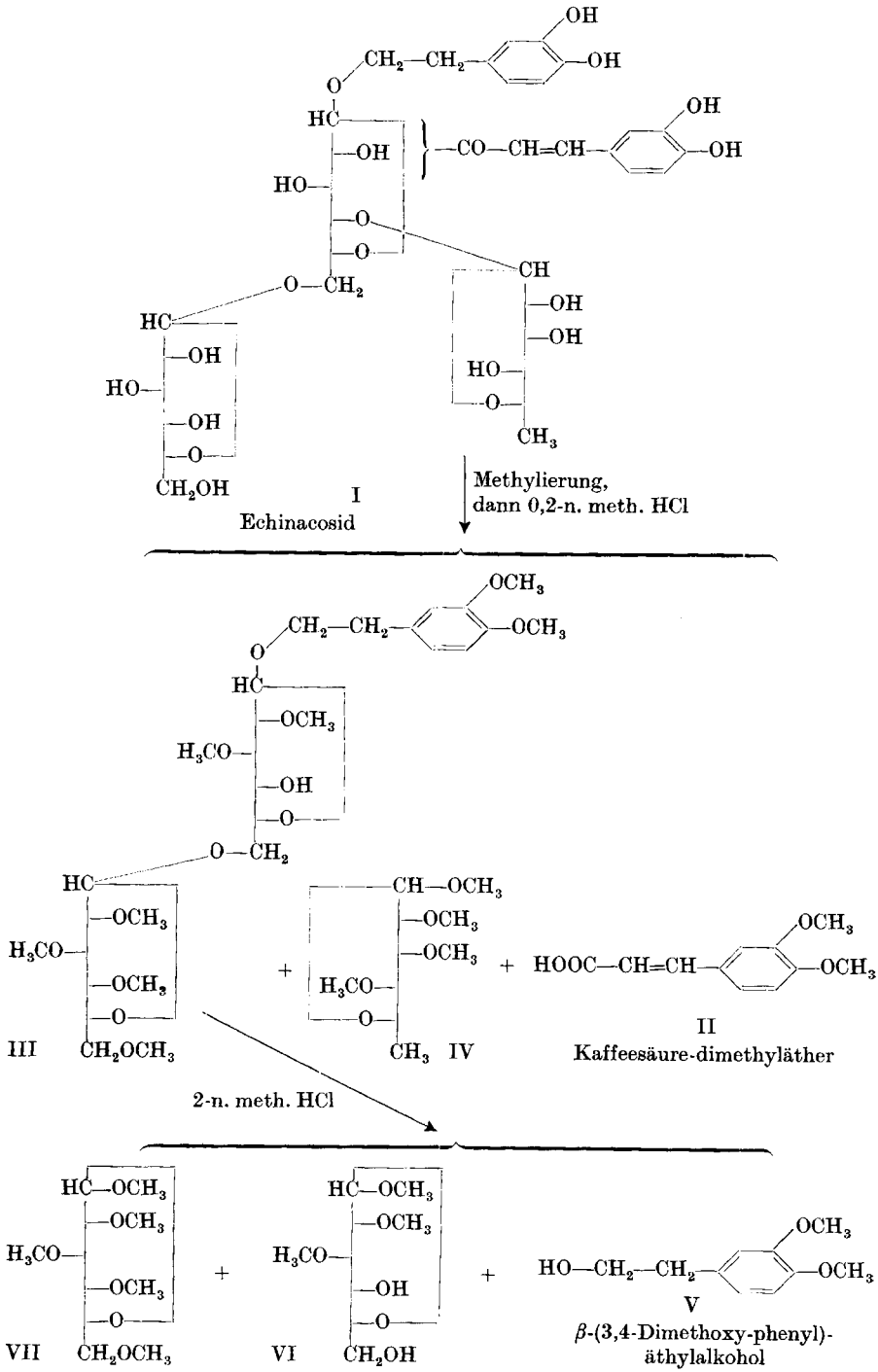
Bei der alkalischen Hydrolyse des Echinacosids wird ein Mol Kaffeesäure abgespalten. Der kaffeesäurefreie Rest der Molekel konnte in Form von zwei kristallisierten Acetaten, die sich nur in ihrem Acetylgehalt unterscheiden, gefasst werden; sie schmelzen bei 133° bzw. 174° und enthalten 9 bzw. 10 Acetylgruppen. Auch die Fraktion, aus der die Kaffeesäure abgespalten ist, gibt vor der Acetylierung noch eine hellgrüne Eisenchloridreaktion, ein Hinweis auf eine weitere im Echinacosid vorhandene phenolische Komponente.

Die Ergebnisse der Alkalischmelze des Echinacosids, bei der ausser Protocatechusäure und Brenzcatechin keine andern phenolischen Produkte gefasst werden konnten, sprechen dafür, dass sich auch das Aglykon vom Brenzcatechin ableitet. Nach den Befunden der sauren und der alkalischen Hydrolyse ist das Echinacosid demnach ein mit Kaffeesäure verestertes Glykosid eines Brenzcatechinderivates.

Die vollständige Methylierung des Echinacosids und die Identifizierung der aus dem Methylierungsprodukt durch Hydrolyse mit methanolischer Salzsäure erhaltenen Spaltstücke ermöglichten einen weiteren Einblick in den Aufbau der Glykosidmolekel. Bei der Methylierung mit Diazomethan entsteht ein amorphes Produkt, das ungefähr 4 Methylgruppen aufgenommen hat. Durch Weitermethylierung dieses partiell verätherten Produktes oder durch direkte Methylierung des Deka-acetyl-echinacosids mit Dimethylsulfat und Alkali entsteht unter Abspaltung von Dimethylkaffeesäure (II) eine amorphe Verbindung, die wir zur Vervollständigung der Methylierung noch mehrmals mit Methyljodid und Silberoxyd behandelten. Nach der Hydrolyse dieses ebenfalls amorphen Methylierungsproduktes mit schwacher methanolischer Salzsäure gelingt es, eine kristallisierte Substanz zu isolieren, die bei 124° schmilzt. Die Analyse dieser Verbindung sowie die Ergebnisse ihres weiteren Abbaus mit stärkerer Säure führten zur Formel $C_{28}H_{46}O_{13}$ (III).

