

4. 10 g (0.028 Mol) *Diisobornylsulfit* (vgl. I, 9.) in 170 ccm Diäthylenglykol wurden wie unter II, 2. mit 8 g (0.14 Mol) *Kaliumfluorid* behandelt. Gewonnen wurden 2.8 g (74% d. Th.) reines *Camphen* vom Schmp. 44–48°, gaschromatographisch einheitlich, und 2.9 g *Isoborneol*, das etwas Borneol enthielt.

5. 3.7 g (0.012 Mol) *α-Fencholtoluolsulfonat*, Schmp. 96–97°, wurden in 80 ccm Diäthylenglykol mit 2.8 g (0.048 Mol) *Kaliumfluorid* 72 Stdn. auf 70° erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mit wenig Petroläther ausgeschüttelt und weitgehend abgedampft. Beim Kühlen auf –30° kristallisierte die Hauptmenge des Toluolsulfonates unverändert wieder aus und wurde abgesaugt. Die Gaschromatographie des Filtrates ergab 93% *α-Fenchol* neben 7% *Cyclofenchol* (Vergleich mit authent. Proben).

6. 10 g (0.058 Mol) *Bornylchlorid*, Schmp. 125–127°, wurden mit 6.8 g (2.0 Mol) *Kaliumfluorid* in 150 ccm Äthylenglykol 96 Stdn. auf 80° erhitzt. Das Bornylchlorid wurde neben Spuren Camphen unverändert wieder isoliert.

7. 10 g *Isobornylchlorid*, Schmp. 162–163°, wurden wie unter II, 6. mit *Kaliumfluorid* in Äthylenglykol behandelt. Es bildete sich nur *Camphen*.

RICHARD KUHN und IRMENTRAUT LÖW

Zur Konstitution der Leptine¹⁾

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie
(Eingegangen am 4. November 1960)

Die aus Blättern von *Solanum chacoense* isolierten Leptine sind Glykoside eines α -Acetoxy-solanidins. Unter Abspaltung des Acetylrestes gehen sie in die Leptinine über, die sich als Glykoside eines α -Hydroxy-solanidins (Leptinidins) erweisen. Die hohe Wirksamkeit der Leptine als Resistenzfaktoren gegenüber dem Kartoffelkäfer und dessen Larven geht bei Abspaltung der Acetylreste verloren. Leptinin I gibt bei der Hydrolyse 1 Mol. Glucose + 2 Moll. Rhamnose, während aus Leptinin II 1 Mol. Glucose + 1 Mol. Rhamnose + 1 Mol. Galaktose erhalten werden.

Neben Solanin und Chaconin, die sich vom Solanidin $C_{27}H_{43}NO$ ableiten, haben wir in den Blättern von *S. chacoense* weitere Alkaloidglykoside aufgefunden, deren Aglykon $C_{27}H_{43}NO_2$ (Leptinidin) um 1 O-Atom reicher ist als Solanidin²⁾.

Die bisher kristallisiert erhaltenen Verbindungen der Leptin-Gruppe sind in Tab. 1 verzeichnet. Bei den Bausteinen, die mit + und – angegeben sind, bedeuten Ac Acetyl, Gl Glucose, Rh Rhamnose und Gal Galaktose. $R_{\alpha S}$ bedeutet den R_F -Wert, bezogen auf α -Solanin = 1.0 in Essigester/Pyridin/Wasser = 5:2:1. Die $[\alpha]_D$ -Werte wurden in Pyridin bestimmt.

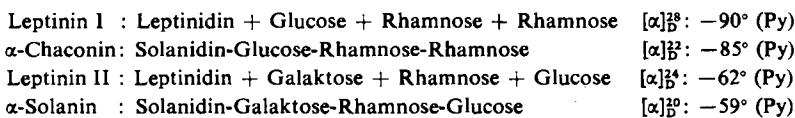
¹⁾ Vorgetragen auf dem „Symposium über Chemie und Biochemie der Solanum-Alkaloide“ der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften in Berlin am 2. Juni 1959. Referat: Angew. Chem. 71, 529 [1959].

²⁾ R. KUHN und I. LÖW, Angew. Chem. 69, 236 [1957].

