

CARL DJERASSI, JOHN C. KNIGHT¹⁾ und HANS BROCKMANN JR.¹⁾

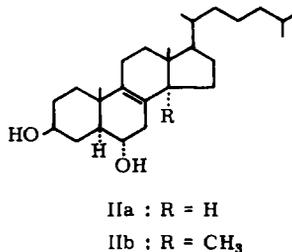
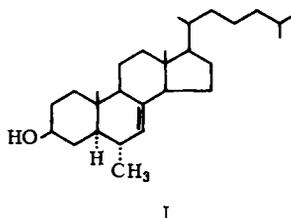
Neue Sterine aus dem Kaktus *Wilcoxia viperina*

Aus dem Department of Chemistry, Stanford University, Calif./USA.

(Eingegangen am 1. Juni 1964)

Aus den Wurzeln des Kaktus *Wilcoxia viperina* konnten neben Cholesterin, Campesterin, β -Sitosterin und Peniocerol drei neue α,β -ungesättigte Steroidketone isoliert werden. Eines dieser Ketone ist mit synthetischem 3β -Hydroxycholesten-(7)-on-(6) identisch, die beiden anderen, Viperidon und Viperidinon, sind Mono- und Dihydroxyderivate dieser Verbindung. Die Ergebnisse der katalytischen Hydrierung und spektroskopische Daten zeigen, daß sich die zusätzlichen Hydroxygruppen in 9α - bzw. 9α - und 14α -Stellung befinden.

Im Laufe unserer Untersuchungen über Sterine aus mexikanischen Kakteen konnten bisher Lophenol (I)²⁾, Peniocerol (IIa)³⁾ und Macdougallin (IIb)⁴⁾, drei biogenetisch interessante Cholestan-Derivate, isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt werden. Lophenol erhielt man zunächst²⁾ aus *Lophocereus Schottii* Engelm., es konnte aber auch in Wurzelextrakten von *Peniocereus*-Arten nachgewiesen werden, in denen außerdem die beiden anderen Sterine IIa und IIb vorkommen. Ebenso wie *Peniocereus* haben auch die *Wilcoxia*-Arten große knorrige Wurzeln, eine recht seltene



Erscheinung bei *Cactaceae*. Im Anschluß an unsere Untersuchungen von *Peniocereus Fosterianus* Cut.³⁾ und *Peniocereus Macdougalli* Cut.⁴⁾ wandten wir daher unser Interesse *Wilcoxia viperina* (Weber) Britton und Rose zu. Über die Gewinnung und Strukturaufklärung einiger, zum Teil neuer Steroide aus dieser Pflanze soll im folgenden berichtet werden.

Als Ausgangsmaterial dienten uns gemahlene Kaktuswurzeln, die östlich von Zapotitlán de las Salinas, Pueblo, Mexiko, gesammelt wurden⁵⁾. Extraktion durch mehrmaliges

¹⁾ Postdoctoral Research Fellows 1962–1963 (J. C. K.) und 1963–1964 (H. B.) unterstützt durch National Institutes of Health, Grants GM 06840 und CA 07195.

²⁾ C. DJERASSI, G. W. KRAKOWER, A. J. LEMIN, L. H. LIU, J. S. MILLS und R. VILLOTTI, *J. Amer. chem. Soc.* **80**, 6284 [1958].

³⁾ C. DJERASSI, D. H. MURRAY und R. VILLOTTI, *Proc. chem. Soc. [London]* **1961**, 450.

⁴⁾ C. DJERASSI, J. C. KNIGHT und D. I. WILKINSON, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 835 [1963].

⁵⁾ Wir danken Herrn Dr. D. COX, San Juan Evangelista, Veracruz, Mexiko, vielmals für die Beschaffung des Ausgangsmaterials sowie Herrn Dr. B. BERKOZ, Syntex, S. A., Mexico City, für die im größeren Maßstab ausgeführte Extraktion.

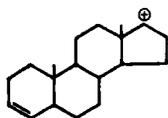
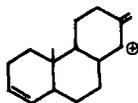
Auskochen mit Äthanol führte zu einem dunkelbraunen Öl, in dessen ätherlöslichem Anteil alle vorliegenden Ester (IR: C=O 1740/cm) alkalisch verseift wurden. Das aus dem Hydrolysat mit Acetanhydrid/Pyridin erhaltene rohe Acetatgemisch wurde an basischem Aluminiumoxid aufgetrennt. Aus der mit Hexan eluierten Fraktion konnten nach Rechromatographie an neutralem Aluminiumoxid (Aktivität II) drei kristallisierte Produkte erhalten werden, deren erstes, am wenigsten polares, im Gaschromatogramm mehrere Peaks zeigte und auf Grund seines relativ einfachen IR-Spektrums als ein Gemisch von Acetaten langkettiger Fettalkohole angesehen werden muß.

Das zweite, langsamer wandernde Produkt war in allen seinen Eigenschaften (Dünnschichtchromatogramm, Misch-Schmp., IR- und UV-Spektren) mit Penioceroldiacetat³⁾ identisch. Ferner führte die alkalische Hydrolyse zu Peniocerol (IIa), das ebenfalls mit einer authentischen Probe verglichen wurde⁶⁾.

Die dritte kristallisierte Substanz schließlich, Schmp. 130–131°, $[\alpha]_D^{25}$: -38.6° , war einer schon früher aus *Peniocereus Fosterianus* und *Peniocereus Macdougalli* gewonnenen sehr ähnlich. Unschärfe Schmelzpunkte und Schwankungen in der optischen Drehung bei Präparaten verschiedener Herkunft sprachen für das Vorliegen eines Gemisches ähnlicher Verbindungen, obwohl alle Präparate im Dünnschichtchromatogramm nur einen Fleck gaben.

Nach Hydrolyse des Acetates erhielt man farblose Kristalle vom Schmp. 134–138°, $[\alpha]_D^{25}$: -4.9° , die gaschromatographisch drei Signale mit Retentionszeiten von 14, 17.5 und 21 Min. zeigten.

Um zu prüfen, ob unser Präparat ein Gemisch von Doppelbindungsisomeren war, hydrierten wir das Acetat mit Platin in Äthylacetat und erhielten dabei farblose Nadeln vom Schmp. 135–136°. Die Änderung der optischen Drehung von -38.6° nach $+17.3^\circ$ ließ das Vorliegen einer 5.6-Doppelbindung im Ausgangsmaterial vermuten. Im Massenspektrum des hydrierten Acetats gaben sich drei Molekülionen bei m/e 458, 444 und 430 zu erkennen sowie drei starke Signale bei m/e 398, 384 und 370, charakteristisch für den Verlust von Essigsäure vom Molekülion⁷⁾. Ferner waren Peaks bei m/e 257 und 215 vorhanden, welche möglicherweise Ionen der Formeln III und IV entsprechen.

