

RICHARD KUHN und IRMENTRAUT LÖW

Die Stellung des zweiten Hydroxyls im Leptinidin

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg
(Eingegangen am 16. Januar 1962)

Durch Abbau zu 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin wird für die zweite OH-Gruppe des Leptinidins die Stellung 23 erwiesen.

Das Aglykon der Leptine ist als 3-Hydroxy-x-acetoxy-solaniden erkannt worden¹⁾. Die Stellung der Acetoxygruppe konnten wir nunmehr ermitteln.

Beim Kochen mit $2n$ HCl erhält man aus Leptinen (x-Acetoxy-solanidin-glykosiden) bzw. aus Leptininen (x-Hydroxy-solanidin-glykosiden) vor allem x-Acetoxy- bzw. x-Hydroxy-solanthren. Noch ausgeprägter als bei der Hydrolyse von Glykosiden des Solanidins, z. B. von α -Solanin, bleibt also unter diesen Bedingungen die OH-Gruppe in 3-Stellung nicht erhalten, sondern sie wird abgespalten, wobei eine Doppelbindung in 3.4-Stellung auftritt.

Zur Gewinnung des x-Hydroxy-solanthrens (Schmp. 214–215°, $[\alpha]_D^{25}$: -81° , in CHCl_3) braucht man nicht von kristallisierten Glykosiden auszugehen; man kann es schneller und in besserer Ausbeute unmittelbar aus Blattextrakten von *Solanum chacoense* gewinnen. Das UV-Spektrum des x-Hydroxy-solanthrens stimmt mit dem des Solanthrens überein (konjugierte Doppelbindungen in 3.4- und 5.6-Stellung). Durch katalytische Hydrierung (Aufnahme von 2.0 Mol H_2) erhielten wir ein Gemisch der 5 α - und 5 β -Form von x-Hydroxy-solanidan, das unscharf gegen 170° schmilzt. Die reine 5 α -Form des x-Hydroxy-solanidans (Schmp. 184–185°) konnten wir aus Dihydroleptinidin durch Oxydation mit CrO_3 zum 3-Oxo-x-hydroxy-solanidan und anschließende WOLFF-KISHNER-Reduktion gewinnen¹⁾.

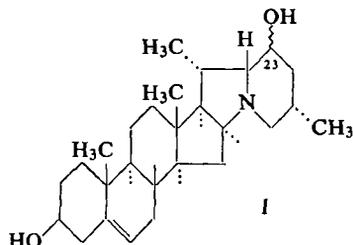
Das x-Hydroxy-solanidan (Gemisch von 5 α - und 5 β -Form) ließ sich mit CrO_3 zum x-Oxo-solanidan oxydieren, das ein krist. Oxim gab. Die Hydrierung des x-Oxo-solanidans mit LiAlH_4 ergab neben x-Hydroxy-solanidan ein höher schmelzendes und im Dünnschichtchromatogramm langsamer wanderndes Epimeres (Gemisch von 5 α - und 5 β -Form).

Beim Dehydrieren mit Selen konnten wir aus x-Hydroxy-solanthren in einer Ausbeute von ca. 12% d. Th. ein kristallisierendes Methyl-äthyl-hydroxy-pyridin erhalten, das im UV-Spektrum, Gaschromatogramm, IR-Spektrum und im Dünnschichtchromatogramm mit 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin aus Jervin²⁾ übereinstimmte und mit diesem keine Schmp.-Depression gab. Das 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin aus *S. chacoense* lieferte ein krist. Pikrat vom Schmp. 180–182° mit stimmenden Elementaranalysen. Der Misch-Schmelzpunkt mit dem Pikrat des 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridins aus Jervin (Schmp. 180–182°) war ohne Erniedrigung.

¹⁾ R. KUHN und I. LÖW, Chem. Ber. **94**, 1096 [1961].

²⁾ W. A. JACOBS, L. C. CRAIG und G. I. LAVIN, J. biol. Chemistry **141**, 51 [1941]; W. A. JACOBS und Y. SATO, ebenda **181**, 55 [1949].

Das Ergebnis des Selenabbaus zeigt, daß die zweite Hydroxylgruppe des Leptinidins in 23-Stellung steht. Leptinidin ist somit $3\beta.23\alpha$ - oder $3\beta.23\beta$ -Dihydroxy- Δ^5 -solaniden (I).