Tab. 1. Kristallisiert erhaltene Glykoside der Leptin-Gruppe

	Ac	Gl	Rh	Gal	$R_{\alpha}S$	$[\alpha]_D$
Leptin I	+	+	++	-	1.8	-85°
Leptin II	nicht mit Sicherheit aufgefunden					
Leptinin I	-	+	++	-	1.1	-90°
Leptinin II	-	+	+	+	0.8	-62°

Hinsichtlich der Zuckerbausteine und des Drehungsvermögens entsprechen Leptinin I dem α -Chaconin und Leptinin II dem α -Solanin, was auf eine biochemisch-genetische Verwandtschaft hindeutet:



Bei α -Chaconin und α -Solanin sind die Verknüpfungsstellen zwischen den Bausteinen durch Permethylierung bekannt und deshalb durch Bindungsstrich (-) in der richtigen Reihenfolge wiedergegeben. Für die Leptinine ist die Verknüpfungsweise der Zucker untereinander vermutlich analog, aber nicht durch Permethylierung gesichert.

Im IR-Spektrum des Leptins erkennt man die für Ester-CO charakteristische Doppelbande bei 5.75 und 5.85 μ , die bei alkalischer Verseifung zum Leptinin (wobei die Zucker gebunden bleiben) verloren geht. Nach totaler, saurer Hydrolyse zum Aglykon (Leptinidin) sind die IR-Banden bei 5.75 und 5.85 μ ebenfalls verschwunden. Man findet sie jedoch wieder im x-Acetyl-leptinidin (x-Acetoxy-solanidin), das durch partielle Hydrolyse mit Säure erhalten werden konnte³⁾.

Die leichte Abspaltbarkeit der Acetylgruppen hat die Isolierung der neuen Esterglykoside sehr erschwert. Ähnlich wie bei Digitalisglykosiden, bei denen Essigsäurereste mit Zuckerhydroxylen verbunden sind, werden die Acetylgruppen nicht nur durch verd. Alkalien (auch schon durch alkalisches Aluminiumoxyd) leicht abgespalten, sondern sie sind vor allem auch gegen Enzyme der Blätter (Esterasen) sehr empfindlich. Aus diesem Grunde ist es erforderlich, die frisch geernteten Blätter so bald wie möglich in siedendes Wasser einzutragen, um die enzymatische Entacetylierung zu verhindern. Aus den Kochsäften, die nach Zerkleinerung des Blattmaterials erhalten werden, lassen sich die Esterglykoside mit Butanol ausschütteln. Die weiteren Fraktionierungsschritte sind im Versuchsteil beschrieben. Hervorgehoben sei, daß die in Wasser leicht löslichen Leptine bei der Ausfällung von Solanin, Chaconin und Leptininen mit Ammoniak in Lösung bleiben. Darin unterscheiden sich die Leptine auch von den als Resistenzfaktoren bereits bekannten Alkaloidglykosiden anderer Solanumarten (Demissin, Tomatin). Wir müssen die Möglichkeit offen lassen, daß die Leptine nicht nur in der pflanzlichen Zelle, sondern auch noch in den Butanolextrakten mit leicht abspaltbaren Gruppen verknüpft sind, die eine viel größere Wasserlöslichkeit bedingen, als sie dem kristallisierten Leptin I eigen ist. Elektrophoretische Versuche haben keinen sicheren Anhaltspunkt für das Vorliegen von Zwitterionen ergeben.

³⁾ Vgl. die nachstehende Mitteilung.

Die schöne Methode von A. STOLL⁴⁾, der zur Schonung der Acetylgruppen Digitalisblätter mit festem Ammoniumsulfat in einen Brei verwandelt und diesen mit Essigester extrahiert, hat sich auf die N-haltigen Glykoside von *S. chacoense* nicht übertragen lassen; der Essigester nimmt keine Leptine auf. Bei N-freien Steroidglykosiden sind am Aglykon haftende Acetylgruppen in der Natur bereits aufgefunden worden (Oleandrine⁵⁾, Scilliroside⁶⁾, Digacetin⁷⁾).

PHYSIOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

Nach den von B. STÜRKOW durchgeführten Versuchen⁸⁾ wirkt kristallisiertes Leptin I auf Kartoffelkäfer und dessen Larven noch stärker fraßmindernd (fraßabschreckend) als Tomatin, wenn man es in Blätter von *S. tuberosum* infiltriert. Schon bei einer molaren Konzentration von 10^{-3} wird nichts mehr gefressen. Aus einer großen Zahl von Versuchsreihen bringt Tab. 2 ein Beispiel.