III m/e 257IV m/e 215

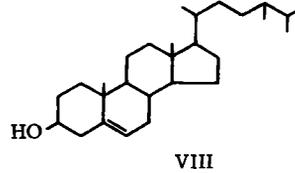
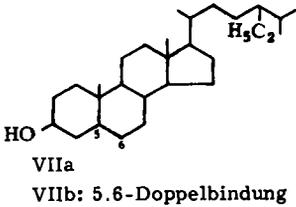
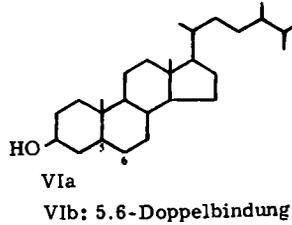
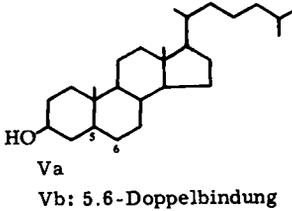
Diese Ergebnisse zeigen, daß unser Hydrierungsprodukt ein Gemisch aus drei Steroid-monoacetaten $C_{29}H_{50}O_2$, $C_{30}H_{52}O_2$ und $C_{31}H_{54}O_2$ ist.

Reduktion der gesättigten Acetate mit Lithiumaluminiumhydrid führte zu den entsprechenden gesättigten Alkoholen, von deren drei Signalen im Gaschromato-

6) Unterschiede im Schmp. und Drehwert zu früheren Werten³⁾ führen wir auf Verunreinigungen des damaligen Präparates mit Macdougallin (IIb) zurück.

7) Vergleiche dazu H. BUDZIKIEWICZ, C. DJERASSI und D. H. WILLIAMS, Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Band I, S. 9, Holden-Day, Inc., San Francisco 1964.

gramm das erste durch Zusatz von Cholestanol (Va), das zweite von Ergostanol (VIa), das dritte durch β -Sitostanol (VIIa) erhöht wurde. Der Versuch einer präparativen gaschromatographischen Trennung ergab von den beiden ersten Verbindungen nur zur Aufnahme von Massenspektren ausreichende Mengen. Die gefundenen Molekulargewichte von 388 und 402 stimmten mit denen von Va und VIa überein. Die dritte kristallisierte Verbindung wurde durch Massenspektrum ($M^{\oplus} 416$), IR-Spektrum und Misch-Schmp. als β -Sitostanol (VIIa) identifiziert.



Auch in Gemischen der nicht hydrierten Hydroxysteroiden mit Cholesterin (Vb), β -Sitosterin (VIIb) und, da kein Ergosten-(5)-ol-(3β) (VIb) zur Verfügung stand, mit Campesterin (VIII), das sich von VIb nur durch die Konfiguration an C-24 unterscheidet, wurde jeweils der erste, dritte und zweite Peak im Gaschromatogramm vergrößert. Präparativ gelang es wiederum nur, von β -Sitosterin (VIIb) so viel zu gewinnen, daß es eindeutig zu identifizieren war. Die beiden anderen Sterine konnten nur durch ihr Massenspektrum charakterisiert werden.

Wilcoxia viperina enthält also mit Sicherheit β -Sitosterin und Cholesterin; daneben eine weitere Verbindung $C_{28}H_{48}O$, die entweder Campesterin (VIII) oder Ergosten-(5)-ol-(3β) (Dihydrobrassicasterin (VIb)) ist. Eine Entscheidung zwischen diesen beiden Möglichkeiten ist nur mit größeren Substanzmengen an Hand der optischen Drehung möglich.

Die Aufarbeitung der polaren Fraktionen — Benzol- und Benzol/Methanol-Eluate von der ersten chromatographischen Trennung des rohen Acetat-Gemisches an basischem Aluminiumoxid (s. o.) — lieferte gelbbraun gefärbte Öle, deren Dünnschichtchromatogramme die Anwesenheit von mindestens zehn verschiedenen Verbindungen zeigte. Erst nach mehrmaliger Chromatographie an Aluminiumoxid konnten vier Substanzen in sehr geringer Ausbeute kristallisiert erhalten werden.

Die auffallend große Zahl verschiedener Substanzen in diesen Fraktionen warf die Frage auf, ob vielleicht einige davon während der Aufarbeitung entstandene Artefakte waren. Für die Isolierung der polaren Verbindungen wandten wir daher die folgende, schonendere Aufarbeitungsmethode an.

Den ätherlösliche Anteil des ersten Alkoholextraktes wusch man mehrmals mit verd. Lauge und Säure und chromatographierte alle Neutralstoffe mit Benzol an grobem Kieselgel. Ein Teil der Substanz wurde dabei fest an der Säule adsorbiert und ließ sich erst mit Benzol/Äthylacetat (4:1) und reinem Äthylacetat eluieren. Während die Benzol- und die Benzol/Äthylacetat-Fraktion nach dem Eindampfen als dunkel gefärbte Öle anfielen, hinterblieb nach Abdestillieren des Lösungsmittels der Äthylacetat-Fraktion ein hellgelbes Pulver, das im Dünnschichtchromatogramm hauptsächlich drei Flecke zeigte. Der R_F -Wert des am langsamsten wandernden war mit dem von Peniocerol (IIa) gleich.

Die Monohydroxy-Steroide mußten sich auf Grund ihres chromatographischen Verhaltens in der Benzol-Fraktion befinden und wurden dort durch Dünnschichtchromatographie nachgewiesen.

Rechromatographie der Äthylacetat-Fraktion an feinem Kieselgel mit Äthylacetat ergab drei kristallisierte Produkte. Das polarste von ihnen war mit Peniocerol (IIa) identisch (Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum) und ließ sich zu Penioceroldiacetat acetylieren.

Von den beiden anderen Produkten kristallisierte das im Chromatogramm langsamer wandernde aus Methanol/Wasser in Nadeln vom Schmp. 208–210°, $[\alpha]_D^{25}$: -49.1° und wurde *Viperidon* genannt. Die dritte, am wenigsten polare Substanz (Schmp. 188–191°) war, wie die Acetylierung ergab, ein Gemisch aus zwei Verbindungen, deren Acetate sich an feinem Kieselgel mit Benzol/Äthylacetat (4:1) leicht trennen ließen. Das als erstes eluierte Acetat A kristallisierte aus Benzol/Hexan in Nadeln, Schmp. 151°, $[\alpha]_D^{25}$: $+3.6^\circ$ ($c = 0.84$), Acetat B kristallisierte aus dem gleichen Lösungsmittelgemisch (Schmp. 197–198°, $[\alpha]_D^{25}$: -20.6° ($c = 1.02$)) und war mit einer der in kleinen Mengen gewonnenen Substanzen von früheren Trennungen der polaren Acetat-Fraktion identisch.

