

Helmut Ripperger, Klaus Schreiber und Herbert Budzikiewicz

Isolierung von Neochlorogenin und Paniculogenin aus *Solanum paniculatum* L.¹⁾

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)

Aus Blättern der südamerikanischen Solanacee *Solanum paniculatum* L. wurden zwei bisher noch nicht in der Natur aufgefundene Steroidsapogenine isoliert, und zwar das bereits früher partialsynthetisch gewonnene Neochlorogenin [(25*S*)-5 α .22 α O-Spirostandiol-(3 β .6 α), 1] sowie ein noch unbekanntes Trihydroxyspirostan, das mit Paniculogenin bezeichnet wurde. Paniculogenin erwies sich nach den Ergebnissen der Strukturaufklärung als 23*S*-Hydroxyneochlorogenin [(23*S*:25*S*)-5 α .22 α O-Spirostantriol-(3 β .6 α .23), 6]. Beide Sapogenine liegen in der Pflanze als Glykoside vor. Zwei dieser Saponine wurden als β -D-Xylosyl- α -L-Rhamnosyl-paniculogenin bzw. als Bis- α -L-Rhamnosyl-paniculogenin identifiziert; allerdings konnten in beiden Fällen nach Hydrolyse neben hauptsächlich 6 geringe Mengen 1 nachgewiesen werden.

In Blättern von *Solanum paniculatum* L., einer im tropischen Brasilien beheimateten sowie dort unter der Bezeichnung „Jurubeba“ bekannten und therapeutisch verwendeten Solanacee²⁾, konnten von uns keine Alkaloide nachgewiesen werden^{1,3)}. Statt dessen isolierten wir ein Gemisch stickstofffreier Saponine, das nach mineral-saurer Hydrolyse zwei bisher in Pflanzen noch nicht aufgefundene Steroidsapogenine vom Schmp. 256—260° bzw. 214—216° lieferte, über deren Strukturaufklärung im folgenden berichtet wird.

Neochlorogenin

Die Verbindung vom Schmp. 256—260° erwies sich auf Grund ihres massenspektrometrischen Fragmentierungsmusters als Spirostandiol, wobei beide Hydroxygruppen im Androstanteil des Moleküls lokalisiert sein müssen (vgl. Abbild. 1 und Schema 1, R = R' = H, OH, sowie i. c.⁴⁾). Die Stellung dieser Hydroxygruppen sowie die Stereochemie des Androstanteils ergab sich aus dem Abbau zum bereits bekannten

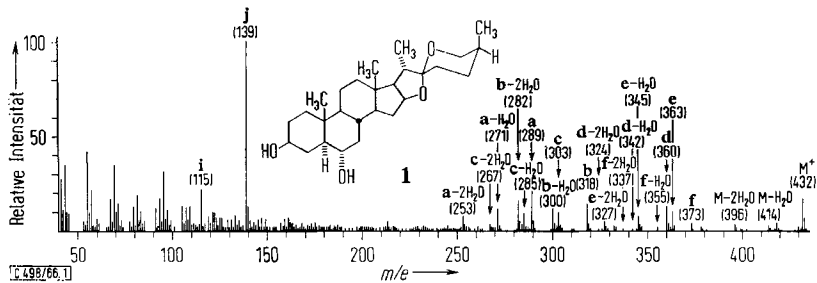
1) Vorläuf. Mittell.: K. Schreiber, H. Ripperger und H. Budzikiewicz, Tetrahedron Letters [London] 1965, 3999.

2) Vgl. K. Meyer und F. Bernoulli, Pharmac. Acta Helvetiae 36, 80 (1961); K. Stopp, Tagungsber. dtsh. Akad. Landwirtsch.-Wiss. Berlin Nr. 27, 255 (1961).

3) H. Ripperger, H. Budzikiewicz und K. Schreiber, Chem. Ber. 100, 1725 (1967), voranstehend.

4) 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. 110, Holden-Day, San Francisco-London-Amsterdam 1964.

3 β .6 α -Diacetoxy-5 α - Δ^{16} -pregnenon-(20) (4)⁵ und nach dessen Hydrierung in Gegenwart von Palladium/Kohle zum ebenfalls schon beschriebenen 3 β .6 α -Diacetoxy-5 α -pregnanon-(20) (8)^{5,6}. Hierzu wurde das 5 α -Spirostandiol-(3 β .6 α) **1** durch Erhitzen mit Acetanhydrid/Pyridinhydrochlorid⁷ zum $\Delta^{20(22)}$ -Furosten **3** isomerisiert und dieses wie üblich mit Chrom(VI)-oxid oxydiert.



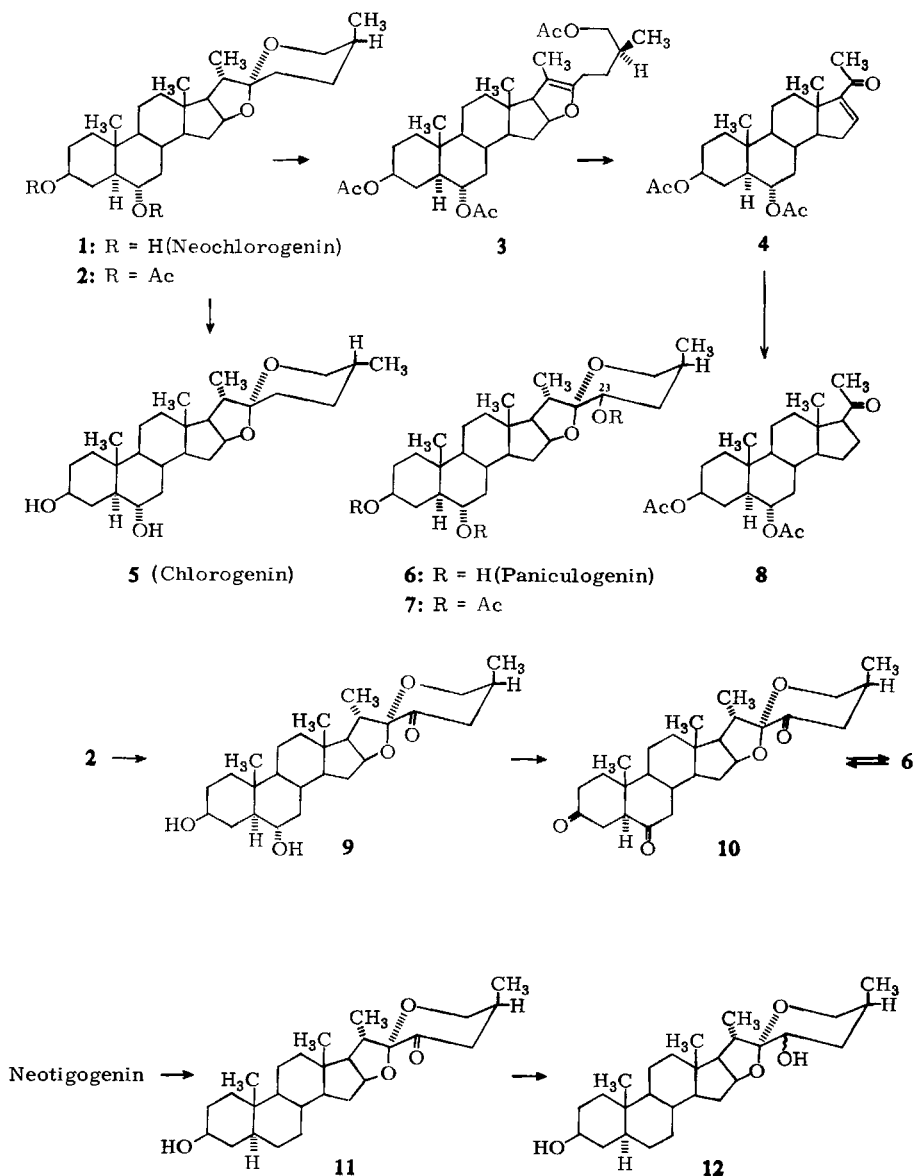
Abbild. 1. Elektronstoß-Massenspektrum von Neochlorogenin (**1**)