Tab. 2. Fraß von Jungkäfern nach Infiltration von *S. tuberosum*-Blättern mit krist. Alkaloidglykosiden ($c = \text{Mol Substanz/kg frisches Blatt}$)
Angegeben sind die gefressenen Blattflächen in %

Alkaloidglykosid	$c = 6 \cdot 10^{-3}$	$c = 2 \cdot 10^{-3}$	$c = 1 \cdot 10^{-3}$
Leptin I	0	0	0 %
Tomatin	17	54	71
Demissin	17	76	94
α -Solanin	47	100	100
α -Chaconin	63	92	98
Leptinin I	75	97	99

Man erkennt, daß der Acetylgruppe des Leptins eine ausschlaggebende Bedeutung für dessen hohe Wirksamkeit zukommt, da das acetylfreie Leptinin noch weniger wirksam ist als die mitangeführten, schon länger bekannten Alkaloidglykoside. Dies erinnert an Befunde, die am Scillirosid⁶⁾, dem Hauptglykosid der roten Meerzwiebel gemacht wurden. Scillirosid ist eines der stärksten Herzgifte und zugleich Träger der spezifisch toxischen Wirkung der Droge gegen Nagetiere. Es trägt in 6-Stellung des Steroidgerüstes eine Acetoxygruppe. Wird diese abgespalten, so geht die Toxizität verloren. Es ist sehr auffallend, daß auch im Falle des Leptins, das nicht an Nagetieren, sondern an Insekten getestet wurde, der Verlust der Acetylgruppe zum Zusammenbruch der Wirksamkeit führt.

Die hohe natürliche Resistenz von *S. chacoense* gegen den Kartoffelkäfer und dessen Larven war jahrelang unverständlich geblieben, da die übliche Aufarbeitung der Blätter auf Alkaloidglykoside nur Solanin und Chaconin lieferte, deren Wirksamkeit zur Erklärung der Resistenz nicht ausreichte. Die wirksamen Acetylverbindungen waren teils schon zu Beginn der Aufarbeitung enzymatisch zerstört oder

4) A. STOLL und W. KREIS, Helv. chim. Acta **16**, 1049 [1933].

5) W. NEUMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 1547 [1937].

6) A. v. WARTBURG und J. RENZ, Helv. chim. Acta **42**, 1620 [1959].

7) R. TSCHESCHE, W. HAMMERSCHMIDT und G. GRIMMER, Liebigs Ann. Chem. **614**, 136 [1958].

8) Vorgetragen von B. STÜRKOW auf dem unter ¹⁾ zitierten Symposium.

später in den Mutterlaugen der NH_3 -Fällungen verblieben. Jetzt läßt sich die Resistenz von *S. chacoense* durch die darin enthaltenen Esterglykoside quantitativ erklären.

Für den Pflanzenzüchter bedeutet das Ergebnis unserer Untersuchungen, daß die genetischen Faktoren bei *S. chacoense* zahlreicher sind als bei anderen Wildkartoffeln, da neben Solanin und Chaconin vier verschiedene Leptine (I, II, III und IV) gebildet zu werden scheinen. Kreuzungsversuche werden auch dadurch erschwert, daß wir nicht in der Lage sind, eine einfache Nachweisreaktion oder gar Bestimmungsmethode für Leptine dem Züchter an die Hand zu geben. Es sei jedoch vermerkt, daß das in Wasser leicht lösliche kristallisierte Leptin I nahezu geschmacklos ist, im Gegensatz zu den begleitenden Solanin und Chaconin, die äußerst widerlich schmecken.

In Blättern von *S. tuberosum* kommen Leptine und Leptinine nicht vor.

Fräulein Dr. B. STÜRKOW hat an Käfern eine sehr große Zahl von Glykosidfraktionen ausgetestet, aus denen schließlich die Isolierung des Leptins gelang. Hierfür und für die Prüfung der reinen Verbindungen haben wir ihr aufrichtig zu danken. Frl. M. TORKA ver danken wir das Pflanzenmaterial. Herrn Dr. W. OTTING, der die Ester-CO-Banden im IR-Spektrum fand, sind wir für die laufende Verfolgung und Interpretation der IR-Banden zu großem Dank verpflichtet.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die Schmelzpunkte wurden mit abgekürzten Thermometern, die Äquivalentgewichte potentiometrisch bestimmt. Zur COCH_3 -Bestimmung wurde alkalisch verseift.