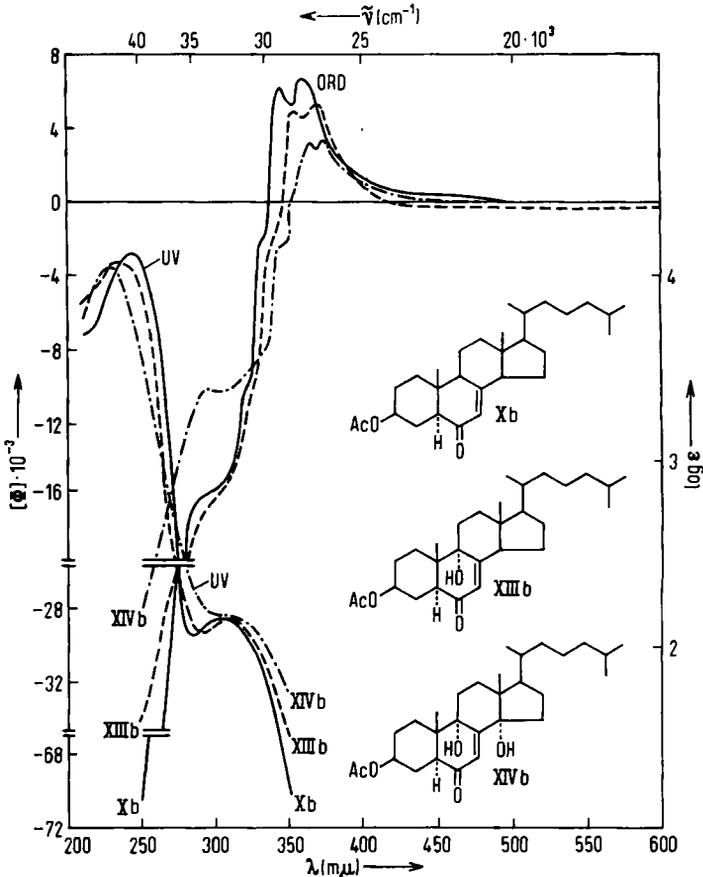
VIPERIDON (XIIIa)

Das UV-Absorptionsmaximum bei 237 μ ($\epsilon = 10780$) und die starke IR-Bande bei 1660/cm weisen bei Viperidon auf das Vorliegen eines α,β -ungesättigten Ketons hin. Die massenspektroskopische Molekulargewichtsbestimmung ergab 416 und machte die Summenformel $C_{27}H_{44}O_3$ wahrscheinlich, mit der die gefundenen Analysenwerte bei der Annahme von einem Mol Kristallwasser leidlich übereinstimmten. Im NMR-Spektrum war neben mehreren Methylsignalen, die Schlüsse auf eine Cholestan-Seitenkette zuließen, die Anwesenheit eines olefinischen Protons zu erkennen, das seiner chemischen Verschiebung nach in α -Stellung zur Carbonylgruppe stehen mußte.

Viperidon bildet ein Monoacetat $C_{29}H_{46}O_4$, dessen Massenspektrum (M^+ 458) und Analysenwerte die obige Summenformel des Viperidons bestätigen. Im Massenspektrum des Viperidons sowie seines Acetates traten neben Peaks für M^+ , $M-15$ und $M-18$, die einer Abspaltung von Methyl und Wasser entsprechen, zwei Signale bei $M-113$ und $M-131$ auf, die den Verlust einer Cholestan-Seitenkette vom Molekül und dem $M-18$ -Bruchstück anzeigen.

Auf Grund dieser spektroskopischen Befunde war für Viperidon die Struktur eines Cholestenons anzunehmen, das mit einer acetylierbaren, sekundären und einer nicht

acetylierbaren, wahrscheinlich tertiären Hydroxygruppe substituiert ist. Weder an Hand des UV-Spektrums noch der Rotationsdispersions-Kurve (Abbild.) ließ sich die α,β -ungesättigte Ketogruppe sicher lokalisieren, obwohl die letzteren Messungen eine



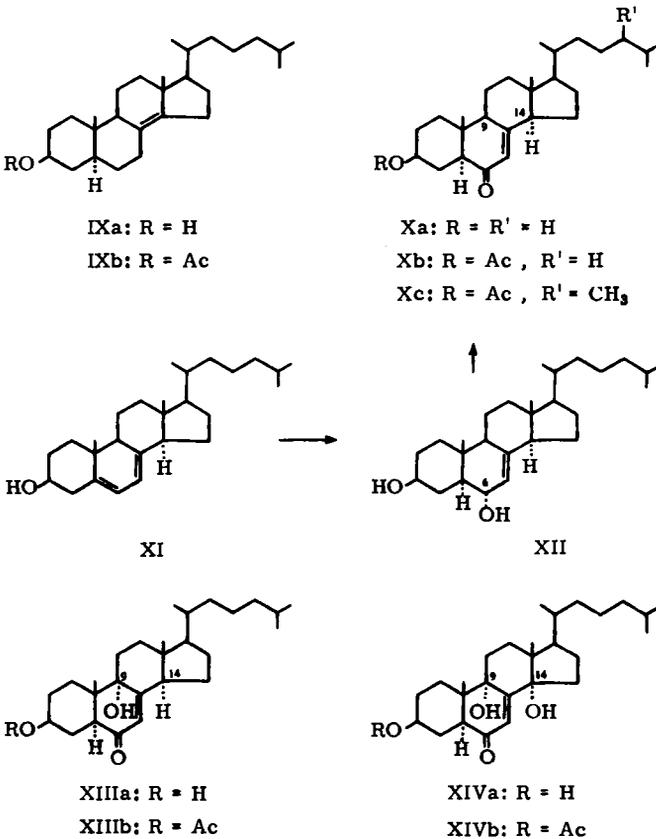
UV-Absorptionsspektren in Äthanol (UV) und Rotationsdispersionskurven in Dioxan (ORD) von Desoxyviperidonacetat (Xb), Viperidonacetat (XIIIb) und Viperidinonacetat (XIVb)

Δ^4 -3-Keto-Gruppierung ausschließen, da diese eine spiegelbildliche Kurve geben müßten⁸⁾.

