

ÜBER SAPONINE DER SPIROSTANOLREIHE—XI¹

NUATIGENIN, EIN CHOLEGENIN-ANALOGON DES PFLANZENREICHES

R. TSCHESCHE und K. H. RICHERT

Organisch-Chemisches Institut der Universität Bonn

(Received 10 October 1963)

Zusammenfassung—In den Wurzeln von *Solanum sisymbriifolium* wurde ein mit Cholesterin nicht fällbares Saponin beobachtet, das ein bisher unbekanntes Aglykon, Nuatigenin, enthält. Es stellt ein Cholegenin-Analogon des Pflanzenreiches dar und wurde als 22,25-Epoxy-(20S)(22S)(25S)- Δ^5 -furosten-3 β ,27-diol erkannt. Durch Mineralsäure lagert es sich in das strukturisomere Isonuatigenin, (20S)(22S)(25S)- Δ^5 -Spirosten-3 β ,25-diol, um.

Aus den Wurzeln von *Solanum sisymbriifolium** wurde ein Glykosidgemisch erhalten,^{2,3} aus dem durch Verteilungschromatographie an Al_2O_3 ein mit Cholesterin nicht fällbares Glykosid P abgetrennt werden konnte. Für seine hydrolytische Spaltung eignete sich das Verfahren von Rothman *et al.*⁴ Nach Adsorptionschromatographie des Hydrolysates an Al_2O_3 konnten vier Verbindungen erhalten werden, von denen Nuatigenin (IIa) das genuine Genin und Isonuatigenin (Ia) dessen Umlagerungsprodukt ist, während die beiden anderen, 3-Anhydro-isonuatigenin (IIIa) und 3-Anhydronuatigenin (IVa), Wasserabspaltungsprodukte der erst genannten Verbindungen darstellen. Die Pflanze *S. sisymbriifolium* stammt aus dem Departamento Central, Paraguay, Südamerika. Von der einheimischen Bevölkerung wird sie mit Ñuati-Pyta "Roter Stachel" bezeichnet. Von diesem Namen wurde die Bezeichnung Nuatigenin für das neue Aglykon abgeleitet. Der Zuckerteil des Glykosids P wurde bisher nicht weiter untersucht.

Die Konstitutionsbestimmung wurde in folgender Weise durchgeführt: Isonuatigenin (Ia) gibt unter milden Acetylierungsbedingungen ein Monoacetat (Ib), unter energischen Bedingungen ein Diacetat (Ic); dessen Abbau nach dem Verfahren von Marker *et al.*,⁵ in einer Variante von Wall *et al.*,⁶ liefert $\Delta^{5,16}$ -Pregnadien-3 β -ol-20-on (Va) und gibt im Isonuatigenin damit Aufschluss über den Aufbau der Ringe A, B, C, D und E.^{7,8} Eine Sauerstoff-Funktion ist somit als 3(β)OH-Gruppe vorhanden,

* Herrn Prof. C. Pavetti Morin, Universidad Nacional de Asuncion, Paraguay, danken wir für die freundliche Unterstützung bei der Beschaffung der Wurzeln.

¹ X. Mitteil, R. Tschesche und G. Balle, *Tetrahedron* im Druck (1963).

² M. E. Wall, M. M. Krider, E. S. Rothman und C. R. Eddy, *J. Biol. Chem.* **198**, 553 (1952).

³ 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).

