

## Triterpenester aus *Sanvitalia procumbens* Lam.

Dietmar Ganzinger, Ulrike Oesterreicher<sup>1</sup>  
und Matthias Pailer\*

Institut für Pharmazeutische Chemie, Universität Wien,  
A-1090 Wien, Österreich

(Eingegangen 22. Juli 1980. Angenommen 11. August 1980)

### *Triterpene Esters from Sanvitalia Procumbens Lam.*

The flowering part of *Sanvitalia procumbens* Lam. contains—apart from a hydrocarbon-fraction—a mixture of triterpene esters. From this eight fatty acids as well as  $\alpha$ - and  $\beta$ -amyrin were identified. The definite identification and differentiation of the amyrines was achieved by GC-MS.

(Keywords:  $\alpha$ -,  $\beta$ -Amyrine; *Sanvitalia procumbens*; Triterpene esters)

### Einleitung

*Sanvitalia procumbens* Lam. ist eine aus Mexiko stammende *Asteracea* (*Tribus Heliantheae*), die in unseren Breiten als Zierpflanze kultiviert wird. 1898 erwähnte *Dragendorff* die verdauungsfördernde Wirkung des Dekokts<sup>2</sup>. In der einzigen bisher bekannten chemischen Untersuchung der Inhaltsstoffe wurden von *Bohlmann* et al. aus den Wurzeln drei Polyacetylenverbindungen isoliert und ihre Struktur bestimmt<sup>3</sup>. Im folgenden sollen einige Ergebnisse der Analyse von Inhaltsstoffen aus den oberirdischen Pflanzenteilen berichtet werden.

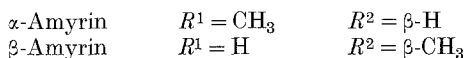
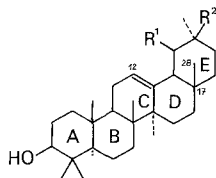
### Methodik und Ergebnisse

Das getrocknete blühende Kraut wurde zuerst mit Petrolether bei Raumtemperatur perkoliert und anschließend mit diesem Lösungsmittel im *Soxhlet*-Apparat weiter extrahiert. Im DC erwiesen sich beide Extrakte als sehr ähnlich und zeigten das Vorliegen mehrerer Substanzen an.

Nach wiederholter schichtchrom. Auftrennung des Perkolats konnte eine Kohlenwasserstoff-Fraktion und als Hauptmenge eine weiße

Substanz erhalten werden, die nach dem Umkristallisieren aus Aceton bei 54—56 °C schmolz. Die im IR-Spektrum bei 1750 und 1165 cm<sup>-1</sup> sichtbaren Banden weisen die Kristalle als Ester aus. Das MS zeigt kein deutliches Molekulargewicht an, läßt aber mehrere Peaks geringer Intensität bei *m/e* 834, 776, 762 und 748 erkennen. Der Basepeak bei *m/e* 218 deutet auf pentacyclische Triterpene hin, die in einem Oleanan- oder Ursan-Gerüst eine Doppelbindung zwischen C-12 und C-13 haben<sup>4</sup>.

Wegen des hohen Molekulargewichts mußte vor der gaschrom. Untersuchung eine Esterspaltung vorgenommen werden. Die Verseifung in methanolischer Kalilauge lieferte zwei Fraktionen, von denen die neutrale neben nicht gespaltenen Estern Triterpenole enthielt. Die saure Fraktion wurde nach Methylierung mit Diazomethan direkt gaschrom. untersucht.



Die zumeist gefundenen Vertreter des nach dem ersten MS (Basepeak *m/e* 218) zu erwartenden  $\Delta^{12}$ -ungesättigten Ursen- bzw. Oleanen-Typs sind  $\alpha$ -Amyrin und  $\beta$ -Amyrin. Eine Unterscheidung oder Trennung dieser isomeren Triterpene durch die übliche Gaschromatographie (GLC) oder durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel mit komplexbildenden Metallen bereitet bekanntlich große Schwierigkeiten, doch ermöglichen heute Kapillar-GC und HPLC eine weitgehende Auflösung solcher Gemische<sup>5, 6</sup>.