Weitere Aufschlüsse über die Konstitution ergaben Hydrierungsversuche. Während an Palladium in Äthylacetat und Methanol unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen wurde, entstand in Eisessig mit Platinoxid unter Aufnahme von drei Moll. Wasserstoff eine Verbindung $C_{27}H_{46}O$ vom Schmp. 121° , $[\alpha]_D^{25}$: $+22^\circ$, die in allen

⁸⁾ C. DJERASSI, Optical Rotatory Dispersion, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York, N. Y., 1960.

ihren physikalischen Eigenschaften mit Cholesten-(8(14))-ol-(3 β) (IXa)⁹⁾ identisch war. Bei einer unter den gleichen Bedingungen durchgeführten Hydrierung von Viperidonacetat wurde entsprechend 3 β -Acetoxy-cholesten-(8(14)) (IXb) erhalten.



Offensichtlich wird also unter den Hydrierbedingungen die Doppelbindung im Viperidon verschoben, denn in IXa ist kein olefinisches Proton mehr vorhanden, die Ketogruppe vollständig reduziert und die nicht acetylierbare Hydroxygruppe eliminiert.

Ein sehr ähnliches Verhalten bei der katalytischen Hydrierung, keine Reaktion mit Palladium in Äthylacetat und völlige Reduktion der Carbonylgruppe unter gleichzeitiger Wanderung der Doppelbindung in die 8(14)-Stellung beschreiben D. H. R. BARTON und C. H. ROBINSON¹⁰⁾ für 3 β -Acetoxy-ergosten-(7)-on-(6) (Xc). Nimmt man demzufolge aus Analogie für Viperidon die Konstitution eines α -Hydroxy-cholesten-(7)-on-(6)-ol-(3 β) an, so muß die verbleibende, nicht acetylierbare Hydroxygruppe so angeordnet sein, daß sie erstens hydrogenolytisch eliminiert werden kann und zweitens die hypsochrome Verschiebung des UV-Maximums von 245 m μ , beschrieben

⁹⁾ A. WINDAUS, O. LINSERT und H. J. ECKHARDT, Liebigs Ann. Chem. 534, 22 [1938].

¹⁰⁾ J. chem. Soc. [London] 1954, 3045.

für Δ^7 -6-Ketone^{10,11}), nach 237 $m\mu$ erklärt. Beide Forderungen würden durch die tertiären Allylstellungen 9 α und 14 α für diese Hydroxygruppe erfüllt¹²).

Eine Entscheidung zwischen diesen beiden Positionen zugunsten von C-9 (XIIIa) brachte erst eine eingehende Interpretation der Kernresonanz-Spektren, die weiter unten erörtert werden soll.

DESOXYVIPERIDONACETAT (Xb)

Das oben erwähnte Acetat A (Schmp. 151°) zeigte im Massenspektrum ein Molekulation bei m/e 442 und ein M-60-Fragment bei m/e 382, was einer Summenformel $C_{29}H_{46}O_3$ mit einer Acetoxygruppe entspricht. Die Anwesenheit einer α,β -ungesättigten Carbonylgruppe ging aus dem NMR-Spektrum (ein olefinisches Proton bei $\delta = 5.71$ ppm), einer IR-Bande bei 1665/cm und einem UV-Maximum bei 245 $m\mu$ ($\epsilon = 13500$) hervor. Die katalytische Hydrierung in Eisessig mit Platinoxid lieferte wie beim Viperidonacetat (XIIIb) 3 β -Acetoxy-cholesten-(8(14)) (IXb). Dieses Ergebnis sowie das UV- und besonders das Rotationsdispersions-Spektrum (Abbild.)^{8,13} machten für Acetat A die Struktur eines 3 β -Acetoxy-cholesten-(7)-on-(6) (Xb), Desoxyviperidonacetates, sehr wahrscheinlich.

3 β -Hydroxy-cholesten-(7)-on-(6) (Xa) ist noch nicht beschrieben, konnte aber leicht durch Oxydation mit Dichlor-dicyan-benzochinon¹⁴) aus der entsprechenden 6 α -Hydroxyverbindung (XII) hergestellt werden, die man durch Hydroborierung und Oxydation aus 7-Dehydro-cholesterin (XI) erhält¹⁵). Acetylierung des so gewonnenen Xa mit Acetanhydrid/Pyridin führte zu 3 β -Acetoxy-cholesten-(7)-on-(6) (Xb), das mit Desoxyviperidonacetat keine Misch-Schmp.-Depression gab und im IR-Spektrum mit diesem in allen Einzelheiten übereinstimmte.

Alkalische Hydrolyse von Desoxyviperidonacetat führte nicht zu Xa, sondern lieferte ein gelbes Öl, das im Dünnschichtchromatogramm zwei sehr dicht nebeneinander liegende Flecke zeigte, von denen der langsamer wandernde, weniger intensive im R_F -Wert mit dem von Xa übereinstimmte. Eine präparative Trennung dieser beiden Substanzen gelang weder an einer Säule aus feinem Kieselgel noch durch präparative Dünnschichtchromatographie.

VIPERIDINONACETAT (XIVb)

Acetat B (Schmp. 197–198°, s. o.) hat, wie das Massenspektrum und seine Analysenwerte zeigen, die Summenformel $C_{29}H_{46}O_5$. Es ist ein Monoacetat, hat eine α,β -ungesättigte Ketogruppe, wie IR- und NMR-Spektrum zeigen, und ein bemerkenswert kurzwelliges UV-Maximum bei 229 $m\mu$ ($\epsilon = 11080$). Katalytische Hydrierung mit Platinoxid in Eisessig ergab 3 β -Acetoxy-cholesten-(8(14)) (IXb) wie beim Viperidonacetat (XIIIb), von dem sich Viperidinonacetat in seiner Bruttozusammensetzung

¹¹) L. DORFMAN, Chem. Reviews 53, 47 [1953].

¹²) Vgl. dazu H. J. RINGOLD und A. BOWERS, Experientia [Basel] 17, 65 [1961], die für den Einfluß einer 6 β -Hydroxygruppe auf Δ^4 -3-Ketone eine hypsochrome Bandenverschiebung von 3–6 $m\mu$ fanden.

¹³) C. DJERASSI, R. RINIKER und B. RINIKER, J. Amer. chem. Soc. 78, 6377 [1956].

¹⁴) D. BURN, V. PETROW und G. O. WESTON, Tetrahedron Letters [London] No. 9, 14 [1960].

¹⁵) L. CAGLIOTTI, G. CAINELLI und G. MAINIA, Tetrahedron [London] 19, 1057 [1963].

nur durch eine zusätzliche, nicht acetylierbare Hydroxygruppe unterscheidet. Dieses sowie die sehr ähnlichen Rotationsdispersions-Kurven von Desoxyviperidonacetat (Xb), Viperidonacetat (XIIIb) und Viperidinonacetat ließen vermuten, daß im letzteren diese zusätzliche Hydroxygruppe in 14 α -Stellung lokalisiert ist, wo sie leicht hydrogenolytisch abgespalten werden kann und außerdem einen starken hypsochromen Einfluß auf das Enon-System ausüben muß¹²). Viperidinonacetat sollte daher die Konstitutionsformel XIV b haben, die eindeutig durch das Kernresonanzspektrum bestätigt wird.

