

Helmut Ripperger, Herbert Budzikiewicz und Klaus Schreiber

Solanum-Alkaloide, LXXIX¹⁾

Jurubin, ein stickstoffhaltiges Steroidsaponin neuartigen Strukturtyps aus *Solanum paniculatum* L.; über die Struktur von Paniculidin²⁾

Aus dem Institut für Kulturpflanzenforschung der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Gatersleben, und dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Braunschweig

(Eingegangen am 24. November 1966)

Für das aus Wurzeln von *Solanum paniculatum* L. (*Solanaceae*) isolierte stickstoffhaltige Steroidsaponin Jurubin wurde die Struktur (25*S*)-3 β -Amino-*O*-(26)- β -*D*-glucopyranosyl-5 α -furostandiol-(22 α ,26) (**8**) bewiesen. Jurubin ergab bei mineral-saurer bzw. enzymatischer Hydrolyse Jurubidin [(25*S*)-3 β -Amino-5 α .22 α -*O*-spirostan, **1**] und *D*-Glucose. **1** ließ sich zu Neotigogenin (**4**) desaminieren und wurde aus diesem über Neotigogenon (**6**) und dessen Oxim **7** synthetisiert. Das 1961 von Meyer und Bernoulli³⁾ aus *S. paniculatum* isolierte Paniculidin erwies sich auf Grund massen-, kernresonanz- und infrarotspektroskopischer Untersuchungen sowie weiterer Befunde als ein Gemisch von 9 α -Hydroxy-jurubidin (**19a**) und dessen (25*R*)-Stereoisomerem (9 α -Hydroxy-25-*iso*-jurubidin, **19b**).

Vor einigen Jahren berichteten Meyer und Bernoulli³⁾ über das Vorkommen von Paniculidin und zwei weiteren Alkaloiden in Stengeln und vor allem Wurzeln von *Solanum paniculatum* L., einer im tropischen Brasilien beheimateten Solanacee, die unter dem Namen „Jurubeba“ oder „Juripeba“ in der brasilianischen Volksmedizin verbreitet Anwendung findet⁴⁾. Nach diesen Autoren handelt es sich bei dem Hauptalkaloid Paniculidin um ein Steroidalkaloid bisher unbekanntem Typs der Summenformel C₂₆H₄₃NO₃ vom Schmp. 228–244° und $[\alpha]_D$: –82.2° (Chloroform). Die mit PtO₂/Eisessig nicht hydrierbare Substanz soll eine primäre Aminogruppe besitzen und bei Acetylierung ein *N*-Monoacetyl-Derivat liefern. Eines der weiterhin nachgewiesenen Alkaloide wurde als ein mit Paniculin bezeichnetes Paniculidinglucosid erkannt. Die dritte Substanz ist vermutlich ebenfalls ein Glykosid; nach Hydrolyse und Acetylierung ließ sich das Acetylderivat einer mit Paniculidin nicht identischen weiteren Verbindung („Substanz A₁“) gewinnen.

1) LXXVIII. Mittel.: K. Schreiber und H. Ripperger, Tetrahedron Letters [London] 1966, 5997.

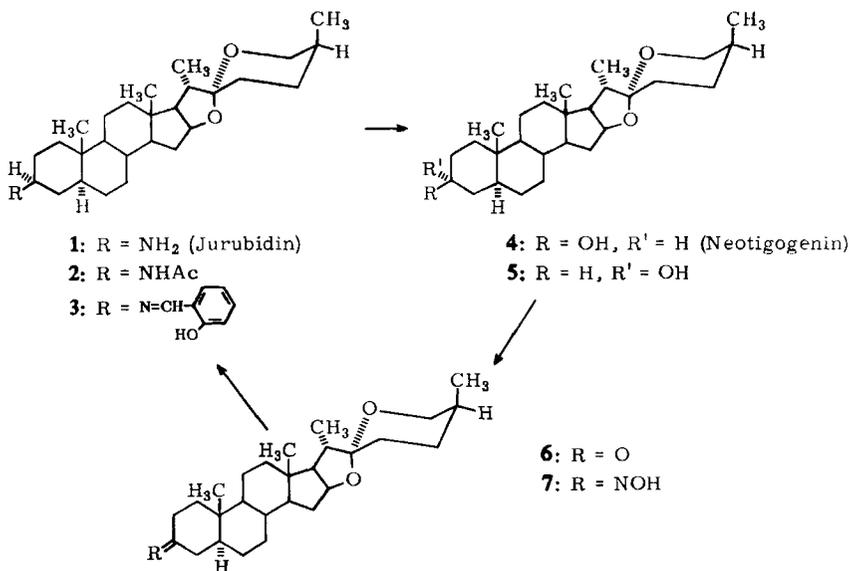
2) Vorläuf. Mittel.: K. Schreiber, H. Ripperger und H. Budzikiewicz, Tetrahedron Letters [London] 1965, 3999, sowie l. c.¹⁾.

3) K. Meyer und F. Bernoulli, Pharmaz. Acta Helvetiae 36, 80 (1961).

4) Vgl. auch K. Stopp, Tagungsber. dtsh. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin Nr. 27, 255 (1961).

Im folgenden wird über eine erneute Untersuchung von *S. paniculatum* berichtet. Dabei konnte in Wurzeln von in Gatersleben kultivierten Pflanzen weder Paniculidin noch Paniculin nachgewiesen werden. Statt dessen isolierten wir in etwa 0.04-proz. Ausbeute ein kristallines Alkaloidglykosid, für das wir in Anlehnung an den brasilianischen Pflanzennamen die Bezeichnung Jurubin vorschlagen. Bei mineralaurer Hydrolyse von Jurubin entstand neben 1 Mol D-Glucose als zuckerfreies Spaltstück ein mit Paniculidin gleichfalls nicht identisches Steroidalkamin, Jurubidin, bei dem es sich — wie nachstehend bewiesen wird — um (25*S*)- β -Amino-5 α .22 α -O-spirostan (1) handelt.

Jurubidin



Das neue stickstoffhaltige Sapogenin (1) vom Schmp. 182—186° und $[\alpha]_D^{25}$: -78.7° (CHCl₃) bzw. -51.2° (Pyridin) besitzt nach Elementaranalyse und Massenspektrum die Summenformel C₂₇H₄₅NO₂. Zur weiteren Charakterisierung von 1 wurden das Hydrochlorid, das *N*-Acetyl-Derivat 2 und die *N*-Salicyliden-Verbindung 3 dargestellt. Das massenspektrometrische Fragmentierungsmuster von Jurubidin (1) entspricht dem eines 3-Amino-spirostan (vgl. Abbild. 1 und Schema 1)⁵⁾. Die (25*S*)-Konfiguration ergab sich aus dem IR-Spektrum von 1, 2 und 3 (Spiroketalbande bei etwa 920/cm wesentlich intensiver als jene bei 896/cm)⁶⁾ wie auch aus dem NMR-Spektrum von 2 (vgl. Tab. 3). Der positive Zirkulardichroismus von *N*-Salicyliden-jurubidin (3) bei 310 nm bewies die β -Konfiguration der 3-Amino-Gruppe⁷⁾. Bei

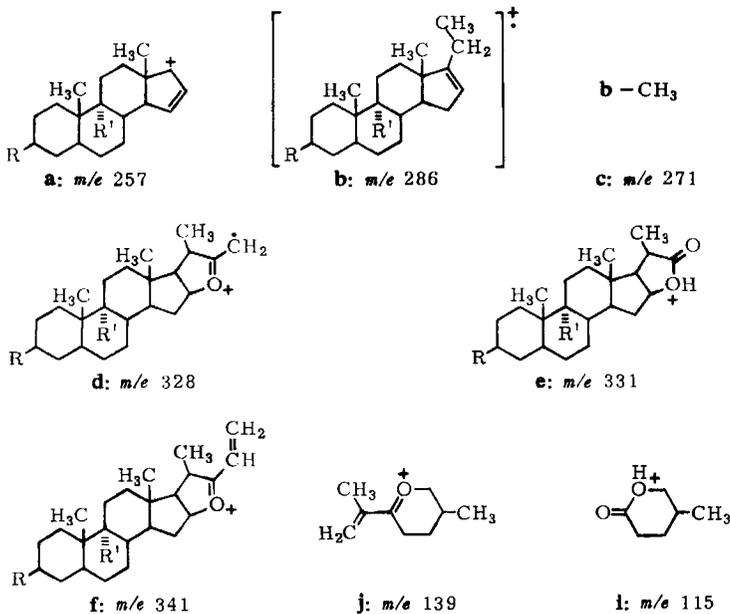
5) H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi, *Mh. Chem.* **93**, 1033 (1962); H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, *Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Volume II: Steroids, Terpenoids, Sugars, and Miscellaneous Classes*, S. 8 und 110, Holden-Day, San Francisco-London-Amsterdam 1964.

6) Vgl. M. E. Wall, C. R. Eddy, M. L. McClennan und M. E. Klumpp, *Analytic. Chem.* **24**, 1337 (1952); C. R. Eddy, M. E. Wall und M. Klumpp Scott, ebenda **25**, 266 (1953).

7) Vgl. H. Ripperger, K. Schreiber, G. Snatzke und K. Heller, *Z. Chem.* **5**, 62 (1965).

