

GIBBERELLINE-80†

ÜBER STRUKTURELLE EINFLÜSSE BEI DER GLUCOSYLIERUNG VON GIBBERELLINEN

G. SCHNEIDER

Institut für Biochemie der Pflanzen, Forschungszentrum für Molekulärbiologie und Medizin, Akademie der Wissenschaften der DDR, Halle (Saale), DDR

(Received in Germany 14 December 1979)

Abstract Different gibberellins possessing both a secondary hydroxy group at C-3 and a tertiary hydroxy group at C-13 have been glucosylated by Koenigs-Knorr reaction. The observed yields of glucosides show that an equatorial arrangement of the hydroxy group favours its glucosylation whereas a neighbouring double bond decreases the yield. The glucosylation rates of the 3- and 13-hydroxy group are compared and discussed.

EINLEITUNG

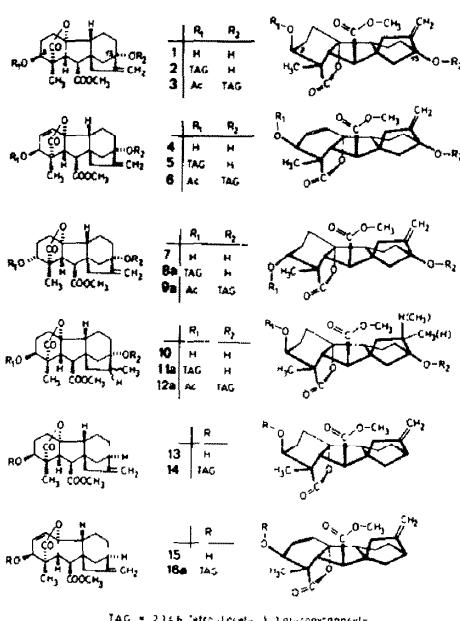
Bei der Auswahl von Reaktionsbedingungen für Glucosylierungsreaktionen spielen neben der gewünschten Stereoselektivität die zu erwartenden Ausbeuten eine entscheidende Rolle. Unter Koenigs-Knorr-Bedingungen ist zwar bei Verwendung von 2-O-Acylhalogenosiden und heterogener Katalyse die Stereoselektivität hinreichend gesichert,^{2,3} dafür aber eine deutliche Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Alkoholkomponente nachgewiesen.^{2,4} So nimmt z. B. im System 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid/ Ag_2CO_3 /Ether die Reaktionsgeschwindigkeit vom Methanol über Isopropanol zum Cholesterin drastisch ab.⁴ Mit dieser Abhängigkeit, für die die räumliche Anordnung der jeweiligen Hydroxygruppe verantwortlich sein soll, wird die unbefriedigende Glucosylierbarkeit komplizierter Alkohole bzw. das völlige Versagen der Koenigs-Knorr-Reaktion bei tertiären Alkoholen begründet.^{5,6}

Im Gegensatz dazu konnten wir bei Gibberellinen zeigen, dass die tertiäre 13-Hydroxygruppe ebenso wie die sekundäre 3-Hydroxygruppe glucosyliert werden kann.^{7,8} Ähnliche Befunde wurden kürzlich auch in der Cardenolid-Reihe erzielt.⁹

Nachfolgend werden vergleichende Untersuchungen zur 3-O- und 13-O-Glucosylierung von Gibberellinen durchgeführt. Durch Modifizierung der eingesetzten Alkoholkomponente hinsichtlich ihrer sterischen und regiospezifischen Eigenschaften sollen die jeweiligen Einflussfaktoren bei der Glucosylierung deutlich gemacht werden.

ERGEBNISSE

Die für die Glucosylierungsversuche ausgewählte Gruppe von Gibberellinen mit freien Hydroxygruppen an C-3 und C-13 umfasste: (jeweils als Methylester) GA_1 (1, 3 β -axial-OH, 13 α -äquatorial-OH, $\Delta^{16(17)}$), GA_3 (4, 3 β -quasiäquatorial-OH, $\Delta^{1(2)}$, 13 α -äqua-



torial-OH, $\Delta^{16(17)}$), 3-epi- GA_1 (7, 3 α -äquatorial-OH, 13 α -äquatorial-OH, $\Delta^{16(17)}$) und 16 β ,17-Dihydro- GA_1 (10, 3 β -axial-OH, 13 α -äquatorial-OH). Zusätzlich wurden GA_4 (13, 3 β -axial-OH) und GA_7 (15, 3 β -quasiäquatorial, $\Delta^{1(2)}$) als monohydroxyliertes Vergleichspaar zu 1 und 4 einbezogen.