Aufarbeitung des Pflanzenmaterials

Aufarbeitung A: Die frisch geschnittenen Blätter von *Solanum chacoense* wurden von den groben Stielen abgestreift, gewogen (2 kg) und sofort in 100-g-Portionen in kochendes Wasser gegeben, 5 Min. lang aufgekocht, dann aus dem Kochwasser herausgenommen. Das Kochwasser, notfalls mit frischem Wasser ergänzt, wurde für die nächsten 100 g Blätter verwendet. So kam man mit einem Minimum an Wasser aus. Wenn alle Blätter abgekocht waren, wurden sie durch den Fleischwolf gegeben und unter Verwendung des Kochwassers mit insgesamt 2 l/kg Blätter nochmals aufgekocht. Nach dem Erkalten haben wir zentrifugiert, den Blattbrei von Hand mit einem Tuch ausgepreßt und ein zweites Mal mit 1 l Wasser/kg aufgekocht. Die wässrigen Auszüge haben wir filtriert und viermal mit mindestens dem halben Volumen Butanol (aminfrei)* ausgeschüttelt. Durch Abdampfen des Butanols i. Vak. erhielten wir 12 g Rohprodukt.

Aufarbeitung B: Die Blätter (3 kg) wurden geschnitten, gesammelt, nach mehreren Stunden durch den Fleischwolf gegeben und dann wie vorher behandelt. Ausb. 14 g Rohprodukt. Es handelte sich um Pflanzen, die an einem anderen Ort gewachsen waren.

Fraktionierung: Zur Trennung der Alkaloide hat sich am besten das Chromatographieren auf Al_2O_3 (WOELM, sauer) mit wassergesätt. Butanol/Essigester (1:1, das Gemisch vollends mit Wasser gesättigt) bewährt. Wir haben bis zu 6 g Rohprodukt mit Al_2O_3 trocken verrieben, auf eine Säule von 3.8×27 cm gegeben und den Durchlauf in 50-ccm-Fraktionen aufgefangen. Proben wurden jeweils abgedampft, in 50-proz. Essigsäure auf Papier Schleicher & Schüll 2043 b aufgesetzt und in Essigester/Pyridin/Wasser (5:2:1) aufsteigend chromatogra-

* Handelsbutanol enthält vielfach Amine, insbesondere Dibutyläthylamin. Dieses wurde als Pikrat vom Schmp. 83—84° aus Butanolextrakten von Chacoense-Blättern isoliert, R. KUHN, Naturwissenschaften 46, 43 [1959]. Es handelt sich aber nicht um einen Naturstoff.

graphiert (Steigzeit etwa 14 Stdn.)⁹⁾ Die gut abgetrockneten Streifen haben wir durch eine Lösung von 0.2% Phosphormolybdänsäure in Aceton gezogen, kurz getrocknet, in Wasser gebadet (bis zum Sichtbarwerden der gelben Flecke) und auf Filtrierpapier getrocknet. Die korrespondierenden Fraktionen haben wir vereinigt, abgedampft und mit Methanol nachgedampft, bis der Geruch nach Butanol verschwunden war. Die Galaktose enthaltenden Glykoside halten hartnäckig Butanol zurück unter Bildung von Gallerten. Die wässrigen, stark schäumenden Glykosidlösungen können unter Zusatz etwa des gleichen Volumens Butanol abgedampft werden.