Auf Grund der IR-Spektren des Spirostandiols **1** und seines Diacetylderivats **2** (stärkere Absorption bei 915 als bei 896/cm)⁸ sollte dem Sapogenin (25*S*)-Konfiguration (Neo-Reihe) zukommen. Zur gleichen Aussage führte die Interpretation des NMR-Spektrums von **2**: chemische Verschiebungen der Resonanzen für das C-27-Methyl bei $\delta = 1.02$ ppm, für das C-21-Methyl bei 1.12 ppm sowie der C-26-Protonen bei 3.27 und 3.98 ppm⁹.

Nach diesen Befunden muß es sich bei dem Sapogenin um das bereits von Marker und Mitarbb.^{10,11} partialsynthetisch gewonnene Neochlorogenin [(25*S*)-5 α .22 α O-Spirostandiol-(3 β .6 α), **1**] handeln. Ein direkter Vergleich war nicht möglich, jedoch wurde die Struktur bewiesen durch die säurekatalysierte Isomerisierung von **1** zur entsprechenden (25*R*)-Verbindung¹², die sich mit authentischem Chlorogenin

- 5) J. J. Salamon und K. Dobriner, *J. biol. Chemistry* **207**, 323 (1954).
- 6) O. Mancera, G. Rosenkranz und C. Djerassi, *J. org. Chemistry* **16**, 192 (1951).
- 7) Vgl. G. P. Mueller, *Nature [London]* **181**, 771 (1958).
- 8) 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).
- 9) 9a) Vgl. P. M. Boll und W. von Philipsborn, *Acta chem. scand.* **19**, 1365 (1965), sowie 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); 9b) R. K. Callow, V. A. T. James, O. Kennard, J. E. Page, P. N. Paton und L. Riva di Sanseverino, *J. chem. Soc. [London] Part C* **1966**, 288.
- 10) 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).
- 11) R. E. Marker und J. Lopez, *J. Amer. chem. Soc.* **69**, 2373 (1947).
- 12) Zur Methodik dieser Reaktion vgl. R. E. Marker und E. Rohrmann, *J. Amer. chem. Soc.* **61**, 846 (1939), sowie M. E. Wall, S. Serota und L. P. Witnauer, ebenda **77**, 3086 (1955), zu deren Mechanismus R. B. Woodward, F. Sondheimer und Y. Mazur, ebenda **80**, 6693 (1958); R. K. Callow und P. N. Massy-Beresford, *J. chem. Soc. [London]* **1958**, 2645; C. Djerassi, O. Halpern, G. R. Pettit und G. H. Thomas, *J. org. Chemistry* **24**, 1 (1959).

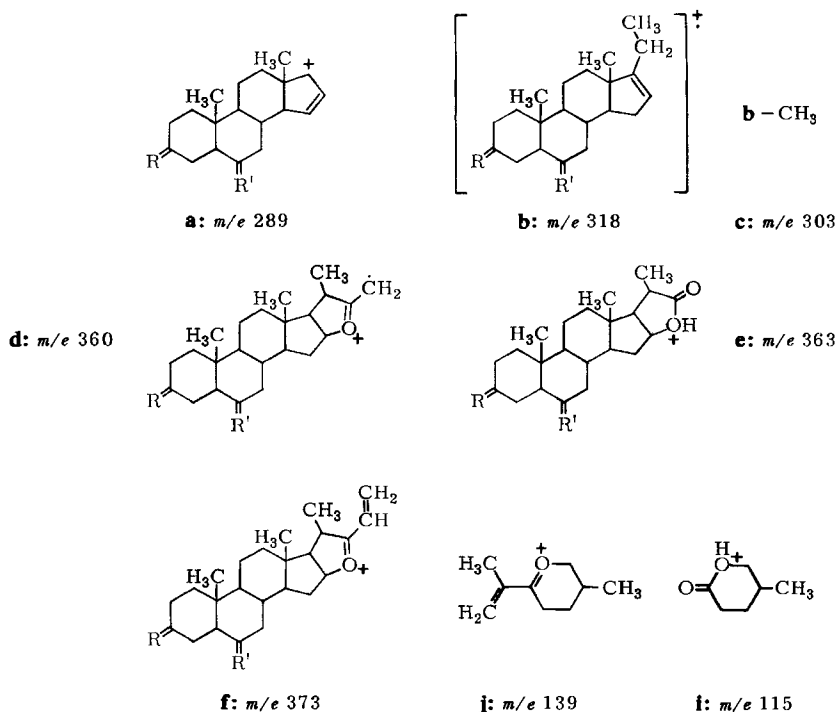
[(25*R*)-5 α .22 α O-Spirostandiol-(3 β .6 α), **5**]¹³⁻¹⁵) in allen Eigenschaften als identisch erwies.



¹³) P. Liang und C. R. Noller, J. Amer. chem. Soc. **57**, 525 (1935).

¹⁴) M. E. Wall, M. M. Krider, E. S. Rothman und C. R. Eddy, J. biol. Chemistry **198**, 533 (1952).