Die Glucosylierungen wurden mit Ag_2CO_3 /Celite in Dichlorethan bei Siedehitze ausgeführt.^{10,11} Das Reaktionsgemisch wurde mit Natriummethylat entacetyliert und das isolierte Isomerengemisch von 3-O- und 13-O-Glucosid der Kurzzeitacetylierung unterworfen. Entsprechend den dabei gewählten Parametern¹² wird die freie 13-Hydroxygruppe der 3-O-Glucoside nicht acetyliert. Das resultierende Gemisch aus 3-O-Acetyl-gibberellin-13-O-tetraacetylglucosid und Gibberellin-3-O-tetraacetylglucosid konnte chromatographisch getrennt werden. Die daraus errechneten Ausbeuten für die 3- bzw. 13-Glucosylierung sind in Tabelle 1 dargestellt. Die

†Gibberelline 79. Mitt. s. Lit.¹

Identität der Acetate **2**, **3**, **5**, **6** und **14** wurde spektroskopisch bestätigt.⁸

Aus dem kristallinen Tetraacetat **8a** (Schmp: 176–179°C, $M^- - 1 = 691$ m/e), dessen IR-Spektrum bei 3607 cm^{-1} die Absorptionsbande für die freie 13-Hydroxygruppe zeigt, wurde über den Methylester **8c** ($M^+ = 524$ m/e, $\delta = 4.80$ und 5.20 (2m, 17-H_2) ppm) das 3-epi-GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (**8d**) dargestellt (Schmp. 291–293°C). Das NMR-Spektrum von **8d** belegt mit dem $1'\text{-H}$ -Signal bei $\delta = 4.49$ (d, $J = 7$ Hz) ppm und den nicht zu tieferem Feld verschobenen 17-H_2 -Multipletts bei $\delta = 4.98$ und 5.24 ppm die 3-O- β -D-Glucopyranosidstruktur. Die Acetylierung von **8d** lieferte das Tetraacetyl-derivat **8b** ($[\alpha]_D^{28} = 5.1$), das im IR-Spektrum Banden bei 1710 und 3608 cm^{-1} für die freie Carboxy- und 13-Hydroxygruppe aufweist.

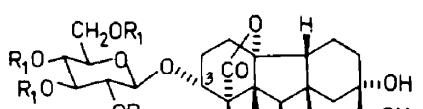
Das Pentaacetat **9a** ($M^+ = 734$ m/e, im IR-Spektrum keine OH-Bande, $\delta = 4.57$ (d, $J = 7.5$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm) lieferte nach Entacetylierung den Methylester **9c** ($M^- - 1 = 523$ m/e), für den die charakteristische Tieffeldverschiebung der 17-Protonen ($\delta = 4.94$ und 5.32 ppm) beobachtet werden kann. Die Entmethylierung von **9c** führte zum 3-epi-GA₁-13-O- β -D-glucosid (**9d**) (Schmp.: 177–180°C, $\delta = 4.99$ und 5.35 (2m, 17-H_2) ppm), dessen Kurzzeitacetylierung das Pentaacetat **9b** ($M^- - 1 = 719$ m/e) lieferte. Im NMR-Spektrum finden sich erwartungsgemäß 5 Acetyl-Singulets ($\delta = 2.03$; 2.05 ; 2.07 ; 2.09 ; 2.11 ppm).

In der $16\zeta,17\text{-Dihydro-GA}_1$ -Reihe wurde aus dem isolierten Tetraacetat **11a** ($M^+ = 694$ m/e, $\delta = 3.81$ (m, 3-H); 4.65 (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm) über den Methylester **11c** ($M^- - 1 = 525$ m/e, $\delta = 4.51$ (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm) das $16\zeta,17\text{-Dihydro-GA}_1$ -3-O- β -D-glucopyranosid (**11d**) (Schmp.: 177–180°C, $\delta = 4.53$ (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm) hergestellt. Acetylierung von **11d** lieferte das Tetraacetat **11b** (M^+

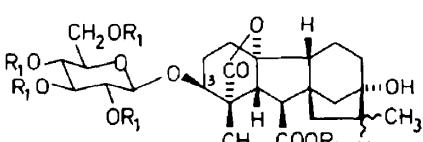
= 680 m/e, IR-Spektrum: 1710 (Säure-CO), 3605 (tert. OH) cm^{-1}). Im $360\text{ MHz-NMR-Spektrum}$ findet sich das 3-H -Multiplett bei $\delta = 3.643$ ppm. Die Aufspaltung der Signale röhrt vom eingesetzten 16ζ - und 16β -Epimerengemisch her.