Desaminierung von **1** mit salpetriger Säure entstand in Einklang mit den Erwartungen für eine äquatoriale Aminogruppe⁸⁾ in 41-proz. Ausbeute Neotigogenin [(25*S*)-5 α .22 α -Spirostanol-(3 β), **4**]^{9,10)} sowie in 19-proz. Ausbeute das bisher noch unbekannte⁹⁾ (25*S*)-5 α .22 α -Spirostanol-(3 α) (**5**), dessen Struktur sich aus dem Massenspektrum (Spirostanol-(3)-Fragmentierungsmuster, vgl. Schema 1) und IR-Spektrum (C—OH-Schwingung bei 1003/cm: axiales Hydroxyl) ergab. Damit war die Struktur von Jurubidin als (25*S*)-3 β -Amino-5 α .22 α -Spirostan (**1**) bewiesen. Jurubidin repräsentiert ein Steroidalkaloid neuartigen Strukturtyps, bei dem die 3 β -Hydroxygruppe des Steroidsapogenins Neotigogenin (**4**) durch eine primäre Aminogruppe ersetzt ist. Diese Struktur wurde durch die Synthese von **1** aus **4** bestätigt. Das über Neotigogenin (**6**) und dessen Oxim (**7**) dargestellte Aminospirostan **1** erwies sich in allen Eigenschaften mit Jurubidin als identisch. Auch die *N*-Acetyl- und *N*-Salicyliden-Derivate **2** und **3** beider Präparate zeigten keine Unterschiede. 3-Desoxy-3 β -amino-

Schema 1: Massenspektrometrisches Spirostan-Fragmentierungsmuster ^{*)}



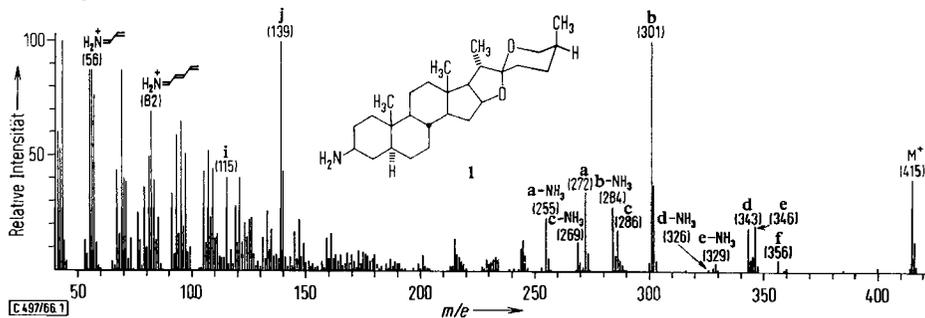
^{*)} Die angeführten *m/e*-Werte beziehen sich auf
 R = R' = H. Bei **1**: R = NH₂, R' = H; **2**: R = NHAc,
 R' = H; **5**: R = OH, R' = H; **19**: R = NH₂, R' = OH

⁸⁾ Bezüglich der Desaminierung von 3-Amino-Steroiden mit salpetriger Säure vgl. C. W. Shoppee, D. E. Evans und G. H. R. Summers, J. chem. Soc. [London] 1957, 97; K. Schreiber und H. Ripperger, Liebigs Ann. Chem. 655, 136 (1962); 672, 232 (1964); E. H. White und F. W. Bachelor, Tetrahedron Letters [London] 1965, 77.

⁹⁾ Vgl. J. Jacques, H. Kagan und G. Ourisson, Selected Constants, Optical Rotatory Power, 1a. Steroids, Pergamon Press, Oxford-London-Edinburgh-Paris-New York-Frankfurt 1965.

¹⁰⁾ Für die freundliche Überlassung von authent. Neotigogenin und dessen Acetat danken wir Herrn Dr. R. K. Callow, London, sehr herzlich.

tigogenin und weitere 3-Amino-spirostande der (25*R*)-Reihe sind bereits früher auf analoge Weise von Wall und Mitarbb.¹¹⁾ synthetisiert worden.



Abbild. 1. Elektronenstoß-Massenspektrum von Jurubidin (1)

Jurubin

Das bei saurer Hydrolyse Jurubidin (1) und 1 Mol Glucose liefernde Steroidalkaloidglykosid Jurubin ließ sich auch enzymatisch mit Emulsin spalten, wobei gleichfalls ausschließlich 1 gebildet wurde. Da Jurubin wie Jurubidin eine freie primäre Aminogruppe besitzt, kann das Glucosid nicht als Spiroketalverbindung vorliegen, sondern muß eine Ring-E- oder Ring-F-offene Struktur aufweisen mit Bindung des Zuckers an die dann freie Hydroxygruppe an C-16 oder C-26. Dies ist tatsächlich der Fall, und Jurubin besitzt — wie nachstehend gezeigt wird — die Struktur (25*S*)-3 β -Amino-*O*(26)- β -*D*-glucopyranosyl-5 α -furostandiol-(22 α ,26) (8). Das bei saurer oder enzymatischer Hydrolyse von 8 primär entstehende Aglykon 11 ließ sich nicht isolieren. Dieses Hemiketal 11 bzw. sein intermediär gebildetes Δ^{22} -Dehydratisierungsprodukt 12 wird vielmehr unter den angewendeten Reaktionsbedingungen spontan und stereospezifisch zu dem 3-Amino-spirostan 1 cyclisiert, wie von H. Hirschmann und F. B. Hirschmann¹²⁾ bei Untersuchung analoger Furostenderivate festgestellt wurde.

Jurubin (8) wurde durch seine *N*-Salicyliden-, *N*-[4-Brom-benzyliden]- und Pentaacetyl-Derivate (9, 10, 14) näher charakterisiert. Die Acetylverbindung 14 ließ sich durch Erhitzen mit Essigsäure zum $\Delta^{20(22)}$ -Furosten 13 dehydratisieren, dessen Enoläthergruppierung im IR-Spektrum zu erkennen ist (Bande bei 1697/cm). Hydrierung von 13 mit Platin in Essigsäure ergab die Dihydroverbindung 15, deren Partialhydrolyse (25*S*)-3 β -Acetamino-5 α .20 α H.22 α H-furostanol-(26) (17) lieferte. Die Struktur dieser Verbindung folgte aus deren Synthese auf einem unabhängigen Weg. Hierzu wurde *N*-Acetyl-jurubidin (2) durch Erhitzen mit Acetanhydrid in Gegenwart von Pyridinhydrochlorid¹³⁾ in *N*.*O*-Diacetyl-pseudojurubidin [(25*S*)-3 β -Acetamino-26-acetoxy- $\Delta^{20(22)}$ -5 α -furosten, 16] übergeführt. Katalytische Hydrierung der $\Delta^{20(22)}$ -Doppelbindung in 16 unter α -seitigem Angriff¹⁴⁾ und anschließende alkalische Ver-

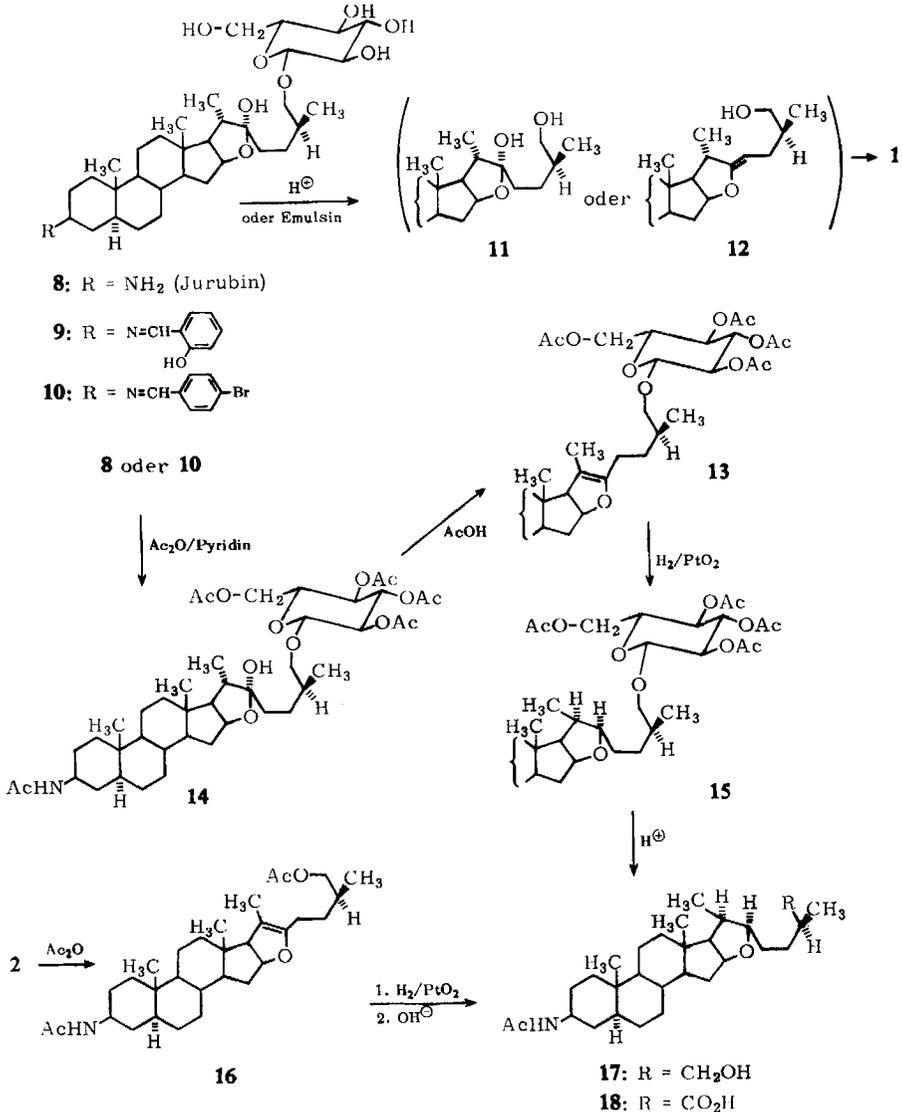
¹¹⁾ M. E. Wall, T. Perlstein und S. G. Levine, J. Amer. chem. Soc. **82**, 1444 (1960).