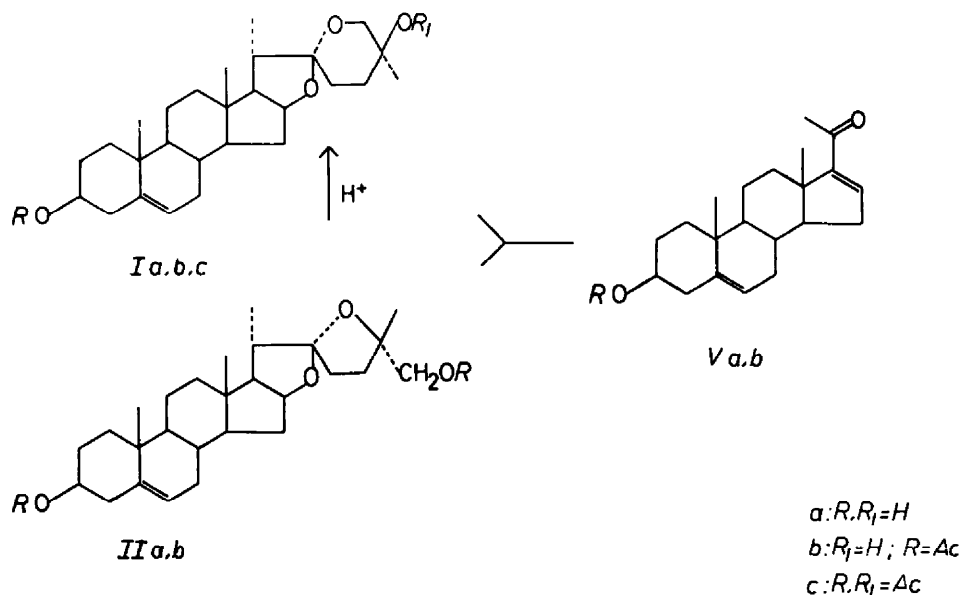
⁴ E. S. Rothman, M. E. Wall und H. A. Walens, *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 5791 (1952).

⁵ R. E. Marker, R. B. Wagner, P. R. Ulshafer, E. L. Wittbecker, D. P. J. Goldsmith und C. H. Ruof, *J. Amer. Chem. Soc.* **65**, 1199 (1943).

⁶ M. E. Wall, H. E. Kenney und E. S. Rothman, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 5665 (1955).

⁷ G. Roberts, B. S. Gallagher and R. N. Jones, *Infrared Absorption of Steroids* Vol. II. Interscience, New York.

⁸ A. Butenandt und J. Schmidt-Thomé, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **72**, 182 (1939).



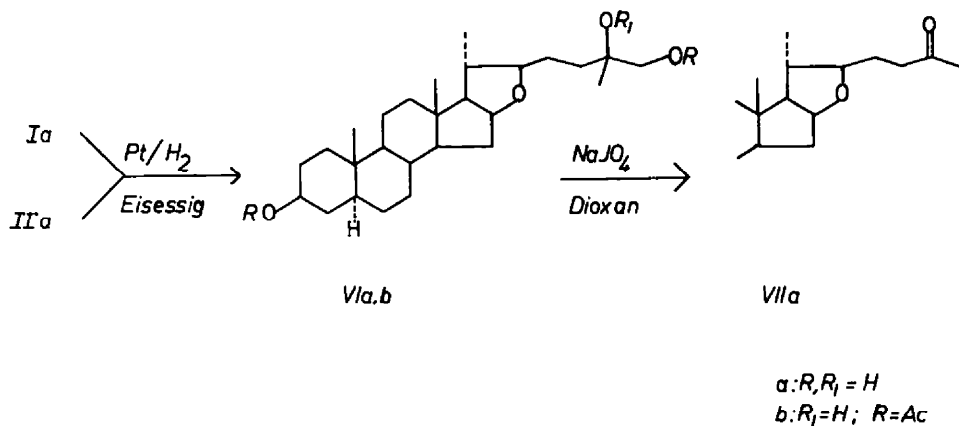
zwei weitere sind an der Bildung der Spiroketalgruppierung am C-22 beteiligt, der restliche Sauerstoff muss auf Grund des chemischen Verhaltens als schwer acetylierbare OH-Gruppe in Ring F vorhanden sein. Ausserdem wird die Doppelbindung in Stellung Δ^5 festgelegt. Wird Isonuatigenin mit PtO_2 in Eisessig hydriert,⁹ findet neben der Hydrierung der Doppelbindung Δ^5 eine Öffnung des Ringes F unter Bildung der Tetrahydroverbindung (VIa) statt. Mit dem Aufheben der Spiroketalstruktur verschwinden im IR die charakteristischen Banden bei 850 bis 1000 K. Die Substanz (VIa) lässt sich unter milden Acetylierungsbedingungen in ein Monohydroxydiacetat (VIb) überführen. Das durch Hydrierung entstandene Triol (VIa) konnte durch Perjodat-Oxydation¹⁰ unter Abspaltung von Formaldehyd in das um ein C-Atom ärmere Methylketon $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{O}_3$ (VIIa) umgewandelt werden. Das partialsynthetisch aus Tigogenin dargestellte 27-nor-5 α -Furostan-3 β -ol-25-on erwies sich in allen physikalischen und chemischen Eigenschaften mit dem aus der Verbindung (VIa) erhaltenen Methylketon als identisch.¹¹ Das bedeutet, dass im Isonuatigenin der im Ring F vorhandene Sauerstoff mit C-22 durch eine α_{F} -Bindung¹² verbunden sein muss. Aus der Tatsache, dass Isonuatigenin nur ein Monoacetat, die Tetrahydroverbindung jedoch ein Diacetat bildet, ergibt sich die Entstehung einer zusätzlichen acetylierbaren OH-Gruppe durch hydrogenolytische Öffnung des Ringes F. Dieses neue OH bildet zusammen mit dem nicht acylierbaren Hydroxyl ein vicinales 25,27-Diol. Es muss daher im Isonuatigenin am C-25 neben einer Methylgruppe eine tertiäre OH-Gruppe vorhanden gewesen sein. Diese kann im Monoacetat (Ib) mit Thionylchlorid in Pyridin unter Ausbildung einer Doppelbindung zwischen C-24 und