Die Pentaacetat-Fraktion des 13-Glucosids **12a** ($M^+ = 736$ m/e, keine OH-Bande im IR; $\delta = 4.66$ (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$), 4.96 (m, 3-H) ppm) ergab nach Entacetylierung **12c** ($M^- - 1 = 525$ m/e, $\delta = 3.76$ (m, 3-H); $4.50/4.51$ (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm). Nachfolgende Entmethylierung lieferte $16\zeta,17\text{-Dihydro-GA}_1$ -3-O- β -D-glucopyranosid (**12d**) ($\delta = 3.70$ (m, 3-H), 4.52 (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm), zu dessen weiterer Charakterisierung das Pentaacetat **12b** ($M^- - 1 = 721$ m/e) hergestellt wurde. Das IR-Spektrum belegt mit einer Bande bei 1710 cm^{-1} die freie Carboxygruppe. Im NMR-Spektrum beweist die Verschiebung des 3-H nach tieferem Feld ($\delta = 4.978$ m) die 3-Acetoxygruppe.

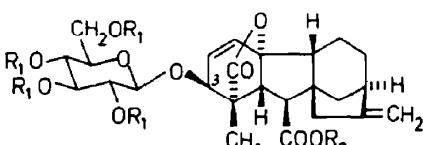
Im Falle von GA₁-methylester (**15**) fiel bei der Umsetzung nach der allgemeinen Vorschrift das Tetraacetat **16a** an ($M^+ = 674$ m/e, $\delta = 4.06$ (d, $J = 4$ Hz, 3-H), 4.63 (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$) ppm) an, aus dem über den Methylester **16c** ($M^+ = 506$ m/e, $\delta = 4.54$ (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$), 4.89 und 4.98 (2m, 17-H_2) ppm) das kristalline GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (**16d**) (Schmp.: 164–167°C) entstand. Im NMR-Spektrum findet sich das 3-H -Signal bei $\delta = 4.12$ (d, $J = 3.5$ Hz) ppm sowie das β -glucosidische $1'\text{-H}$ bei $\delta = 4.56$ (d, $J = 7$ Hz) ppm und die 17-H_2 -Multipletts bei $\delta = 4.89$ und 5.00 ppm. Acetylierung von **16d** führte zum Tetraacetat **16b** ($M^+ = 660$ m/e). Im IR-Spektrum beweist die Absorption bei 1708 cm^{-1} die freie Carboxygruppe. Das NMR-Spektrum zeigt charakteristische Signale bei $\delta = 4.05$ (d, $J = 4$ Hz, 3-H), 4.65 (d, $J = 7$ Hz, $1'\text{-H}$), 4.87 und 5.00 (2m, 17-H_2) ppm.



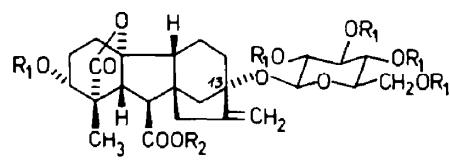
8a,b,c,d



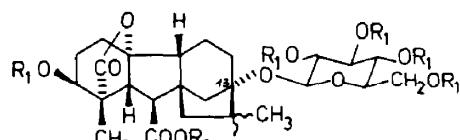
11a,b,c,d



16a,b,c,d



9a,b,c,d



12a,b,c,d

	R_1	R_2
a	Ac	CH_3
b	Ac	H
c	H	CH_3
d	H	H

Tabelle 1 Ausbeuten bei der Glucosylierung von Gibberellinen mit Hydroxygruppen an C-3 und C-13 (1 mmol Agluccon eingesetzt)

Agluccon	Agluccon zurückgewonnen	Tetraacetat ⁺ Formel (mg) (%)	Pentaacetat ⁺⁺ Formel (mg) (%)
GA ₁ -me (1)	65 %	2 (56) 8 %	3 (65) 9 %
GA ₃ -me (4)	56 %	2 (33) 5 %	6 (49) 7 %
3-epi-GA ₁ -me (7)	68 %	8a (120) 17 %	9a (82) 11 %
16 β ,17-Dihydro-GA ₁ -me (10)	78 %	11a (26) 4 %	12a (124) 17 %
GA ₄ -me (12)	66 %	14 (70) 10 %	- - -
GA ₇ -me (15)	72 %	16a (45) 7 %	- - -

⁺) 3-O- β -D-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-Gibberellin-methylester

⁺⁺) 3-O-Acetyl-13-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-gibberellinmethylester

DISKUSSION

Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, dass die Glucosylierungsraten der tertiären 13-Hydroxygruppe die der sekundären 3 β -Hydroxygruppen übertreffen (vgl. 2, 3, 5, 6). Damit werden Ergebnisse bestätigt, die mit partiell geschützten Gibberellinen erzielt wurden.⁸ Dieses im Vergleich zur Acetylierung¹² unerwartete Reaktionsverhalten der 3- und 13-Hydroxygruppen bei Glucosylierung kann nur durch reaktionsspezifische Einflüsse erklärt werden, die die Glucosylierung der 13-Hydroxygruppe stark begünstigen und die der 3 β -Hydroxygruppe hemmen.