¹²⁾ H. Hirschmann und F. B. Hirschmann, Tetrahedron [London] **3**, 243 (1958).

¹³⁾ Zur Methodik vgl. G. P. Mueller, Nature [London] **181**, 771 (1958).

¹⁴⁾ Vgl. M. E. Wall, C. R. Eddy und S. Serota, J. Amer. chem. Soc. **76**, 2849 (1954); **77**, 1230 (1955); M. E. Wall und S. Serota, ebenda **76**, 2850 (1954); C. W. Shoppee, Chemistry of the Steroids, 2. Aufl., S. 405, Butterworths, London 1964.

seifung der 26-Acetoxy-Gruppe ergab eine Verbindung, die in allen Eigenschaften mit dem aus Pentaacetyl-jurubin (**14**) gewonnenen Furostanderivat **17** identisch war. In Bestätigung dieser Befunde lieferte die Oxydation von **17** mit Kiliani-Reagens eine Säure, bei der es sich um (25*S*)-3 β -Acetamino-5 α ,20 α H,22 α H-furostansäure-(26) (**18**) handelt.



Für das Hemiketalkohlenstoffatom C-22 in Jurubin (**8**) wird auf Grund der Arbeiten von Hirschmann und Hirschmann¹²⁾ an (25*R*)-22-Hydroxy- und -22-Alkoxy-furostanen

sowie der dortigen Schlußfolgerungen die energetisch begünstigte (22*R*)-Konfiguration (α -Stellung der 22-Hydroxy-Gruppe) angenommen. Die β -D-Pyranose-Struktur der Glucose in **8** folgt aus dessen leichter Spaltbarkeit durch die β -Glucosidase Emulsin¹⁵⁾.

Damit unterscheidet sich Jurubin (**8**) von den bisher bekannten Verbindungen dieser Art¹⁶⁾ in zweifacher Hinsicht: 1. durch das Fehlen einer sonst immer festgestellten Sauerstofffunktion an C-3, die durch eine primäre β -ständige Aminogruppe ersetzt ist, 2. durch das Vorliegen eines Furostangrundgerüsts und Stellung der Kohlenhydratkomponente an C-26 und nicht wie üblich an C-3^{16,17)}. Damit handelt es sich bei dem Spirostanderivat Jurubidin (**1**) um ein Artefakt, das erst im Zuge der Hydrolyse von **8** durch Cyclisierung des eigentlichen Aglykons, des Furostans **11**, gebildet wird.

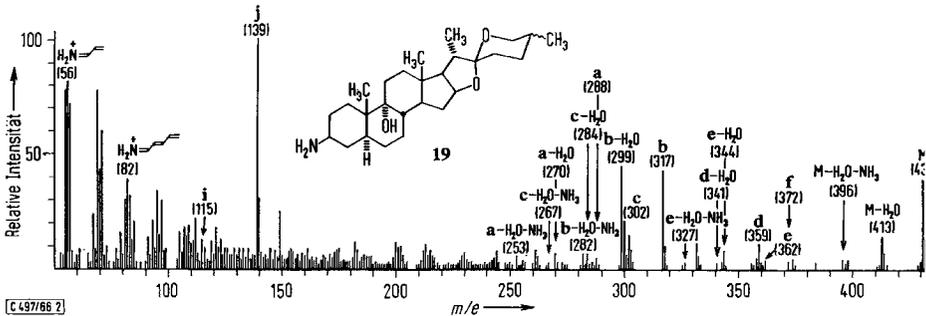
Bereits vor etwa 20 Jahren hatten Marker und Mitarbb.¹⁸⁾ vermutet, daß die natürlich vorkommenden Steroidsaponine keine Spiroketalstruktur, sondern eine offene Seitenkette besitzen, wobei der Ringschluß zum Spirostan durch Glykosylierung der Hydroxygruppe an C-16 oder C-26 verhindert sein sollte. In späteren Untersuchungen, insbesondere von Wall und Mitarbb.^{19,20)}, konnte dies nicht bestätigt werden. So zeigten alle überprüften¹⁹⁾ Saponinpräparate die gleichen vier Infrarotbanden bei etwa 980, 920, 900 und 860/cm, die als besonders charakteristisch für die Spiroketalseitenkette der entsprechenden zuckerfreien Spirosterane erkannt worden waren⁶⁾. Auch der Befund, daß bei enzymatischer Spaltung die gleichen Aglykone wie bei Säurehydrolyse entstehen, wurde als wichtiger Hinweis für das Vorliegen einer Spirostan-gruppierung auch in den Saponinen gedeutet²⁰⁾. Isolierung und Strukturaufklärung von Jurubin (**8**) zeigen, daß zumindest in Ausnahmefällen die früheren Vorstellungen von Marker¹⁸⁾ zutreffen.

Eine hämolytische Aktivität von Jurubin war weder bei pH 5.32 noch bei pH 8.90 nachweisbar²¹⁾.

- ¹⁵⁾ Vgl. K. Wallenfels und H. Diekmann in Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse für Ärzte, Biologen und Chemiker (Hoppe-Seyler/Thierfelder), Bd. 6, Teil B, S. 1156, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1966.
- ¹⁶⁾ Vgl. R. Tschesche in H. Lettré, H. H. Inhoffen und R. Tschesche, Über Sterine, Gallensäuren und verwandte Naturstoffe, 2. Aufl., Bd. 1, S. 208, F. Enke Verlag, Stuttgart 1954; R. Tschesche und G. Wulff, Planta med. [Stuttgart] **12**, 272 (1964); N. K. Kochetkov und A. J. Khorlin, Arzneimittel-Forsch. **16**, 101 (1966).
- ¹⁷⁾ Ein weiteres Steroidsaponin, dessen Kohlenhydratkomponente nicht an O(3) gebunden ist, liegt im Yononin, (25*R*)-O(2)- α -L-Arabinopyranosyl-5 β .22 α O-spirostandiol-(2 β .3 α), vor; T. Kawasaki und K. Miyahara, Tetrahedron [London] **21**, 3633 (1965). Auch bei dem aus *Solanum hispidum* Pers. isolierten Steroidsaponin Hispidin, das bei Hydrolyse (25*R*)-12 β -Hydroxy-5 α .22 α O-spirostanon-(3) liefert, ist eine Verknüpfung der Zuckerkomponente über eine 3-Hydroxy-Gruppe nicht möglich; P. C. Maiti und S. Mookherjee, Chem. and Ind. **1965**, 1653.
- ¹⁸⁾ R. E. Marker, R. B. Wagner, P. R. Ulshafer, E. L. Wittbecker, D. P. J. Goldsmith und C. H. Ruof, J. Amer. chem. Soc. **69**, 2167 (1947); R. E. Marker und J. Lopez, ebenda **69**, 2390 (1947); vgl. L. F. Fieser und M. Fieser, Natural Products Related to Phenanthrene, 3. Aufl., S. 588, Reinhold Publishing Corporation, New York 1949.
- ¹⁹⁾ E. S. Rothman, M. E. Wall und C. R. Eddy, J. Amer. chem. Soc. **74**, 4013 (1952); vgl. l. c.¹⁶⁾.
- ²⁰⁾ M. M. Krider und M. E. Wall, J. Amer. chem. Soc. **74**, 3201 (1952); **76**, 2938 (1954); M. M. Krider, T. C. Cordon und M. E. Wall, ebenda **76**, 3515 (1954).
- ²¹⁾ Der hämolytische Index wurde nach I. Mazurek, Pharmazie **9**, 310 (1954), bestimmt; isotonischer Acetat/Veronal-Puffer nach L. Michaelis, Biochem. Z. **234**, 139 (1931).

Paniculidin

Das von Meyer und Bernoulli³⁾ aus *S. paniculatum* isolierte Paniculidin besitzt nach unseren massenspektrometrischen Untersuchungen²²⁾ nicht die früher³⁾ angenommene Elementarzusammensetzung $C_{26}H_{43}NO_3$, sondern die Summenformel $C_{27}H_{45}NO_3$. Das massenspektrometrische Fragmentierungsmuster entspricht dem eines 3-Amino-spirostanols (vgl. Abbild. 2 und Schema 1, R = NH₂, OH an den C-Atomen 8, 9, 11,



Abbild. 2. Elektronenstoß-Massenspektrum von Paniculidin (19)

12, 14, 15, 16, 18 oder 19). Die auch infrarotspektroskopisch nachweisbare Hydroxygruppe³⁾ läßt sich weder mit Acetanhydrid/Pyridin acetylieren³⁾ noch mit Chrom(VI)-oxid dehydrieren²³⁾, so daß es sich hier um eine tertiäre handeln dürfte. Auf Grund dieses chemischen Verhaltens von Paniculidin und seines Massenspektrums verbleiben als mögliche Stellungen der OH-Gruppe lediglich die C-Atome 8, 9, 14 oder 16. Eine Entscheidung hierüber konnte durch kernmagnetische Resonanzuntersuchungen getroffen werden, und zwar durch Vergleich der chemischen Verschiebung der Signale für die Methylgruppen C-18 und C-19 von *N*-Acetyl-paniculidin²²⁾ und *N*-Acetyl-jurubidin (2). Wie Tab. 1 zeigt, liegt das Signal der C-18-Methylgruppe beider Ver-