¹⁵) Für die freundliche Überlassung von authentischem Chlorogenin sind wir Herrn Prof. C. Djerassi, Stanford/California, sehr verbunden.

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

*) Die angeführten m/e -Werte beziehen sich auf $R = R' = \begin{matrix} \text{OH} \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$

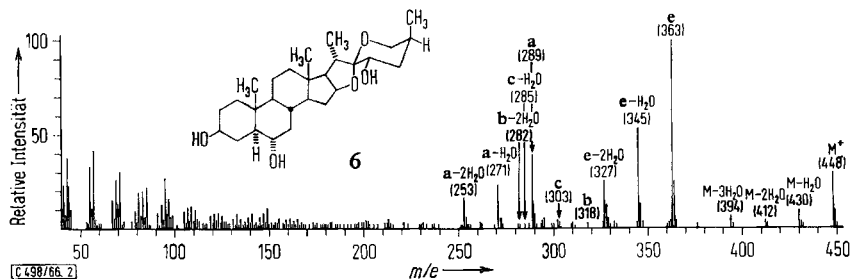
Paniculogenin

Für das zweite, noch nicht beschriebene Steroidsapogenin aus *S. paniculatum* vom Schmp. 214–216° wird die Bezeichnung Paniculogenin vorgeschlagen. Nach Elementaranalyse und Massenspektrum handelt es sich um ein gesättigtes Trihydroxy-spirostan der Summenformel $C_{27}H_{44}O_5$. Im Massenspektrum von Paniculogenin sind die charakteristischen Spirostan-Fragmente **a**, **b**, **c** und **e** vorhanden, jedoch fehlen **d**, **f**, **i** und **j**; **e** zeichnet sich durch besondere Intensität aus (vgl. Abbild. 2 und Schema 1, $R = R' = H, OH$). Dieses Verhalten ist mit einer Spirostantriol-Struktur zu vereinbaren, wenn eine OH-Gruppe an C-23 gebunden ist. Das massenspektrometrische Fragmentierungsmuster des aus 23-Oxo-neotigogenin [(25*S*)-3β-Hydroxy-5α,22α-O-spirostanon-(23), 11]¹⁶⁾ synthetisierten 23-Hydroxy-neotigogenins [(25*S*)-5α,22α-O-Spirostandiol-(3β,23), 23-Epimerengemisch, 12] war völlig analog¹⁷⁾. Paniculogenin konnte nicht zu einem Pregnanderivat abgebaut werden, da Isomeri-

¹⁶⁾ R. K. Callow und P. N. Massy-Beresford, J. chem. Soc. [London] 1957, 4482.

¹⁷⁾ Bisher waren massenspektrometrisch nur 23-Brom- bzw. 23-Oxo-spirostande untersucht worden; vgl. I. c.⁴⁾.

sierung zu einem $\Delta^{20(22)}$ -Furosten nicht möglich war, offenbar bedingt durch Anwesenheit der 23-Hydroxy-Gruppe. So wurde beim Erhitzen mit Acetanhydrid in Gegenwart von Pyridinhydrochlorid⁷⁾ lediglich das entsprechende Triacetoxyspirostan erhalten



Abbild. 2. Elektronenstoß-Massenspektrum von Paniculogenin (6)

Die Arbeitshypothese, daß dem Paniculogenin auf Grund seines gemeinsamen Vorkommens mit Neochlorogenin (1) die Struktur des 23-Hydroxy-neochlorogenins (6) zukommt, wurde wie folgt bewiesen.

In den NMR-Spektren von Diacetyl-neochlorogenin (2) und Triacetyl-paniculogenin (7)¹⁸⁾ zeigen die Signale der Methylgruppen C-18 und C-19 annähernd gleiche chemische Verschiebungen (vgl. Tabelle), was auf eine identische Struktur des Androstanteils beider Verbindungen hindeutet. Ebenso wird die (25*S*)-Konfiguration von Paniculogenin (6) durch das NMR-Spektrum seiner Triacetylverbindung 7 bewiesen: Die Resonanzsignale der C-26-Wasserstoffatome liegen bei $\delta = 3.22$ und 3.92 ppm⁹⁾. Auch die IR-Spektren von 6 und 7 stehen mit einer (25*S*)-Konfiguration in Einklang: Wie bei Neochlorogenin (1) ist die Spiroketalbande bei $920/\text{cm}$ stärker als diejenige bei $900/\text{cm}$ ⁸⁾.

Chemische Verschiebung der Protonenresonanzsignale der Methylgruppen C-18 und C-19 von Verbindung 2 und 7*)

Verbindung		18-H	19-H
Diacetyl-neochlorogenin (2)	Gef.	0.77	0.90
Diacetyl-neochlorogenin (2)	Ber. 19)	0.78	0.88
Triacetyl-paniculogenin (7)	Gef.	0.78	0.89

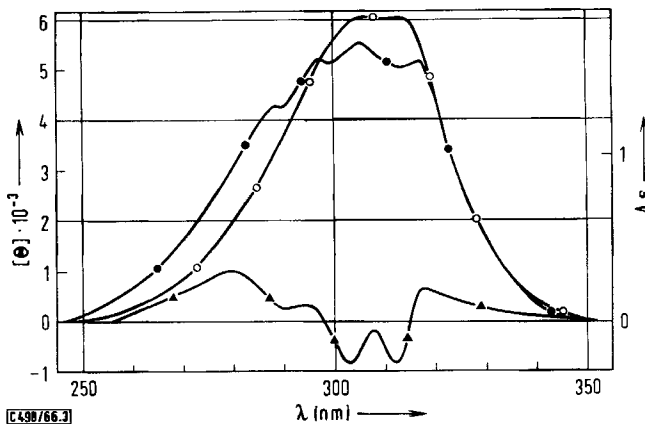
*) Alle Werte in δ (ppm), bezogen auf Tetramethylsilan als inneren Standard.

Durch Dehydrierung von Paniculogenin (6) mit Chromsäure entstand das 3.6.23-Triketon 10, das einen positiven Zirkulardichroismus zeigt. Dieser muß sich bei der angenommenen Struktur durch Addition der ZD-Kurven von 23-Oxo-neotigogenin

18) Die freien Hydroxyverbindungen 1 und 6 konnten aus Löslichkeitsgründen nicht vermessen werden.

19) Berechnet aus den gefundenen Werten für Acetyl-neotigogenin (18-H: $\delta = 0.77$ ppm, 19-H: $\delta = 0.84$ ppm; vgl. l. c.^{9b)}) und dem Inkrement für eine 6α -Acetoxy-Gruppe ($\Delta\delta = +0.008$ ppm für 18-H bzw. $+0.042$ ppm für 19-H; vgl. R. F. Zürcher, *Helv. chim. Acta* 46, 2054 (1963); Y. Kawazoe, Y. Sato, M. Natsume, H. Hasegawa, T. Okamoto und K. Tsuda, *Chem. pharmac. Bull.* [Tokyo] 10, 338 (1962); 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.)