Wird das amorphe Methylierungsprodukt direkt mit stärkerer methanolischer Salzsäure während längerer Zeit am Rückfluss gekocht, so kann die bei 124° schmelzende Verbindung nicht mehr isoliert werden. Es entsteht dann ein Sirup, der durch Chromatographie an Aluminiumoxyd in 4 verschiedene Komponenten aufgeteilt werden konnte. Zwei von diesen kristallisierten, die beiden andern waren Sirupe. Diese 4 Fraktionen sind als die folgenden Verbindungen identifiziert worden:

2,3,4-Trimethyl-α-methyl-L-rhamnosid (IV), Sdp. 109—110°/12 mm
2,3,4,6-Tetramethyl-α-methyl-D-glucopyranosid (VII), Sdp. 138—139°/12 mm
2,3-Dimethyl-α-methyl-D-glucopyranosid (VI), Smp. 79°
β-(3,4-Dimethoxyphenyl)-äthylalkohol (V), Smp. 48—49°


I
Echinacosid
Methylierung,
dann 0,2-n. meth. HCl
III
IV
II
Kaffeesäure-dimethyläther
2-n. meth. HCl
VII
VI
V
β-(3,4-Dimethoxy-phenyl)-
äthylalkohol

Aus dem mit schwacher methanolischer Salzsäure erhaltenen grösseren Spaltstück III entstehen nach der Hydrolyse mit starker Salzsäure nur der Dimethyläther des Brenzcatechin-äthanols (V) sowie die beiden Glucosederivate VI und VII. Das Spaltstück III ist demnach ein Glykosid des Dimethyläthers des Brenzcatechin-äthanols; der aus 2 Glucosemolekeln aufgebaute Zuckerrest ist mit der alkoholischen Hydroxylgruppe des Brenzcatechin-äthanols verbunden. Dieses Spaltstück ist somit aus dem methylierten Echinacosid durch Abtrennung eines Rhamnoserestes entstanden.

Alle erwähnten Spaltstücke lassen sich auf Grund ihrer bei der vollständigen Methylierung des Echinacosids durch Methylgruppen nicht besetzten Hydroxyle in die Formel I für das natürliche Glykosid eingliedern. Noch nicht ganz gesichert sind die Verknüpfungsstellen der endständigen Glucose und der Rhamnose am mittleren Spaltstück VI. Es besitzt nach der Methylierung und Spaltung des Glykosids zwei freie Hydroxylgruppen an C4 und C6, die für die Verknüpfungsstellen der Glucose und der Rhamnose in Betracht kommen. Wir bevorzugen die im Schema wiedergegebene Formulierung, da bei der sauren Hydrolyse des methylierten Echinacosids der Rhamnoserest sehr leicht abgespalten wird, und da bekannt ist, dass Disaccharide mit 1,6-Verknüpfung in der Regel schwerer gespalten werden. Danach müsste, wie die Formel I veranschaulicht, die Rhamnose mit dem Kohlenstoffatom 4 der mittelständigen Glucose verknüpft sein.

Noch unbestimmt ist die Verknüpfungsstelle der Kaffeesäure im Echinacosid geblieben. Versuche zur Methylierung des genuinen Glykosids mit Diazomethan und anschliessend mit Methyljodid und Silberoxyd, d. h. unter Bedingungen, unter denen die Kaffeesäure wenigstens zum Teil nicht abgespalten wird, führten in schlechter Ausbeute zu einem ätherlöslichen Methylierungsprodukt, das bei alkalischer Hydrolyse Dimethylkaffeesäure abspaltet. Nach der sauren Hydrolyse des Neutralteils mit methyl-alkoholischer Salzsäure entstehen sowohl die vollständig methylierte Rhamnose (IV) als auch die vollständig methylierte Glucose (VII) und nicht mehr das 2,3-Dimethyl-α-methylglucosid (VI) vom Smp. 79°. Es gelang aber nicht, an dessen Stelle ein einheitliches Produkt heraus zu fraktionieren. Diese Befunde sprechen immerhin dafür, dass die Kaffeesäure an die mittelständige Glucose geknüpft ist, d. h. an denjenigen Zuckerrest, der im Echinacosid auch das Brenzcatechinäthanol trägt. Für die Veresterung mit Kaffeesäure kommen nur die Hydroxylgruppen an C2 oder C3 in Frage, da die übrigen Hydroxyle nach den oben besprochenen Ergebnissen methylierbar sind.

Die Ausbeuten an den bei der Hydrolyse des vollständig methylierten Echinacosids erhaltenen Bruchstücken IV, V, VI und VII sprechen dafür, dass deren methoxylfreie Grundkörper nur je einmal im Molekül des genuinen Glykosids auftreten. Das Echinacosid ist

demnach aus 1 Mol Brenzcatechin-äthylalkohol, 1 Mol L-Rhamnose, 2 Mol D-Glucose und 1 Mol Kaffeesäure aufgebaut.

Der Brenzcatechin-äthylalkohol ist bis jetzt in der Natur noch nicht aufgefunden worden; sein Dimethyläther wurde von *Fulton & Robinson*[1]) synthetisch hergestellt. Das synthetische Produkt stimmt mit dem Dimethyläther aus Echinacosid überein.

Neuerdings ist diese Verbindung und das entmethylierte Produkt, der β-(3,4-Dioxyphenyl)-äthylalkohol, auch von *Schöpf* und Mitarbeitern[2]) synthetisiert worden. Diese Autoren halten es für wohl möglich, dass der Brenzcatechin-äthylalkohol auch in der Natur vorkomme, da er sich vom 3,4-Dioxy-phenylalanin in gleicher Weise ableitet wie der als Naturstoff in ätherischen Ölen vorkommende β-Phenyl-äthylalkohol vom Phenylalanin. Bei der Spaltung des Echinacosids hat sich diese Vermutung bestätigt.

Es ist beachtenswert, dass im Echinacosid der Brenzcatechin-äthylalkohol nicht an Rhamnose, sondern an einen Glucoserest gebunden ist. Bei natürlichen Glykosiden, deren Zuckerkette sich aus Desoxyzucker und Glucose aufbaut, haftet in der Regel der Desoxyzucker direkt am Aglykon.

## IV. Antibiotische Wirkung.

Bei der bakteriologischen Prüfung der Spaltstücke des Echinacosids zeigte sich, dass in der Kaffeesäure praktisch die ganze antibiotische Wirksamkeit des Glykosids enthalten ist. Die Kaffeesäure übt im Lochplattentest gegenüber Staphylokokken in äquimolaren Konzentrationen die gleiche Wirkung aus wie das Echinacosid. Die Wachstumshemmung erstreckt sich auf Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, nicht aber auf Escherichia coli, Salmonella typhosa und Shigella dysenteriae.

Im Vergleich mit andern Antibiotika ist die Wirksamkeit des Echinacosids und der Kaffeesäure jedoch gering. Im Plattentest zeigen $8 \times 10^{-3}$ molare Lösungen beider Substanzen die gleiche Wirkung wie 1 Oxford-Einheit Penicillin, d. h. 6,3 mg Echinacosid oder 1,44 mg Kaffeesäure entsprechen 1 OE Penicillin. Die Wirkung ist an der unteren Grenze für Substanzen, die als Antibiotika bezeichnet werden. Es lässt sich aber denken, dass bei der Verwendung von Extrakten aus Echinacea zur Wundbehandlung die lokale Konzentration des Echinacosids gross genug ist, um den Heilungsprozess zu fördern, womit der uralte Gebrauch der Droge bei den Naturvölkern gerechtfertigt erschiene.

---

[1]) *J. D. Fulton & R. Robinson*, Soc. **1933**, 1463.

[2]) *Cl. Schöpf, G. Göttmann, E.-M. Meisel & L. Neuroth*, A. **563**, 86 (1949).

Da die Kaffeesäure im Pflanzenreich sehr weit verbreitet ist, ist daran zu denken, dass bei positiven Resultaten der Prüfung von rohen Pflanzenextrakten auf antibakterielle Wirkung die Kaffeesäure oder Kaffeesäureverbindungen im Spiel sein können.