Der GC-Vergleich auf einer SE-30-Kapillarsäule mit authentischen Substanzen weist die hier vorliegende Neutralfraktion der verseiften Terpenester als ein Gemisch von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin aus.

*Budzikiewicz, Wilson und Djerassi*<sup>4</sup> haben umfangreiche Untersuchungen über das MS-Fragmentierungsverhalten von pentacyclischen Triterpenen durchgeführt. Sie konnten dabei aber keine deutliche Unterscheidung der beiden isomeren Amyrine treffen, da beide die gleichen Ionen liefern.

Wir glauben aber, daß es mit Hilfe einer GC-MS-Kombination sehr wohl möglich ist, eine Unterscheidung vorzunehmen.

Denn die mittels einer Kapillarsäule getrennten Amyrine liefern zwar sehr ähnliche MS-Spektren, unterscheiden sich aber doch in der relativen Intensität eines einzigen Ions deutlich voneinander.

Gerät/Substanz	Rel. Intensität (%) der Peaks ( $m/e$ )				
	189	203	207	218	$M^+$
Varian MAT 111					
$\alpha$ -Amyrin (Roth)	30	26	10	100	8
$\beta$ -Amyrin (Roth)	34	59	10	100	7
HP 5990 A					
$\alpha$ -Amyrin (Roth)	18	16	12	100	4
$\beta$ -Amyrin (Roth)	18	36	15	100	3
$\alpha$ -Amyrin	26	11	19	100	2
$\beta$ -Amyrin	20	40	11	100	2
$\alpha$ -Amyrin-acetat	36	15	—	100	3
$\beta$ -Amyrin-acetat	26	39	—	100	2

Das am meisten charakteristische Ion aller Verbindungen der  $\Delta^{12}$ -ungesättigten Oleanene und Ursene entsteht durch retro-*Diels-Alder*-Zerfall des Ringes C<sup>4</sup>. Für unsubstituierte Ringe D und E erscheint es für beide Gruppen bei  $m/e$  218 mit der relativ höchsten Intensität. Dieses Ion verliert in einem Schritt — wie in einigen Fällen durch metastabile Ionen bewiesen werden konnte<sup>4</sup> — die Atome C-17 und C-28 unter Bildung des Ions  $m/e$  189, das für die beiden Terpentypen wieder mit annähernd gleicher Intensität zu finden ist.

Das in den Spektren der  $\Delta^{12}$ -ungesättigten Triterpene nicht allzu häufige Fragment  $m/e$  207 enthält die Ringe A und B, wie aus den entsprechenden Verschiebungen durch Substitution in diesen Ringen nachgewiesen werden konnte<sup>4</sup>.

Den einzigen Unterschied in den MS-Spektren von  $\alpha$ -Amyrin und  $\beta$ -Amyrin bildet das Ion  $m/e$  203. Es entsteht durch den Verlust von 15  $\mu$  aus dem Basepeak  $m/e$  218<sup>4</sup>. Ob der Verlust von CH<sub>3</sub> ausschließlich aus der angulären C-17-Position erfolgt — wie z. B. beim Methyl-oleanat oder Erythrodiol-diacetat — bleibt auch für *Budzikiewicz et al.*<sup>4</sup> eine offene Frage. Da aber im  $\beta$ -Amyrin die beiden Methylgruppen des Ringes E geminal stehen, ist hier mit einer stärkeren Methylabspaltung zu rechnen als im  $\alpha$ -Amyrin, in dem die beiden Gruppen vicinal stehen.

Diese Beobachtungen machten wir auch tatsächlich in den Spektren von reinem  $\alpha$ -Amyrin und reinem  $\beta$ -Amyrin an verschiedenen Geräten; ein gleiches Bild lieferten die Amyrin-acetate (siehe Tabelle). Auf diese Weise ließen sich auch in der aus *Sanvitalia procumbens* gewonnenen Triterpenfraktion  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin nebeneinander nachweisen. Sie dürften hier in etwa gleichem Mengenverhältnis vorliegen.