(11) und 5α -Cholestandion-(3.6)²⁰⁾ ergeben²¹⁾, was tatsächlich der Fall ist (Abbild. 3). Bei Berücksichtigung der Oktantenregel²²⁾ zur Deutung des stark positiven Cotton-Effekts der 23-Keto-Gruppe liegen bei Annahme der üblichen „horizontalen“ Sesselkonformation des F-Ringes die Methylgruppen C-18, C-19 und C-21 sowie sämtliche Atome der Ringe A, B und C in positiven Oktanten, und zwar bis auf C-21 in „vorderen“ Oktanten. Ihr Beitrag zum Cotton-Effekt überwiegt offenbar denjenigen der Methylgruppe C-27, des Kohlenstoffatoms C-16 und des Sauerstoffatoms im Ring E, für die negative Beiträge erwartet werden müssen.



Abbild. 3. Zirkulardichroismus von (25*S*)- $5\alpha,22\alpha$ O-Spirostantrion-(3.6.23) (10) (—●—●—), (25*S*)- 3β -Hydroxy- $5\alpha,22\alpha$ O-spirostanon-(23) (11) (—○—○—) und 5α -Cholestandion-(3.6)²⁰⁾ (—▲—▲—)

Im IR-Spektrum der 23-Oxo-spirosterane gibt sich die Ketogruppe durch eine im Vergleich zur üblichen Ketonfrequenz nach höheren Frequenzen verschobene Bande bei 1735/cm zu erkennen¹⁶⁾. Die Spiroketalbanden⁸⁾ sind dagegen verschwunden.

Endgültig wurde Struktur **6** für Paniculogenin durch dessen Synthese aus Neochlorogenin (**1**) bewiesen. Hierzu wurde Diacetyl-neochlorogenin (**2**) nach bekannter Methodik^{16, 23)} mit Chrom(VI)-oxid in Essigsäure bei 60° zu 23-Oxo-neochlorogenindiacetat oxydiert, dessen Hydrolyse 23-Oxo-neochlorogenin (**9**) lieferte. Die molare Drehungsverschiebung durch die 23-Keto-Gruppe beträgt in Chloroform +122°; die entsprechenden Werte für Neotigogenin und Neotigogenin-acetat sowie deren 23-Oxo-Derivate betragen +76° bzw. +117° (vgl. hierzu l. c.²⁴⁾). **9** wurde mit Chrom(VI)-oxid zu (25*S*)- $5\alpha,22\alpha$ O-Spirostantrion-(3.6.23) (**10**) oxydiert, das sich in allen Eigenschaften mit dem durch Dehydrierung von Paniculogenin gewonnenen

²⁰⁾ G. Snatzke, persönliche Mitteilung.

²¹⁾ Vgl. hierzu z. B. L. Velluz und M. Legrand, *Angew. Chem.* **73**, 603 (1961).

²²⁾ W. Moffitt, R. B. Woodward, A. Moscovitz, W. Klyne und C. Djerassi, *J. Amer. chem. Soc.* **83**, 4013 (1961).

²³⁾ L. F. Fieser und R. P. Jacobsen, *J. Amer. chem. Soc.* **60**, 28 (1938).

²⁴⁾ J. Jacques, H. Kagan und G. Ourisson, *Selected Constants, Optical Rotatory Power, Ia. Steroids*, Pergamon Press, Oxford-London-Edinburgh-Paris-New York-Frankfurt 1965; Neotigogenin $[\alpha]_D$: -77°, Neotigogenin-acetat $[\alpha]_D$: -76°; Lit.¹⁶⁾: 23-Oxo-neotigogenin $[\alpha]_D$: -56°, 23-Oxo-neotigogenin-acetat $[\alpha]_D$: -49°.

Triketon als identisch erwies. Durch Reduktion von **10** mit Natrium/n-Butanol entstand Paniculogenin. Da diese Reaktion thermodynamisch kontrolliert wird, besitzt Paniculogenin nur äquatoriale OH-Gruppen und damit die Struktur (23S:25S)-5 α .22 α O-Spirostantriol-(3 β .6 α .23) (**6**).

An C-23 oxygenierte Steroidsapogenine sind bisher noch nicht in der Natur gefunden worden. Hingegen sind C₂₇-Steroidalkaloide, die in 23-Stellung eine Sauerstoff-Funktion tragen, bereits bekannt und zwar Jervin²⁵⁾, 11-Desoxo-jervin²⁶⁾ und Veratramin²⁷⁾ aus Pflanzen der Gattung *Veratrum* sowie Solanocapsin²⁸⁾ und Leptinidin²⁹⁾ aus einigen *Solanum*-Arten. Zur möglichen Biogenese dieser 23-oxygenierten Steroidalkaloide vgl. I. c.³⁰⁾.

Glykoside

Neochlorogenin und Paniculogenin kommen in der Pflanze an Zucker gebunden vor. Wir isolierten zwei chromatographisch einheitliche und kristalline Substanzen mit den R_F -Werten 0.36 und 0.28³¹⁾, die sich jedoch nach ihren Hydrolyseprodukten als nicht völlig rein erwiesen. Sie lieferten beide als Hauptglykon Paniculogenin, jedoch im Falle der Substanz mit R_F 0.36 größere Mengen Neochlorogenin, im Falle der Substanz mit R_F 0.28 nur Spuren davon. Als Zucker waren bei der erstgenannten Substanz D-Xylose und L-Rhamnose, bei der zweiten nur L-Rhamnose nachweisbar, und zwar nach dem Elektronenanlagerungs-Massenspektrum³²⁾ je ein Molekül Xylose und Rhamnose bzw. zwei Moleküle Rhamnose. Nach diesen Befunden dürfte es sich bei der Substanz mit R_F 0.28 hauptsächlich um Bis- α -L-rhamnosyl-paniculogenin, bei der Substanz mit R_F 0.36 im wesentlichen um β -D-Xylosyl- α -L-rhamnosyl-paniculogenin handeln. Die Verknüpfungsfolge Xylose-Rhamnose-Aglykon ergab sich aus dem massenspektroskopischen Fragmentierungsmuster, die angeführte Konfiguration der Kohlenhydratbindungen nach der *Klyneschen Regel*³³⁾. Nach Perjodatoxydation und anschließender Hydrolyse ließen sich bei beiden Glykosiden papierchromatographisch keine Zucker mehr nachweisen³⁴⁾.