## Experimenteller Teil.

1. Isolierung des Echinacosids. 1 kg fein gemahlene Wurzeln von Echinacea angustifolia werden mit Methanol bei 30—40° extrahiert. Der Eindampfrückstand des Extraktes, der 164 g wiegt, wird in 1 Liter Wasser aufgenommen, die Lösung, die durch fettige Substanzen stark getrübt ist, durch eine dünne Talkschicht klar filtriert und dann mit so viel 30-proz. Bleiacetatlösung versetzt, dass eine abfiltrierte Probe mit Eisenchlorid keine Grünfärbung mehr gibt. Die entstandene Bleifällung wird abzentrifugiert, mehrmals mit Wasser gewaschen, in Wasser gleichmässig aufgeschwemmt und durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zerlegt. Die vom Bleisulfid filtrierte Lösung dampft man im Vakuum ein und trocknet den Rückstand scharf im Exsikkator. Er wiegt dann 20—25 g.

Dieses Präparat geht in der 5fachen Menge abs. Alkohol bis auf eine schmierige, z. T. flockige Substanz leicht in Lösung. Nach der Filtration durch eine dünne Talkschicht scheiden sich aus der klaren Lösung ganz allmählich und nach öfterem Kratzen mit dem Glasstab feine Nädelchen ab, die man nach 1—2 Tagen abfiltriert und mit etwas kaltem Alkohol nachwäscht. Aus 1 kg einer guten Droge werden 10—12 g dieses noch schwach gelblich gefärbten Präparates erhalten, das bei erneuter Umkristallisation bereits die 40fache Menge abs. Alkohols benötigt, aber auch nach mehrmaligem Umkristallisieren aus demselben Lösungsmittel noch ganz schwach gelbstichig gefärbt ist. Ein weisses Präparat erhält man erst bei der Filtration einer übersättigten abs. alkoholischen Lösung durch eine kleine Säule aus neutralem Aluminiumoxyd. Auch das reine Echinacosid kristallisiert in winzigen Nädelchen, die selbst nach dem Trocknen im Hochvakuum keinen scharfen Schmelzpunkt zeigen. Die Substanz beginnt von 135° an zu sintern, verwandelt sich bei 160° in eine glasige Masse und zersetzt sich um 220°. Das Echinacosid ist hygroskopisch und kann erst nach längerem Trocknen bei 100° im Hochvakuum von anhaftendem Wasser ganz befreit werden.

Analyse einer während 4 Stunden im Hochvakuum bei 60° getrockneten Substanz:
$C_{35}H_{46}O_{20}$, $H_2O$ (804,4) Ber. C 52,20 H 6,01% Gef. C 52,47; 52,46 H 6,54; 6,49%

Analyse einer während 16 Stunden im Hochvakuum bei 100° getrockneten Substanz:

$C_{35}H_{46}O_{20}$ (786,4) Ber. C 53,41 H 5,90% Gef. C 53,03; 52,90 H 6,04; 6,04%

Das Echinacosid löst sich spielend in Wasser und Methanol, schwerer in abs. Alkohol und Isopropanol und ist praktisch unlöslich in Äther, Benzol und Chloroform. Die Verbindung kann auch aus Isopropanol umkristallisiert werden.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -56{,}3;\ -56{,}8^0$ (c = 0,63; 0,24 in Wasser).
$[\alpha]_D^{20} = -74{,}2;\ -73{,}7^0$ (c = 0,77; 0,57 in Methanol).

2. Reaktionen und Derivate des Echinacosids. Das Echinacosid gibt mit Eisensalzen in wässeriger und in alkoholischer Lösung eine beständige dunkelgrüne Färbung. Mit Kupfersulfat entsteht eine hellgrüne Farbe, beim Kochen einer solchen Lösung wird kein Kupferoxydul abgeschieden. *Fehling*'sche Lösung wird sofort grün gefärbt; erst beim Kochen erfolgt allmählich eine Abscheidung von Kupferoxydul. Aus einer ammoniakalischen Lösung von Silbernitrat wird Silber ausgeschieden. Eine Permanganatlösung wird entfärbt. Mit Bleiacetat entsteht ein dicker, voluminöser Niederschlag. Dagegen erzeugt eine Lösung von Quecksilberchlorid oder von Cadmiumchlorid keine Fällung. Versetzt man eine methanolische Lösung mit Bariummethylat, so entsteht eine Fällung, die sich allmählich blaugrün verfärbt. Mit Tetranitromethan

ist in methanolischer Lösung eine sehr schwache Gelbfärbung wahrzunehmen. Alkalische Lösungen von Echinacosid sind gelb gefärbt und werden beim Aufbewahren allmählich dunkelbraun.

Das Echinacosid gibt einige Farbreaktionen, die für die Anwesenheit einer Methylpentose sprechen. Bei der Reaktion nach *Rosenthaler*[1]) (Erhitzen mit 38-proz. Salzsäure und Aceton) entsteht eine Violettfärbung. Bei der Destillation mit 12-proz. Salzsäure bildet sich Methylfurfurol (Reaktion nach Widtsoe und Tollens[2])), das an seiner orangegelben Färbung mit Phloroglucin[3]) und an deren charakteristischem Absorptionsband erkannt wird. Die Bial'sche Probe mit Orcin und konz. Salzsäure gibt eine schwache Grünfärbung[4]).

Methylpentosebestimmung nach *Krüger-Tollens-Ellett*[5]):

0,3990; 0,2004 g Echinacosid gaben 0,0399; 0,0154 g Phloroglucid, was 0,0659; 0,0316 g Methylpentose entspricht.

$C_{35}H_{46}O_{20}$ (786,4) Ber. für 1 Mol Methylpentose 20,8% Gef. 16,5; 15,8%

Aus diesen Werten kann geschlossen werden, dass im Echinacosid nur 1 Mol Methylpentose enthalten ist. Es handelt sich dabei, wie später gezeigt wird, um L-Rhamnose.

Deka-acetyl- und Deka-propionyl-Verbindung des Echinacosids. Bei kurzdauernder Acetylierung des Glykosids mit Essigsäureanhydrid und Pyridin bei Zimmertemperatur entstehen infolge von partieller Acetylierung harzige Produkte, so dass das Reaktionsgemisch vorteilhaft einige Tage stehen bleibt. Aus 10 g reinem Echinacosid konnten 14,5 g rohe Acetylverbindung (ber. für die Aufnahme von 10 Acetylgruppen 15,3 g) isoliert werden. Beim Umkristallisieren aus 200 cm³ heissem abs. Alkohol entstehen sehr feine, lange Nadeln. Die mehrmals aus Alkohol umkristallisierte Deka-acetyl-Verbindung schmilzt bei 140—142°. Zur Analyse wurde sie im Hochvakuum bei 80° getrocknet.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{55}H_{66}O_{30}$ | Ber. C 54,72 | H 5,51 | $COCH_3$ (10) | 35,66% |
| (1206,5) | Gef. „ 54,41; 54,63 | „ 5,64; 5,73 | „ | 35,52; 35,93% |

Die Deka-acetyl-Verbindung kann auch aus Methanol oder aus wässerigen Alkoholen umkristallisiert werden. Sie ist in Chloroform sehr leicht löslich, hingegen nur schwer in Äther.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -63{,}6^0$ (c = 0,39 in Methanol).