Steroidalkaloide, die in 23-Stellung ein Hydroxyl bzw. eine Sauerstoff-Funktion tragen, sind bereits bekannt: Jervin³⁾, Veratramin⁴⁾ sowie Solanocapsin⁵⁾. In diesen Fällen handelt es sich jedoch nicht um Derivate des Solanidans.

Herrn Dr. H. EGGE danken wir für die gaschromatographischen Untersuchungen, Herrn Dr. W. OTTING für die Aufnahmen und Interpretation der IR-Spektren.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Zur präparativen Säulenchromatographie diente Al_2O_3 , standardisiert nach BROCKMANN. Al_2O_3 akt. bedeutet Aktivitätsstufe I, Al_2O_3 inakt. bedeutet, daß das Al_2O_3 vor Gebrauch mindestens 24 Stdn. an der Luft gelegen hatte. Bei der Dünnschichtchromatographie wurden mit Al_2O_3 G von E. MERCK beschichtete Platten verwendet, die bei Raumtemperatur an der Luft getrocknet worden waren. Als Steigmittel diente Benzol oder Benzol/Äther 1:1. Nach dem Ansprühen mit 0.5-proz. Phosphormolybdänsäure-Lösung in Aceton, kurzem Abtrocknenlassen und Anspritzen mit 1-proz. wäßriger Lösung von NaHSO_3 wurden die Flecken sichtbar. Sie sind zunächst gelb und werden später blau. — Die Schmelzpunkte wurden mit kurzen Thermometern bestimmt.

23-Hydroxy-solanthren: 4 kg frische Blätter und 1.6 kg Stengel von *Solanum chacoense* (Ernte 1960) haben wir mit ca. 10 l heißem Wasser extrahiert und die wäßrigen Auszüge mit *n*-Butanol ausgeschüttelt¹⁾. Nach Abdampfen des Butanols i. Vak. nahmen wir den Rückstand in ca. 100 ccm Wasser auf, fällten warm mit konz. Ammoniak und zentrifugierten den Niederschlag ab. Die ammoniakalisch-wäßrige Lösung haben wir 3–4mal mit je dem gleichen Volumen Butanol ausgeschüttelt, das Butanol abgedampft, den Rückstand mit 300 ccm gesättigter wäßr. Barytlösung 2 Stdn. gekocht und den Verseifungsansatz, Lösung + Niederschlag, mit Butanol ausgeschüttelt. — Wir erhielten durch die Fällung mit NH_3 7.5 g (Fraktion I) und nach der Barytverseifung 10 g (Frakt. II) Alkaloidglykoside. I und II wurden mit je 200 ccm 2*n* HCl 2 Stdn. gekocht, die ausgefallenen Aglykon-hydrochloride in Chloroform aufgenommen, die Chloroformlösungen mit NaOH-haltigem Wasser, dann mehrmals mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Hydrolysenprodukt von Frakt. I, etwa 3 g, haben wir durch 2stdg. Kochen mit 5 g KOH in 50 ccm Methanol + 5 ccm Pyridin nachverseift.

3) J. FRIED, O. WINTERSTEINER, M. MOORE, B. M. ISELI und A. KLINGSBERG, J. Amer. chem. Soc. 73, 2970 [1951].

4) C. TAMM und O. WINTERSTEINER, J. Amer. chem. Soc. 74, 3842 [1952].

5) K. SCHREIBER und K. RIPPBERGER, Experientia [Basel] 16, 536 [1960].

Die acylfreien Aglykongemische (aus Frakt. I ca. 2.9 g aus Frakt. II ca. 6 g) wurden mit je 50–60 ccm warmem Benzol behandelt und die benzolischen Lösungen auf zwei Säulen (2.8×18 cm, Al_2O_3 inakt.) chromatographiert. Die in Benzol nicht gelösten Anteile (bei I ca. 1 g, bei II ca. 3 g) filterten wir in mit Wasser gesättigtem Chloroform durch eine kurze Säule von Al_2O_3 . Nach dem Abdampfen des CHCl_3 verblieben 3 g (Fraktion III), die jetzt glatt in Benzol löslich waren und chromatographiert werden konnten. Die Filtrate wurden in 50-ccm-Fractionen aufgefangen, abgedampft und die R_F -Werte durch Dünnschichtchromatographie bestimmt: Solanthren 0.75, Hydroxysolanthren 0.17 (Steigmittel Benzol); Solanidin 0.48, Leptinidin 0.25 (Steigmittel Benzol-Äther). Mit Benzol wurden Solanthren und Hydroxysolanthren eluiert, mit Benzol-Äther lief das Solanidin und mit Benzol + 1% Methanol das Leptinidin ins Filtrat. Die Auftrennung des Solanthren-Hydroxysolanthren-Gemisches gelang durch Chromatographie auf Al_2O_3 akt.. Das Solanthren wird mit Benzol, das Hydroxysolanthren erst mit Benzol-Äther abgelöst. Wir erhielten kristallisiert (Mengen in g):

