

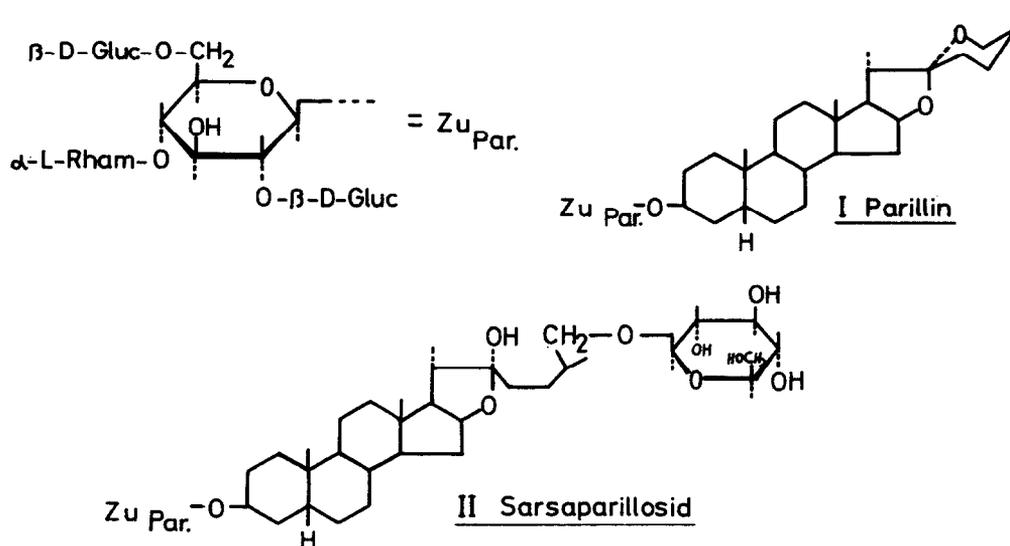
ÜBER SARSAPARILLOSID, EIN SAPONINDERIVAT MIT BISGLYKOSIDISCHER
FUROSTANOLSTRUKTUR

Rudolf Tschesche, Gundolf Lüdke und Günter Wulff
Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn

(Received 25 April 1967)

Vor kurzem¹⁾ haben wir über die Strukturermittlung von Parillin (I), eines Hauptsaponins der Droge Radix sarsaparillae (Wurzeln von Smilax aristolochiaefolia Mill.), berichtet. Wir haben jetzt ein zweites, zuckerreicheres Hauptsaponin, Sarsaparillosid, aus der gleichen Droge isoliert; es leitet sich in der Weise von Parillin ab, daß die Spiroketalgruppierung geöffnet und daß die OH-Gruppe am C-26 durch D-Glucose glykosidiert ist. Sarsaparillosid (II) enthält so zwei unabhängige Zuckerketten, die an ein (25S)-5 β -Furostan-3 β ,22 α ,26-triol über die OH-Gruppen an C-3 und C-26 gebunden sind.

Steroidsaponine dieses Typs waren bisher unbekannt. Wohl hatten Marker und Mitarb.²⁾ schon in den 40iger Jahren vermutet, daß die genuinen Steroidsaponine an der geöffneten Spiroketalgruppierung an C-26 Zucker tragen könnten, doch hatten Wall und Mitarb.^{3,4)} Untersuchungen angestellt, aus denen sie schlossen, daß die Aglykone der Steroidsaponine eine intakte Spiroketalgruppierung enthalten müßten. Sie kamen zu diesem Schluß aus ihren Untersuchungen über die IR-Absorption der Saponine und der durch enzymatische Spaltung der Glykoside erhaltenen Sapogenine. Ihre Ansicht ist heute allgemein angenommen⁵⁾. Vor einigen Monaten berichteten Schreiber und Ripperger⁶⁾ über ein Monoglucosid eines Steroidalkaloids, dem sie die Struktur eines (25S)-3 β -Amino-furostan-22 α ,26-diol-O(26)- β -D-glucopyranosids zuschreiben. Sie vermuteten, daß auch in Steroidsaponinen dieser Strukturtyp in Bezug auf die Seitenkette vorkommen könnte.