Eine methanolische Lösung der Deka-acetyl-Verbindung verbraucht noch Diazomethan. Nach dem Eindampfen der Reaktionslösung entsteht ein Produkt, das nicht mehr kristallisiert und etwa 7% Methoxyl enthält. Das Echinacosid enthält demnach schwer acylierbare Hydroxylgruppen.

Die Deka-propionyl-Verbindung des Echinacosids wird auf analoge Weise mit Propionsäure-anhydrid dargestellt. Die rohe Propionylverbindung wird aus Methanol und schliesslich aus der 5- bis 10fachen Menge siedendem abs. Alkohol umkristallisiert. Es entstehen feine Nadelbüschel, die bei 115—118° schmelzen.

Aus 1,0023 g Echinacosid konnten 1,7237 g der rohen Propionylverbindung erhalten werden (ber. für 10 Propionylreste 1,716 g). Zur Analyse wurde die mehrfach umkristallisierte Substanz im Hochvakuum bei 40° getrocknet.

$C_{65}H_{86}O_{30}$ (1346,7) Ber. C 57,92 H 6,44% Gef. C 57,84 H 6,69%

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -64{,}0^0$ (c = 0,26 in Methanol).

3. Die Spaltung von Echinacosid mit Säure. Bei der Hydrolyse des genuinen Glykosids (2,5 g) in wässeriger Salzsäure konnte kein kristallisiertes Aglucon gefasst werden. Der Eindampfrückstand der von braunen Harzen abgetrennten und neutrali-

[1]) *L. Rosenthaler*, Z. anal. Ch. **48**, 167 (1909).
[2]) *J. A. Widtsoe & B. Tollens*, B. **33**, 146 (1900).
[3]) *R. Oshima & B. Tollens*, B. **34**, 1425 (1901).
[4]) *M. Bial*, Bioch. Z. **3**, 323 (1907).
[5]) *A. W. van der Haar*, Monosaccharide 1920, p. 66.

sierten wässerigen Lösung (1,87 g) wurde mit salzsaurem Phenylhydrazin und Natriumacetat umgesetzt. Beim Anrühren der abgeschiedenen Osazone (430 mg) mit 10 cm³ kaltem Aceton blieben 270 mg gelbe Nadeln ungelöst. Durch Umkristallisieren derselben aus 60-proz. Alkohol wurden gelbe Nadeln vom Smp. 210° erhalten, die mit Phenylglucosazon keine Schmelzpunktsdepression zeigen.

Der in Aceton leichter lösliche Anteil ist aus 30-proz. Alkohol umkristallisiert und dann noch mehrmals in wenig Aceton aufgenommen worden, wobei jeweils schwerer lösliche Fraktionen entfernt wurden. So gewann man schliesslich 50 mg kleiner gelber Nadelbüschel, die bei 178—179° schmelzen, und mit einem aus L-Rhamnose dargestellten Präparat (Smp. 182°) einen Mischschmelzpunkt von 180—181° aufweisen.

Bei der sauren Hydrolyse des Echinacosids können somit L-Rhamnose und eine Hexose, die Phenylglucosazon liefert, nachgewiesen werden.

4. Die Hydrolyse von Echinacosid mit Alkali. 2,0 g hochvakuumtrockenes Echinacosid werden in 40 cm³ 5-proz. Kalilauge gelöst und unter Stickstoff während 2 Stunden am Rückfluss gekocht. Nach dem Abkühlen wird die braun gewordene Lösung gerade angesäuert, wobei sich ein pulveriger Niederschlag bildet. Beim Ausäthern geht er ganz in die Ätherschicht über. Die mit Wasser gewaschene und getrocknete Ätherlösung hinterlässt nach dem Eindampfen einen Rückstand, der kristallisiert und 0,4019 g wiegt; er konnte als Kaffeesäure identifiziert werden. Die Ausbeute an Kaffeesäure aus dem Echinacosid beträgt demnach 20,1% (ber. 22,9% für 1 Mol).

Die rohe Kaffeesäure wird aus wenig Alkohol-Wasser 1:1 und dann aus Wasser allein umkristallisiert. Es bilden sich gelblich gefärbte Prismen, die nach vorherigem Sintern bei 208° unter Aufschäumen schmelzen.

$C_9H_8O_4$ (180,06) Ber. C 59,98 H 4,48% Gef. C 59,93; 60,13 H 4,67; 4,47%

Die Kaffeesäure gibt mit Eisenchlorid eine intensive Grünfärbung, die auf Zusatz eines Tropfens verdünnter Sodalösung in Dunkelrot umschlägt.

Beim Acetylieren der Säure entsteht eine aus siedendem Wasser in feinen, dünnen Blättchen kristallisierende Verbindung, die bei 194° schmilzt. Ihr Mischschmelzpunkt mit synthetischer Diacetylkaffeesäure gibt keine Depression.

Das Echinacosid wird von 0,1-n. Natronlauge auch in der Siedehitze nur langsam gespalten. Wird das Glykosid einer Alkalischmelze unterworfen, so können neben Kaffeesäure nur noch Protocatechusäure und Brenzcatechin isoliert werden.

Aufarbeitung der kaffeesäurefreien Fraktion aus der alkalischen Hydrolyse des Echinacosids. Die schwefelsaure Lösung, die nach dem Ausäthern der Kaffeesäure zurückbleibt, wird mit Bariumcarbonat neutralisiert und nach dem Abfiltrieren der Bariumsalze eingedampft. Der rotbraune Rückstand wird mit abs. Alkohol ausgezogen, die Lösung mit Tierkohle behandelt und dann wieder eingedampft. Die zurückbleibende Substanz ist nur wenig gefärbt; sie gibt in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid eine unbeständige, schwache Grünfärbung.

Da das Präparat nicht kristallisiert werden konnte, liess man darauf 1,45 g Essigsäureanhydrid in Pyridinlösung bei 20° während 15 Stunden einwirken. Nach Anreiben der mit Wasser gefällten rohen Acetylverbindung mit Methanol scheiden sich bald feine Nadeln ab (0,66 g), deren Schmelzpunkt nach mehrmaligem Umkristallisieren aus der 10- bis 20 fachen Menge Methanol unverändert bei 133° bleibt. Zur Analyse wurde die Verbindung im Hochvakuum bei 50° getrocknet.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{44}H_{58}O_{26}$ | Ber. C 52,67 | H 5,83 | $COCH_3$ (9) | 38,61% |
| (1002,45) | Gef. „ 52,53; 52,45 | „ 5,75; 5,76 | „ | 37,25% |

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -27{,}4°$ (c = 0,4 in Methanol).