Wie ein Vergleich der 3-O-Glucosylierungsraten untereinander zeigt, ist die äquatoriale 3 α -Konfiguration (7) gegenüber der axialen 3 β -(1, 10, 13) oder quasäquatorialen (4, 15) 3 β -Konfiguration deutlich bevorzugt und liefert 2-4mal höhere Ausbeuten. Auch die 13-Hydroxygruppe liegt in der begünstigten äquatorialen Konfiguration vor. Das könnte zur Kompensation der infolge des tertiären Charakters bestehenden sterischen Hinderung führen. Hinzu kommt, dass durch den an der Position 13 angreifenden Ring D eine zusätzliche Abschwächung dieser Hinderung eintritt.

Ein weiterer Einfluss wird beim Vergleich von 3 und 12a deutlich: durch Überführung der 16-Methylenegruppe in eine 16-Methylgruppe erhöht sich die Glucosidausbeute auf das Doppelte. Eine gleichgerichtete Tendenz kann auch für die 3-Hydroxygruppe und die benachbarte 1(2)-Doppelbindung festgestellt werden, wenn man die Ausbeuten von 5 und 2 b/w. 16a und 14 vergleicht. Für diesen Effekt könnte ein Donator-Akzeptor-Komplex zwischen Olefin und Katalysator verantwortlich sein, der die Glucosylierung der benachbarten Hydroxygruppe entgegen der ursprünglichen Annahme⁸ hemmt. Derartige koordinierende Bindungen zum Katalysator könnten auch für andere nukleophile Gruppen, wie das Lacton- und Estercarbonyl, nicht ausgeschlossen werden und sind in der Literatur bereits diskutiert worden.² Die konzentriertere Anwesenheit

solcher Gruppierungen in der Nähe der 3-Hydroxygruppe könnte zu konkurrierenden Wechselwirkungen führen und damit die starke Behinderung der 3-O-Glucosylierung verursachen.

Den 3-O-Glucosiden von Gibberellinen kommt nicht nur hinsichtlich ihrer Synthese, sondern auch auf Grund ihres Hydrolyseverhaltens gegenüber Enzymen, z. B. Cellulase^{14,15} eine Sonderstellung zu. Ihre Hydrolysegeschwindigkeiten liegen weit unter denen der 13-Glucoside. Zwar ist auch hier eine deutliche Abhängigkeit von der Stereochemie sichtbar (3 β -axial < 3 β -quasäquatorial < 3 α -äquatorial), jedoch müssen darüber hinaus weitere Einflussfaktoren postuliert werden, um den Unterschied zu den 13-O-Glucosiden zu erklären.

Die vorliegenden Ergebnisse machen deutlich, dass die Schwierigkeiten bei der Glucosylierung "komplizierter" Alkohole, wie z. B. Gibberelline, unter Koenigs-Knorr-Bedingungen (heterogene Katalyse) nicht allein durch sterische Einflüsse (z. B. axial/äquatorial) erklärt werden können, sondern dass dabei konkurrierende Wechselwirkungen aktiver Gruppen der Alkoholkomponente mit dem Katalysator berücksichtigt werden müssen.

EXPERIMENTELLES

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach Boetius bestimmt und sind korrigiert. Die Drehwerte wurden in ethanolischer Lösung gemessen. Die Aufnahme der NMR-Spektren erfolgte mit einem 100 MHz-Variän-Gerät bzw. einem 360 MHz-Bruker-Gerät mit TMS als internem Standard. Die Anionen- (M^-) und Kationen- (M^+) Massenspektren wurden mit dem Massenpektrographen nach M. v. Ardenne aufgenommen.

Für säulenchromatographische Trennungen benutzten wir Kieselgel Woelm zur Verteilungschromatographie (z. V.) bzw. Kieselgel Woelm zur Adsorptionschromatographie (z. A.). Dünnschichtchromatographische Trennungen führten wir auf Kieselgel G nach Stahl durch.