⁹ M. E. Wall, S. Serota und C. R. Eddy, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 1230 (1955).

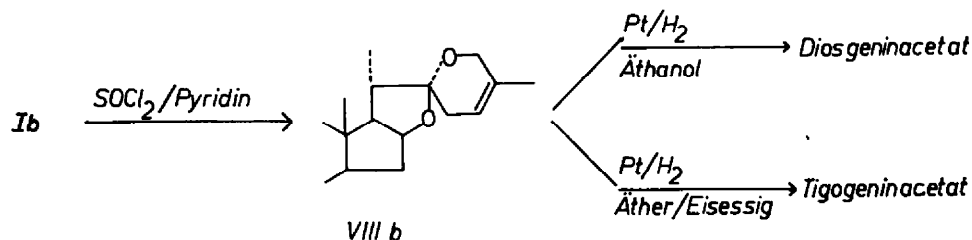
¹⁰ R. Pappo, D. S. Allen jr, R. U. Lemieux und W. S. Johnson, *J. Org. Chem.* **21**, 478 (1956).

¹¹ M. J. Thompson, I. Scheer und E. Mosettig, *J. Amer. Chem. Soc.* **81**, 5222, 5225 (1959).

¹² Nomenklatur siehe L. F. Fieser und M. Fieser, *Steroide* S. 374 Verlag Chemie, Weinheim-Bergstrasse (1961).



25 abgespalten werden. Die Anhydroverbindung (VIIIb) weist Banden im IR bei 3030 und 890 K auf, danach kann es sich nicht um eine exocyclische Doppelbindung handeln.¹³⁻¹⁶ Das NMR-Spektrum liefert ein Signal bei $\tau = 8.42$, das der Methylgruppe am C-25 zuzuordnen ist, neben einem weiteren bei $\tau = 4.60$, welches einem Proton an einer Doppelbindung neben $-\text{CH}_2-$ entspricht.¹⁷ Isonuatigenin-monoacetat zeigt eine von der Konzentration unabhängige Bande bei 3595 K, die durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen der axialen OH-Gruppe am C-25 und der Sauerstoffbrücke zwischen C-22 und 25 hervorgerufen wird.^{17,18} Durch Modellversuche kann gezeigt werden, dass eine derartige Wasserstoffbrückenbindung nur bei einer axialen OH-Gruppe möglich ist. An Dreiding-Modellen ergibt sich für die Länge der H-Brücke ein Wert von 2.4 Å. Aus der Verschiebung der OH-stretching



Bande von 3618 K (axiales tertiäres OH) auf 3595 K errechnet sich nach der Näherungsformel von Kuhn^{19,20} ein Abstand von 2.5 Å. Im analogen sekundären Alkohol 3-Hydroxytetrahydropyran wurde eine Verschiebung von $\Delta_\nu = 16$ K gemessen.²¹ Wird die Verbindung (VIIIb) mit PtO_2 in Äthanol hydriert, so findet lediglich eine

¹³ R. Tschesche, H. Schwarz und G. Snatzke, *Chem. Ber.* **94**, 1699 (1961).