DISKUSSION DER KERNRESONANZ-SPEKTREN

In Tab. 1 sind die charakteristischen Resonanzfrequenzen von Desoxyviperidon- (Xb), Viperidon- (XIIIb) und Viperidinonacetat (XIV b) zusammengestellt; alle in der Tab. nicht aufgeführten Protonen absorbieren zwischen 1.0 und 2.3 ppm, wo das komplexe Erscheinungsbild des Spektrums keine Interpretation zuließ.

Tab. 1. Kernresonanz-Spektren der drei Kaktusteroidacetate Xb, XIIIb und XIVb. Chemische Verschiebungen δ (ppm). Aufnahme in Deuteriochloroform mit Tetramethylsilan als innerem Standard (Varian A-60 Spektrometer)

Protonen an	Desoxyviperidonacetat (Xb)	Viperidonacetat (XIIIb)	Viperidinonacetat (XIVb)
C-7	5.71	5.67	5.86
C-3	4.68	4.68	4.68
C-5	verdeckt	2.94	3.16
COCH ₃	2.04	2.04	2.04
C-21	0.94	0.94	0.94
C-27, 28	0.88	0.88	0.88
C-19	0.87	0.97	0.97
C-18	0.63	0.63	0.71

Da im Bereich der C-18 und C-19-Methylsignale auch die jeweils zum Dublett aufgespaltenen Absorptionen der C-21-, C-27- und C-28-Methylgruppen liegen, wurden für die Zuordnung der Banden in diesem Gebiet 100-MHz-Spektren hinzugezogen.

Während sich die Signale der Methylprotonen der 3 β -Acetoxygruppe als Singulett und des 3 α -Wasserstoffatoms als ein von vier benachbarten Protonen aufgespaltenes Multipllett in allen drei Verbindungen an der gleichen Stelle befinden, ist die Absorption des C-5-Protons im Spektrum des Desoxyviperidonacetates (Xb) nur zum Teil zu erkennen, wird aber durch den Einfluß der 9 α - und 14 α -Hydroxygruppen im Viperidonacetat (XIIIb) und Viperidinonacetat (XIVb) stark nach niedrigeren Feldstärken verschoben. Es zeigt das typische Erscheinungsbild des X-Teiles eines ABX-Systems, und die beobachteten Kopplungskonstanten von 3.6 und 12.5 Hz stimmen mit den für eine axial-äquatoriale und eine axial-axiale Kopplung des 5 α -Wasserstoffs erwarteten überein¹⁶).

¹⁶ L. M. JACKMAN, Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Organic Chemistry, S. 87, Pergamon Press, Ltd., 1959.

Nur im Spektrum des Viperidinonacetates (XIVb) ist das Signal des olefinischen Protons an C-7 ein scharfes Singulett, dagegen wird es beim Viperidonacetat (XIIIb) durch allylische Spin-Kopplung^{17,18)} mit dem 14 α -Wasserstoff zu einem Dublett ($J = 1.5$ Hz) aufgespalten und ist schließlich im Spektrum des Desoxyviperidonacetates (Xb) ein Multipllett, hervorgerufen durch die in diesem Falle zweifache allylische Kopplung mit den 9 α - und 14 α -Protonen.

Die chemische Verschiebung der C-18- und C-19-Protonen läßt sich durch einfache Addition und Subtraktion von gewissen zusätzlichen chemischen Verschiebungen, die für die jeweiligen Substituenten in verschiedenen Positionen charakteristisch sind, berechnen¹⁹⁻²³⁾. Dabei ist für ein α,β -ungesättigtes Keton ein eigener Betrag für das Verschiebungsinkrement dieser Gruppierung einzusetzen, der nicht der Summe der Beiträge für Doppelbindung und Carbonylgruppe entspricht. Eine strenge Additivität der Substituenteneinflüsse ist natürlich nur zu erwarten, wenn sich die Substituenten gegenseitig nicht beeinflussen und keine zu große Änderung in der Konstellation des den Berechnungen zu Grunde gelegten Grundgerüsts hervorrufen.

Für Δ^7 -6-Ketone ist in der Literatur bisher keine zusätzliche chemische Verschiebung angegeben worden; sie läßt sich aber aus den in Tab. 2 nach ZÜRCHER²⁰⁾ berechneten Werten für β -Acetoxy-cholestan und den von uns gefundenen Beträgen für β -Acetoxy-cholestan-(7)-on-(6) (Xb) ableiten.

Tab. 2. Berechnung der chemischen Verschiebungen der C-18- und C-19-Protonen und des Inkrementes für ein Δ^7 -6-Keton nach ZÜRCHER²⁰⁾

	19-H (ppm)	18-H (ppm)
5 α .14 α -Androstan	0.792	0.692
17 β -C ₈ H ₁₇	0.050	0.008
β -Acetoxy	-0.017	-0.050
β -Acetoxy-cholestan	0.825	0.650
Desoxyviperidonacetat (Xb)	0.87	0.63
Inkrement für Δ^7 -6-Keton	0.045	-0.02

Sicher kann man Hydroxygruppen in Allylstellung zu einem α,β -ungesättigten Carbonylsystem nicht als völlig unabhängige Substituenten betrachten, erwarten darf man aber, daß der Einfluß auf die Lage der C-18- und C-19-Methylsignale zumindestens qualitativ der gleiche ist, wie für isolierte Hydroxygruppen beobachtet wurde²¹⁻²³⁾. Dementsprechend sollte eine 9 α -Hydroxygruppe besonders das C-19-Methylsignal nach höheren δ -Werten verschieben, ohne die Absorption der C-18-Methylgruppe stark zu beeinflussen, eine 14 α -Hydroxygruppe dagegen sollte hauptsächlich das C-18- nicht aber das C-19-Methylsignal nach niedrigeren Feldstärken verlagern.

17) C. N. BANWELL, A. D. COHEN, N. SHEPPARD und J. J. TURNER, Proc. chem. Soc. [London] 1959, 266.

18) D. J. COLLINS, J. J. HOBBS und S. STERNHELL, Austr. J. Chem. 16, 1030 [1963].

19) R. F. ZÜRCHER, Helv. chim. Acta 44, 1380 [1961].

20) R. F. ZÜRCHER, Helv. chim. Acta 46, 2054 [1963].

21) Y. KAWAZOE, Y. SATO, M. NATSUNE, H. HASEGAWA, T. OKAMOTO und K. TSUDA, Chem. pharmac. Bull. [Tokyo] 10, 338 [1962].