²⁵⁾ Vgl. u. a. J. Fried, O. Wintersteiner, M. Moore, B. M. Iseli und A. Klingsberg, J. Amer. chem. Soc. **73**, 2970 (1951).

²⁶⁾ T. Masamune, Y. Mori, M. Takasugi und A. Murai, Tetrahedron Letters [London] **1964**, 913; T. Masamune, Y. Mori, M. Takasugi, A. Murai, S. Ohuchi, N. Sato und N. Katsui, Bull. chem. Soc. Japan **38**, 1374 (1965).

²⁷⁾ Vgl. C. Tamm und O. Wintersteiner, J. Amer. chem. Soc. **74**, 3842 (1952).

²⁸⁾ K. Schreiber und H. Ripperger, Liebigs Ann. Chem. **655**, 114 (1962).

²⁹⁾ R. Kuhn und I. Löw, Chem. Ber. **94**, 1096 (1961); **95**, 1748 (1962); K. Schreiber und H. Ripperger, ebenda **100**, 1381 (1967).

³⁰⁾ K. Schreiber, Abh. dtsh. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Chem., Geol. Biol. Nr. **3**, 65 (1966); The Alkaloids, Chemistry and Physiology (R. H. F. Manske), Bd. **10**, Academic Press, New York-London, im Druck.

³¹⁾ Bei Dünnschichtchromatographie an Kieselgel G (Merck), Entwicklung mit Chloroform/Methanol (4:1), Nachweis mit Cer(IV)-sulfat in 50-proz. Schwefelsäure bei 110°.

³²⁾ Zur Anwendung der Elektronenanlagerungs-Massenspektrographie (Untersuchung negativer Ionen) bei Steroidglykosiden vgl. M. von Ardenne, R. Tümmeler, E. K. Weiss und T. Reichstein, Helv. chim. Acta **47**, 1033 (1964); M. von Ardenne, K. Steinfelder, R. Tümmeler und K. Schreiber, Internat. Symposium über Chemie und Stereochemie der Steroid- und Indolalkaloide, September 1965 in Smolence/ČSSR; Tagungsber., im Druck.

³³⁾ W. Klyne, Biochem. J. **47**, XLI (1950).

³⁴⁾ Zur Methodik vgl. R. Kuhn und I. Löw, Chem. Ber. **88**, 289 (1955).

Während β -D-Xylosyl- α -L-rhamnosyl-paniculogenin eine geringe hämolytische Aktivität aufwies (HI bei pH 5.32 bis pH 8.90 = 7500)³⁵, war die entsprechende Bis- α -L-rhamnosyl-Verbindung unter gleichen Bedingungen unwirksam.

Das Samenmaterial verdanken wir Herrn Dr. O. R. Gottlieb, Rio de Janeiro, den Anbau der Pflanzen Herrn Dr. G. Sembdner, 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 experimentelle Hilfe sind wir Fräulein A. Pawel, für die Messung der Zirkulardichrogramme Herrn Priv.-Doz. Dr. G. Snatzke, Bonn, für die Aufnahme der Elektronenanlagerungs-Massenspektren Herrn Dr. R. Tümmeler, Dresden, und für die Ermöglichung der Messung 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.

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 Äthanol mit dem Perkin-Elmer-Spektrophotometer 137 UV, die IR-Spektren in Chloroform mit dem Zeiss-Zweistrahl-Spektralphotometer UR 10, die Zirkulardichrogramme in Dioxan mit dem Roussel-Jouan-Dichrographen, die NMR-Spektren in Deuteriochloroform mit Tetramethylsilan als innerem Standard mit dem 60-MHz-Gerät der Fa. Varian Associates, die Elektronenstoß-Massenspektren mit dem Atlas-Massenspektrometer CH4 (Ionisierungsenergie 70 eV, Ionisierungsstrom 30 μ A, direkte Probeeinführung) bzw. dem doppelfokussierenden AEI-Massenspektrometer MS 9 und die Elektronenanlagerungs-Massenspektren mit dem Dresdner Molekül-Massenspektrographen³⁶ gemessen. — Die Dünnschichtchromatographie (DC) erfolgte an Kieselgel G (Merck); Plattengröße 13 \times 25 cm, je Platte 6.0 g Adsorbens; Entwicklung mit den Gemischen CM-19/1 = Chloroform/Methanol (19:1), CM-4/1 = Chloroform/Methanol (4:1) oder CyE-4/1 = Cyclohexan/Essigester (4:1); Nachweis der Substanzen mit Cer(IV)-sulfat in 50-proz. Schwefelsäure bei 110°. — Zur Elementaranalyse wurde bei 100° i. Hochvak. über P₂O₅ und Paraffin bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Aufarbeitung des Pflanzenmaterials: 330 kg im August/September 1963 geerntete Blätter von *Solanum paniculatum* L. (einjährige Pflanzen) wurden frisch in einer Flügelfräse zerkleinert und mit 1000 l, anschließend mit 500 l Methanol je 24 Stdn. bei Raumtemp. extrahiert. Der abgepresste methanol. Auszug wurde i. Vak. auf 150 l eingengt und mit 5 l Essigsäure versetzt. Zur Abtrennung der Lipoide wurde filtriert und das Filtrat 2mal mit zusammen 140 l Äther/Benzol (1:1) gewaschen. Nach Alkalisierung mit Ammoniak schüttelte man 3mal mit je 35 l Chloroform/Äthanol (2:1) aus. Einengen des Chloroformauszugs i. Vak. bis zur Trockne ergab 440 g amorphes *Rohsaponin* (Ausb. 0.13% des Blatt-Frischgewichts).

³⁵ Der hämolytische Index wurde nach I. Mazurek, Pharmazie 9, 310 (1954), unter Verwendung von isotonischem Acetat/Veronal-Puffer nach L. Michaelis, Biochem. Z. 234, 139 (1931), bestimmt; Standardsaponin „Dresden 1948“ (l. c. Mazurek): HI bei pH 5.32 = 29000, bei pH 6.75 = 15500, bei pH 7.90 = 16700, bei pH 8.90 = 14300.

³⁶ 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); R. Tümmeler und K. Steinfelder, ebenda 7, 1 (1967).

β -D-Xylosyl- α -L-rhamnosyl-paniculogenin: 5.0 g Rohsaponin wurden, in 50 ccm Chloroform + 5% Methanol gelöst, an 1 kg Kieselgel (VEB Laborchemie Apolda, in Chloroform-suspension mit 125 ccm 2-proz. Ammoniak 24 Stdn. stehengelassen) chromatographiert. Die Säule wurde mit 1 l Chloroform + 10% Methanol + 0.5% Wasser gewaschen und anschließend mit Chloroform + 20% Methanol + 1% Wasser eluiert; Fraktionen zu 50 ccm.