Tab. 1. NMR-Signale der Methylgruppen C-18 und C-19 *)

Verbindung	18-H	19-H
<i>N</i> -Acetyl-paniculidin (20)	0.74	0.90
<i>N</i> -Acetyl-jurubidin (2)	0.74	0.79
3β-Acetamino-5α-solanidan (21)	0.81	0.78
3β-Acetoxy-5α-solanidan (22)	0.82	0.82

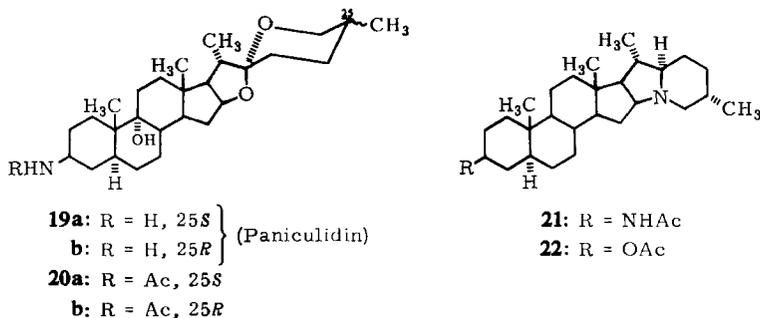
*) Die auf Tetramethylsilan als inneren Standard ($\delta = 0$) bezogenen δ -Werte wurden durch Frequenzmessungen überprüft und sind auf 0.01 ppm genau.

bindungen einheitlich bei $\delta = 0.74$ ppm, während jenes der C-19-Protonen von *N*-Acetyl-paniculidin im Vergleich zu dem von 2 um 0.11 ppm paramagnetisch verschoben ist. Unter der Voraussetzung, daß dem Paniculidin wie dem Jurubidin ein 5 α .14 α -Steroidgerüst zugrunde liegt, sind diese Befunde nur bei Annahme einer 9 α -

²²⁾ Für die freundliche Überlassung von Paniculidin, *N*-Acetyl-paniculidin und einigen Rohalkaloidpräparaten aus *S. paniculatum* sind wir Herrn Prof. Dr. K. Meyer, Basel, sehr verbunden.

²³⁾ K. Meyer, persönliche Mitteilung.

Stellung für die zusätzliche Hydroxygruppe mit den von Zürcher²⁴⁾ ermittelten Inkrementen in Einklang zu bringen (Verschiebung für 18-H ber. und gef. 0.00 ppm, für 19-H ber. +0.14, gef. +0.11 ppm)²⁵⁾. Die eindeutige Zuordnung der 18-H- und 19-H-Signale von *N*-Acetyl-jurubidin (**2**) war durch Vergleich mit den NMR-Spektren von 3 β -Acetamino- (**21**)²⁷⁾ und 3 β -Acetoxy-5 α -solanidan (**22**)²⁸⁾ möglich (vgl. Tab. 1). So muß bei den Verbindungen **2** und **21** die Resonanz für das Methyl C-19, bei **21** und **22** dagegen die Resonanz für das C-18-Methyl bei gleicher Feldstärke liegen.



Die optischen Drehwerte von Jurubidin und Paniculidin sowie die ihrer *N*-Acetyl-Derivate korrespondieren mit der Annahme einer 9 α -Hydroxy-Struktur für Paniculidin (vgl. Tab. 2). Die angenommene Stereochemie von Paniculidin an C-3 und C-5 (3 β -Amino-5 α -spirostan) wird durch die negative molare Rotationsdifferenz bei *N*-Acetylierung gesichert ($\Delta[M]_D$: $-11^{\circ 3)$; der entsprechende Wert bei Jurubidin (**1** \rightarrow **2**)

Tab. 2. Molare Rotationsdifferenz für 9 α -Hydroxylierung

Grundverbindung	$[M]_D^b$	9 α -Hydroxy-Verbindung	$[M]_D^b$	$[M]_D^b - [M]_D^b$
Jurubidin (1)	-327°	Paniculidin (19)	$-355^{\circ 3)$	-28°
<i>N</i> -Acetyl-jurubidin (2)	-353°	<i>N</i> -Acetyl-paniculidin (20)	$-366^{\circ 3)$	-13°
Soladulcidin	$-208^{\circ 29)$	9 α -Hydroxy-soladulcidin	$-278^{\circ 30)$	-70°
5 α .6-Dihydro-conessin	$+172^{\circ 31)$	9 α -Hydroxy-5 α .6-dihydro-conessin	$+131^{\circ 26)$	-41°
3 β -Acetoxy-5 α -pregnanon-(20)	$+274^{\circ 9)$	9 α -Hydroxy-3 β -acetoxy-5 α -pregnanon-(20)	$+238^{\circ 32)$	-36°

24) R. F. Zürcher, *Helv. chim. Acta* **46**, 2054 (1963); vgl. N. S. Bhacca und D. H. Williams, *Applications of NMR Spectroscopy in Organic Chemistry*, Illustrations from the Steroid Field, S. 13, Holden-Day, San Francisco-London-Amsterdam 1964.

25) Vgl. hierzu analoge Befunde bei 9 α -Hydroxy-conessin²⁶⁾. Nach l. c.²⁴⁾ würde eine 8 β -Hydroxy-Gruppe beide Methylsignale um je +0.18 ppm, eine 14 α -Hydroxy-Gruppe jedoch lediglich das Signal des C-18-Methyls um +0.12 ppm verschieben. Auch eine 16-ständige OH-Gruppe sollte nur die chemische Verschiebung des 18-H-Signals und nicht jene des 19-H-Signals beeinflussen.

26) A. F. Marx, H. C. Beck, W. F. van der Waard und J. de Flines, *Steroids* **8**, 391 (1966).

27) K. Schreiber und H. Ripperger, *Liebigs Ann. Chem.* **655**, 136 (1962).

28) V. Prelog und S. Szpilfogel, *Helv. chim. Acta* **27**, 390 (1944).

29) K. Schreiber und G. Adam, *Liebigs Ann. Chem.* **666**, 155 (1963).

30) Y. Sato, J. A. Waters und H. Kaneko, *J. org. Chemistry* **29**, 3732 (1964).

31) Vgl. R. Goutarel, *Les alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées*, Hermann, Paris 1964.

32) Y. Sato und S. Hayakawa, *J. org. Chemistry* **28**, 2739 (1963).

beträgt $\Delta[M]_D$: -26° ; vgl. Tab. 2 und l. c.³³⁾). Sowohl nach dem IR-Spektrum (Banden etwa gleicher Intensität bei 920 und 897/cm)⁶⁾ als auch dem NMR-Spektrum (vgl. Tab. 3) von *N*-Acetyl-paniculidin handelt es sich hier nicht um eine einheitliche Verbindung, sondern um ein Gemisch der entsprechenden 25-Stereoisomeren **20a** und **b***). Das gleiche trifft vermutlich auch für Paniculidin zu, das damit ein Gemisch von 9 α -Hydroxy-jurubidin (**19a**) und 9 α -Hydroxy-25-*iso*-jurubidin (**19b**) darstellt.

Tab. 3. NMR-Signale der Protonen an C-21, C-26 und C-27 bei (22*R*)-Spirostanen *)

Verbindung	21-H	26-H	27-H
<i>N</i> -Acetyl-jurubidin (2)	1.08 (25 <i>S</i>)	3.26/3.93 (25 <i>S</i>)	0.99 (25 <i>S</i>)
<i>N</i> -Acetyl-paniculidin (20)	~1.00 (25 <i>R</i>)	3.40 (25 <i>R</i>)	~0.80 (25 <i>R</i>)
	1.11 (25 <i>S</i>)	3.24/3.89 (25 <i>S</i>)	~1.00 (25 <i>S</i>)
Literatur a)	0.97 (25 <i>R</i>)	~3.4 (25 <i>R</i>)	0.80 (25 <i>R</i>)
	1.09 (25 <i>S</i>)	3.30/3.98 (25 <i>S</i>)	1.00 (25 <i>S</i>)

*) δ -Werte in ppm, bezogen auf Tetramethylsilan als inneren Standard ($\delta = 0$).

a) P. M. Boll und W. v. Phillipsborn, Acta chem. scand. 19, 1365 (1965); vgl. auch W. E. Rosen, J. B. Ziegler, A. C. Shabica und J. N. Shoolery, J. Amer. chem. Soc. 81, 1687 (1959); J. P. Kutney, Steroids 2, 225 (1963); R. K. Callow, V. H. T. James, O. Kennard, J. E. Page, P. N. Paton und L. Riva di Sanseverino, J. chem. Soc. [London] Part C 1966, 288.