Allgemeine Arbeitsvorschrift für die Glucosylierung und Trennung der Gibberellin-3-O-und-13-O-glucoside als Acetate

1. *Glucosylierung*. 1 mmol Gibberellinmethylester, der vorher zur Entfernung von Kristall-Flüssigkeit 6 h bei 100 °C i. Vak. (P_2O_5 ; Parafin) getrocknet worden war, wurde in 12 ml Dichlorethan gelöst und mit 3.9 g Ag_2CO_3 , Celite¹⁰ und insgesamt 1.65 g 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (4.0 mmol) bei Siedehitze unter Ruhren umgesetzt. Abdestilliertes Dichlorethan wird dabei ständig durch frisches ersetzt. Nach 30 min wurde die Lösung filtriert und zur Trockne eingeengt.¹⁰

2. *Entacetylierung* Das getrocknete Reaktionsgemisch wurde in 3 ml abs. Methanol gelöst und mit 16 ml 0.5 N Natriummethylat 30 min entacetyliert. Nach Zugabe von 0.5 ml Essigsäure wurde die Reaktionsmischung an Celite adsorbiert und über 50 g Kieselgel Woelm z. V mit Chloroform:Methanol (100:0, 97.5:2.5, 95:5; usw.) chromatographiert. Mit 7.5–10% Methanol wurde nichtumgesetzter Gibberellinmethylester eluiert, mit 15–20% Methanol erhielt man ein Gemisch der 3-O- und 13-O-Glucosyl-gibberellinmethylester.¹¹

3. *Acetylierung des Glucosidgemisches und Trennung der Acetate*. Das Gemisch der 3-O- und 13-O-Glucosyl-gibberellinmethylester wurde mit je 2 ml Pyridin-Acetanhydrid 1 h bzw. 3.5 h¹² bei Raumtemp. acetyliert. Nach Eingießen in 50 ml Eiswasser wurde bei pH 2.5 4 mal mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten Extrakte gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet, i. Vak. eingeengt und an 40 g Kieselgel Woelm z. A. mit Hexan:Chloroform:Ethylacetat (50:50:0, 40:60:0; 30:70:0; 20:80:0; 10:90:0; 0:100:0; 0:95:5; 0:90:10; 0:80:20; 0:70:30; v:v:v) chromatographiert. Mit 80–90% Chloroform in Hexan wurde der 3-O-Acetyl-13-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosylgibberellinmethylester ("Pentaacetat") als Rohprodukt eluiert. Die Fraktionen mit 10–20% Ethylacetat in Chloroform enthielten sauberen 3-O- β -D-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl)glucopyranosyl-gibberellinmethylester ("Tetra-acetat"). Rechromatographie der Pentaacetat-Fraktion an 30 g Kieselgel Woelm z. A. mit Hexan:Chloroform (50:50; 40:60; 35:65; 30:70; 25:75; 20:80; v:v) ergab mit 70–75% Chloroform in Hexan reines Pentaacetat. Die Acetate **8a**, **9a**, **11a**, **12a** und **16a** sind nachfolgend ausführlich beschrieben. Für die Acetate **2**, **3**, **5**, **6** und **14** wurde die Identität mit authentischem Material bestätigt.⁸

3-epi-GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (8d)

Glucosylierung von 7, Entacetylierung und Reacetylierung ergab 3-O- β -D-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-3-epi-GA₁-methylester (**8a**) ($M^+ - 1 = 691$ m/e; Schmp. 176–179 C (Ethylacetat/Hexan); $[\alpha]_D^{25} = 2.2$ (0.60); IR ($CHCl_3$): 1740, 1760, 1778 (Ester-, Acetyl-, γ -Lacton-CO), 3607 (*tert.* OH) cm⁻¹; NMR ($CDCl_3$, TMS): 1.99, 2.02, 2.03, 2.05 (4s, O-CO-CH₃), 4.60 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.94 und 5.23 (2m, 17-H₂) ppm). Die Entacetylierung von **8a** mit 0.5 N Natriummethylat und nachfolgende Säulenchromatographie an Kieselgel mit 20% Methanol in Chloroform lieferte in 100%iger Ausbeute 195 mg 3-O- β -D-Glucopyranosyl-3-epi-GA₁-methylester (**8c**) ($M^+ = 524$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 10.7$ (0.78); IR (KBr): 1732 (Ester-CO), 1768 (γ -Lacton-CO), 3500 br. (OH) cm⁻¹; NMR (Aceton-D₆, TMS): 4.40 (d, $J = 7.5$ Hz, 1'-H), 4.80 und 5.20 (2m, 17-H₂) ppm). Die Entmethylierung von 140 mg **8c** mit Lithium-n-propanthiolat lieferte nach anschließender Chromatographie an Kieselgel und DEAE-Sephadex A 25 100 mg (74%) 3-epi-GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (**8d**) (Nadeln (Methanol); Schmp. 291–293 C; $[\alpha]_D^{25} = 5.0$ (0.58), IR (KBr): 1728 (Säure-CO), 1766 (γ -Lacton-CO), 3450 br. (OH) cm⁻¹, NMR (Aceton-D₆, HMDS extern): 4.49 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.98 und 5.24 (2m, 17-H₂) ppm). 60 mg **8d** wurden 2 h bei Raumtemp. mit Acetanhydrid/Pyridin acetyliert. Nach Chromatographie erhielt man 60 mg (75%) 3-epi-GA₁-3-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-