Aus der Mutterlauge der Acetylverbindung vom Smp. 133° schieden sich nach längerem Aufbewahren noch feine Kristallnadeln ab (0,25 g), die bei 169—172° schmolzen. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus wenig Methanol stieg der Smp. auf 173—174°.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{46}H_{60}O_{27}$ | Ber. C 52,85 | H 5,79 | $COCH_3$ (10) | 41,18% |
| (1044,48) | Gef. „ 52,83; 52,96 | „ 5,91; 5,92 | „ | 41,92; 41,36% |

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -38{,}5°$ (c = 0,47 in Methanol).

Die beiden Acetylverbindungen mit den Schmelzpunkten 133 und 174° unterscheiden sich nur in ihrem Gehalt an Acetylgruppen. Sie leiten sich beide von einer und derselben Verbindung ab, die aus dem Echinacosid durch Abspalten von Kaffeesäure entstanden ist.

5. Die Methylierung von Echinacosid. Wie eine Reihe von Vorversuchen zeigte, lässt sich die Methylierung am besten durch Behandeln der Acetylverbindung des Echinacosids mit Dimethylsulfat und Alkali durchführen. Bei dieser Umsetzung wird die Kaffeesäure als Dimethyläther abgespalten. Die Hydroxylgruppe, die damit verestert war, wird ebenfalls methyliert. Die Methylierung wird dann noch durch Behandlung mit Methyljodid und Silberoxyd vervollständigt. Das Produkt der vollständigen Methylierung ist ätherlöslich. Da es nicht kristallisiert erhalten werden konnte, ist es noch in rohem Zustand mit methanolischer Salzsäure hydrolysiert worden.

10 g reine Acetylverbindung werden in 200 cm³ Aceton gelöst und bei 50° unter starkem Rühren 10mal alle 10—15 Minuten mit je 5 cm³ Dimethylsulfat und 12 cm³ 30-proz. Natronlauge versetzt. Dann werden nochmals 100 cm³ Aceton hinzugefügt, worauf man unter fortgesetztem Rühren auf 80° erwärmt und den grössten Teil des Acetons abdestilliert. Nach dem Abkühlen wird die alkalische Lösung, aus der sich ein gelbliches Harz abgeschieden hat, mehrmals ausgeäthert. Die gewaschene und getrocknete Ätherlösung hinterlässt nach dem Abdampfen 4,05 g des gelblichen Harzes. Eine weitere Menge dieses Methylierungsproduktes gewinnt man durch erneutes Methylieren der in der wässerigen Fraktion noch enthaltenen Substanz.

Aus der alkalischen Lösung werden zuerst die sauren Bestandteile abgetrennt. Durch Ansäuern und Ausäthern des gebildeten weissen, pulverigen Niederschlages erhält man 1,39 g der Säurefraktion. Bei nachfolgenden Methylierungen kann noch etwas Säure abgetrennt werden, so dass sich die Gesamtausbeute dieser mit der Dimethylkaffeesäure identischen Verbindung auf 1,49 g erhöht (ber. aus 10 g Deka-acetylechinacosid 1,72 g Dimethylkaffeesäure). Die Dimethylkaffeesäure wird mehrmals aus wenig heissem Alkohol kristallisiert und schmilzt dann bei 181—182°.

$C_{11}H_{12}O_4$ (208) Ber. C 63,43 H 5,80% Gef. C 63,51 H 6,10%

Das ätherlösliche Produkt der Methylierung mit Dimethylsulfat und Alkali stellt ein hellgelbes Harz dar und enthält 40% Methoxyl. Für die vollständige Methylierung aller Hydroxylgruppen, die für die weitere Aufarbeitung und die Schlussfolgerungen, die wir aus der Zusammensetzung der Spaltstücke ziehen wollen, wichtig ist, wird das Produkt noch mit Methyljodid und Silberoxyd nachmethyliert. 3,86 g werden zu diesem Zweck in 60 cm³ Methyljodid gelöst und mit 40 g Silberoxyd während 7 Stunden am Rückfluss gekocht. Die vom Silbersalz abfiltrierte Lösung wird eingedampft und erneut auf die gleiche Weise behandelt. Das vollständig methylierte Produkt ist von harziger Konsistenz; es wird beim Aufbewahren im Exsikkator fest und dient zu den im folgenden Abschnitt beschriebenen Versuchen.

6. Die Spaltung des vollständig methylierten Glykosids mit starker methanolischer Salzsäure. 7,5 g des Methylierungsproduktes, das die Kaffeesäure nicht mehr enthält, werden in 75 cm³ einer 2-n. methanolischen Salzsäure gelöst und während 24 Stunden am Rückfluss gekocht. Dann wird die schwach gelbliche Lösung mit Silbercarbonat neutralisiert, vom Silbersalz abfiltriert und der Rückstand nach dem Eindampfen des Filtrates in abs. Äther aufgenommen. Die von einer braunen Verunreinigung klar filtrierte Lösung hinterlässt nach dem Eindampfen 7,5 g eines schwach bräunlich gefärbten Sirups.

Dieses Produkt der Hydrolyse wird nun chromatographisch in seine Komponenten aufgeteilt. 5,0 g des Sirups werden in 500 cm³ eines Gemisches von abs. Äther und Petroläther 1:1 aufgenommen und durch eine Säule aus 150 g Aluminiumoxyd (Marke CIBA für chromatographische Zwecke) filtriert. Durch die Säule lässt man dann die in der folgenden Tabelle 1 angeführten Lösungsmittel laufen, fängt je 500 cm³ davon auf und bestimmt den Drehwert der darin enthaltenen Substanz.

**Tabelle 1.**

| Eluate No. | Lösungsmittel | mg | Konsistenz der Substanz | $[\alpha]_D^{20}$ in Methanol |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Abs. Äther-Petroläther 1:1 | 421,2 | dünnflüssig | − 54,0° |
| 2 | | 1592,9 | dünnflüssig | + 47,1° |
| 3 | | 318,1 | dünnflüssig | +103,0° |
| 4 | | 97,99 | dünnflüssig | + 93,2° |
| 5 | | 31,5 | harzig | + 75,4° |
| 6 | | 29,5 | harzig | + 25,6° |
| 7 | | 54,1 | z. T. krist. | 0 |
| 8 | Abs. Äther | 325,0 | krist. | 0 |
| 9 | | 189,7 | krist. | 0 |
| 10 | | 111,8 | krist. | 0 |
| 11 | | 65,0 | krist. | 0 |
| 12 | | 38,6 | krist. | 0 |
| 13 | | 24,8 | krist. | 0 |
| 14 | | 18,2 | krist. | 0 |
| 15 | | 13,2 | krist. | 0 |
| 16 | Chloroform-0,5% Methanol | 408,4 | harzig | + 41,9° |
| 17 | | 710,6 | harzig | + 98,5° |
| 18 | | 192,3 | harzig | +101,4° |
| 19 | | 79,2 | harzig | +102,6° |
| 20 | | 45,6 | harzig | +104,2° |
| 21 | | 34,4 | harzig | +101,8° |
| 22 | | 23,9 | harzig | + 83,7° |
| 23 | | 15,6 | harzig | + 80,1° |
| 24 | | 13,0 | harzig | + 76,9° |
| 25 | | 7,3 | harzig | |
| 26 | Methanol | 36,9 | braunes Harz | + 67,7° |
| 27 | | 19,0 | braunes Harz | |

Wie aus dieser chromatographischen Trennung hervorgeht, werden mit Äther-Petroläther rasch zwei durch sehr verschiedene Drehwerte ausgezeichnete Substanzen herausgelöst. Darauf folgt mit abs. Äther eine optisch inaktive Verbindung. Die einheitlichen Portionen scheiden beim Eindampfen eisblumenartige Kristalle ab. Eine vierte, wieder positiv drehende Substanz, wird mit Methanol-haltigem Chloroform eluiert, womit praktisch die gesamte Substanz aus der Säule herausgelöst ist, denn Methanol nimmt daraus nur noch einen kleinen Rest eines bräunlichen Harzes auf.