Das von Meyer und Bernoulli³⁾ in *S. paniculatum* festgestellte und als Acetylderivat isolierte zuckerfreie Nebenalkaloid („Substanz A₁“) ist höchstwahrscheinlich im wesentlichen mit 9-Desoxy-paniculidin identisch. So zeigte die nochmals durch präparative Dünnschichtchromatographie gereinigte „Acetyl-A₁-Verbindung“^{3,22)} gleiches dünn-schichtchromatographisches Verhalten und ähnliche physikalische Konstanten (Schmp. 256–257°, Sublimation ab 230°, $[\alpha]_D$: -82.7° in CHCl₃) wie *N*-Acetyl-jurubidin (**2**) (Schmp. 267–269°, Sublimation ab 230°, $[\alpha]_D$: -77.1° in CHCl₃). Allerdings wichen die IR-Spektren beider Präparate deutlich voneinander ab. So ließ das IR-Spektrum der „Acetyl-A₁-Verbindung“ erkennen (Banden etwa gleicher Intensität bei 920 und 897/cm)⁶⁾, daß hier, wie bei Paniculidin (**19a** und **b**), ein 25-Stereoisomere ngemisch vorliegen dürfte, d. h. ein Gemisch von *N*-Acetyl-jurubidin (**2**) und *N*-Acetyl-25-*iso*-jurubidin. Nach dem Massenspektrum enthält das Präparat noch die entsprechenden Δ^5 -ungesättigten Verbindungen, jedoch auf Grund der spezifischen Drehung offensichtlich in nur sehr geringen Mengen. Nach diesen Befunden erscheint es nicht ausgeschlossen, daß das von den Schweizer Autoren³⁾ isolierte Nebenalkaloidglykosid („Substanz C“) hauptsächlich aus Jurubin (**8**) und 25-*iso*-Jurubin besteht. Bemerkenswert ist jedoch, daß „Substanz C“ nach den papierchromatographischen Ergebnissen polarer ist als das Glucosid Paniculin, obgleich die entsprechenden Hydrolyseprodukte **1** und **19** erwartungsgemäß ein entgegengesetztes Verhalten zeigen³⁾.

*) Nachtrag b. d. Korr. (9. 3. 1967): Auch gaschromatographisch (1% OV-17 auf Gas Chrom P, 80–100 mesh, $t = 275^\circ$, Cholesterin als Standard) ließen sich zwei Komponenten mit den relativen Retentionszeiten 10.6 und 11.2 im Mengenverhältnis von etwa 2:1 nachweisen. Nach W. J. A. Vanden Heuvel und E. C. Horning, J. org. Chemistry 26, 634 (1961), sollte die kürzere Retentionszeit der (25*R*)-Verbindung zuzuordnen sein, die demnach hier Hauptbestandteil ist. Für die gaschromatographische Untersuchung danken wir Herrn Dr. N. Ikekawa, Tokyo, sehr herzlich.

³³⁾ K. Schreiber und H. Ripperger, Liebigs Ann. Chem. 655, 114 (1962).

Ungeklärt ist, weshalb sich das von Meyer und Bernoulli³⁾ bzw. von uns untersuchte Pflanzenmaterial durch ein so unterschiedliches Alkaloidvorkommen auszeichnet. Mögliche Erklärungen wären, daß sich die entsprechenden Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte in verschiedenen Entwicklungsstadien befanden, daß unter tropischen Kulturbedingungen andere Biosyntheseendprodukte auftreten als bei Anzucht der Pflanzen in Mitteleuropa bzw. daß hier — wie auch bei *S. dulcamara* beobachtet³⁴⁾ — Chemovarietäten vorliegen. Allerdings wurde von Meyer und Bernoulli³⁾ in Brasilien gewonnene Trockendroge, von uns hingegen unter möglichst schonenden Bedingungen aufbereitetes Pflanzenmaterial zur Alkaloidgewinnung verwendet. Somit erscheint es nicht ausgeschlossen, daß unter den sicherlich nicht mehr feststellbaren Trocknungsbedingungen der ersten Untersuchung mikrobielle Umwandlungen eingetreten sind, das heißt 9 α -Hydroxylierung von Jurubin und enzymatische Spaltung der Glucoside. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß bei der mikrobiellen Hydroxylierung der Spirosolan-Steroidalkaloide Solasodin^{32,35)} und Soladulcidin³⁰⁾ durch den Pilz *Helicostylum piriforme* ebenfalls hauptsächlich Einführung einer 9 α -Hydroxy-Gruppe festgestellt wurde^{*)}. Ebenso wurde 9 α -Hydroxylierung von Conessin durch den Pilz *Botryodiplodia theobromae* Pat. beobachtet²⁶⁾. Auch über die mikrobielle Abspaltung der Kohlenhydratkomponente von Steroidsaponinen durch Pilze verschiedener Art ist bereits berichtet worden³⁶⁾. Die möglichen Gründe zur Erklärung der oftmals unterschiedlichen Literaturbefunde bezüglich des Vorkommens 25-stereoisomerer Spirostanole in einer Pflanzenart sind von Willuhn³⁷⁾ diskutiert worden.

In Blättern bzw. unreifen Früchten von *S. paniculatum* konnten wir keine Alkaloide nachweisen. Statt dessen isolierten wir aus Blättern Glykoside der bisher noch nicht in der Natur aufgefundenen stickstofffreien Spirostan-Sapogenine Neochlorogenin [(25*S*)-5 α .22 α O-Spirostandiol-(3 β .6 α)] und Paniculogenin [(23*S*: 25*S*)-5 α .22 α O-Spirostantriol-(3 β .6 α .23)], worüber gesondert berichtet wird³⁸⁾.

Das Samenmaterial verdanken wir Herrn Dr. O. R. Gottlieb, Rio de Janeiro, den Anbau der Pflanzen Herrn Dr. G. Sembäner, Gatersleben, sowie der Gärtnerei der Chemisch-physiologischen Abteilung des Gaterslebener Instituts und die taxonomische Überprüfung der untersuchten Pflanzen Herrn Prof. Dr. S. Danert, Gatersleben. Für Mithilfe bei Aufarbeitung des Pflanzenmaterials sind wir Fräulein A. Pawel, für die Benutzung des Roussel-Jouan-Dichrographen Herrn Priv.-Doz. Dr. G. Snatzke, Bonn, für die Aufnahme der Elektronenanlagerungsmassenspektren Herrn Dr. R. Tümmler, Dresden, und für die Ermöglichung der Aufnahme von Elektronenstoß-Massenspektren Herrn Prof. Dr. C. Djerassi, Stanford, sehr verbunden. Die Elementaranalysen wurden vom Mikroanalytischen Laboratorium I. Beetz, Kronach/Oberfranken, und von Herrn R. Martin, Leipzig, ausgeführt.

*) *Nachtrag b. d. Korr.* (9. 3. 1967): Weder Jurubin noch Jurubidin wurden durch *H. piriforme* Bainier hydroxyliert. Für die Überlassung des Pilzstammes danken wir Herrn Dr. Y. Sato, Bethesda, Maryland, bestens.

³⁴⁾ P. M. Boll und B. Andersen, *Planta med.* [Stuttgart] **10**, 421 (1962); G. Dersch und H. Sander, *Pharmaz. Ztg.* **107**, 1540 (1962); H. Sander, *Planta med.* [Stuttgart] **11**, 303 (1963); K. Schreiber und H. Rönsch, *Arch. Pharmaz.* **298**, 285 (1965); R. Bognár und S. Makleit, *Acta chim. Acad. Sci. hung.* **46**, 205 (1965).

³⁵⁾ Y. Sato und S. Hayakawa, *J. org. Chemistry* **26**, 4181 (1961); vgl. auch Y. Sato und S. Hayakawa, ebenda **29**, 198 (1964).

³⁶⁾ Vgl. M. M. Krider, T. C. Cordon und M. E. Wall, l. c.²⁰⁾.

³⁷⁾ G. Willuhn, *Pharmaz. Ztg.* **110**, 96 (1965).

³⁸⁾ H. Ripperger, K. Schreiber und H. Budzikiewicz, *Chem. Ber.* **100**, 1741 (1967), nachstehend.

Beschreibung der Versuche

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Mikroheiztisch nach Boëtius bestimmt und sind korrigiert. — Wenn nicht anders angegeben, wurden die spezif. Drehungen in Chloroform, die UV-Spektren in Dioxan mit dem Perkin-Elmer-Spektrophotometer 137 UV, die IR-Spektren in Chloroform mit dem Zeiss-Zweistrahlspektrophotometer UR 10, die Zirkulardichrographen in Dioxan mit dem Roussel-Jouan-Dichrographen, die NMR-Spektren in Deuteriochloroform mit Tetramethylsilan als innerem Standard mit dem 100-MHz-Gerät der Fa. Varian Associates, die Elektronenstoß-Massenspektren mit dem Atlas-Massenspektrometer CH 4 (Ionisierungsenergie 70 eV, Ionisierungsstrom 30 μ A, direkte Probeführung) bzw. mit dem doppelfokussierenden AEI-Massenspektrometer MS 9 und die Elektronenanlagerungs-Massenspektren mit dem Dresdner Molekül-Massenspektrographen³⁹⁾ gemessen. — Die Dünnschichtchromatographie (DC) erfolgte an Kieselgel G (Merck); Plattengröße 13 \times 25 cm, je Platte 6.0 g Adsorbens; Entwicklung mit den Gemischen CÄA-5/5/1.3 = Chloroform/Äthanol/konz. Ammoniak (5 : 5 : 1.3), ACM-5/4/1 = konz. Ammoniak/Chloroform/Methanol (5 : 4 : 1), untere Phase, CyE-4/1 = Cyclohexan/Essigester (4 : 1) oder CM-9/1 = Chloroform/Methanol (9 : 1); Nachweis der Substanzen, wenn nicht anders vermerkt, mit Jodlösung (0.5 g Jod + 1 g KJ in 1 l Wasser). — Zur Elementaranalyse wurde bei 100° i. Hochvak. über P₂O₅ und Paraffin bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Jurubin ((25S)-3 β -Amino-O(26)- β -D-glucopyranosyl-5 α -furosteroid-(22a,26), 8): Die im August/September 1963 geernteten Wurzeln von *S. paniculatum* (einjährige Pflanzen) wurden bei 100° getrocknet und gemahlen. 48.5 kg Trockenmaterial extrahierte man mit 200 l und anschließend noch 2mal mit je 100 l Methanol je 24 Stdn. bei Raumtemp. Nach Filtrieren der methanol. Auszüge über Asbest wurde i. Vak. auf 20 l eingengt und mit 20 l Wasser sowie 1.5 l Essigsäure versetzt. Durch Filtrieren und nachfolgendes Ausschütteln mit 20 l Äther/Benzol (1 : 1) wurde die Lösung von Lipoiden befreit. Dann alkalisierte man durch Zugabe von konz. Ammoniak und extrahierte 3 mal mit je 10 l Chloroform/Äthanol (2 : 1). Der Chloroformextrakt lieferte nach Einengen i. Vak. 121 g amorphes Rohalkaloid (0.25 %, bez. auf Wurzel-Trockengewicht), das nach Titration 53 % 8 enthält.