Wir haben in der Regel durch die erste Säulenchromatographie die Rohprodukte in 4—5 Fraktionen aufgeteilt. Diese haben wir in möglichst wenig Wasser gelöst und in der Wärme mit konz. NH₃ versetzt (Freisetzen der Basen aus ihren Salzen; die Anionen stammen zum Teil aus der sauren Säule). Die Fällungen haben wir abgetrennt, die wässrigen Lösungen mit Butanol ausgeschüttelt und das Butanol abgedampft. Die wasserlöslichen und die in Wasser unlöslichen Fraktionen haben wir geprüft: 1) papierchromatographisch, 2) IR-spektroskopisch, 3) nach saurer Hydrolyse papierchromatographisch auf Zucker, 4) nach Barytverseifung papierchromatographisch, um festzustellen, ob sich die R_f-Werte geändert haben. Diese zeitraubende, mehrfache Prüfung ist nötig, da die unreinen, nicht krist. Präparate im Papierchromatogramm verwaschene Flecke geben und die R_f-Werte teilweise praktisch gleich sind. Die NH₃-Fällungen sind bereits kristallisierbar. Sie können Solanin, Chaconin, Leptinin I und Leptinin II enthalten. Gemische werden so oft auf Al₂O₃ chromatographiert, bis einheitliche Präparate vorliegen, die dann umkristallisiert werden.

Solanin und Leptinin II bilden hartnäckig Mischkristallitate. Man kann zwar einen Teil des Solanins durch Umkristallisieren abtrennen, aber Leptinin II, das neben Solanin in der Mutterlauge verbleibt, durch Chromatographieren nur zum kleinen Teil rein gewinnen. Die nach der NH₃-Behandlung in Wasser löslich gebliebenen Anteile haben wir erneut chromatographiert, die erhaltenen Fraktionen mit NH₃ behandelt, Lösliches von Unlöslichem getrennt und beides nach 1) — 4) durchgeprüft.

Tab. 3 zeigt das Ergebnis der Aufarbeitungen A und B auf je zwei Säulen Al₂O₃.

Tab. 3. Die bei den Aufarbeitungen A und B durch einmalige Chromatographie erhaltenen Fraktionen an NH₃-fällbaren Glykosiden (Leptinine, Solanin, Chaconin) und Leptinen (mit NH₃ nicht fällbar)

Frakt. Nr.	ccm Filtrat je Säule	R _{αS} ^{EPW}	Trockengewicht g	davon mit NH ₃ nicht fällbar g	%
A 0 + 1	1050	— — —	—	—	—
A 2	750	1.8 1.3 —	3.16	1.72	54
A 3	850	1.1 1.0 0.4	3.93	1.60	41
A 4	950	1.0 0.8 0.2	1.90	1.67	88
B 0	800	— — —	—	—	—
B 1	250	1.8 — —	0.35	—	—
B 2	500	1.8 1.3 1.1	1.25	0.28	22
B 3	500	1.1 1.0 0.4	1.62	0.40	25
B 4	650	1.0 0.8 0.2	1.05	0.75	70

Tab. 4. Änderung der R_{αS}-Werte bei Abspaltung der Acetylgruppe

Leptin I (R _{αS} = 1.8)	→	Leptinin I (in Wasser unlös., R _{αS} = 1.1)
Leptin III (R _{αS} = 1.1)	→	Leptinin III (in Wasser lös., R _{αS} = 0.4)
Leptin IV (R _{αS} = 0.8)	→	Leptinin IV (in Wasser lös., R _{αS} = 0.2)

⁹⁾ Mit dem früher angewandten Gemisch Essigester/Eisessig/Wasser (3:1:3, obere Phase) lassen sich die Leptine und Leptinine nicht von Solaninen und Chaconinen trennen.

α -Solanin ($R_{\alpha S} 1.0$) wurde kristallisiert erhalten aus den Fraktionen A3, B3 und B4; α -Chaconin ($R_{\alpha S} 1.3$) aus A2 und B2; Leptinin I ($R_{\alpha S} 1.1$) aus B2 und B3, aber nicht aus A-Fraktionen; Leptinin II ($R_{\alpha S} 0.8$) aus A4 und B4. Von den mit NH_3 nicht fällbaren Glykosiden wurden kristallisiert erhalten Leptin I ($R_{\alpha S} 1.8$) aus A2 und B2 und Leptin III ($R_{\alpha S} 0.4$) aus A3 und B3, während Leptin III ($R_{\alpha S} 1.1$, in A3, B2 und B3) sowie Leptin IV ($R_{\alpha S} 0.8$, in A4 und B4) sowie Leptinin IV ($R_{\alpha S} 0.2$, in A4 und B4) noch nicht kristallisiert gewonnen werden konnten.