Der Rückstand der Fraktt. 34–36 (R_F 0.36 bei DC mit Gemisch CM-4/1) ergab aus Methanol 0.46 g (0.012% des Blatt-Frischgewichts) Plättchen vom Schmp. 262–264° und $[\alpha]_D^{20}$: -61.2° (Pyridin, $c = 1.14$). Nach salzsaurer Hydrolyse war neben *Paniculogenin* (6) auch *Neochlorogenin* (1) in untergeordneter Menge nachweisbar. Im schwefelsauren Hydrolysat von 10 mg Glykosid ließen sich papierchromatographisch *D-Xylose* und *L-Rhamnose* feststellen (zur angewendeten Methodik vgl. I. c.³).

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 280°): $m/e = 725$ (M–1), 707 (725–H₂O), 593 (M–C₅H₉O₄ [Xyloserest]), 447 (M–C₁₁H₁₉O₈ = 6–1), 429 (447–H₂O).

C₃₈H₆₂O₁₃ (726.9) Ber. C 62.79 H 8.60 O 28.61 Gef. C 62.71 H 8.42 O 28.95

Bis- α -L-rhamnosyl-paniculogenin: Der Rückstand der vorstehend erhaltenen Fraktionen 38–42 (R_F 0.28 bei DC mit Gemisch CM-4/1) ergab aus Methanol/Aceton (1:1) 0.58 g (0.015% des Blatt-Frischgewichts) Nadelchen vom Schmp. 237–238° und $[\alpha]_D^{20}$: -78.9° (Pyridin, $c = 1.12$). Nach salzsaurer Hydrolyse waren neben *Paniculogenin* (6) Spuren von *Neochlorogenin* (1), im schwefelsauren Hydrolysat von 10 mg Glykosid papierchromatographisch³ lediglich *L-Rhamnose* nachweisbar.

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 280°): $m/e = 739$ (M–1), 721 (739–H₂O), 593 (M–C₆H₁₁O₄ [1 Rhamnoseresest]), 575 (593–H₂O), 447 (M–C₁₂H₂₁O₈ = 6–1), 429 (447–H₂O).

C₃₉H₆₄O₁₃ (740.9) Ber. C 63.21 H 8.71 O 28.08 Gef. C 62.71 H 8.52 O 28.79

*Perjodatoxydation*³⁴ der *Paniculogeninglykoside*: Je 20 mg Glykosid wurden mit 2 ccm 0.1 n CH₃CO₂H und 4.5 ccm 0.1 n NaJO₄ in 3 ccm Dioxan 72 Stdn. bei 20° umgesetzt. Hierauf wurde 3mal mit Chloroform ausgeschüttelt, der Extrakt über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. eingengt. Den Rückstand löste man in 1.5 ccm Äthanol und 1.5 ccm n H₂SO₄ und kochte 2 Stdn. Nach Neutralisieren mit BaCO₃ wurde das Filtrat i. Vak. zur Trockne eingedampft. Im Rückstand ließen sich sowohl bei Perjodatoxydation von *β -D-Xylosyl- α -L-rhamnosyl-paniculogenin* als auch beim *Bis- α -L-rhamnosid* papierchromatographisch³ Zucker nicht nachweisen.

Neochlorogenin ((2*S*)-5*a*.22 *α* O-Spirostandiol-(3 *β* .6*a*), 1): 25.0 g Rohsaponin wurden mit 500 ccm n HCl in 50-proz. Äthanol 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt und das Reaktionsgemisch mit Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde i. Vak. eingengt und der Rückstand (18.5 g) an 1 kg Al₂O₃ (VEB Chemiewerk Greiz-Dörlau, Akt.-St. III) chromatographiert; Fraktionen zu je 500 ccm. Die Fraktt. 1–17 eluierte man mit Benzol/Chloroform (1:1), die Fraktt. 18–60 mit Chloroform + 1% Methanol.

Der Rückstand der Fraktt. 31–37 (R_F 0.58 bei DC mit Gemisch CM-4/1) ergab nach mehrmaliger Kristallisation aus Aceton bzw. Methanol/Wasser 0.86 g (0.0046% des Blatt-Frischgewichts) breite Nadeln vom Schmp. 256–260° und $[\alpha]_D^{20}$: -65.1° ($c = 0.91$) bzw. -40.1° (Pyridin, $c = 0.91$) (Lit.¹⁰): 269–270°, Lit.¹¹): 264–266°).

IR: 3610 (OH), 986, 915 (stark), 896 (schwach), 865/cm (Spiroketal, (2*S*)-Konfiguration).

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 190°): $m/e = 431$ (M–1), 413 (431–H₂O).

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

$C_{27}H_{44}O_4$ (432.6) Ber. C 74.95 H 10.25 Gef. C 74.24 H 10.23

Paniculogenin ((23S:25S)-5 α .22 α O-Spirostantriol-(3 β .6 α .23), 6): Der Rückstand der Frakt. 39–58 oben beschriebener Al_2O_3 -Chromatographie von 25.0 g Rohsaponin (R_F 0.54 bei DC mit Gemisch CM-4/1) lieferte nach wiederholter Kristallisation aus Methyläthylketon bzw. Methanol/Wasser 0.90 g (0.0048% des Blatt-Frischgewichts) breite Nadeln vom Schmp. 214–216° und $[\alpha]_D^{21}$: -45.7° ($c = 0.88$) bzw. $[\alpha]_D^{20}$: -51.8° (Pyridin, $c = 1.15$).

IR: 3610 (OH), 990, 918, 898 (etwas schwächer als voranstehende Bande), 865/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration); IR (Nujol): 3500, 3230 (OH), 990, 923 (stark), 907 (schwach), 870/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

Elektronenanlagerungs-Massenspektrum (Verdampfungstemp. 190°): $m/e = 447$ (M–1), 429 (447– H_2O).

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

$C_{27}H_{44}O_5$ (448.6) Ber. C 72.28 H 9.89 Gef. C 72.66 H 9.84

Diacetyl-neochlorogenin ((25S)-3 β .6 α -Diacetoxy-5 α .22 α O-spirostan, 2): Acetylierung von 1 mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemp. und Umkristallisation aus Methanol lieferte hexagonale Plättchen vom Schmp. 200–202° (Sintern ab 195°) und $[\alpha]_D^{19}$: -50.9° ($c = 1.18$) bzw. -37.8° (Pyridin, $c = 1.07$) (Lit.¹⁰): 196–198°; Lit.¹¹): 198–200°).