Das Rohalkaloid wurde, wie weiter unten beschrieben, mit *Salicylaldehyd* in *N-Salicyliden-jurubin* (9) übergeführt. 264 mg 9 wurden mit 0.15 ccm 80-proz. *Hydrazinhydrat* und 0.34 ccm *Eisessig* in 5 ccm Äthanol 1.5 Stdn. auf dem Dampfbad erhitzt, nach dem Abkühlen von abgetrennten Salicylaldehydazid-Kristallen abgetrennt, das Filtrat anschließend mit verd. Ammoniak versetzt und mit Chloroform/Äthanol (2:1) ausgeschüttelt. Nach Einengen i. Vak. wusch man den Rückstand mit Äther: 210 mg (0.037 %, bez. auf Wurzel-Trockengewicht) *Jurubin* (8) mit R_F 0.63 (DC mit Gemisch CÄA-5/5/1.3), aus absol. Äthanol 126 mg Plättchen vom Schmp. 212–214°, $[\alpha]_D^{25}$: –30.9° (Pyridin, c = 1.04).

IR (Nujol): 3300 (OH), 1298, 1251, 1163, 1142, 1110, 1070, 1030, 990, 962, 945, 917, 896, 880, 849, 828, 792/cm.

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 240°): m/e = 575 (M – H₂O – 2) und 414 (M – H₂O – C₆H₁₀O₅ – 1).

C₃₃H₅₇NO₈ (595.8) Ber. C 66.52 H 9.64 N 2.35 Gef. C 66.20 H 9.32 N 2.17

N-Salicyliden-jurubin (9): 5.0 g 8 (Rohalkaloid) wurden mit 1.35 g *Salicylaldehyd* in 30 ccm absol. Methanol 15 Min. zum Sieden erhitzt. Das beim Abkühlen sich abscheidende amorphe

³⁹⁾ Zur Methodik vgl. *M. von Ardenne, K. Steinfelder, R. Tümmeler* und *K. Schreiber*, *Experientia* [Basel] **19**, 178 (1963); *M. von Ardenne, K. Steinfelder* und *R. Tümmeler*, *Z. Chem.* **5**, 287 (1965).

Produkt wurde aus Äthanol umkristallisiert: 0.92 g vom Schmp. 176–177°, $[\alpha]_D^{25}$: -46.2° ($c = 0.55$), $[\alpha]_D^{30}$: -34.9° (Pyridin, $c = 1.19$), R_F 0.72 (DC mit Gemisch CÄA-5/5/1.3).

IR: 3604, 3460 (OH), 1633/cm (C=N).

UV: λ_{\max} (log ϵ) 256 (4.15), 318 (3.72), 405 nm (1.78, Schulter).

ZD: $\Delta\epsilon_{350} = 0$, $\Delta\epsilon_{315} = +0.83$ (Maximum), $\Delta\epsilon_{280} = 0$ ($c = 0.021$).

$C_{40}H_{61}NO_9$ (699.9) Ber. C 68.64 H 8.78 N 2.00 Gef. C 68.73 H 8.96 N 2.10

N-[4-Brom-benzyliden]-jurubin (10): Aus 1.0 g 8 (Rohalkaloid) und 0.27 g 4-Brom-benzaldehyd wurden, wie für die Darstellung von 9 beschrieben, 84 mg 10 gewonnen; aus Äthanol Kristalle vom Schmp. 195–200° und $[\alpha]_D^{30}$: -34.5° (Pyridin, $c = 0.88$).

IR: 3608, 3410 (OH), 1648/cm (C=N).

UV (Methanol): λ_{\max} 257 nm (log ϵ 4.49).

$C_{40}H_{60}BrNO_8$ (762.8) Ber. C 62.97 H 7.93 N 1.83 Gef. C 63.65 H 8.14 N 2.27

Pentaacetyl-jurubin (14): Die Darstellung erfolgt vorteilhafter nicht aus Jurubin (8), sondern aus dessen *N*-[4-Brom-benzyliden]-Derivat 10, wobei unter gleichzeitiger Abspaltung des Benzyliden-Restes unmittelbar ein reineres Produkt erhalten wird⁴⁰). So wurden 670 mg 10 mit 1.5 ccm Acetanhydrid in 3.5 ccm Pyridin 15 Stdn. bei Raumtemp. acetyliert. Aus Essigester/*n*-Hexan 400 mg (57%) Kristalle vom Schmp. 165–168° und $[\alpha]_D^{30}$: -41.1° (Pyridin, $c = 1.24$).

IR (CCl₄): 3450 (NH), 1768 (OAc), 1690 (N–C=O), 1510 (NH–C=O), 1230/cm (OAc).

$C_{43}H_{67}NO_{13}$ (806.0) Ber. C 64.07 H 8.38 N 1.74 Gef. C 64.21 H 8.27 N 2.08

Identifizierung von Glucose: 10 mg 9 wurden mit 1.5 ccm 2*n* H₂SO₄ und 1.5 ccm Äthanol 1.5 Stdn. zum Sieden erhitzt. Anschließend wurde i. Vak. auf etwa 1.5 ccm abdestilliert und mit 1.5 ccm Wasser versetzt. Nach Zusatz von BaCO₃ wurde filtriert und das Filtrat bei 50° Badtemp. i. Vak. eingengt. Durch Papierchromatographie an Schleicher & Schüll-Papier 2043 b (aufsteigend, *n*-Butanol/Pyridin/Wasser 6 : 4 : 3) oder DC an Kieselgel G (*n*-Propanol/Essigester/Wasser 7 : 2 : 1) und Anfärben mit Anilinhydrogenphthalat bei 105° konnte nur Glucose nachgewiesen werden.

Jurubidin ((2*S*)-3 β -Amino-5 α .22 α O-spirostan, 1)

a) *Durch Säurehydrolyse von 8*: 5.0 g 8 (Rohalkaloid) wurden mit 100 ccm *n* HCl in 50-proz. Äthanol 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach 15 stdg. Aufbewahren bei 5° wurde der Niederschlag abgesaugt, in Methanol gelöst und mit verd. Ammoniak bei Siedetemp. bis zur Trübung versetzt. Nach dem Erkalten saugte man die Fällung ab und trocknete i. Vak., R_F 0.50 (DC mit Gemisch ACM-5/4/1). Die Substanz wurde in wenig Chloroform gelöst und durch 60 g basisches Al₂O₃ (Woelm) der Akt.-St. III filtriert. Das Al₂O₃ wurde mit 500 ccm Chloroform gewaschen, das Eluat i. Vak. eingengt und der Rückstand an 40 g Al₂O₃ gleicher Qualität chromatographiert. Die Fraktionen (zu je 50 ccm) 1–5 wurden mit Benzol, 6–12 mit Benzol + 5% Äther, 13–18 mit Benzol + 10% Äther und 19–26 mit Benzol + 20% Äther eluiert. Der Rückstand der Frakt. 15–22 ergab nach Kristallisation aus Methanol/Wasser und aus *n*-Hexan 95 mg 1.

Nach Alkalisieren des salzsauren Filtrats der 8-Hydrolyse mit Ammoniak, Chloroformextraktion und Chromatographie des Rückstands der Chloroformlösung an Al₂O₃, wie oben beschrieben, erhielt man weitere 64 mg 1 (Gesamtausb. 0.008%, bez. auf Wurzel-Trockengewicht).

Schmp. 182–186°, $[\alpha]_D^{30}$: -78.7° ($c = 1.84$), $[\alpha]_D^{30}$: -51.2° (Pyridin, $c = 0.81$).

IR (CCl₄): 988, 921 (stark), 896 (schwach), 850/cm (Spiroketal, (2*S*)-Konfiguration).

⁴⁰ Zur Reaktion Schiffischer Basen mit Acetanhydrid vgl. *Chao-Tung Ch'en*, Bull. Inst. Chem., Acad. Sinica Nr. 10, 38 (1965), C. A. 64, 12485 (1966).

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 130°): $m/e = 414 (M-1)$.
Elektronenstoß-Massenspektrum: vgl. Abbild. 1.