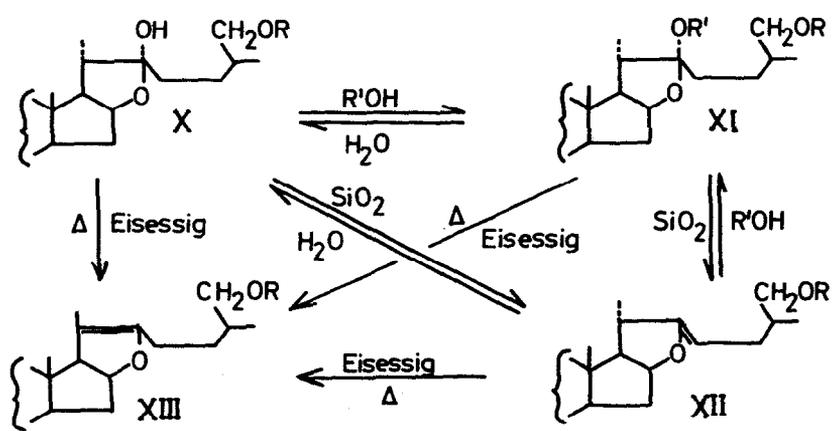
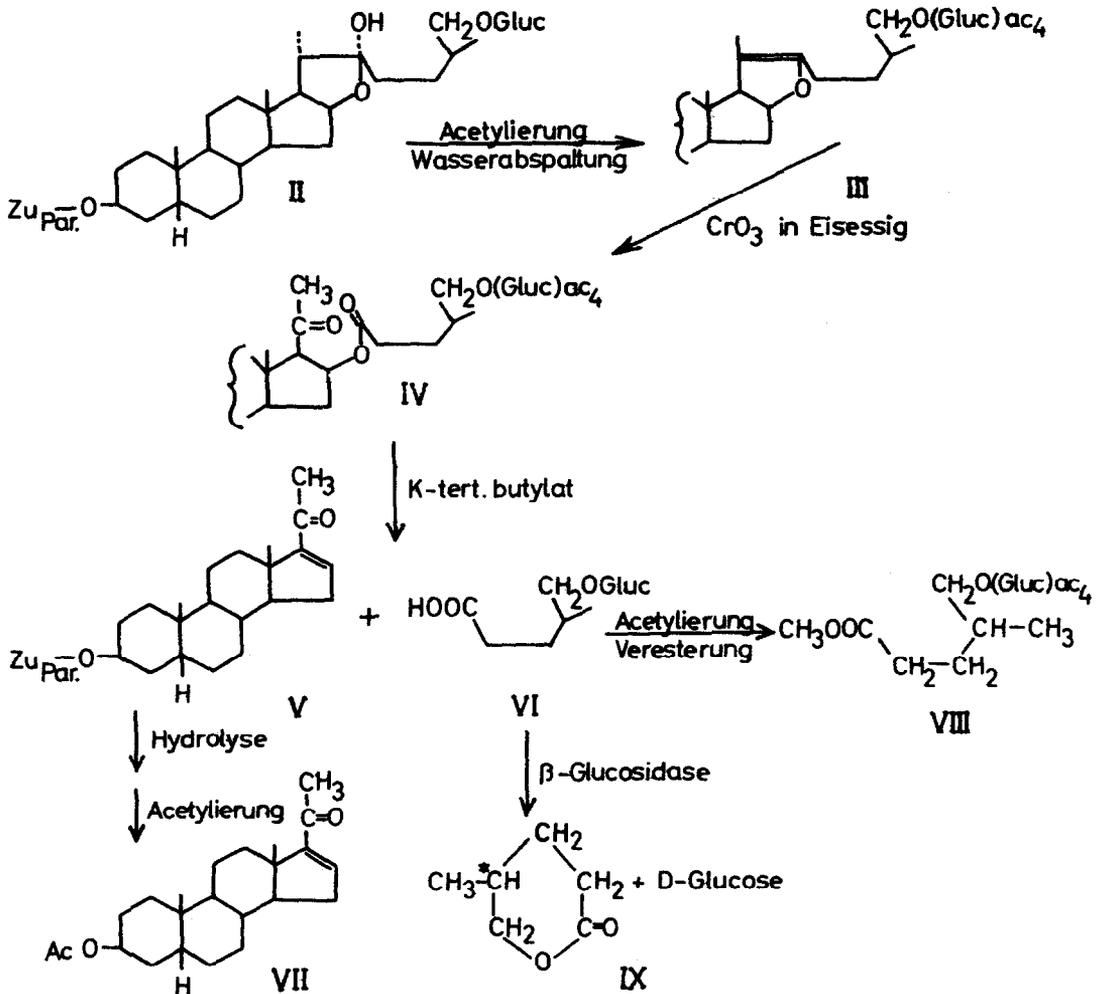
Sarsaparillosid wurde durch Säulenchromatographie erhalten, es ist ein farbloses, amorphes Pulver von $[\alpha]_D^{20} = -44^\circ$. Bei der sauren Hydrolyse liefert es Sarsasapogenin, D-Glucose und L-Rhamnose. Die quantitative Zuckerbestimmung zeigt vier Moleküle D-Glucose und ein Molekül L-Rhamnose an. Bei der enzymatischen Spaltung mit β -Glucosidase (Mandelemulsin) wird es sehr schnell und in fast quantitativer Ausbeute in Parillin (I) übergeführt. Die Methylierung nach Kuhn und Mitarb.⁷⁾ und nachfolgende Spaltung ergibt die gleichen Methylzucker wie Parillin, nämlich 3-Methyl-D-glucose, 2,3,4-Trimethyl-L-rhamnose und 2,3,4,6-Tetramethyl-D-glucose. Gegenüber dem Parillin wird lediglich ein Molekül 2,3,4,6-Tetramethyl-D-glucose mehr gebildet. Die zusätzliche Glucose im Sarsaparillosid muß demnach endständig gebunden sein. Sie kann aber nicht am Zuckerteil des Parillins angreifen, da dann gegenüber diesem andere Methylzucker hätten auftreten müssen. Da in dem zunächst als Aglykon angesehenen Sarsasapogenin keine weitere OH-Gruppe zur Anknüpfung einer Glucose mehr vorhanden ist, muß man annehmen, daß nicht Sarsasapogenin, sondern das 5 β -Furostan-3 β ,22 α ,26-triol Aglykon ist, das bei der Hydrolyse in Sarsasapogenin übergeht.