acetyl)-glucopyranosid (**8b**) ($M^+ - 2 = 676$ m/e; $[\alpha]_D^{25} = 5.1$ (0.62); IR ($CHCl_3$): 1710 (Säure-CO), 1735 br. (Acetyl-CO), 1778 (γ -Lacton-CO), 3608 (*tert.* OH) cm⁻¹; NMR ($CDCl_3$, TMS): 3.66 (m, 3-H), 4.53 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.90 und 5.16 (2m, 17-H₂) ppm)

3-epi-GA₁-13-O- β -D-glucopyranosid (9d)

Aus dem 3-O-Acetyl-13-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-3-epi-GA₁-methylester (**9a**) ($M^+ = 734$ m/e; $[\alpha]_D^{25} = 46.5$ (0.34); IR ($CHCl_3$): 1740–1750 br. (Ester- und Acetyl-CO), 1763 (γ -Lacton-CO) cm⁻¹ (kein OH); NMR ($CDCl_3$, TMS): 1.96, 1.98, 2.00, 2.02, 2.05 (5s, O-CO-CH₃), 4.57 (d, $J = 7.5$ Hz, 1'-H), 4.96 und 5.20 (2m, 17-H₂) ppm wurde nach Entacetylierung und Chromatographie analog **8c** in 92% Ausbeute 13-O- β -D-Glucopyranosyl-3-epi-GA₁-methylester (**9c**) ($M^+ - 1 = 523$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 26.9$ (0.52); IR (KBr): 1732 (Ester-CO), 1768 (γ -Lacton-CO), 3450 br. (OH) cm⁻¹; NMR (Aceton-D₆, TMS): 3.63 (m, 3-H), 4.50 (d, $J = 7.5$ Hz, 1'-H), 4.94 und 5.32 (2m, 17-H₂) ppm) hergestellt. Entmethylierung von **9c** (90 mg) und Aufarbeitung analog **8c** lieferte 47 mg (55%) kristallines 3-epi-GA₁-13-O- β -D-glucopyranosid (**9d**) (Schmp.: 177–180 C; $[\alpha]_D^{25} + 49.4$ (0.45); IR (KBr): 1728 (Säure-CO), 1760 (γ -Lacton-CO), 3500 br. (OH) cm⁻¹; NMR (Aceton-D₆ + 10% D₂O, TMS): 3.68 (m, 3-H), 4.53 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.99 und 5.35 (2m, 17-H₂) ppm). Durch Acetylierung von 40 mg **9d** (3 h, Raumtemp.) wurden 32 mg (57%) 3-O-Acetyl-3-epi-GA₁-13-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (**9b**) gewonnen ($M^+ - 1 = 719$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 47.4$ (0.41); IR ($CHCl_3$): 1710 (Säure-CO), 1745 br. (Acetyl-CO), 1780 (γ -Lacton-CO) cm⁻¹; NMR ($CDCl_3$, TMS): 2.03, 2.05, 2.07, 2.09, 2.11 (5s, O-CO-CH₃), 4.63 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.93 und 5.26 (2m, 17-H₂) ppm).

16 ξ ,17-Dihydro-GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (11d)