$C_{27}H_{45}NO_2$ (415.7) Ber. C 78.01 H 10.91 N 3.37 Gef. C 78.89 H 10.79 N 3.68

b) *Durch enzymatische Hydrolyse von 8*: 5 mg **8** (Rohalkaloid) wurden in 1 ccm Methanol gelöst; nach Zugabe von 5 ccm Wasser wurde das Methanol i. Vak. abdestilliert. Nach Zuzufügen von 5 ccm Acetattuffer vom pH 5 (7.05 ccm *n* NaOH + 10.0 ccm *n* CH₃CO₂H) sowie 5 mg *Emulsin* (Light & Co.; $1.4 \cdot 10^{-3}$ Enzymeinheiten/mg nach Helferich) wurde 50 Stdn. bei 30–35° gehalten. Dann wurde mit verd. Ammoniak versetzt, mit Chloroform/Äthanol (2:1) ausgeschüttelt und der Extrakt i. Vak. bis zur Trockne eingengt: **1** mit R_F 0.50 (DC mit Gemisch ACM-5/4/1), dünnstichtchromatographisch identisch mit nach a) gewonnenem **1** (Paniculidin R_F 0.28).

Bei einem größeren Ansatz wurde **1** als *N-Salicyliden-Derivat 3* isoliert: Schmp. 200–204° und $[\alpha]_D^{25}$: -43.2° ($c = 0.25$), nach dem IR-Spektrum identisch mit **3** aus nach a) gewonnenem **1** (siehe unten).

c) *Durch Reduktion von Neotigogenonoxim (7)*: In die Lösung von 490 mg **7** in 120 ccm *n*-Butanol wurden bei Siedetemp. im Laufe von 2.5 Stdn. 5 g *Natrium* eingetragen. Nach Abkühlen wurde mehrmals mit Wasser ausgeschüttelt, die organ. Phase i. Vak. abdestilliert und der Rückstand aus Methanol/Wasser kristallisiert: 320 mg (68%) **1**, nach Schmp., Misch-Schmp., Drehwert, DC, IR- und Massenspektrum identisch mit nach a) erhaltenem **1**.

Jurubidin-hydrochlorid ((25S)-3β-Amino-5α.22αO-spirostan-hydrochlorid, 1·HCl): Aus **1** in absol. Äthanol mit äther. *Chlorwasserstoff*-Lösung. Kristalle vom Schmp. 275–285°, bei 220° Sublimation zu Nadelchen.

$C_{27}H_{46}NO_2Cl$ (452.1) Ber. C 71.72 H 10.26 N 3.10 Gef. C 71.60 H 9.85 N 3.00

N-Acetyl-jurubidin ((25S)-3β-Acetamino-5α.22αO-spirostan, 2): 100 mg **1** wurden mit 0.2 ccm *Acetanhydrid* in 1 ccm *Pyridin* 15 Stdn. bei Raumtemp. acetyliert. Nach Zusatz von 2 ccm Wasser wurde der Niederschlag abgesaugt, i. Vak. getrocknet und aus Aceton umkristallisiert: 73 mg (66%) Nadeln oder Plättchen vom Schmp. 267–269° (Sublimation ab 230°), $[\alpha]_D^{25}$: -77.1° ($c = 1.13$), $[\alpha]_D^{30}$: -59.8° (*Pyridin*, $c = 0.83$).

IR: 3442 (NH), 1667 (N–C=O), 1520 (NH–C=O), 987, 919 (stark), 896 (schwach), 850/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

NMR: δ 0.74 (s; 18-H), 0.79 (s; 19-H), 0.99 (d, $J = 6$ Hz; axiales CH₃-27), 1.08 (d, $J = 7$ Hz; 21-H), 1.93 (s; NCOCH₃), 3.26 (d, $J = 11$ Hz; 26-H), 3.93 (d, $J = 10$ Hz; 26-H), 4.37 ppm (m; 16-H).

Elektronenstoß-Massenspektrum: $m/e = 457 (M^+)$, 398 (f, $M - AcNH_2$), 388 (e), 385 (d), 344 ($M - AcNH_2 - C_4H_6$), 343 (b), 328 (c), 314 (a), 284 ($b - AcNH_2$), 269 ($c - AcNH_2$), 255 ($a - AcNH_2$), 139 (j), 56 (CH₂=CH–CH=NH₂⁺); vgl. Schema 1.

$C_{29}H_{47}NO_3$ (457.7) Ber. C 76.10 H 10.35 N 3.06 Gef. C 76.16 H 10.38 N 3.14

N-Salicyliden-jurubidin ((25S)-3β-Salicylidenamino-5α.22αO-spirostan, 3): 100 mg **1** wurden mit 28 mg *Salicylaldehyd* in 10 ccm absol. Methanol 15 Min. zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen wurde der Niederschlag abgesaugt und 2mal aus *Pyridin*/Methanol umkristallisiert: 90 mg (72%) Nadeln oder Plättchen vom Schmp. 203–205° und $[\alpha]_D^{25}$: -43.2° ($c = 0.92$).

IR: 1637 (C=N), 988, 921 (stark), 897 (schwach), 852/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

UV: λ_{max} (log ϵ) 256 (4.06), 318 (3.63), 407 nm (1.61, Schulter).

ZD: $\Delta\epsilon_{335} = 0$, $\Delta\epsilon_{310} = +0.86$ (Maximum), $\Delta\epsilon_{290} = 0$, $\Delta\epsilon_{270} = -0.58$ ($c = 0.012$).

$C_{34}H_{49}NO_3$ (519.8) Ber. C 78.56 H 9.50 N 2.70 Gef. C 78.58 H 9.37 N 2.68

Desaminierung von Jurubidin (1) zu Neotigogenin ((25S)-5 α .22 α O-Spirostanol-(3 β), 4) und (25S)-5 α .22 α O-Spirostanol-(3 α) (5): 44 mg **1** ließ man 15 Stdn. bei 20° mit 125 mg Natriumnitrit in 1.5 ccm 50-proz. Essigsäure und 1 ccm Tetrahydrofuran reagieren. Nach Zusatz von Wasser wurde mit Äther extrahiert, die äther. Lösung mit verd. Ammoniak und Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und abdestilliert. Den Rückstand erhitzte man mit 5 ccm 5-proz. methanol. Kalilauge 1 Stde. unter Rückfluß. Nach erneuter Ätherextraktion wurde der Rückstand der äther. Lösung an 6 Kieselgel-G-Platten chromatographiert, die mit dem Gemisch CyE-4/1 2mal entwickelt wurden. Durch Besprühen mit Wasser ließen sich 2 Substanzen mit R_F 0.47 und 0.56 nachweisen.

Die mit Äther eluierte Substanz vom R_F 0.47 ergab aus Methanol 18 mg (41 %) Nadeln vom Schmp. 200–202° und $[\alpha]_D^{20}$: –76.0° (*c* = 0.60), die sich nach Misch-Schmp. und IR-Spektrum mit authent. **4**¹⁰⁾ als identisch erwiesen (Lit.⁹⁾: Schmp. 197–203°, $[\alpha]_D$: –77.2°; Lit.⁴¹⁾: Schmp. 201–203°, $[\alpha]_D$: –76°).

Die Substanz vom R_F 0.56 wurde nach Elution mit Äther aus Methanol kristallisiert: 8.5 mg (19 %) **5** vom Schmp. 200–202°, ab 140° Sublimation zu Nadeln, $[\alpha]_D^{20}$: –75.1° (*c* = 0.53).

IR: 3620 (OH), 1003 (3 α -OH), 986, 918 (stark), 895 (schwach), 850/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

Elektronenstoß-Massenspektrum: *m/e* = 416 (M⁺), 357 (f), 347 (e), 344 (d), 302 (b), 287 (c), 284 (b – H₂O), 273 (a), 269 (c – H₂O), 255 (a – H₂O), 139 (j), 115 (i); vgl. Schema 1.

Neotigogenon ((25S)-5 α .22 α O-Spirostanon-(3), 6): 1.0 g Neotigogenin (**4**)¹⁰⁾ wurde mit 0.50 g Chrom(VI)-oxid in 20 ccm Pyridin 18 Stdn. bei Raumtemp. dehydriert. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die äther. Lösung wusch man mit verd. Salzsäure, verd. Ammoniak und Wasser, trocknete über Na₂SO₄ und destillierte bis zur Trockne ab. Der Rückstand wurde an 50 g Al₂O₃ (Merck) der Akt.-St. I chromatographiert (Fraktionen zu je 50 ccm). Die Fraktionen 1–5 wurden mit n-Hexan/Benzol (1 : 1), die Frakt. 6–22 mit Benzol und die Frakt. 23–30 mit Benzol + 5 % Methanol eluiert. Der Rückstand der Frakt. 6–20 (R_F 0.50 bei DC mit Gemisch CyE-4/1, Nachweis mit Cer(IV)-sulfat in 50-proz. Schwefelsäure bei 110°) ergab aus Aceton/Wasser 0.58 g (58 %) **6** vom Schmp. 217–219° und $[\alpha]_D^{20}$: –64.9° (*c* = 1.29) (Lit.⁴²⁾: Schmp. 211–214°, $[\alpha]_D$: –61°).

IR: 1720 (C=O), 986, 918 (stark), 895 (schwach), 850/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

UV (Äthanol): λ_{\max} 289 nm (log ϵ 1.41).

Der Rückstand der Frakt. 23–30 (R_F 0.23 bei DC mit Gemisch CyE-4/1) lieferte 0.21 g Ausgangsmaterial **4** zurück.

Neotigogenonoxim ((25S)-3-Oximino-5 α .22 α O-spirostan, 7): 0.63 g **6** wurden mit 0.63 g Hydroxylamin-hydrochlorid in 10 ccm Pyridin und 10 ccm absol. Äthanol 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt und anschließend bei Siedetemp. vorsichtig mit Wasser versetzt: 0.50 g (77 %) Nadeln vom Schmp. 236–240° (Zers.) und $[\alpha]_D^{20}$: –72.9° (*c* = 0.78) (Lit.⁴²⁾: Schmp. 231–232°).