Die Bestimmung der Säurekomponente des Triterpenester-Komplexes erfolgte durch alkalische Verseifung und anschließende Methylie-

rung mit Diazomethan. Mittels GC/MS der Methylester wurden durch Vergleich mit den Daten des Eight-Peak-Index<sup>7</sup> die folgenden Säuren identifiziert:

Palmitinsäure, Stearinsäure, Arachinsäure, Behensäure, Tricosansäure, Lignocerinsäure, Cerotinsäure und Octacosansäure.

Auffallend dabei ist das Vorkommen einer ungeradzahligen Fettsäure neben den homologen geradzahligen.

Auch die Kohlenwasserstoff-Fraktion, die man durch Säulenchromatographie des Petrolether-Extraktes erhalten hatte, wurde durch GC/MS-Kombination analysiert<sup>7</sup>. Neben einigen verzweigten und ungesättigten Verbindungen, die nicht genau bestimmt werden konnten, fand man vor allem gesättigte *n*-Kohlenwasserstoffe, von denen C<sub>25</sub>H<sub>52</sub> hervortrat (siehe exp. Teil).

### Dank

Unser Dank gilt Herrn Dr. H. Traitler, Institut für Organische Chemie der Universität Wien, für die GC/MS-Aufnahmen und Herrn F. Slechta für die MS-Spektren.

### Experimenteller Teil

Die GC/MS-Aufnahmen wurden mit einem Hewlett-Packard 5990 A Quadrupol (35 m Glaskapillare belegt mit SE-30; N<sub>2</sub>: 3 ml/min; Programm mit automatischer Untergrundkorrektur), MS-Spektren mit einem Varian MAT 111 und IR-Spektren mit einem Perkin-Elmer 237 aufgenommen. Für die Chromatographie benutzte man Kieselgel 60 für Säulenchromatographie und für die DC Folien mit Kieselgel 60 F 254 (beides von Merck, Darmstadt). Die Detektion der Triterpene erfolgte mit Liebermann-Burchard- und Anisaldehyd-Schwefelsäure-Reagenz<sup>8</sup>.

#### Extraktion

570 g luftgetrocknetes, blühendes Kraut von *Sanvitalia procumbens* (gezogen aus Samen der Fa. Austrofaat, Wien) perkolierte man mit 15 l Petrolether 40/60: 2,80 g (0,5%) Extrakt I; weitere Extraktion wurde im Soxhlet-Apparat mit 7 l Petrolether 40/60 durchgeführt: 7,52 g (1,3%) Extrakt II.

#### Isolierung der Terpenester und der Kohlenwasserstoff-Fraktion

2,80 g Extrakt I trennte man auf 300 g SiO<sub>2</sub> mit Petrolether unter allmählichem Zusatz von Ethylacetat: 80 mg (0,014%) KW-Fraktion und 410 mg (0,072%) Terpenester.

400 mg Terpenester chromatographierte man auf 10 g SiO<sub>2</sub> mit Cyclohexan/Ethylacetat 30/1; 315 mg gereinigter Terpenester.

Triterpenester: 300 mg (0,053%) weiße Kristalle aus Aceton. Schmp. 54–56°C.

IR: 2940, 2860, 1750, 1480, 1380, 1165, 720 cm<sup>-1</sup>.

MS: 834 (0,5%), 806 (0,6%), 776 (1,9%), 762 (0,6%), 218 (100%), 205 (22%), 203 (20%), 189 (22%).

*Spaltung der Ester*

## a) Verseifung:

20 mg Terpenester wurden in 3 ml 5% methanol. KOH unter Ar 2 h unter Rückfluß gekocht. Da die Verseifung nach DC-Kontrolle unvollständig war, erhitzte man weitere 2 h. Nach dem Einengen zur Trockene nahm man in H<sub>2</sub>O auf und extrahierte mit CHCl<sub>3</sub>: 10 mg Neutralfraktion (50%). Die alkal. Lösung wurde mit 2*N*-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angesäuert und mit CHCl<sub>3</sub> extrahiert: 5 mg Säuren (25%).

## b) Reduktion:

5 mg Terpenester wurden mit 10 mg LiAlH<sub>4</sub> und 2 ml Et<sub>2</sub>O bei Raumtemperatur versetzt. Nach 1 h wurde auf Eis gegossen, mit 2*N*-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angesäuert und mit Et<sub>2</sub>O extrahiert: 4,6 mg Terpenole und Fettalkohole (keine Ester!).