Die Entacetylierung von 120 mg 3-O- β -D-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-16 ξ ,17-dihydro-GA₁-methylester (**11a**) ($M^+ = 694$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 43.0$ (0.60); IR ($CHCl_3$): 1740 (Ester-CO), 1755 br. (Acetyl-CO), 1770 sh. (γ -Lacton), 3609 (*tert.* OH) cm⁻¹; NMR ($CDCl_3$, TMS): 0.91 (d, $J = 7$ Hz, 17-H₃), 3.81 (m, 3-H), 4.65 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm) ergab nach Aufarbeitung (vgl. **8c**) 74 mg (84%) 3-O- β -D-Glucopyranosyl-16 ξ ,17-dihydro-GA₁-methylester (**11c**), ($M^+ - 1 = 525$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 47.0$ (0.66); IR (KBr): 1735 (Ester-CO), 1765 (γ -Lacton-CO), 3450 br. (OH) cm⁻¹; NMR (Aceton-D₆, TMS): 0.92 (d, $J = 7$ Hz, 17-H₃), 4.51 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm). Durch Entmethylierung von 60 mg **11c** analog **8c** entstanden 40 mg (70%) 16 ξ ,17-Dihydro-GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (**11d**) (Kristalle aus Methanol; Schmp.: 177–180 C; $[\alpha]_D^{25} + 38.2$ (0.47); IR (KBr): 1712 (Säure-CO), 1730–1750 (γ -Lacton-CO), 3400 br. (OH) cm⁻¹, NMR (Aceton-D₆ + 10% D₂O, TMS): 0.89/0.93 (d, $J = 7$ Hz, 16 ξ - und 16 β -CH₃), 4.53 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm). Die Acetylierung von 10 mg **11d** ergab in 76% Ausbeute (10 mg) 16 ξ ,17-Dihydro-GA₁-3-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (**11b**) ($M^+ = 680$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 26.8$ (0.39), IR ($CHCl_3$): 1710 (Säure-CO), 1750 br. (Acetyl-CO), 1765 sh. (γ -Lacton-CO), 3605 (*tert.* OH) cm⁻¹; NMR ($CDCl_3$, TMS, 360 MHz): 0.96/0.99 (d, $J = 7$ Hz, 16 ξ - und 16 β -CH₃), 3.643 (m, 3-H), 4.566/4.572 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm).

16 ξ ,17-Dihydro-GA₁-13-O- β -D-glucopyranosid (12d)

Die Entacetylierung von 140 mg 3-O-Acetyl-13-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-16 ξ ,17-dihydro-GA₁-methylester (**12a**) ($M^+ = 736$ m/e; $[\alpha]_D^{25} + 62.2$ (0.83); IR ($CHCl_3$): 1738–1760 (Ester- und Acetyl-CO), 1770 sh. (γ -Lacton-CO) cm⁻¹ (kein OH); NMR ($CDCl_3$, TMS): 0.92 (d, $J = 7$ Hz, 16 ξ -CH₃), 4.66 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.96 (m, 3-H) ppm) und Aufarbeitung analog **8c** lieferte 78 mg (78%) 13-O- β -D-Glucopyranosyl-

$16\zeta,17$ -dihydro-GA₁-methylester (**12c**) ($M^- - 1 = 525$ m/e; $[\alpha]_{D}^{20} + 47.1$ (0.71); IR (KBr): 1740 (Ester-CO), 1768 (γ -Lacton-CO), 3450 br. (OH) cm^{-1} ; NMR (Aceton-D₆, TMS): 0.99 (d, $J = 7$ Hz, $16\zeta\text{-CH}_3$), 3.76 (m, 3-H), 4.50/4.51 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm). Anschliessende Entmethylierung von **12c** (63 mg) ergab 47 mg (78%) $16\zeta,17$ -Dihydro-GA₁-3-O- β -D-glucopyranosid (**12d**) (Schmp.: 175–177 C, $[\alpha]_{D}^{25} + 30.2$; IR (KBr): 1710 (Säure-CO), 1730–1755 (Acetyl-CO), 1765 sh. (γ -Lacton-CO) cm^{-1} ; NMR (Aceton-D₆ + 10% D₂O, TMS): 0.97 (d, $J = 7$ Hz, $16\zeta\text{-CH}_3$), 3.70 (m, 3-H), 4.52 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm). Die Acetylierung von 45 mg **12d** 3 h bei Raumtemp. ergab 51 mg (81%) 3-O-Acetyl- $16\zeta,17$ -dihydro-GA₁-3-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (**12b**) ($M^- - 1 = 721$ m/e; $[\alpha]_{D}^{20} + 46.3$ (0.46); IR (CHCl₃): 1710 (Säure-CO), 1740–1760 (Acetyl-CO), 1775 sh. (γ -Lacton-CO) cm^{-1} ; NMR (CDCl₃, TMS, 360 MHz): 0.926/0.935 (d, $J = 7$ Hz, 16ζ - and 16 $\beta\text{-CH}_3$), 4.581, 4.606 (d, $J = 7.5$ Hz, 1'-H), 4.978 (m, 3-H) ppm).