IR: 3590 (NOH), 987, 916 (stark), 895 (schwach), 848/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

(25S)-3 β -Acetamino-5 α .20 α H.22 α H-furostanol-(26) (**17**)

a) Aus N-Acetyl-jurubidin (**2**): 128 mg **2** wurden mit 1 ccm Acetanhydrid und 100 mg Pyridin-hydrochlorid 4 Stdn. unter Rückfluß erhitzt und nach dem Abkühlen das entstandene (25S)-3 β -Acetamino-26-acetoxy- $\Delta^{20(22)}$ -5 α -furosten (**16**) mit Wasser ausgefällt [IR (Nujol): 3250 (NH), 1746 (OAc), 1696 (Enoläther), 1639 (N–C=O), 1585 (NH–C=O), 1238/cm (OAc)]. Die Lösung von **16** in 20 ccm Essigsäure wurde mit 50 mg PtO₂ 10 Stdn. in einer Wasser-

41) Y. Mazur, N. Danielli und F. Sondheimer, J. Amer. chem. Soc. **82**, 5889 (1960).

42) L. H. Goodson und C. R. Noller, J. Amer. chem. Soc. **61**, 2420 (1939).

stoff-Atmosphäre geschüttelt, vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat i. Vak. eingengt. Durch Zugabe von Wasser wurde das entstandene (25*S*)-3 β -Acetamino-26-acetoxy-5 α .20 α H-22 α H-furostan ausgefällt [IR (Nujol): 3300 (NH), 1753 (OAc), 1649 (N=C=O), 1580 (NH-C=O), 1242/cm (OAc)]. Die Substanz wurde zur Verseifung der Acetoxygruppe in 12 ccm 1-proz. Äthanol. Kalilauge 2 Stdn. bei 20° aufbewahrt. Dann versetzte man vorsichtig mit Wasser: Der Niederschlag (Hauptprodukt R_F 0.46, DC mit Gemisch CM-9/1, Nachweis mit Cer(IV)-sulfat in 50-proz. Schwefelsäure bei 110°, gelbe Färbung) wurde an 10 g Al₂O₃ (Merck), Akt.-St. III, chromatographiert; die Frakt. (je 50 ccm) 1–2 wurden mit Benzol, 3–4 mit Benzol/Chloroform (4:1), 5–9 mit Benzol/Chloroform (1:1) und Frakt. 10 mit Chloroform eluiert. Die Rückstände der Frakt. 6–8 ergaben nach Kristallisation aus Aceton 57 mg (44%) **17**, Plättchen vom Schmp. 235–236° und $[\alpha]_D^{25}$: -19.6° ($c = 0.65$).

IR: 3630 (OH), 3442 (NH), 1670 (N-C=O), 1520/cm (NH-C=O).

Elektronenstoß-Massenspektrum: $m/e = 459$ (M⁺), 458 (M⁺-1), 457 (M⁺-2), 441 (M⁺-H₂O), 400 (M⁺-AcNH₂), 372 (Abspaltung der C₅-Seitenkette), 314 (a, vgl. Schema 1, R = NH-Ac, R' = H), 255 (a-AcNH₂). Metastabile Peaks für die Übergänge m/e 372 → 314 (265) und 314 → 255 (207).

C₂₉H₄₉NO₃ (459.7) Ber. C 75.76 H 10.75 Gef. C 75.41 H 10.32

b) Aus *Jurubin* (**8**): 200 mg **8** wurden durch Acetylierung mit 0.4 ccm *Acetanhydrid* in 3 ccm *Pyridin* (15 Stdn. bei 20°) in *Pentaacetyl-jurubin* (**14**) übergeführt. Die Lösung des Reaktionsprodukts in 5 ccm Essigsäure wurde 1.5 Stdn. unter Rückfluß erhitzt und das gebildete *Furostenderivat* **13** mit Wasser ausgefällt [IR (Nujol): 3300 (NH), 1760 (OAc), 1697 (Enoläther), 1650 (N-C=O), 1553 (NH-C=O), 1220/cm (OAc)]. Das nicht weiter gereinigte und in Essigsäure gelöste **13** hydrierte man anschließend in Gegenwart von PtO₂ zu **15** [IR (Nujol): 3310 (NH), 1760 (OAc), 1660 (N-C=O), 1550 (NH-C=O), 1230/cm (OAc)]. Die Lösung von **15** in 2.5 ccm 2*n* HCl und 5 ccm Äthanol wurde 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Extraktion mit Chloroform/Äthanol (2:1) lieferte eine Substanz mit R_F 0.46 (DC mit Gemisch CM-9/1, Nachweis mit Cer(IV)-sulfat in 50-proz. Schwefelsäure bei 110°, gelbe Färbung), die, wie unter a) beschrieben, an Al₂O₃ chromatographiert wurde. Kristallisation aus Aceton lieferte 17 mg (11%) **17**, nach Schmp., Misch-Schmp., Drehwert, IR-Spektrum und DC identisch mit nach a) dargestelltem **17**.

(25*S*)-3 β -Acetamino-5 α .20 α H.22 α H-furostansäure-(26) (**18**): 15 mg **17** wurden in 1 ccm Aceton und 1 ccm Tetrahydrofuran mit 0.09 ccm *Kilian-Reagens* (1.0 g CrO₃, 1 ccm konz. Schwefelsäure, mit Wasser auf 5 ccm aufgefüllt) versetzt. Nach 30 Min. Aufbewahren bei Raumtemp. wurde Wasser hinzugegeben, mit Äther extrahiert und die äther. Lösung mit Na₂CO₃-Lösung ausgeschüttelt. Die Na₂CO₃-Lösung säuerte man mit verd. Schwefelsäure an, extrahierte mit Äther und kristallisierte den Rückstand der äther. Lösung aus Aceton/n-Hexan: 12 mg (77%) **18**, Schmp. 246–248°, $[\alpha]_D^{25}$: -12.9° ($c = 0.50$).

IR (Nujol): 3300 (NH), 1708 (CO₂H), 1640 (N-C=O), 1570/cm (NH-C=O).

Elektronenstoß-Massenspektrum: $m/e = 473$ (M⁺), 472 (M-1), 471 (M-2), 372 (Abspaltung der C₅-Seitenkette), 314 (a, vgl. Schema 1, R = NH-Ac, R' = H), 255 (a-AcNH₂).

Paniculidin (Gemisch von (25*S*)- und (25*R*)-3 β -Amino-5 α .22 α O-spirostanol-(9 α), **19a** und **b**)²²⁾:

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 200°): $m/e = 431$ (M), 413 (M-H₂O).

Elektronenstoß-Massenspektrum: vgl. Abbild. 2 und Schema 1.

N-Acetyl-paniculidin (Gemisch von (2*S*)- und (2*R*)-3 β -Acetamino-5 α .22 α O-spirostanol-(9 α), **20a** und **b**)²²⁾:

IR: 3620 (OH), 3442 (NH), 1670 (N—C=O), 1520 (NH—C=O), 982, 920, 897 (beide Banden von etwa gleicher Intensität), 865/cm (Spiroketal, (2*S*)- und (2*R*)-Konfiguration).

NMR: δ 0.74 (s; 18-H), 0.80 (Schulter, äquatoriales CH₃-27), 0.90 (s; 19-H), 1.00 (m; axiales CH₃-27 und 21-H der (2*R*)-Verbindung), 1.11 (d, J = 4 Hz; 21-H der (2*S*)-Verbindung), 1.88 (s; NCOCH₃), 3.24 (d, J = 10 Hz; 26-H der (2*S*)-Verbindung), 3.40 (m; 26-H der (2*R*)-Verbindung), 4.35 ppm (m; 16-H).

„Acetyl-A₁-Verbindung“ (Gemisch von (2*S*)- und (2*R*)-3 β -Acetamino-5 α .22 α O-spirostan, **2** und 2*5*-iso-**2**): Ein von Meyer und Bernoulli³⁾ gewonnenes Präparat²²⁾ wurde nochmals durch präparative DC an Kieselgel G (Merck) gereinigt (Gemisch CM-9/1). Die durch Besprühen mit Wasser sichtbar gemachten Substanzen wurden mit Chloroform/Methanol (1 : 1) eluiert. Die Hauptkomponente hatte den gleichen R_F -Wert (0.58) wie *N*-Acetyl-jurubidin (**2**); aus Aceton Nadelchen vom Schmp. 256–257° (Sublimation ab 230°) und $[\alpha]_D^{25}$: –82.7° (c = 0.69) (Lit.³⁾: Schmp. 257–268°).

IR: 3442 (NH), 1670 (N—C=O), 1520 (NH—C=O), 982, 920, 897 (beide Banden von etwa gleicher Intensität), 850/cm (Spiroketal, (2*S*)- und (2*R*)-Konfiguration).

Elektronenstoß-Massenspektrum: Alle Fragment-Ionen von **2** vorhanden, zusätzlich jedoch Peaks, die sich von 3-Acetamino- Δ^5 -spirosten ableiten: m/e = 396 (M^+ —AcNH₂), 337 (f' —AcNH₂), 327 (e' —AcNH₂), 324 (d' —AcNH₂), 282 (b' —AcNH₂), 267 (c' —AcNH₂), 253 (a' —AcNH₂); vgl. Schema 1, R = NHAc, R' = H, a' = a–2, b' = b–2 usw.

[497/66]