¹⁴ J. Roberts, R. Vaupre und G. Poiget, *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **250**, 3187 (1960).

¹⁵ L. Mandel, A. L. Nussbaum und E. P. Oliveto, *Tetrahedron Letters* No. **19**, 25 (1960).

¹⁶ M. E. Wall und H. A. Walens, *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 1984 (1958).

¹⁷ K. Takeda, T. Okanishi, H. Minato und A. Shimaoka, *Tetrahedron Letters* No. **24**, 1107 (1962).

¹⁸ M. Mousseron-Canet, M. Mousseron und C. Levallois, *C.R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **253**, 1386 (1961).

¹⁹ L. P. Kuhn, *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 2492 (1952); **76**, 4323 (1954).

²⁰ M. Tichy, *Chem. listy* **54**, 506 (1960).

²¹ S. A. Barker, J. S. Brimacombe, A. B. Foster, D. H. Whiffen und G. Zweifel, *Tetrahedron* **7**, 10 (1959).

partielle Hydrierung des Ringes F statt¹³, und die gebildete Verbindung ist mit Diosgeninacetat (IXb) identisch. Unter energischeren Bedingungen, PtO₂ in Äther unter Zusatz von Eisessig^{22,23}, findet auch die Hydrierung der Doppelbindung in Δ⁵ statt. Dieses Hydrierungsprodukt stellt Tigogeninacetat (Xb) dar. Unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse kommt dem Isonuatigenin (Ia) die Konstitution eines (20S)(22S)(25S)-Δ⁵-Spirosten-3β,25-diols zu.

Nach Untersuchungen von Wall *et al.*²⁴ und Jones *et al.*²⁵ weisen Spirostanole charakteristische Banden im Bereich von 850 bis 1000 K auf, die eine Zuordnung in die neo- oder iso-Reihe gestatten. Isonuatigenin zeigt nun in diesem Bereich eine Absorption, die gegenüber denen der Spirostanole zwar geringe Verschiebungen aufweist, trotzdem aber eine Zuordnung zu der iso-Reihe erlaubt, obwohl ein H-Atom am C-25 durch eine OH-Gruppe ersetzt ist.

Als erste haben Spring *et al.*^{26,27} eine Verbindung dieses Typs aus Rindergalle isoliert und als Isocholegenin bezeichnet, sie stellt ein (20S)(22S)(25S)-5β-Spirostan-3α,25-diol dar. Sie ist das stabile Umlagerungsprodukt des strukturisomeren Cholegenins, das als 22,25-Epoxy-(20S)(22S)(25S)-5β-furostan-3α,27-diol geklärt ist.¹¹ Takeda *et al.* isolierten aus *Reineckia carnea* Kunth Isoreineckiagenin, eine weitere Verbindung dieses Typs, ein (20S)(22S)(25S)-5β-Spirostan-1β,3β,25-triol.¹⁷ Nach den Arbeiten von Mosettig *et al.*^{11,*} war es wahrscheinlich, dass das isolierte Isoreineckiagenin und das Isonuatigenin ebenfalls die stabileren Umlagerungsprodukte sind, da sie durch saure Hydrolyse aus den Glykosiden erhalten werden. Andererseits hatten die Autoren festgestellt, dass es möglich ist, Isocholegenin über sein Oxydationsprodukt, die 27-Carbonsäure, wieder in Cholegenin zurückzuverwandeln. Ein analoger Versuch wurde mit Isonuatigenin-monoacetat durchgeführt. Durch Oxydation mit CrO₃ in Aceton²⁹ entsteht die Verbindung (XIb), die auf Grund des chemischen Verhaltens als eine C-27-Carbonsäure anzusehen ist. Sie gibt durch Reduktion mit LiAlH₄ ein Diol, das mit Nuatigenin (IIa) identisch ist. Dieses lagert sich in Gegenwart verdünnter äthanolischer Salzsäure innerhalb 30 Min. bei Raumtemperatur praktisch quantitativ in Isonuatigenin um, d.h. unter Bedingungen, die äusserst milde im Vergleich mit denen sind, die zur Isomerisierung eines Neospirostanols zum Isospirostanol benötigt werden.²⁸