Daß die in den IR-Spektren gefundenen Estercarbonylbanden zu den Leptinen gehören, wurde durch Barytverseifung nachgewiesen. Wir haben Proben von 10–20 mg Substanz mit je 2 ccm gesätt. währ. Bariumhydroxydlösung 2 Stdn. gekocht, mit Butanol ausgeschüttelt und das Butanol abgedampft. Die Abdampfrückstände (die Leptinine I, II, III und IV) wurden auf Papier chromatographiert; ihre IR-Spektren zeigten keine CO-Banden mehr.

Nach der ersten Säulenchromatographie (Tab. 3) haben wir die korrespondierenden Fraktionen der Aufarbeitungen A und B (aus denen teilweise reines α -Solanin und reines α -Chaconin durch Kristallisation abgetrennt war) vereinigt und jede der 6 Gruppen (die mit NH_3 fällbaren und unfällbaren Fraktionen getrennt) erneut auf Al_2O_3 , wie vorher beschrieben, chromatographiert (s. Tab. 5).

Tab. 5. Erneute Chromatographie der in Tab. 3 angeführten Fraktionen

Frakt. Nr.	Ausb. in g	$R_{\alpha S}^{EPW}$	IR-Esterbanden	Alkaloidglykosid
C 1	1.21	1.8	+	Leptin I *)
C 2	0.35	1.8 (1.3)	+	Leptin I + α -Chaconin *)
C 3	0.42	1.8 1.3	+	Leptin I + α -Chaconin
C 4	1.67	(1.8) 1.3	—	α -Chaconin *)
C 5	0.84	(1.8) 1.1	—	Leptinin I *)
C 6	0.09	1.3 1.1	—	
C 7	0.28	1.1	—	Leptinin I *)
C 8	0.75	1.1	0.8	Leptinin I + II *)
C 9	0.83	1.1	—	Leptin III
C 10	1.21	1.1	0.4	Leptin III + Leptinin III
C 11	2.30	—	—	α -Solanin *)
C 12	0.82	1.0	0.8	α -Solanin + Leptinin II *)
C 13	1.70	—	0.8 0.2	Leptin IV + Leptinin IV

*) krist.

Wir haben so aus 5 kg Chacoenseblättern (Aufarbeitung A = 2 kg, Aufarbeitung B = 3 kg) erhalten:

kristallisiert	nicht kristallin
1.7 g α -Chaconin	1.2 g Leptin I, dessen Kristallisation im folgenden Abschnitt beschrieben wird
2.3 g α -Solanin	0.4 g Leptin I/Chaconin
0.8 g α -Solanin/Leptinin II	ca. 2.0 g Leptin III
ca. 1.2 g Leptinin I	1.7 g Leptin IV
0.7 g Leptinin I/II	
0.35 g Leptin I/ α -Chaconin	

Leptin I: Eine durch Chromatographie auf Al_2O_3 abgetrennte, in Wasser lösliche, mit NH_3 nicht fallende Fraktion mit $R_{\alpha S} 1.8$ haben wir in Wasser gelöst, viermal mit gleichem Volumen Essigester ausgeschüttelt, den Essigester verworfen und aus der wäßrigen Lösung das Leptin I mit der Epiphase von Essigester/Wasser/Butanol (2:1:0.3) ausgeschüttelt. Anschließend haben wir das Leptin I in der Hypophase desselben Gemisches gelöst und es durch

achtmaliges Ausschütteln in die Oberphase getrieben. Jetzt war das Leptin I noch wasserlöslich, aber es kristallisierte nach einiger Zeit in Nadelchen aus (aus Wasser!). Zur Analyse wurde 2 Stdn. bei 110°/0.001 Torr getrocknet. Schmp. 230° (im evak. Röhrchen), $[\alpha]_D: -85^\circ$ (in Pyridin).

$C_{47}H_{75}NO_{16}$ (910.1) Ber. C 62.02 H 8.31 N 1.55 COCH₃ 4.7
Gef. C 61.39 H 8.29 N 1.65 COCH₃ 4.21

Nach Hydrolyse mit 1 n H₂SO₄ wurden Glucose und Rhamnose gefunden.