IR (CS₂): 1739 und 1244 (OAc), 987, 920 (stark), 900 (schwach), 850/cm (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

NMR: $\delta = 0.77$ (s; 18-H), 0.90 (s; 19-H), 1.02 (axiales CH_3 -27), 1.12 (21-H), 2.03 (s; OAc), 3.27 (d, $J = 11$ Hz; 26-H), 3.98 ppm (d, $J = 10$ Hz; 26-H).

Triacetyl-paniculogenin ((23S:25S)-3 β .6 α .23-Triacetoxy-5 α .22 α O-spirostan, 7): Acetylierung von 6 mit Acetanhydrid/Pyridin bei Raumtemp. bzw. mit Acetanhydrid/Pyridinhydrochlorid (4 Stdn. bei Siedehitze)⁷ ergab ein amorphes Triacetat mit $[\alpha]_D^{19}$: -50.8° (Pyridin, $c = 1.53$).

IR (CS₂): 1740 und 1240 (OAc), 987, 930 (stark), 900/cm (schwach) (Spiroketal, (25S)-Konfiguration).

NMR: $\delta = 0.79$ (s; 18-H), 0.90 (s; 19-H), 2.03 (s; OAc), 3.22 (d, $J = 12$ Hz; 26-H), 3.92 ppm (d, $J = 10$ Hz; 26-H).

Chlorogenin ((25R)-5 α .22 α O-Spirostandiol-(3 β .6 α), 5): Die Lösung von 350 mg Neochlorogenin (1) in 85 ccm Äthanol wurde mit 22 ccm konz. Salzsäure 50 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von Wasser wurde mit Chloroform extrahiert, der Extrakt mit verd. Ammoniak und Wasser gewaschen und das Lösungsmittel i. Vak. abdestilliert. Den Rückstand chromatographierte man an 50 g Al_2O_3 (Merck, Akt.-St. III); Fraktionen zu je 50 ccm. Die Frakt. 1–5 wurden mit Benzol/Chloroform (1:1), die Frakt. 6–13 mit Chloroform eluiert. Der Rückstand der Frakt. 7–13 ergab nach 2maliger Kristallisation aus Aceton 125 mg (36%) breite Nadeln vom Schmp. 260–264° (Sublimation ab 210°) und $[\alpha]_D^{19}$: -53.1° ($c = 0.50$), nach Misch-Schmp. und IR-Spektrum identisch mit authent. 5 vom Schmp. 280° und $[\alpha]_D^{19}$: -48.8° ($c = 0.51$)¹⁵ (Lit.¹³): Schmp. 276°, $[\alpha]_D$: -52° ; Lit.¹⁴): Schmp. 276°, $[\alpha]_D$: -45° .

3 β .6 α -Diacetoxy-5 α - A^{16} -pregnenon-(20) (4): 500 mg 1 wurden mit 2.6 ccm Acetanhydrid 25 Min., nach Zugabe von 170 mg Pyridinhydrochlorid weitere 3 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurden bei 15° 0.28 ccm Essigsäure und 0.45 ccm Wasser sowie eine Lösung von 310 mg Chrom(VI)-oxid in 2.8 ccm 90-proz. Essigsäure hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch blieb 3 Stdn. bei 20° stehen und wurde dann nach Zugabe von 0.20 g Na_2SO_3 und

0.46 g Natriumacetat 1 Stde. unter Rückfluß erhitzt. Man goß in Wasser und extrahierte mit Benzol. Die benzol. Lösung wurde mit NaHCO_3 -Lösung und Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. zur Trockne abdestilliert. Den Rückstand chromatographierte man an 50 g Al_2O_3 (Merck) der Akt.-St. I; Fraktionen zu je 50 ccm. Die Fraktt. 1–15 wurden mit Benzol, 16–25 mit Benzol + 5% Äther, 26–30 mit Benzol + 10% Äther und 31–40 mit Benzol + 20% Äther eluiert. Die Rückstände der Fraktt. 16–28 (R_F 0.49 bei DC mit Gemisch CyE-4/1) ergaben aus n-Hexan 160 mg (33%) Nadelbüschel vom Schmp. 112–118° und $[\alpha]_D^{20}$: +72.0° ($c = 0.91$) (Lit.⁵): Schmp. 109–115°, $[\alpha]_D^{20}$: +63.7°.

IR (CCl_4): 1742 (OAc), 1677 (C=O), 1594 (C=C), 1250/cm (OAc).

UV: λ_{max} (log ϵ) 239.5 (3.95), 320 nm (1.89) (Lit.⁵): λ_{max} 239 nm, log ϵ 3.98).

3 β .6 α -Diacetoxy-5 α -pregnanon-(20) (8): Die Lösung von 120 mg **4** in 20 ccm Essigester wurde 5 Stdn. in Gegenwart von 60 mg 5-proz. Palladium/Kohle unter Wasserstoff geschüttelt. Nach Filtrieren und Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. gab der Rückstand aus n-Hexan 80 mg (66%) Kristalle vom Schmp. 101–105° und $[\alpha]_D^{20}$: +87.1° ($c = 0.91$) (Lit.⁵): Schmp. 101–104°, $[\alpha]_D^{20}$: +73.2°; Lit.⁶): Schmp. 101–102°, $[\alpha]_D^{20}$: +88.4°.

IR (CCl_4): 1743 (OAc), 1713 (C=O), 1250/cm (OAc).

UV: λ_{max} 288 nm (log ϵ 1.73).

23-Oxo-neochlorogenin ((25S)-3 β .6 α -Dihydroxy-5 α .22 α O-spirostanon-(23), 9): Zu einer Lösung von 795 mg **2** in 16 ccm Essigsäure ließ man bei 60° innerhalb von 2 Stdn. 420 mg *Chrom(VI)-oxid* in 7 ccm 80-proz. Essigsäure tropfen. Die Mischung wurde weitere 3 Stdn. bei 60° aufbewahrt und dann nach Zugabe von 1 ccm Äthanol i. Vak. bis fast zur Trockne eingeengt. Man versetzte mit Wasser und extrahierte mit Äther. Die äther. Lösung wurde 3mal mit 3-proz. Natronlauge ausgeschüttelt und eingeengt. Den Rückstand löste man in 13 ccm Äthanol und erhitze nach Zugabe von 0.60 g *Girard-Reagens T* sowie 1.5 ccm Essigsäure 2 Stdn. unter Rückfluß. Dann gab man 13 ccm Äthylenglykol zu und destillierte das Äthanol i. Vak. ab. Die Lösung wurde 6mal mit trockenem Benzol extrahiert, mit 30 ccm Wasser und 10 ccm Essigsäure versetzt und 3 Stdn. auf 100° erhitzt. Nach Abkühlen wurde der Niederschlag abgesaugt und, in 10 ccm 0.5-proz. äthanol. *Kalilauge* gelöst, 14 Stdn. bei 20° stehengelassen. Etwa die Hälfte des Äthanols wurde i. Vak. abdestilliert, dann wurde mit Wasser versetzt und abgesaugt. Aus Aceton 26 mg (3%) Plättchen vom Schmp. 256–257° und $[\alpha]_D^{20}$: –35.7° ($c = 0.48$).