Die Hydrolyse des vollständig methylierten Produktes liefert demnach 4 verschiedene Fraktionen, die sich wie folgt verteilen:

No. 1 = Fraktion A Drehwert negativ,
No. 2—6 = Fraktion B Drehwert positiv,
No. 7—15 = Fraktion C inaktiv,
No. 16—25 = Fraktion D Drehwert positiv.

Reinigung und Identifizierung der Fraktionen A und B. Die Eluate No. 2—6 der Tabelle 1 werden zur Abtrennung der negativ drehenden Substanz (Fraktion A) erneut chromatographiert. 1,90 g des dünnflüssigen Sirups werden in 100 cm³ Petroläther aufgenommen und durch eine Säule aus 60 g Aluminiumoxyd filtriert. Es

werden Portionen von je 100 cm³ Petroläther (No. 1—10) und von je 200 cm³ wasserfreiem Benzol (No. 11—20) einzeln aufgearbeitet, wie die folgende Tabelle 2 zeigt.

Die drei ersten Eluate dieses Chromatogramms werden mit dem Eluat No. 1 des vorhergehenden Chromatogramms (vgl. Tabelle 1) vereinigt. Der wasserklare, dünnflüssige Sirup (Fraktion A) wiegt 0,84 g. Aus den nun allmählich ansteigenden Drehwerten der folgenden Eluate dieser Säule geht hervor, dass ihnen auch noch negativ drehende Substanz beigemengt ist. No. 5—20 wiegen zusammen 1,34 g. Sie stellen ein schwach gelbliches, etwas dickflüssiges Öl (Fraktion B) dar.

**Tabelle 2.**

| Eluate No. | Lösungsmittel | mg | $[\alpha]_D^{20}$ in Methanol |
|---|---|---|---|
| 1 | Petroläther je 100 cm³ | 3,8 | |
| 2 | | 172,8 | – 56,4° |
| 3 | | 241,0 | – 52,9° |
| 4 | | 93,0 | 0 |
| 5 | | 64,6 | + 34,8° |
| 6 | | 45,6 | + 74,0° |
| 7 | | 35,1 | + 89,0° |
| 8 | | 29,2 | + 98,5° |
| 9 | | 25,1 | + 89,7° |
| 10 | | 21,2 | +106,1° |
| 11 | Abs. Benzol je 200 cm³ | 733,2 | +109,2° |
| 12 | | 153,1 | +118,4° |
| 13 | | 69,9 | +114,4° |
| 14 | | 41,3 | +112,0° |
| 15 | | 27,7 | +112,8° |
| 16 | | 21,1 | +106,8° |
| 17 | | 18,0 | +104,2° |
| 18 | | 14,4 | + 95,5° |
| 19 | | 13,2 | + 75,8° |
| 20 | | 9,9 | + 88,4° |

Fraktion A. Ein Teil (0,48 g) des dünnflüssigen Sirups wird noch einmal in Petroläther (120 cm³) gelöst und durch eine Säule aus Aluminiumoxyd (40 g) filtriert. Die Drehwerte der einzelnen Eluate gehen aus der folgenden Tabelle 3 hervor:

**Tabelle 3.**

| Eluate No. | Lösungsmittel | mg | $[\alpha]_D^{20}$ in Methanol |
|---|---|---|---|
| 1 | Petroläther je 120 cm³ | 4,0 | |
| 2 | | 229,2 | –56,2° |
| 3 | | 128,9 | –58,2° |
| 4 | | 49,9 | –60,1° |
| 5 | | 18,7 | –60,1° |
| 6 | | 13,0 | |
| 7 | | 6,4 | |

Der dünnflüssige Sirup der vereinigten Eluate No. 2—5 wird mehrmals im Vakuum destilliert, wobei die Substanz ohne Rückstand bei 109—110°/12 mm destilliert.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{10}H_{20}O_5$ | Ber. C 54,51 | H 9,16 | $OCH_3$ (4) 56,32% | |
| (220,16) | Gef. „ 54,25; 54,11 | „ 9,30; 9,38 | „ | 54,91; 55,15% |

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -20{,}1^0$ (c = 2,24 in Wasser).

$[\alpha]_D^{20} = -58{,}3^0$ (c = 0,57 in Methanol).

$[\alpha]_D^{20} = -56{,}8^0$ (c = 2,42 in Alkohol).

Diese Substanz erweist sich nach Analyse und Eigenschaften als 2,3,4-Trimethyl-α-methyl-L-rhamnosid. Der Drehwert in wässeriger Lösung ist etwas höher als er in der Literatur (−15°)[1]) angegeben wird; in alkoholischer Lösung stimmt er mit dem Wert der Literatur recht gut überein.

Aus der Rohausbeute an Trimethyl-methyl-rhamnosid, das nach der Hydrolyse des Methylierungsproduktes erhalten wird und, gewichtsmässig etwa $^1/_4$ des Ausgangspräparates ausmacht, geht hervor, dass das Echinacosid nur 1 Mol Rhamnose enthält. Wie im 3. Abschnitt gezeigt wurde, konnte die Rhamnose bereits nach der Hydrolyse des Echinacosids mit Säure als Phenylosazon nachgewiesen werden.

Fraktion B. Zur weiteren Reinigung dieser Fraktion wurden die Eluate No. 11—16 der Tabelle 2 vereinigt und erneut chromatographiert. Dabei steigt der Drehwert einzelner Anteile auf über +130°. Die stärker drehenden Anteile werden vereinigt und durch mehrmalige fraktionierte Destillation im Vakuum gereinigt. Die Verbindung destilliert, ohne einen Rückstand zu hinterlassen, bei 138—139°/12 mm und bildet dann einen farblosen Sirup.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{11}H_{22}O_6$ | Ber. C 52,77 | H 8,87 | $OCH_3$ (5) 61,95% | |
| (250,18) | Gef. „ 52,59 | „ 8,74 | „ | 60,23% |

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +133{,}0^0$ (c = 0,86 in Methanol).

$[\alpha]_D^{20} = +131{,}3^0$ (c = 0,66 in Alkohol).

Analyse und Eigenschaften stehen im Einklang mit dem 2,3,4,6-Tetramethyl-α-methyl-D-glucopyranosid[2]). In der Literatur wird für die optische Drehung dieser Verbindung in alkoholischer Lösung ein höherer Wert angegeben (+153,9°)[3]). Unser Präparat scheint demnach noch eine geringe Menge der β-Verbindung zu enthalten.