Um diese Struktur zu beweisen, wurde Sarsaparillosid in Pyridin/Acetanhydrid acetyliert und zur Überführung in die $\Delta^{20(22)}$ -Verbindung III zwei Stdn. mit

Eisessig gekocht. Diese Verbindung wurde in der Art eines Marker-Abbaus in der Variante von Wall und Mitarb.⁸⁾ oxydativ gespalten. Dazu oxydierte man die Verbindung bei Raumtemperatur in Eisessig mit CrO_3 zum Esterketon IV, das dann mit Kalium-tert. butylat zum Glykosid des Δ^{16} -Pregnenolons (V) und zum Glucosid der γ -Methyl- δ -hydroxy-valeriansäure (VI) aufgespalten wurde. Nach Trennung beider Verbindungen wurde das Δ^{16} -Pregnenolon-glykosid durch saure Hydrolyse gespalten. Das Aglykon überführte man anschließend ins Acetat VII, das in allen Eigenschaften mit authentischem, aus Smilagenin hergestelltem 3 β -Acetoxy-5 β -pregn-16-en-20-on übereinstimmte.

Das γ -Methyl- δ -hydroxy-valeriansäure-glucosid (VI) wurde in den Tetraacetylmethylester VIII übergeführt. Diese Verbindung zeigte im Protonenresonanzspektrum (Messung mit dem Gerät Varian A60 in CDCl_3) die H-Signale der vier Acetyls bei $\sim 7,9\tau$ und der 7 Protonen am Zucker bei $4,6 - 6,0\tau$. Ein Singulett bei $6,3\tau$ entsprechend 3 H wurde dem Methylester und ein Dublett entsprechend 3 H bei $9,1\tau$ dem γ -Methyl des Säureanteils zugeordnet. Die beiden Protonen der CH_2OAc -Gruppe der Säure lagen bei $6,3\tau$, die der Carbonylgruppe benachbarten $-\text{CH}_2-$ bei $7,6\tau$ und die restlichen drei Protonen am CH und CH_2 fanden sich als Multipletts zwischen $7,5$ und $8,7\tau$. Eine weitere Bestätigung für die angenommene Struktur brachte das Massenspektrum mit Hochauflösung (Messung mit dem Gerät MS 9 der A.E.I., Auflösung 12400), das neben den für eine acetylierte Glucose typischen Peaks^{9,10)} bei $m/e = 331, 242, 243, 200, 169, 157, 145, 141, 140, 115, 109, 103$ und 98 charakteristische Fragmente des Säureanteils bei $m/e = 129$ ($\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_2$ Ber. $129, 0915$, Gef. $129, 0915$) und 97 ($\text{C}_6\text{H}_9\text{O}$ Ber. $97, 0653$ Gef. $97, 0653$) zeigt. Der Masse 129 , dem Basispeak, entspricht eine homolytische Spaltung der Glykosidbindung, der Masse 97 einer Abspaltung von Methanol aus diesem. Der für diesen Übergang charakteristische metastabile Peak bei $m/e = 73$ konnte ebenfalls beobachtet werden. Wie bei Zuckerderivaten zu erwarten, konnte kein Molekularpeak erhalten werden.

Auch die weitere Spaltung des Säureglucosids VI mit β -Glucosidase bestätigte die Struktur dieses wichtigen Zwischenproduktes. Es lieferte in glatter Reaktion D-Glucose und (25S)- γ -CH₃- δ -OH-valeriansäure. Letztere wurde als δ -Lacton IX isoliert und durch Protonenresonanzspektrum (2H am α -C Sextett bei $7,6\tau$;



2H am β -C und 1 H am γ -C Multipletts bei 7,8 - 8,8 τ ; CH₃ am γ -C Dublett bei 9,05 τ ; 2 H am δ -C zwei Dubletts bei 6,00 und 6,45 τ) und durch das Massenspektrum ($m/e = 114$ (21%) M⁺; 84 (30%); 70 (30%); 56 (100%); 55 (41%); 43 (21%); 42 (96%); 41 (43%)) eindeutig charakterisiert. Das Lacton IX ist linksdrehend ($[\alpha]_D^{20} = -10^{\circ}$), vom C-25 des Furostanols herrührend hat es S-Konfiguration.

Durch diesen Abbau ist die Struktur des Sarsaparillosids eindeutig geklärt. Die vorliegende Struktur II gibt auch eine Erklärung für die leichte Umwandelbarkeit dieser Verbindung, wie sie bei der Isolierung immer wieder beobachtet wurde. Durch die Untersuchung von Hirschmann und Hirschmann¹¹⁾ wurde bereits festgestellt, daß Hemiketale des Typus X leicht mit Alkohol in die entsprechenden Vollketale XI übergehen und daß beide Substanzen X und XI schon an Kieselgel leicht Wasser bzw. Alkohol abspalten und in die Δ^{22} -Furostenolderivate XII übergehen. Alle Reaktionen sind Gleichgewichtsreaktionen. Bei der Chromatographie an SiO₂ mit alkoholhaltigen Laufmitteln hat man daher bei Furostanolsaponinen mit einer Mischung der Substanzen X, XI und XII zu rechnen. Unter verschärften Bedingungen z.B. beim Kochen mit Eisessig gehen alle drei Verbindungen in die $\Delta^{20(22)}$ -Furostenolderivate XIII über. Bei Abspaltung des Restes R cyclisieren die Verbindungen X, XI und XII stereochemisch einheitlich zu den zugehörigen Spiroketalen. Bei dem Verbindungstyp X verläuft diese Cyclisierung, z.B. nach enzymatischer Abspaltung der Glucose vom C-26 bereits in neutraler, wässriger Lösung spontan, wie auch schon Schreiber und Ripperger⁶⁾ feststellen konnten.