22) K. TORI und E. KONDO, Tetrahedron Letters [London] 1963, 645.

23) A. I. COHEN und S. ROCK JR., Steroids 3, 243 [1964].

Tab. 3. Zusätzliche chemische Verschiebung der C-18- und C-19-Methylsignale, hervorgerufen durch Hydroxygruppen in den Positionen 9 α und 14 α

		$\Delta 19\text{-H}$ (ppm)		$\Delta 18\text{-H}$ (ppm)	
9 α -OH	Gef. ^{a)}	0.10	Lit. 0.145 ²²⁾ 0.13 ²³⁾	Gef. ^{a)}	0.00 Lit. 0.01 ²²⁾
14 α -OH	Gef. ^{b)}	0.00	Lit. 0.005 ^{21,22)}	Gef. ^{b)}	0.08 Lit. 0.113 ²¹⁾ 0.11 ²³⁾

^{a)} Δ XIIIb - Xb ^{b)} Δ XIVb - XIIIb

In Tab. 3 sind die an unseren Verbindungen gefundenen zusätzlichen chemischen Verschiebungen der C-18- und C-19-Methylsignale, die durch die 9 α - und 14 α -Hydroxygruppen bewirkt werden, den in der Literatur angegebenen gegenübergestellt.

Aus den beobachteten Werten ist eindeutig zu ersehen, daß die tertiäre Hydroxygruppe im Viperidon an C-9 (XIIIa) und nicht an C-14 stehen muß. Daß unsere Inkremente etwa 30 Prozent niedriger sind als die für isolierte Hydroxygruppen angegebenen, führen wir auf die starke Wechselwirkung der Hydroxygruppen mit der Enon-Gruppierung zurück, die auch in den UV-Spektren so deutlich zu erkennen ist.

Das natürliche Vorkommen von Sterinen mit Hydroxygruppen in den Stellungen 9 α und 14 α ist recht selten²⁴⁾. Daß Viperidon (XIIIa) und Viperidinon (XIVa) nicht während der Aufarbeitung aus Desoxyviperidon (Xa) entstanden sind, konnten wir einmal dadurch zeigen, daß beim mehrtägigen Kochen einer Lösung von Desoxyviperidon (Xa) in Äthanol in Gegenwart von Luftsauerstoff keine nachweisbaren Mengen von XIIIa und XIVa entstanden. Außerdem gelang es, die Kaktussterine bereits mit kaltem Aceton aus den getrockneten Wurzeln zu extrahieren und ohne vorherige Behandlung mit Säure oder Lauge durch Chromatographie an Kieselgel in reiner Form zu gewinnen.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE²⁵⁾

Isolierung der Monohydroxy-Steroide: 1 kg trockene, gemahlene Wurzeln von *Wilcoxia viperina* wurde in 3 l Äthanol 16 Stdn. bei 60° kräftig gerührt. Den Rückstand filtrierte man ab und extrahierte ihn noch 3 mal in der gleichen Weise. Die vereinigten Äthanol-extrakte wurden auf 500 ccm eingeeengt, mit 1 l Äther versetzt und 10 Min. gerührt; dabei setzte sich ein dunkles Öl ab, von dem die Ätherlösung dekantiert wurde. Das zurückbleibende Öl wurde noch 2 mal mit Äther behandelt, die Ätherlösungen wurden vereinigt und eingedampft. Den halbfesten Rückstand löste man dann in 1 l Äthanol, fügte 50 ccm Wasser und 50 g Kaliumhydroxid hinzu und kochte 2 Stdn. unter Rückfluß. Nach Abkühlen und Verdünnen mit 2 l

²⁴⁾ K. A. JÄGGI, EK. WEISS und T. REICHSTEIN, *Helv. chim. Acta* **46**, 694 [1963].

²⁵⁾ Alle Schmp. wurden auf dem Kofler-Block bestimmt und sind unkorrigiert. Optische Drehungen (alle in Chloroform), IR- und UV-Spektren wurden von Frau D. AGUILAR mit einem Zeiss Modell 50-370 Polarimeter, Perkin-Elmer 421 Gitter-Spektrophotometer bzw. Cary Applied Physics Model 14 Spektrophotometer bestimmt. Die Rotationsdispersionskurven wurden von Frau R. RECORDS mit einem Nippon Bunko (Japan Spectroscopic Manufacturing Co., Ltd.) registrierenden Spektropolarimeter gemessen. Dr. H. BUDZIKIEWICZ und Herr J. SMITH nahmen die Massenspektren mit einem CEC Massenspektrometer Model 21-103 C auf und Dr. L. DURHAM maß die Kernresonanzspektren mit einem Varian A-60 bzw. HR 100 Kernresonanzspektrometer. Alle Mikroanalysen wurden von den Herren E. MEIER und J. CONSUL des Stanford Microanalytical Laboratory ausgeführt.

Wasser wurde die Reaktionsmischung mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherphase mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert, wobei 35 g eines braunen Sirups zurückblieben. Dieser wurde mit 250 ccm *Acetanhydrid*/Pyridin (4:1) versetzt, kurz erwärmt und die homogene Lösung 16 Stdn. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Verdünnen mit 750 ccm Wasser und erschöpfende Extraktion mit Äther lieferten nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Verdampfen des Äthers 40.6 g eines rotbraunen, öligen *Acetates*.

Eine Lösung des rohen Acetates in Benzol filtrierte man zunächst durch eine Säule von 500 g basischem Aluminiumoxid (Aktivität I) und chromatographierte den eluierten Anteil (22.1 g) anschließend an neutralem Aluminiumoxid (Aktivität II), wobei die Säule nacheinander mit Hexan, Benzol, Äther und Methanol gewaschen wurde.

Rechromatographie der Hexanfraktion (3.88 g) an neutralem Aluminiumoxid (Aktivität II) ergab drei kristallisierte Produkte:

1. 210 mg eines fettigen, farblosen Stoffes, der im analytischen Gaschromatogramm (Alteration 16, 285°) fünf Peaks verschiedener Intensität zeigte. Das IR-Spektrum spricht für ein Gemisch langkettiger Fettalkoholacetate.

2. 230 g farblose Kristalle, die nach Umkristallisieren aus Methanol/Äther bei 130–131° schmolzen, $[\alpha]_D^{25}$: -38.6° ($c = 1.035$).

3. 300 mg farblose Nadeln aus Methanol, Schmp. 50–51°, $[\alpha]_D^{25}$: $+41.7^\circ$ ($c = 1.055$), die mit *Peniocerol-diacetat*³⁾ keine Schmp.-Depression gaben. Identifizierung durch Dünnschichtchromatographie (Kieselgel G/Benzol/Äthylacetat 4:1), Gaschromatographie (5% SE-30 auf Chromosorb W, 295°, Retentionszeit 20 Min.) und IR-Spektrum.