Wie später (S. 1892) gezeigt werden wird, kann dieselbe vollständig methylierte Glucose auch aus der besser zu reinigenden, kristallisierenden Fraktion D hergestellt werden. Bei dem so gewonnenen Produkt, dessen Siedepunkt mit dem der vorliegenden Verbindung genau übereinstimmt, liegt der Drehwert im Bereich der Literaturangaben.

Fraktion C. Die nach Tabelle 1 erhaltenen optisch inaktiven Eluate No. 7—15 kristallisieren bereits nach einigem Stehen. Die Lösung von 0,90 g des Rohkristallisates in 10 cm³ abs. Äther zeigt nach dem Vermischen mit 20 cm³ warmem Hexan allmählich eine Trübung und scheidet etwas harzige Substanz ab, von der abgegossen wird. Danach scheiden sich grosse, wasserklare, schief abgeschnittene Platten ab. Zur weitern Reinigung wird die Substanz im Hochvakuum fraktioniert destilliert, wobei schon bei der 2. Destillation die gesamte Substanz bei 93—95°/0,01—0,005 mm übergeht. Das Destillat erstarrt sehr rasch zu einer Kristallmasse vom Smp. 48—49°.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{10}H_{14}O_3$ | Ber. C 65,93 | H 7,75 | $OCH_3$ (2) 34,06% | |
| (182,1) | Gef. „ 65,83; 65,93 | „ 7,74; 7,91 | „ | 34,10; 33,87% |

Molekulargewicht (nach Rast): $C_{10}H_{14}O_3$ Ber. MG = 182,1 Gef. MG = 185,9

[1]) *Hirst & Macbeth*, Soc. **1926**, 22. Die Bestimmungen wurden mit wesentlich konzentrierteren Lösungen ausgeführt (11-proz.).

[2]) *Th. Purdie & J. C. Irvine*, Soc. **83**, 1021 (1903); **85**, 1049 (1904); *W. N. Haworth*, Soc. **107**, 13 (1915).

[3]) Die Literaturangaben beziehen sich auf Bestimmungen in wesentlich konzentrierteren Lösungen.

p-Nitrobenzoat: 60 mg der Substanz werden in 0,5 cm³ Pyridin gelöst und mit 120 mg p-Nitrobenzoylchlorid in 3 cm³ Chloroform umgesetzt. Nach 5 Stunden wird mit Chloroform verdünnt und der Reihe nach mit 2-n. Salzsäure, Wasser, 2-n. Natriumhydrogencarbonat-Lösung und wieder mit Wasser ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wird mit Calciumchlorid getrocknet und eingedampft, worauf der Rückstand, ein gelbliches Öl (120 mg), alsbald kristallisiert. Nach dem Aufnehmen des Rohkristallisates in siedendem Hexan und Konzentrieren der klaren Lösung auf dem Wasserbad bis zur Trübung kristallisiert das sich abscheidende gelbe Öl allmählich in Blättchen durch. Zur Analyse werden diese nochmals aus Hexan umkristallisiert. Das reine p-Nitrobenzoat vom Smp. 85° wird zur Analyse bei 40° im Hochvakuum getrocknet.

$C_{17}H_{17}O_6N$ (331,1) Ber. N 4,23% Gef. N 4,45; 4,37%

Die Fraktion C stimmt in allen ihren Eigenschaften und in der Zusammensetzung mit dem von *Fulton & Robinson*[1]) synthetisch gewonnenen β-(3,4-Dimethoxyphenyl)-äthanol überein.

Fraktion D. Die in den Eluaten No. 16—25 der Tabelle 1 enthaltene stark positiv drehende Substanz wurde zur weitern Reinigung vorerst nochmals an einer Aluminiumoxyd-Säule chromatographiert. Eine Lösung von 1,40 g der gelblichen, zähflüssigen Substanz in 150 cm³ abs. Äther liess man durch eine Säule von 45 g Aluminiumoxyd laufen und wusch die Säule zuerst mit Äther, dann mit methanolhaltigem Chloroform nach. Die Substanzmengen und die Drehwerte der einzelnen Eluate sind in der folgenden Tabelle 4 zusammengestellt:

**Tabelle 4.**

| Eluate No. | Lösungsmittel | mg | $[\alpha]_D^{20}$ in Methanol |
|---|---|---|---|
| 1 | Abs. Äther | 7,1 | |
| 2 | | 112,8 | + 10,0° |
| 3 | | 61,8 | + 12,1° |
| 4 | | 30,7 | + 12,2° |
| 5 | | 25,1 | + 24,9° |
| 6 | | 20,8 | + 30,1° |
| 7 | | 19,2 | + 52,1° |
| 8 | Chloroform + 0,5% Methanol | 370,8 | +104,2° |
| 9 | | 438,3 | +113,2° |
| 10 | | 114,4 | +109,3° |
| 11 | | 58,4 | +111,3° |
| 12 | | 35,2 | +113,6° |
| 13 | | 24,4 | +117,7° |
| 14 | | 18,6 | +114,2° |
| 15 | | 15,6 | +112,2° |
| 16 | | 12,1 | +113,6° |
| 17 | | 10,1 | +111,4° |

Die aus der Säule mit abs. Äther eluierten Anteile kristallisieren z. T. schon beim Animpfen mit der Verbindung aus Fraktion C. Die mit methanolhaltigem Chloroform eluierten Anteile hinterlassen beim Abdampfen zähflüssige, gelbliche Rückstände, von denen einzelne (z. B. No. 9 und 10) nach längerem Stehen zu kristallisieren beginnen. Beim Verreiben des Eindampfrückstandes (1 g) dieser vereinigten Eluate mit wenig abs. Äther scheiden sich allmählich Kristalle (0,69 g) ab, die nochmals in ca. 40 cm³

[1]) *J. D. Fulton & R. Robinson*, Soc. **1933**, 1463.

siedendem Äther gelöst werden. Aus der klaren, auf etwa die Hälfte konzentrierten Lösung erscheinen glashelle Prismen, die bei 79° schmelzen. Aus Äther-Hexan (1:2) kristallisiert die Substanz in Prismen und Spiessen und hinterlässt bei der Destillation im Hochvakuum bei 102°/0,005—0,001 mm keinen Rückstand. An den kälteren Stellen des Gefässes kristallisiert das farblose Destillat sofort durch. Der Smp. dieser Kristalle liegt bei 79—80°.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_9H_{18}O_6$ | Ber. C 48,61 | H 8,17 | $OCH_3$ (3) 41,86% | |
| (222,15) | Gef. „ 48,68; 48,82 | „ 8,27; 8,22 | „ | 41,60; 42,16% |

Molekulargewicht (nach *Rast*): $C_9H_{18}O_6$ Ber. MG = 222,15 Gef. MG = 228

Optische Drehung des Analysenpräparates: $[\alpha]_D^{20} = +161,6^0$ (c = 0,37 in Methanol).