*Säurefraktion*: nach Methylierung mit Diazomethan GC/MS und Vergleich mit<sup>7</sup>; GC: 140—300 °C mit 8°/min.

*n*-C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> (16%), *n*-C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub> (8%), *n*-C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O<sub>2</sub> (11%), *n*-C<sub>22</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub> (18%), *n*-C<sub>23</sub>H<sub>46</sub>O<sub>2</sub> (4%), *n*-C<sub>24</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> (28%), *n*-C<sub>26</sub>H<sub>52</sub>O<sub>2</sub> (10%), *n*-C<sub>28</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub> (4% Anteil am Gemisch).

*Triterpenole*: MS-Daten siehe Tabelle.

a)  $\alpha$ - und  $\beta$ -Amyrin: Vergleichssubstanzen von C. Roth, Karlsruhe. GC: Varian 1400 (1,8 m/2 mm Glassäule 3% OV 101 auf Chromosorb WAW/DMCS; N<sub>2</sub> 28 ml/min; 300 °C iso); *R<sub>T</sub>* 3,8 min  $\beta$ -Amyrin, 4,4 min  $\alpha$ -Amyrin.

b) Triterpenole aus den Estern (nach Verseifung bzw. nach red. Spaltung) GC/MS: HP 5990 A (130—300 °C mit 12°/min); *R<sub>T</sub>* 18,6 min  $\beta$ -Amyrin, 18,8 min  $\alpha$ -Amyrin.

c) Triterpenol-acetate: Die Neutralfraktion wurde auf bekanntem Weg mit Ac<sub>2</sub>O/Pyridin acetyliert. GC/MS: HP 5990 A (130—300 °C mit 10°/min); *R<sub>T</sub>* 20,0 min  $\beta$ -Amyrin-acetat, 20,3 min  $\alpha$ -Amyrin-acetat.

*KW-Fraktion*: nach GC-Vergleich mit einem KW-Testgemisch erfolgte direkte GC/MS-Bestimmung im Vergleich mit<sup>7</sup>; etwa 75% der Fraktion konnten identifiziert werden: *n*-KW.

C<sub>15</sub>H<sub>30</sub> (13%), C<sub>16</sub>H<sub>34</sub> (3%), C<sub>17</sub>H<sub>34</sub> (5%), C<sub>17</sub>H<sub>36</sub> (4%), C<sub>22</sub>H<sub>46</sub> (1%), C<sub>23</sub>H<sub>48</sub> (9%), C<sub>24</sub>H<sub>50</sub> (3%), C<sub>25</sub>H<sub>52</sub> (21%), C<sub>27</sub>H<sub>56</sub> (13%), C<sub>28</sub>H<sub>58</sub> (2%), C<sub>29</sub>H<sub>60</sub> (16%), C<sub>31</sub>H<sub>64</sub> (9% rel. Anteil).

**Literatur**

- <sup>1</sup> Oesterreicher, U., Diplomarbeit, Universität Wien, 1980.
- <sup>2</sup> Dragendorff, G., Die Heilpflanzen verschiedener Völker und Zeiten. Stuttgart: Enke. 1898.
- <sup>3</sup> Bohlmann, F., Zdero, C., Bonnet, P., Chem. Ber. **99**, 3194 (1966).
- <sup>4</sup> Budzikiewicz, H., Wilson, J. M., Djerassi, C., J. Amer. Chem. Soc. **85**, 3688 (1963).
- <sup>5</sup> Baas, W. J., J. Chromatogr. **153**, 263 (1978).
- <sup>6</sup> Niemann, G. J., Baas, W. J., J. Chromatog. Sci. **16**, 260 (1978).
- <sup>7</sup> Eight Peak Index of Mass Spectra, Mass Spectrometry Data Centre Awre, Aldermaston (UK), 1. Aufl. 1970, 2. Aufl. 1974.
- <sup>8</sup> Stahl, E., Dünnschicht-Chromatographie. Berlin-Heidelberg-New York: Springer. 1962.