Das Sarsaparillosid zeigt im Gegensatz zu dem Spirostanolsaponin Parillin keine hämolytische Wirksamkeit, bildet keine Cholesterinkomplexe und wirkt praktisch nicht fungicid. Die typischen Saponineigenschaften gehen durch die bisglykosidische Furostanolstruktur offenbar verloren. Als wir eine Reihe weiterer Saponine mit derartig ungewöhnlichen Eigenschaften untersuchten, stellten wir fest, daß auch das Hauptsaponin aus *Convallaria majalis*, Convallamarin,¹²⁾ sowie Saponine aus Blättern von *Digitalis lanata* und *purpurea* bisglykosidische Furostanole enthalten. Das Hauptsaponin aus *Avena sativa* dürfte ein bisglykosidisches Furano-furostan-saponin¹³⁾ sein. Der neu aufge-

fundene Saponintyp ist vermutlich in der Pflanzenwelt weiter verbreitet und kommt bevorzugt in Blättern und stoffwechselaktiven Teilen der Pflanzen vor. Vielleicht kann man ihn als Transportform ansprechen. Daneben kommen aber in den Pflanzen vor allem in den Samen genuin auch die Spirostanolsaponine vor, die in erster Linie als Depot-saponine anzusprechen sind.

Wie wir feststellten, werden die bisglykosidischen Furostanolsaponine bei Zerstörung der Zelle enzymatisch leicht in die Spirostanolsaponine übergeführt. Da diese eine sehr starke fungicide und eine schwächere baktericide Wirkung besitzen¹⁴⁾, können die Saponine auf diese Weise eine wichtige Schutzfunktion für die Pflanze ausüben. Einen ähnlichen Mechanismus stellten wir auch bei bisglykosidischen Triterpenen fest; so wird das inaktive Hederacosid C¹⁵⁾ des Efeus bei Zerstörung der Zelle enzymatisch in das fungicide und stark hämolytische α -Hederin übergeführt.

Die experimentellen Einzelheiten dieser Arbeit werden später veröffentlicht. Wir danken Herrn Dr.H.-W.Fehlhaber, Bonn für die Anfertigung und Diskussion der Massenspektren.

Literatur

- 1) R.Tschesche, R.Kottler und G.Wulff, Liebigs Ann.Chem. 699, 212 (1966)
- 2) R.E.Marker und J.Lopez, J.Amer.chem.Soc. 69, 2389 (1947)
- 3) E.S.Rothman, M.E.Wall und C.R.Eddy, J.Amer.chem.Soc. 74, 4013 (1952)
- 4) M.M.Krider und M.E.Wall, J.Amer.chem.Soc. 76, 2938 (1954)
M.M.Krider, T.C.Cordon und M.E.Wall, J.Amer.chem.Soc. 76, 3515 (1954)
- 5) Siehe z.B. L.F.Fieser und M.Fieser, Steroide, S.891 ff. Verlag Chemie, Weinheim (1961)
- 6) K.Schreiber und H.Ripperger, Tetrahedron Letters, 5997 (1966)
- 7) R.Kuhn und Mitarb., Angew.Chem. 72, 805 (1960)
- 8) M.E.Wall, H.E.Kennedy und E.S.Rothman, J.Amer.chem.Soc. 77, 5665 (1955)
- 9) K.Heyns und H.Scharmann, Liebigs Ann.Chem. 667, 183 (1963)
- 10) K.Biemann, D.C.DeJongh und H.K.Schnoes, J.Amer.chem.Soc. 85, 1763 (1963)
- 11) H.Hirschmann und F.B.Hirschmann, Tetrahedron 3, 243 (1958)
- 12) R.Tschesche, B.T.Tjoa, R.Noronha und G.Wulff, unveröffentlicht
- 13) R.Tschesche und W.Schmidt, Z.Naturforsch. 21b, 896 (1966)
und R.Tschesche, M.Tauscher und G.Wulff, unveröffentlicht
- 14) R.Tschesche und G.Wulff, Z.Naturforsch. 20b, 543 (1965)
- 15) R.Tschesche, W.Schmidt und G.Wulff, Z.Naturforsch. 20b, 708 (1965)