Hydrolyse von Leptin I mit methanol. HCl: 90 mg Leptin I wurden mit 8 ccm Methanol + 1 ccm 12n HCl 2 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Verdünnen mit Wasser haben wir mit Chloroform ausgeschüttelt, die CHCl₃-Lösung mit Wasser säurefrei gewaschen und getrocknet. Den Abdampfrückstand haben wir auf Al₂O₃ (WOELM, sauer) in mit Wasser gesättigtem CHCl₃ chromatographiert. Das *Esteraglykon* wird mit Chloroform + 0.5% Methanol eluiert, eventuell vorhandenes Leptinidin mit Chloroform + 1% Methanol. Die CHCl₃-Eluate haben wir mit 2n NaOH und Wasser gewaschen, um Cl-Ionen, aus dem sauren Al₂O₃ stammend, zu entfernen. Das Esteraglykon kristallisierte aus Methanol/Wasser in Nadelchen, die 1 Stde. bei 110°/0.001 Torr getrocknet wurden. Schmp. 192—196°.

$C_{29}H_{45}NO_3$ (455.6) Ber. C 76.44 H 9.95 1 COCH₃ 9.4
Gef. C 76.10 H 9.64 COCH₃ 8.92

Mit PtO₂ in Eisessig: Aufnahme von 1.02 Moll. H₂. Nach Schmp. und Mischprobe lag *x-Monoacetyl-leptinidin* vor. Die IR-Spektren stimmen überein: CO-Banden bei 5.75 μ (1739/cm), mit Schultern bei 5.85 und 8.0 μ (1709 und 1250/cm). Nach dem Erhitzen im KBr-Preßling auf 100° über Nacht bei 0.001 Torr waren die CO-Banden verschoben nach 5.85 μ , mit Schulter bei 5.75 und 7.85 μ (1739 und 1274/cm).

Diacetyl-leptinidin: Aus dem Esteraglykon durch Kochen mit Acetanhydrid + Pyridin. Reinigung durch Filtrieren der benzolischen Lösung durch Al₂O₃ (stand. nach BROCKMANN).

$C_{31}H_{47}NO_4$ (497.7) Ber. 2 COCH₃ 16.84 Gef. COCH₃ 16.83

Das IR-Spektrum stimmt überein mit dem von authent. *Diacetyl-leptinidin*. CO-Banden bei 5.75 und 8.0—8.1 μ (1739 und 1250-1235/cm), in KBr.

Verseifung von Leptin I mit Barytwasser: 300 mg Leptin I wurden mit 50 ccm gesätt. wäßriger Ba(OH)₂-Lösung 1 Stde. gekocht. Das *Leptinin I* begann alsbald, sich auszuscheiden. Nach dem Erkalten haben wir den Niederschlag abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen, in Butanol aufgenommen und die Butanolösung so oft mit Wasser gewaschen, bis sie Ba²⁺-frei war. Ausb. 290 mg. Umkristallisiert wurde aus Methanol/Wasser. Nach 2 stdg. Trocknen bei 110°/0.001 Torr lag der Schmp. > 230°.

$C_{45}H_{73}NO_{15}$ (868.0) Ber. C 62.27 H 8.48 Äquiv.-Gew. 868
Gef. C 62.28 H 8.50 Äquiv.-Gew. 879

$[\alpha]_D: -90^\circ$ (in Pyridin). Nach saurer Hydrolyse fand man Glucose und Rhamnose im molaren Verhältnis 1:2.

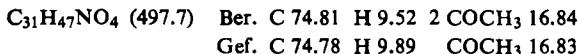
Leptinin I kann man bequemer aus einem rohen Butanolkonzentrat gewinnen, wenn man dieses in Wasser aufnimmt und mit konz. Ammoniak in der Wärme α -Solanin und α -Chaconin ausfällt, die wäßrig-ammoniakalische Lösung mit Butanol ausschüttelt, das Butanol abdampft und den Rückstand mit Baryt verseift. Der Niederschlag besteht aus Leptinin I, dazu Leptinin II und restlichem α -Solanin und α -Chaconin. Er wird auf Al₂O₃ (stand. nach BROCKMANN) in Butanol/Essigester (1:1) chromatographiert. So haben wir z. B. aus 4.5 kg Chacoenseblättern erhalten: 25 g Butanolkonzentrat, aus diesem durch NH₃-Fällung 4.3 g Solanin + Chaconin, nach Barytverseifung 3.6 g Leptinin I + Leptinin II und 5.8 g in Wasser löslich gebliebenes,