Peniocerol (Cholesten-(8)-diol-(3 β .6 α), IIa): Eine Lösung von 40 mg *Peniocerol-diacetat* in 10 ccm 5-proz. methanol. *Kaliumhydroxid* wurde 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach Ansäuern und Verdünnen mit Wasser fielen 28 mg *Peniocerol* (IIa) aus, die nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol bei 181–183° schmolzen, mit einer authent. Probe keine Schmp.-Erniedrigung gaben und mit dieser im IR- und Massenspektrum übereinstimmten. $[\alpha]_D^{25}$: $+53.2^\circ$ ($c = 1.25$)⁶⁾.

Hydrolyse der Fraktion 2 (Monohydroxy-Steroide): 60 mg der *Fraktion 2* wurden, wie vorstehend beschrieben, hydrolysiert. Ausb. 42 mg farblose Nadeln aus Methanol, Schmp. 134–138°, $[\alpha]_D^{25}$: -4.9° ($c = 0.81$). Gaschromatographie (5% SE-30 auf Chromosorb W, 280°) zeigte drei Signale mit Retentionszeiten von 14, 17.5 und 21 Min. Molekülmassen im Massenspektrum: *m/e* 386, 400, 414.

Hydrierung von Fraktion 2: Eine Lösung von 230 mg der *Fraktion 2* in 20 ccm Äthylacetat, das einen Tropfen Perchlorsäure enthielt, wurde mit 50 mg PtO₂ über Nacht bei Raumtemperatur und Atmosphärendruck hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Verdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand aus Methanol/Äther kristallisiert. 150 mg farblose Nadeln, Schmp. 134–135°, $[\alpha]_D^{25}$: $+17.3^\circ$ ($c = 1.095$). Massenspektrum: *m/e* 458, 444, 430, 398, 384, 370.

Reduktion des Hydrierungsproduktes: Zu einer Lösung von 120 mg des vorstehenden Hydrierungsproduktes in 30 ccm absol. Äther gab man 200 mg LiAlH₄ und kochte 3 Stdn. unter Rückfluß. Nachdem durch vorsichtige Zugabe von Wasser überschüss. Reagenz zerstört war, schüttelte man die Lösung mit verd. Salzsäure, Wasser und Natriumhydrogencarbonat-Lösung aus, trocknete die organische Phase über Magnesiumsulfat und verdampfte den Äther. Ausb. 94 mg farblose Nadeln aus Methanol/Äther, die im Gaschromatogramm (5% SE-30, 275°) drei Signale mit Retentionszeiten von 18.5, 22.5 und 26.5 Min. zeigten. Jeweils eines der Signale wurde durch Zusatz von *Cholestanol* (V a), *Ergostanol* (VI a) und β -*Sitostanol* (VII a) zur chromatographierten Probe erhöht.

Präparative Gaschromatographie: Eine Probe der hydrierten Monohydroxy-Steroide wurde im Aerograph A-90 C an 10% SF 96 bei 178° im Heliumstrom (8 ccm/Min.) chromatographiert, die einzelnen Fraktionen (Retentionszeiten 71, 93, 118 Min.) in einer Kühlfalle aufgefangen und ihre Massenspektren gemessen. Wegen der hohen Säulentemperatur waren alle Fraktionen mit Siliconöl verunreinigt, das im Massenspektrum einen starken Untergrund hervorrief. Deshalb waren zwar die Molekülonen bei m/e 388, 402 bzw. 416 gut zu erkennen, die restlichen Spektren konnten aber nicht mit denen von reinem Cholestanol, Ergostanol bzw. β -Sitostanol verglichen werden. Kristallisation der dritten Fraktion (Retentionszeit 118 Min.) aus Methanol lieferte kleine Blättchen vom Schmp. 139–145°, die in allen Eigenschaften (Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum) mit authent. β -Sitostanol (VII a) identisch waren.

Die nicht hydrierten Monohydroxy-Steroide wurden auf die gleiche Weise an 3% SE-30 bei 240° chromatographiert. Retentionszeiten 27, 38 und 52 Min. Die massenspektroskopisch ermittelten Molekulargewichte (386 bzw. 400) der ersten beiden Fraktionen stimmten mit denen von Cholesterin und Campesterin überein. Die dritte Fraktion kristallisierte aus Methanol mit Schmp. 135–137° und wurde durch Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum als β -Sitosterin (VII b) identifiziert.

Gewinnung der polaren Steroide: Im Soxhlet-Apparat wurden 4.4 kg trockene, gemahlene Wurzeln von *Wilcoxia viperina* 6 Tage mit Äthanol extrahiert, die alkohol. Lösung (24 l) auf 500 ccm eingengt und mit 3 l Aceton versetzt. Nach Abfiltrieren von einem pulvrigen Niederschlag (75 g) und Abdestillieren des Acetons fügte man 2 l Äther zum Rückstand, wobei sich ein braunes, öliges Produkt abschied, von dem dekantiert wurde. Die Ätherlösung wurde 4 mal mit verd. Natronlauge, 2 mal mit verd. Salzsäure und anschließend mit Wasser gewaschen, bis die Waschflüssigkeit neutral war. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Verdampfen des Äthers löste man den Rückstand (52 g) in 400 ccm Benzol, chromatographierte diese Lösung an 3 kg Kieselgel (Light Co., 200–300 Mesh) und wusch zunächst mit 3 l Benzol und danach mit je der gleichen Menge Benzol/Äthylacetat (4:1) und Äthylacetat. Der Eindampfrückstand (18 g) der Äthylacetat-Fraktion wurde dann an 2 kg feinem Kieselgel (E. Merck, Darmstadt, Korngröße <0.08 mm) aus Äthylacetat rechromatographiert. Drei verschiedene Produkte wurden dabei isoliert, die aus Eisessig/Wasser kristallisierten und in der Reihenfolge ihrer Elution als Z_1 (806 mg), Z_2 (1.95 g) und Z_3 (1.65 g) bezeichnet wurden.

Peniocerol (II a): Die von der chromatographischen Trennung erhaltene Fraktion Z_3 wurde mehrmals aus wäbr. Methanol umkristallisiert und war in allen Eigenschaften (Schmp. 180–182°, Misch-Schmp., $[\alpha]_D^{25}$: +51.7° ($c = 0.715$), IR-, NMR- und Massenspektrum mit Peniocerol (II a) identisch. Dasselbe gilt auch für das Diacetat (mit Acetanhydrid/Pyridin erhalten), farblose Kristalle, Schmp. 49–51°, $[\alpha]_D^{25}$: +41.2° ($c = 1.19$).