IR (Nujol): 3330 (OH), 1737/cm (23-Keton), keine Spiroketalbanden.

$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_5$ (446.6) Ber. C 72.60 H 9.48 Gef. C 72.42 H 9.01

(25S)-5 α .22 α O-Spirostantrion-(3.6.23) (10)

a) Aus 23-Oxo-neochlorogenin (9): 23 mg **9** wurden in 2 ccm Aceton/Tetrahydrofuran (1:1) mit 0.10 ccm Chromsäurelösung (1.0 g *Chrom(VI)-oxid* + 1.0 ccm konz. Schwefelsäure, mit Wasser auf 5.0 ccm aufgefüllt) dehydriert. Nach 1 Stde. wurde mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Aus Aceton/Wasser 16 mg (70%) rechteckige Plättchen vom Schmp. 239–240° und $[\alpha]_D^{20}$: –71.9° ($c = 0.76$).

IR: 1735 (Schulter, 23-Keton), 1718/cm (3- und 6-Keton), keine Spiroketalbanden.

UV: λ_{max} 290 nm (log ϵ 1.99).

ZD: $[\text{C}]_{350}$ 0, $[\text{C}]_{316}$ +5310, $[\text{C}]_{305.5}$ +5770, $[\text{C}]_{297}$ +5310, $[\text{C}]_{288}$ +4420, $[\text{C}]_{250}$ 0 ($c = 0.05$); vgl. Abbild. 3.

Elektronenstoß-Massenspektrum: $m/e = 442$ (M^+), 414 ($\text{M}^+ - \text{CO}$), 359 (e), 314 (b), 299 (c), 285 (a); vgl. Schema 1: $\text{R} = \text{R}' = \text{O}$.

$\text{C}_{27}\text{H}_{38}\text{O}_5$ (442.6) Ber. C 73.26 H 8.66 Gef. C 72.68 H 8.51

b) Aus *Paniculogenin* (6): 400 mg 6 wurden in 20 ccm Aceton/Tetrahydrofuran (1:1) mit 1.8 ccm *Chromsäure*-Lösung, wie unter a) beschrieben, dehydriert. Das Rohprodukt wurde an 40 g Al_2O_3 (Merck) der Akt.-St. I chromatographiert; Fraktionen zu je 50 ccm. Die Frakt. 1–4 wurden mit Benzol + 5% Äther, 5–9 mit Benzol + 10% Äther, 10–22 mit Benzol + 20% Äther und 23–31 mit Benzol/Äther (1:1) eluiert. Der Rückstand der Frakt. 15–31 (R_F 0.63 bei DC mit Gemisch CM-19/1) ergab aus Methanol 173 mg (44%) Plättchen vom Schmp. 234–237° und $[\alpha]_D^{18}$: -65.3° ($c = 0.88$), nach Misch-Schmp., IR- und Massenspektrum identisch mit nach a) gewonnenem 10.

Reduktion von 10 mit Natrium/n-Butanol zu Paniculogenin (6): In die Lösung von 50 mg 10 in 20 ccm *n-Butanol* wurde während 1.5 Std. *Natrium* bis zur beginnenden Abscheidung von Natriumbutylat eingetragen. Das Reaktionsgemisch wurde 5mal mit Wasser ausgeschüttelt und die Butanolösung i. Vak. zur Trockne eingengt. Den Rückstand chromatographierte man an 10 g Al_2O_3 (Merck) der Akt.-St. III; Fraktionen zu je 20 ccm. Die Frakt. 1–8 wurden mit Chloroform, 9–16 mit Chloroform + 1% Methanol eluiert. Der Rückstand der Frakt. 9–12 (R_F 0.54 bei DC mit Gemisch CM-4/1) lieferte aus Aceton 9 mg (18%) Nadelchen vom Schmp. 214–216° und $[\alpha]_D^{18}$: -47.0° ($c = 0.43$), nach Misch-Schmp. und IR-Spektrum identisch mit aus *S. paniculatum* gewonnenem 6.

23-Oxo-neotigogenin ((25*S*)-3 β -Hydroxy-5 α .22 α O-spirostanon-(23), 11): Dargestellt nach l. c.¹⁶) durch Oxydation von *Neotigogenin-acetat*: Schmp. 240–244°, $[\alpha]_D^{18}$: -53.4° ($c = 0.54$) (Lit.¹⁶): Schmp. 244–247°, $[\alpha]_D$: -56° .

IR: 3620 (OH), 1736/cm (23-Keton), keine Spiroketalbanden.

UV: λ_{\max} 301 nm ($\log \epsilon$ 1.67).

ZD: $[\Theta]_{350}^0$, $[\Theta]_{312}^0 + 6150$, $[\Theta]_{305}^0 + 6150$, $[\Theta]_{255}^0$ ($c = 0.08$); vgl. Abbild. 3.

23-Hydroxy-neotigogenin ((25*S*)-5 α .22 α O-Spirostandiol-(3 β .23), 23-Epimerengemisch, 12): 10 mg 11 in 5 ccm Methanol wurden mit 2 mg *Natriumborant* in 0.5 ccm 80-proz. Methanol versetzt. Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung wurde 15 Min. unter Rückfluß erhitzt, dann etwa die Hälfte des Methanols abdestilliert und bei Siedetemp. vorsichtig mit Wasser versetzt: 9 mg (90%) Nadeln vom Schmp. 213–217°.

IR (Nujol): 3400/cm (OH).

Elektronenstoß-Massenspektrum: $m/e = 432$ (M^+), 414 ($M^+ - \text{H}_2\text{O}$), 396 ($M^+ - 2 \text{H}_2\text{O}$), 347 (e), 329 (e - H_2O), 302 (b), 287 (c), 273 (a), 269 (c - H_2O), 255 (a - H_2O); vgl. Schema 1, R = H, OH, R' = H_2 .

[498/66]