	aus Frakt. I	aus Frakt. II	aus Frakt. III	insgesamt
Solanthren	0.73	0.15	0.33	1.21
Hydroxysolanthren	0.32	1.00 (0.50)	0.33	1.65
Solanidin	0.64	0.11 (0.90)	0.48	1.21
Leptinidin	0.06	0.17 (0.55)	0.05	0.28

Die Zahlen in Klammern geben das Gewicht in g der abgedampften Kristallisationsmutterlaugen an. Hydroxysolanthren war aus Benzol, Solanidin und Leptinidin waren aus Benzol-Methanol kristallisiert worden.

Bei der Hydrolyse eines krist. Gemisches von Solanin und Leptinin II mit $2n$ HCl haben wir Solanidin und Solanthren im Verhältnis ca. 1 : 1 erhalten, Leptinidin und Hydroxysolanthren im Verhältnis ca. 1 : 3.

23-Hydroxy-solanthren: Aus Benzol + Methanol Nadeln vom Schmp. $214-215^\circ$, $[\alpha]_D^{20}$: -81° (in CHCl_3); sublimierbar bei $180^\circ/0.001$ Torr.

$\text{C}_{27}\text{H}_{41}\text{NO}$ (395.6) Ber. C 81.97 H 10.45 Gef. C 81.97 H 10.44

Digitoninprobe: negativ; Rosenheim-Reaktion mit Trichloressigsäure: rot. UV-Spektrum in Äther: λ_{max} 228, 235, 244 μ ; $\log \epsilon$ für 235 μ : 4.32.

23-Hydroxy-solanidan (5α - 5β -Gemisch): Aus *23-Hydroxy-solanthren* mit Pt/H_2 in Eisessig; H_2 -Aufnahme 2 Mol. Die benzolische Lösung wurde durch eine kurze Säule Al_2O_3 inakt. filtert. Nadelchen aus Benzol-Methanol vom Schmp. $174-177^\circ$. $[\alpha]_D^{25}$: $+32.5^\circ$ (in CHCl_3).

$\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{NO}$ (399.6) Ber. C 81.14 H 11.35 Gef. C 80.91 H 11.32

IR-Spektrum: Bande bei 12 μ . R_F -Wert auf Al_2O_3 -Platte in Benzol 0.17.

23-Acetoxy-solanidan (5α - 5β -Gemisch): Aus vorstehendem *Hydroxysolanidan* mit *Acetanhydrid* + *Pyridin* bei 110° . Die benzolische Lösung wurde durch eine kurze Säule Al_2O_3 inakt. filtert und im Kugelrohr bei ca. $250^\circ/0.001$ Torr destilliert. Aus Methanol Nadeln vom Schmp. $169-170^\circ$.

$\text{C}_{29}\text{H}_{47}\text{NO}_2$ (441.7) Ber. C 78.86 H 10.73 Gef. C 78.41 H 10.50

23-Hydroxy-5 α -solanidan: $\text{Dihydroleptinidin} \xrightarrow{\text{CrO}_3}$ Gemisch von Diketon und 3-Oxo-23-hydroxy-solanidan $\xrightarrow{\text{Wolff-Kishner}}$ neben Solanidan auch *23-Hydroxy-solanidan*, Schmp $184-185^\circ$ (Lit. ¹⁾: $180-182^\circ$). $[\alpha]_D^{20}$: $+32^\circ$ (in CHCl_3).