mit Butanol ausgeschütteltes Leptinin III und Leptinin IV. — Wenn die Blätter nach dem Ernten zu lange Zeit gestanden haben, so werden die Leptine durch Einwirkung von Blattfermenten zum großen Teil entacetyliert, und man findet die mit NH_3 fällbaren Leptinine I und II. Das macht sich z. B. dadurch bemerkbar, daß man beim Kochen mit Bariumhydroxydösung keinen Niederschlag mehr erhält. Die Leptinine I und II sind dann bei der ersten NH_3 -Behandlung mit Solanin und Chaconin zusammen ausgefällt worden. Sie sind aus solchen Gemischen chromatographisch nur schwer und zum kleinen Teil abzutrennen.

Hydrolyse von Leptinin I aus Leptin I mit methanol. HCl: Das Aglykon, *Leptinidin*, haben wir aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 239—240°. $[\alpha]_D: -24^\circ$ (in CHCl_3). IR-Spektrum in KBr : charakteristische Bande bei 12.0μ (833/cm).

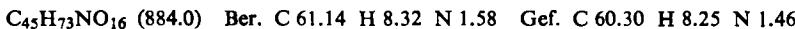


Mit PtO_2 in Eisessig wurde 1.0 Mol. H_2 aufgenommen. Das aus diesem Leptinidin-Präparat mit Acetanhydrid + Pyridin erhaltene *Diacetyl-leptinidin* war identisch mit der Acetylverbindung aus dem Esteraglykon und mit Diacetyl-leptinidin aus Leptinidin, dem Aglykon von *isoliertem Leptinin I*. Nadeln aus Methanol vom Schmp. 194—196°. $[\alpha]_D: -36^\circ$ (in Chloroform). Mit PtO_2 in Eisessig wurde 1.0 Mol. H_2 aufgenommen.



Will man die Chacoenseblätter auf Leptinidin aufarbeiten, so fällt man das Butanolkonzentrat mit NH_3 , um möglichst vollständig Solanin und Chaconin zu entfernen. Anschließend wird mit Barytwasser verseift. Die *wasserunlöslichen* „Barytglykoside“ werden mit methanol. HCl hydrolysiert. Das Gemisch aus Leptinidin und Solanidin haben wir auf Al_2O_3 (stand. nach BROCKMANN) in mit Wasser gesätt. Chloroform chromatographiert. Je weniger Solanidin anwesend ist, umso leichter kann man einheitliches Leptinidin abtrennen. Unsere besten Präparate schmolzen bei 247°. Man kann durch „Anacetylieren“ mit Eisessig aus einem Solanidin/Leptinidin-Gemisch das Leptinidin als 3-Monoacetyl-Verbindung chromatographisch verhältnismäßig gut abtrennen. Wir haben auch aus den *wasserlöslichen* „Barytglykosiden“ nach saurer Hydrolyse Leptinidin rein erhalten.

Leptinin II: Das Leptinin II haben wir aus einem krist. Gemisch von Solanin + Leptinin II durch wiederholtes, sorgfältiges Chromatographieren auf Al_2O_3 (WOELM sauer) in Butanol/Essigester (1:1 Vol.) teilweise rein abgetrennt. Aus einem Gemisch von Leptinin II mit Leptin III haben wir es nach Chromatographieren auf einer Säule mit Whatman-Cellulose, aschefrei, in Essigester/Pyridin/Wasser (5:2:1) abgetrennt und zur Kristallisation gebracht. Aus Methanol/Wasser Prismen, Schmp. $\sim 255^\circ$. $[\alpha]_D: -62^\circ$ (in Pyridin). $R_{\alpha S}^{\text{EPW}} 0.7-0.8$, es läuft langsamer als Leptin IV.



Nach Hydrolyse mit Methanol/12*n* HCl (9:1) kristallisierte das Aglykon. Es wurde acetyliert. Das erhaltene *Diacetyl-leptinidin*, Schmp. 188—192° (ber. 2 COCH_3 16.8, gef. 16.90), gab keine Depression mit Diacetyl-leptinidin aus Leptinidin I. Die IR-Spektren stimmten überein. Nach Hydrolyse mit 2*n* H_2SO_4 haben wir Galaktose, Glucose und Rhamnose gefunden.