GA-3-O- β -D-glucopyranosid (**16d**)

50 mg 3-O- β -D-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl)-glucopyranosyl-GA₁-methylester (**16a**) ($M^- = 674$ m/e; $[\alpha]_{D}^{20} + 46.8$ (0.67); IR (CHCl₃): 1735 (Ester-CO), 1750 br. (Acetyl-CO), 1770 sh. (γ -Lacton-CO) cm^{-1} (kein OH); NMR (CDCl₃, TMS): 4.06 (d, $J = 4$ Hz, 3-H), 4.63 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H) ppm) lieferten nach Entacetylierung 33 mg (88%) 3-O- β -D-Glucopyranosyl-GA₁-methylester (**16c**) ($M^- = 506$ m/e; $[\alpha]_{D}^{20} + 45.8$ (0.43); IR (KBr): 1728 (Ester-CO), 1775 (γ -Lacton-CO), 3450 br. (OH) cm^{-1} ; NMR (Aceton-D₆, TMS): 4.12 (d, $J = 3.5$ Hz, 3-H), 4.54 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.89 und 4.98 (2 m, 17-H₂) ppm. Nachfolgende Entmethylierung von **16c** ergab in 64% Ausbeute (22 mg) kristallines GA-3-O- β -D-glucopyranosid (**16d**) (Schmp. 164–167 C; $[\alpha]_{D}^{25} + 64.5$ (0.32); IR (KBr): 1710 (Säure-CO), 1755 (γ -Lacton-CO), 3450 br. (OH) cm^{-1} ; NMR (Aceton-D₆, TMS): 4.12 (d, $J = 3.5$ Hz, 3-H), 4.56 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.89 und 5.00 (2 m, 17-H₂) ppm). Acetylierung von 20 mg **16d** (2.5 h, Raumtemp.) lieferte 22 mg (73%) GA-3-O- β -D-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl)-glucopyranosid (**16b**) ($M^- = 660$ m/e; $[\alpha]_{D}^{20} - 53.2$ (0.40); IR (CHCl₃): 1708 (Säure-CO), 1750 br. (Acetyl-CO), 1775 sh. (γ -Lacton-CO) cm^{-1} ; NMR (CDCl₃, TMS): 4.05 (d, $J = 4$ Hz, 3-H), 4.65 (d, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4.87 und 5.00 (2 m, 17-H₂) ppm).

Danksagungen: Den Herren Doz. Dr. A. Zschunke, Sektion Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg und Dr. M. Budesinsky, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry CAS, Prague, danken wir für die Anfertigung der 100 MHz- bzw. 360 MHz-NMR-Spektren. Frau R. Ventzke sind wir für sorgfältige technische Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

LITERATUR

- K. K. Al-Ekabi, G. A. W. Derwish, G. Adam und K. Schreiber, *Tetrahedron Letters*, im Druck.
- G. Wulff und G. Röhle, *Angew. Chem.* **86**, 173 (1974).
- J. E. Wallace und L. R. Schroeder, *J. Chem. Soc. (Perkin II)*, 795 (1977).
- G. Wulff und A. Röhle, *Chem. Ber.* **105**, 1022 (1972).
- L. Hough und A. C. Richardson, In "Rodd's Chemistry of Carbon Compounds", 2. Ed. Bd. I, 327. Elsevier, Amsterdam (1967).
- W. W. Zorbach und K. V. Bhat, *Adv. Carbohydrate Chem.* **21**, 273 (1966).
- G. Schneider, G. Sembdner und K. Schreiber, *Z. Chem.* **14**, 474 (1974).
- G. Schneider, G. Sembdner und K. Schreiber, *Tetrahedron* **33**, 1391 (1977).
- N. Z. Palyanz und N. K. Abubakirov, *Chim. Prir. Sojed.* **1**, 72 (1978).
- J. Hartenstein und G. Satzinger, *Liebigs Ann. Chem.* 1763 (1974).
- G. Schneider, 11th IUPAC Intern. Symp. on Chemistry of Natural Products, Varna, 1978, Symposium Papers Vol. I, 259 (1978).
- G. Schneider und H. W. Liebisch, *Tetrahedron* (in Vorbereitung).
- G. Schneider und K. Schreiber, *Z. Chem.* **13**, 219 (1973).
- W. Schliemann und G. Schneider, *Biochem. Physiol. Pflanzen* **174**, 738 (1979).
- G. Schneider und W. Schliemann, *Ibid.* **174**, 746 (1979).
- B. E. Cross, J. F. Grove und A. Morrison, *J. Chem. Soc.* 2498 (1961).
- B. E. Cross, *Ibid.* 3022 (1960); T. P. C. Mulholland, *Ibid.* 2606 (1963).