$\text{C}_{27}\text{H}_{45}\text{NO}$ (399.6) Ber. C 81.14 H 11.35 Gef. C 80.99 H 11.61

23-Oxo-solanidan (5 α -5 β -Gemisch): 200 mg *23-Hydroxy-solanidan* (Schmp. 174–177°) ließ man mit 200 mg CrO₃ in 25 ccm Dimethylformamid + 5 Tropfen konz. Schwefelsäure 14 Stdn. bei 20° stehen. Nach dem Versetzen mit CHCl₃ wurde mit NaHSO₃, dann mit NaOH-haltigem Wasser, schließlich mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Ausb. 165 mg Rohprodukt, das auf Al₂O₃_{inakt.} (Säule 1.8×11 cm) chromatographiert wurde. Aus den ersten 50 ccm Benzoldurchlauf erhielten wir 40 mg *23-Oxo-solanidan* [IR-Spektrum: CO-Bande bei 5.80 μ ; R_F-Wert auf Al₂O₃-Platte in Benzol 0.93; R_F-Wert von 3-Oxo-solanidan 0.37]; aus den folgenden 150 ccm Benzol 40 mg nicht umgesetztes *23-Hydroxy-solanidan*.

23-Oxo-solanidan-oxim: Aus dem Keton mit NH₂OH·HCl + geschmolzenem Natriumacetat. Bei der Chromatographie auf Al₂O₃_{inakt.} wurde durch Waschen der Säule mit Benzol etwas Keton zurückgewonnen; mit Benzol-Äther lief das Oxim ins Filtrat. Aus Methanol Kristalle vom Schmp. \sim 195° (Zers.). R_F-Wert auf Al₂O₃-Platte in Benzol 0.20. IR-Spektrum: Bande bei 12 μ .

C₂₇H₄₄N₂O (412.6) Ber. C 78.58 H 10.75 N 6.79 Gef. C 78.90 H 10.55 N 6.43

23-Epihydroxy-solanidan (5 α -5 β -Gemisch): 300 mg *23-Oxo-solanidan* wurden mit 240 mg LiAlH₄ in 10 ccm absol. Äther 2 Stdn. gekocht. Nach Waschen mit Wasser und Trocknen über Na₂SO₄ wurde chromatographiert (Säule 1.8×9 cm, Al₂O₃_{akt.}). Nachdem 200 ccm Benzol durchgelaufen waren, wurden mit weiteren 250 ccm Benzol 35 mg *23-Hydroxy-solanidan* vom Schmp. \sim 176°, im IR-Spektrum Bande bei 12 μ , ins Filtrat gewaschen. Anschließend haben wir mit 200 ccm Benzol-Äther 160 mg *23-Epihydroxy-solanidan* eluiert. Aus Benzol Nadelchen vom Schmp. \sim 220°, im IR-Spektrum keine Bande bei 12 μ . R_F-Wert auf Al₂O₃-Platte in Benzol 0.17. $[\alpha]_D^{25}$: +10.4° (in CHCl₃).

C₂₇H₄₅NO (399.6) Ber. C 81.14 H 11.35 Gef. C 81.21 H 10.96

Selendehydrierung von 23-Hydroxy-solanthren: 0.75 g *23-Hydroxy-solanthren* wurden mit 2.2 g rotem Selen verrieben, das Gemisch im Kugelrohr schnell auf 280° (Luftbad) erwärmt und die Temperatur auf 350° steigen lassen. Nach 20–25 Min. ging nichts mehr über. Das rotbraune Destillat spülte man mit 50 ccm CHCl₃ in einen Scheidetrichter, wusch die Lösung zweimal mit je 10 ccm 2*n* HCl, machte die saure wäßrige Phase mit 5*n* NaOH alkalisch, schüttelte die Amine mit CHCl₃ aus und neutralisierte die alkalisch-wäßrige Lösung durch Einleiten von CO₂. Dann wurde viermal mit je 20 ccm *n*-Butanol ausgeschüttelt, der Butanol-extrakt i. Vak. verdampft, der Rückstand mit Chloroform ausgezogen, das CHCl₃ verdampft, der Rückstand in Benzol aufgenommen und auf einer kurzen Säule Al₂O₃_{inakt.} chromatographiert. Nach dem Vorwaschen mit 50 ccm Benzol eluierten wir das *5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin* mit 50 ccm Benzol-Äther. Es war nach dem Verdampfen des Lösungsmittels bereits kristallin und wurde bei 90–95°/0.001 Torr im Kugelrohr sublimiert. Ausb. 30 mg (12% d. Th.), Schmp. \sim 130°. Durch Behandeln mit absol. Äther wurden 5 mg mit einem Schmp. von 134–136° abgetrennt (Lit.²⁾: 147°). Misch-Schmp. mit *5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin* aus Jervin (Schmp. 145°) 141°, Misch-Schmp. mit *3-Methyl-5-hydroxy-pyridin* (Schmp. 135–136°) < 120°. UV-Maxima in *n*/₁₀ NaOH²⁾: 303 (log ϵ : 3.82), 241.5 μ (log ϵ : 3.83). UV-Maxima in *n*/₁₀ HCl²⁾: 291 (log ϵ : 3.94), 225 μ (log ϵ : 3.37).