Ein anderes Präparat (Smp. 79°) zeigte die folgenden Werte:

$[\alpha]_D^{20} = +156,3^0$ (c = 0,50 in Methanol).

$[\alpha]_D^{20} = +157,5^0$ (c = 0,48 in Alkohol).

In der Zusammensetzung und den physikalischen Eigenschaften stimmt die Fraktion D mit dem in der Literatur beschriebenen 2,3-Dimethyl-α-methyl-D-glucopyranosid[1]) überein. Die Drehwerte unserer Präparate liegen etwas höher als sie in der Literatur (+143,0° in Alkohol) angegeben werden.

Die Fraktion D (Dimethyl-methylglucosid) kann durch Methylierung in die Fraktion B (Tetramethyl-methylglucosid) übergeführt werden. Die kristallisierte Fraktion D liefert nach zweimaliger Behandlung mit Methyljodid und Silberoxyd einen Sirup, der bei 138—141°/12 mm vollständig destilliert. Nach der Adsorption aus benzolischer Lösung an Aluminiumoxyd destilliert das Präparat bei 138—139°/12 mm.

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = +147,2^0$ (c = 0,52 in Alkohol).

Das Präparat zeigt dieselben Eigenschaften wie das aus der Fraktion B gewonnene 2,3,4,6-Tetramethyl-α-methyl-D-glucopyranosid. Das über das kristallisierte Dimethylmethylglykosid der Fraktion D dargestellte Präparat besitzt einen noch ein wenig tieferen Drehwert als er in der Literatur (+153,9°) angegeben wird.

7. Die partielle Spaltung des vollständig methylierten Glykosids mit schwacher methanolischer Salzsäure. Die Lösung von 5,5 g des Methylierungsproduktes, wie es nach Abschnitt 5 aus dem Echinacosid unter Abspaltung der Kaffeesäure erhalten wurde, wird in 55 cm³ einer 0,26-n. methanolischen Salzsäure während 6 Stunden am Rückfluss gekocht und wie im 6. Abschnitt beschrieben aufgearbeitet. Aus dem hellgelblichen Öl (5,6 g) scheiden sich nach dem Aufnehmen in wenig abs. Äther rasch feine Kristallnadeln (1,62 g) ab, die zuerst aus Benzol-Hexan (1:4) und dann aus der 10fachen Menge heissem Essigester umkristallisiert werden. Die reine Verbindung vom Smp. 123—124° wurde zur Analyse im Vakuum bei 50° getrocknet.

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| $C_{28}H_{46}O_{13}$ | Ber. C 56,90 | H 7,86 | $OCH_3$ (7) 42,01% | |
| (590,4) | Gef. „ 57,07; 56,88 | „ 7,39; 8,06 | „ | 41,70; 42,52% |

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{20} = -24,3^0$ (c = 0,41 in Methanol).

$[\alpha]_D^{20} = -25,1^0$ (c = 0,45 in Chloroform).

Beim Kochen dieser kristallisierten Verbindung mit 2-n. methanolischer Salzsäure wird ein Sirup erhalten, der durch Chromatographie an Aluminiumoxyd nach dem Muster der Tabelle 1 nahezu quantitativ in die folgenden Komponenten aufgeteilt werden konnte:

β-(2,3-Dimethoxyphenyl)-äthanol (entspricht Fraktion C des 6. Abschnitts),

2,3-Dimethyl-α-methyl-D-glucopyranosid (entspricht Fraktion D),

2,3,4,6-Tetramethyl-α-methyl-D-glucopyranosid (entspricht Fraktion B).

Aus diesem Abbau durch saure Hydrolyse geht hervor, dass der methoxylfreie Grundkörper dieser kristallisierten Verbindung vom Smp. 123° ein Glucosid des Brenzcatechinäthanols mit 2 Mol Glucose darstellt. Es ist aus dem vollständig methylierten Produkt, das die Kaffeesäure des genuinen Glykosids bereits nicht mehr enthält, durch Abspaltung des Rhamnoserestes entstanden.

[1]) *J. C. Irvine & J. P. Scott*, Soc. **103**, 571 (1913).

Zusammenfassung.

Aus den Wurzeln der nordamerikanischen Komposite Echinacea angustifolia D. C. konnte eine wasserlösliche, kristallisierte Verbindung $C_{35}H_{46}O_{20}$ in einer Ausbeute von ca. 1% isoliert werden. Dieses mit Echinacosid bezeichnete Naturprodukt ist optisch aktiv ($[\alpha]_D^{20}$ = –56,5°, in Wasser) und besitzt eine schwache antibakterielle Wirksamkeit gegenüber Staphylococcus aureus und Streptokokken.

Abbaureaktionen, die hauptsächlich mit Methylierungsprodukten des Echinacosids durchgeführt wurden, führten zu dem Ergebnis, dass in ihm ein Glykosid des Brenzcatechin-äthanols vorliegt. Die Zuckerkomponente besteht aus 2 Mol D-Glucose und 1 Mol L-Rhamnose. Das mit dem Aglucon verknüpfte Glucosemolekül ist ausserdem mit 1 Mol Kaffeesäure verestert, der hauptsächlich die antibakterielle Wirkung zukommt. Aus den Spaltprodukten der durch vollständige Methylierung gewonnenen Polymethoxy-Verbindungen ist für das Echinacosid die in Formel I zum Ausdruck gebrachte Struktur ermittelt worden.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium
*Sandoz*, Basel.

---

## 239. Zur Kenntnis der Triterpene.

156. Mitteilung[1]).

## Zur Konstitution des Lanostadienols

von **W. Voser, M. Montavon, Hs. H. Günthard, O. Jeger** und **L. Ruzicka.**

(2. IX. 50.)

Die Konstitution des tetracyclischen, sekundären Alkohols Lanostadienol (Lanosterin, $C_{30}H_{50}O$, I)[2]), welcher aus dem Wollfett der Schafe und aus den Mutterlaugen von der Herstellung des Ergosterins aus Hefe gewonnen wird, ist noch wenig bekannt. Von den zwei Doppelbindungen des Lanostadienols liegt eine in einer Isobutenyl-Gruppe vor und lässt sich katalytisch hydrieren[3]); dabei entsteht das Lanostenol (Dihydro-lanosterin, $C_{30}H_{52}O$, II) das auch aus dem Wollfett der Schafe isoliert worden ist. Die zweite, im Ringsystem liegende Doppelbindung konnte dagegen katalytisch nicht hydriert werden. *C. B. Roth & O. Jeger*[4]) haben vor kurzem an Hand des IR.-Absorp-

[1]) 155. Mitt. Helv. **33**, 1835 (1950).

[2]) Zur Nomenklatur vgl. *L. Ruzicka, R. Denss & O. Jeger*, Helv. **28**, 759 (1945).

[3]) *H. Wieland, H. Passedach & A. Ballauf*, A. **529**, 68 (1937); *H. Wieland & W. Benend*, Z. physiol. Ch. **274**, 215 (1942); *L. Ruzicka, Ed. Rey & A. C. Muhr*, Helv. **27**, 472 (1944).

[4]) Helv. **32**, 1620 (1949).