Nuatigenin liefert unter milden Acetylierungsbedingungen ein Diacetat (IIb), dessen Abbau nach dem Verfahren von Wall *et al.*⁶ ergibt wieder Δ^{5,16}-Pregnadien-3β-ol-20-on (Va). Durch diesen Abbau werden drei Sauerstoffatome und die Doppelbindung in Δ⁵ eindeutig festgelegt. Der restliche Sauerstoff kann auf Grund des

* Isocholegenin erhielten wir seinerzeit durch die Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Dr. E. Mosettig, Department of Health, Education and Welfare, Bethesda, USA.

²² R. E. Marker und J. Lopez, *J. Amer. Chem. Soc.* **69**, 2388 (1947).

²³ R. E. Marker, R. B. Wagner, D. P. J. Goldsmith, P. R. Ulshafer und C. H. Ruof, *J. Amer. Chem. Soc.* **65**, 1248 (1943).

²⁴ M. E. Wall, C. R. Eddy, M. L. McClennan und M. E. Klumpp, *Analyt. Chem.* **24**, 1337 (1952).

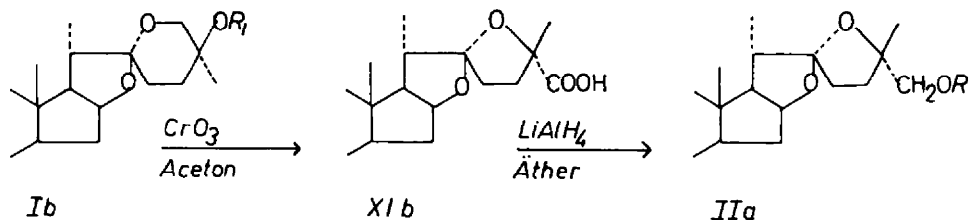
²⁵ R. N. Jones, E. Katzenellenbogen und K. Dobriner, *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 158 (1953).

²⁶ W. H. Pearlman, *J. Amer. Chem. Soc.* **66**, 806 (1944); *J. Biol. Chem.* **166**, 473 (1946); W. H. Pearlman und E. Cerceo, *Ibid.* **176**, 847 (1948).

²⁷ N. J. Antia, Y. Mazur, R. R. Wilson und F. S. Spring, *J. Chem. Soc.* 1218 (1954); Y. Mazur und F. S. Spring, *Ibid.* 1223 (1954).

²⁸ M. E. Wall, S. Serota und L. P. Witnauer, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 3086 (1955).

²⁹ A. Bowers, T. G. Halsall, E. R. H. Jones und A. J. Lemin, *J. Chem. Soc.* 2548 (1953).