Dünnschichtchromatographie: Die R_F-Werte auf Al₂O₃ mit Benzol-Äther als Steigmittel waren: 3-Hydroxy-pyridin 0.21, 3-Methyl-5-hydroxy-pyridin 0.15, Hydroxypyridin aus Jervin 0.46, Hydroxypyridin aus Hydroxysolanthren 0.46. — *Gaschromatographie*: Fraktometer 116 E von PERKIN ELMER, 2-m-Rohr mit Füllung Neon LB-550 X (R-Säule = Propandiol-polyäther), Trägergas Wasserstoff, Strömungsgeschwindigkeit 212 ccm/Min., Temperatur 231°, Papiervorschub 1 cm/2 Min.; eingespritzt wurden ca. 150 γ in 5-proz. methanolischer

Lösung. Die Retentionszeiten, bezogen auf Methanol, waren: 3-Hydroxy-pyridin 16.2 Min., 3-Methyl-5-hydroxy-pyridin 23.8 Min., 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin aus Jervin 20.8 Min., aus Hydroxysolanthren 20.8 Minuten. — Die *IR-Spektren* der Hydroxypyridine aus Jervin und Hydroxysolanthren stimmten überein; sie waren erheblich verschieden von den *IR-Spektren* des β -Hydroxy-pyridins und des 3-Methyl-5-hydroxy-pyridins. — Farb-reaktion nach FOLIN-DENIS: alle vier Hydroxypyridine wurden blau.

Pikrat des 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridins aus Hydroxysolanthren: 25 mg des krist. Hydroxypyridins haben wir mit 40 mg Pikrinsäure in 4 ccm Methanol versetzt, 2 Tropfen Wasser zugegeben und bis zur beginnenden Kristallisation eingeengt. Die gelben Nadeln wurden abgesaugt und mit Methanol gut gewaschen. Ausb. 17 mg (26%), Schmp. 180–182°. $C_8H_{11}NO \cdot C_6H_3N_3O_7$ (366.3) Ber. C 45.90 H 3.85 N 15.30 Gef. C 45.96 H 4.09 N 15.14

Pikrat des 3-Hydroxy-pyridins: 19 mg ergaben mit 45 mg Pikrinsäure in Methanol 28 mg (44%) Pikrat in gelben Nadelchen vom Schmp. 205–206°.

$C_5H_5NO \cdot C_6H_3N_3O_7$ (324.2) Ber. C 40.75 H 2.49 N 17.28 Gef. C 41.10 H 2.52 N 17.16

Pikrat des 3-Methyl-5-hydroxy-pyridins: Aus 22 mg erhielten wir mit 45 mg Pikrinsäure in Methanol 21 mg (31%) Pikrat in gelben Nadelchen vom Schmp. 189–190°.

$C_6H_7NO \cdot C_6H_3N_3O_7$ (328.2) Ber. C 42.61 H 2.98 N 16.57 Gef. C 42.47 H 2.78 N 16.65

Das zum Vergleich benötigte 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridin aus Jervin haben wir durch Selenabbau von 0.5 g *Jervin-dihydrat* mit 1.5 g rotem Selen im Kugelrohr hergestellt. Ausbeute nach Sublimation im Kugelrohr bei 90°/0.001 Torr: 12 mg vom Schmp. 145° (Lit.²⁾: 147°).

Pikrat des 5-Methyl-2-äthyl-3-hydroxy-pyridins aus Jervin: 5 mg lieferten mit 8 mg Pikrinsäure 7 mg (47%) Pikrat in gelben Nadelchen vom Schmp. 180–182°.

$C_8H_{11}NO \cdot C_6H_3N_3O_7$ (366.3) Ber. N 15.30 Gef. N 15.51