Viperidon (XIII a): Die oben beschriebene Fraktion Z_2 kristallisierte aus Methanol/Wasser in feinen Nadeln vom Schmp. 208–210°, $[\alpha]_D^{25}$: –49.1° ($c = 1.12$).

$C_{27}H_{44}O_3 \cdot H_2O$ (416.6) Ber. C 74.61 H 10.67

Gef. C 74.27 H 10.28 Mol.-Gew. 416 (massenspektrometr.)

Viperidonacetat (XIII b): Eine Lösung von 51 mg Viperidon in 3 ccm Acetanhydrid und 1.5 ccm Pyridin ließ man 15 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, goß sie dann in 30 ccm Eiswasser und filtrierte nach 20 Min. das ausgefallene Acetat ab, das aus Benzol/Äthylacetat (4:1) durch eine kleine Säule aus Kieselgel filtrierte wurde. Der Verdampfungsrückstand des Eluates kristallisierte aus Benzol/Hexan in feinen Nadeln. Schmp. 190–191°, $[\alpha]_D^{25}$: –52.3° ($c = 0.99$).

$C_{29}H_{46}O_4$ (456.7) Ber. C 75.94 H 10.11

Gef. C 76.09 H 9.93 Mol.-Gew. 456 (massenspektrometr.)

Hydrierung von Viperidon (XIIIa): Eine Mischung von 200 mg XIIIa und 150 mg PtO₂ in 25 ccm Eisessig wurde bei 18° und Atmosphärendruck hydriert. Als nach 2 Stdn. die Wasserstoff-Aufnahme von 3 Moll. beendet war, filtrierte man vom Katalysator ab und dampfte zur Trockne ein. Der Rückstand wurde aus Eisessig/Wasser und anschließend 2 mal aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Schmp. 121°, $[\alpha]_D^{25}$: +22.0° ($c = 0.99$). Identifizierung als *Cholesten-(8(14))-ol-(3β)* (IXa) durch Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum.

Hydrierung von Viperidonacetat (XIIIb): Eine Lösung von 60 mg XIIIb in 15 ccm Eisessig wurde mit 30 mg PtO₂ 4 Stdn. hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators und Verdampfen des Lösungsmittels filtrierte man eine Lösung des Rückstandes in Benzol durch eine kurze Säule aus feinem Kieselgel. Aus dem Eluat kristallisierte *3β-Acetoxy-cholesten-(8(14))* (IXb) nach Einengen und Verdünnen mit Hexan in kleinen Blättchen. Schmp. 77°, Misch-Schmp. mit einem durch Acetylierung aus authent. IXa gewonnenen Präparat 77–80°; die IR-Spektren beider Substanzen waren deckungsgleich.

Desoxyviperidonacetat (Xb) und Viperidonacetat (XIVb): Eine Lösung von 350 mg der Fraktion Z₁ (s. o.) in 4 ccm Pyridin versetzte man mit 10 ccm Acetanhydrid und ließ 15 Stdn. bei Raumtemperatur stehen. Nach Verdünnen mit 100 ccm Eiswasser extrahierte man das gebildete Acetat mit Methylchlorid und chromatographierte den nach Verdampfen des Methylchlorids verbleibenden Rückstand aus Benzol/Äthylacetat (4:1) an 45 g feinem Kieselgel (E. Merck, Darmstadt, Korngröße <0.08 mm). 2 kristallisierte Verbindungen wurden erhalten. Die zuerst eluierte (Desoxyviperidonacetat), feine Nadeln aus Benzol/Hexan, schmolz bei 151°, $[\alpha]_D^{25}$: +3.6° ($c = 0.84$) und wurde durch Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum als *3β-Acetoxy-cholesten-(7)-on-(6)* (Xb) identifiziert.

Die zweite Verbindung (Viperidonacetat) kristallisierte aus Benzol/Hexan in farblosen Nadeln vom Schmp. 197–198°, $[\alpha]_D^{25}$: –20.6° ($c = 1.02$).

C₂₉H₄₆O₅ (474.7) Ber. C 73.38 H 9.77 1 CH₃CO 9.13

Gef. C 73.47 H 9.73 CH₃CO 9.25 Mol.-Gew. 474 (massenspektrometr.)

Hydrierung von Desoxyviperidonacetat (Xb): 10 mg Xb wurden, wie beim Viperidonacetat beschrieben, in 5 ccm Eisessig mit 5 mg PtO₂ hydriert. Das dabei erhaltene *3β-Acetoxy-cholesten-(8(14))* (IXb) schmolz bei 75–76° und wurde mit einer authent. Probe verglichen (Misch-Schmp. und IR-Spektrum).

Hydrierung von Viperidinonacetat (XIVb): Eine Lösung von 30 mg XIVb in 10 ccm Eisessig wurde mit 15 mg PtO₂ hydriert. Die Wasserstoff-Aufnahme betrug 4 Moll. Aufgearbeitet wurde, wie beim Viperidonacetat beschrieben, und man erhielt 18 mg *3β-Acetoxy-cholesten-(8(14))* (IXb) vom Schmp. 76–77°. Identifizierung durch Misch-Schmp. und IR-Spektrum.

3β-Hydroxy-cholesten-(7)-on-(6) (Xa): Eine Mischung aus 780 mg *Cholesten-(7)-diol-(3β.6a)* (XII) (hergestellt nach der Vorschrift von CAGLIOTTI, CAINELLI und MAINIA¹⁵⁾) und 900 mg 2.3-Dichlor-5.6-dicyan-benzochinon in 20 ccm trockenem, über Lithiumaluminiumhydrid destilliertem Dioxan ließ man 20 Stdn. bei Raumtemperatur stehen, filtrierte vom ausgefallenen Hydrochinon ab und dampfte zur Trockne ein. Die Lösung des rotbraunen Rückstandes in Chloroform wurde an 30 g neutralem Aluminiumoxid (Aktivität III) chromatographiert, und aus dem Eluat wurden nach Umkristallisieren aus wäbr. Aceton 420 mg Xa gewonnen. Schmp. 194–196°, $[\alpha]_D^{25}$: +0.6° ($c = 1.00$).

C₂₇H₄₄O₂ (400.6) Ber. C 80.94 H 11.07 Gef. C 80.67 H 11.03

3β-Acetoxy-cholesten-(7)-on-(6) (Xb): 40 mg Xa wurden, wie beim Viperidonacetat beschrieben, acetyliert. Aus Benzol/Hexan 34 mg feine Nadeln vom Schmp. 151–152°, $[\alpha]_D^{25}$: +3.96° ($c = 1.01$).

C₂₉H₄₆O₃ (442.7) Ber. C 78.68 H 10.47 Gef. C 78.65 H 10.21