a: $R, R_1 = H$

b: $R_1 = H; R = Ac$

chemischen Verhaltens nur eine leicht acylierbare OH-Gruppe im Ring F sein. Sie gibt eine von der Konzentration unabhängige Bande bei 3410 K, die auf intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung zurückzuführen ist. Beim 3-Anhydronuatigenin konnte die Länge der H-Brücke vom primären OH zum Sauerstoff im Ring E zu 1·3 Å, zu dem im Ring F zu 1·9 Å gemessen werden. Aus der Verschiebung der $\nu(OH)$ von 3640 K (primäres OH) auf 3440 K ergibt sich nach Kuhn^{19,20} ein Wert von etwa 0·9 Å. Daraus folgt, dass hier die H-Brücke zum Sauerstoff im Ring E ausgebildet wird. Für 2-Hydroxymethyltetrahydrofuran (entsprechend einer H-Brücke zum Sauerstoff im Ring F) wäre eine Verschiebung von 40 K zu erwarten.²¹ Wird Nuatigenin mit PtO_2 in Eisessig hydriert, so findet neben einer Hydrierung der Doppelbindung Δ^5 eine Öffnung des Ringes F unter Entstehung einer Tetrahydroverbindung (VIa) statt. Diese ist mit der aus Isonuatigenin erhaltenen identisch und lässt sich durch Perjodat-Oxydation in das um ein C-Atom ärmere Methylketon $C_{26}H_{42}O_3$ (VIIa) überführen. Durch die hydrogenolytische Öffnung des Ringes F ist eine schwer acylierbare OH-Gruppe entstanden, die durch eine α_F -Bindung mit dem C-Atom 22 verbunden ist. Daraus ergibt sich für beide Tetrahydro-Verbindungen aus Isonuatigenin (Ia) und Nuatigenin (IIa) eine gleichartig geöffnete Seitenkette am C-22. Diese war beim Isonuatigenin aus einem sechsgliedrigen Ring F entstanden, in dem der Ringsauerstoff C-22 und 27 verbindet und der am C-25 neben einer axialen OH-Gruppe eine äquatoriale Methylgruppe aufweist. Für Nuatigenin folgt dann ein fünfgliedriger Ring F, in dem der Ringsauerstoff zwischen C-22 und 25 angeordnet ist und der am C-25 neben einer axialen Methylgruppe eine äquatoriale Hydroxymethylgruppe trägt. Bei der Umlagerung von IIa in Ia kann keine Konfigurationsumkehr am C-Atom 25 stattgefunden haben. Eine Isomerisierung, wie sie bei den Spirostanolen auftritt, ist unmöglich, da das H am C-25 sowohl im Isonuatigenin als im Nuatigenin durch eine OH-Gruppe ersetzt ist.^{30,31} Es handelt sich bei der oben erwähnten Umlagerung vielmehr um den Übergang von einem fünfgliedrigen in einen sechsgliedrigen Ring F mit einer 25 α_F -Methylgruppe. Das NMR-Spektrum bestätigt den Aufbau des Ringes F im Nuatigenin durch ein Signal bei $\tau = 6\cdot40$, welches durch das $-CH_2-$ der Hydroxymethylgruppe hervorgerufen wird. Nuatigenin ist also ein 22,25-Epoxy-(20S)(22S)(25S)- Δ^5 -furosten-3 β ,27-diol. Die Verbindungen (IIIa und IVa) fallen nur in geringen Mengen bei der hydrolytischen Spaltung des Glykosids P an.

²⁰ R. B. Woodward, F. Sondheimer und Y. Mazur, *J. Amer. Chem. Soc.* **80**, 6693 (1958).

³¹ R. K. Callow und P. N. Massy-Beresford, *J. Chem. Soc.* 2645 (1958).

Substanz (IIIa) lässt sich unter milden Acetylierungsbedingungen nicht umsetzen. Das IR-Spektrum zeigt eine von der Konzentration unabhängige Bande bei 3592 K und die charakteristischen Spiroketalbanden bei 850 bis 1000 K. Diese stimmen mit denjenigen des Isonuatigenins überein. Die Verbindung (IIIa) stellt daher ein 3-Anhydroisonuatigenin dar, das konjugierte Doppelbindungssystem $\Delta^{3,5}$ konnte durch Messungen der Absorption im UV bei 234 m μ und IR bei 3030 und 1650 K gesichert werden.^{32,33} Die Verbindung (IVa) lässt sich unter milden Acetylierungsbedingungen in ein Monoacetat überführen. Das IR-Spektrum zeigt ebenfalls eine von der Konzentration unabhängige Bande bei 3410 K zusammen mit einer Reihe Banden im Bereich von 850 bis 1000 K, die mit denjenigen des Nuatigenins (IIa) übereinstimmen, sie muss daher ein 3-Anhydronuatigenin sein. Die bereits bei der Verbindung (IIa) erwähnte Umlagerung in das Strukturisomere (Ia) lässt sich hier entsprechend durchführen.

Die Isolierung von Nuatigenin als eines Cholegenin-Analogons in bezug auf den Aufbau des Ringes F ist deswegen bedeutungsvoll, da es nunmehr nicht ausgeschlossen erscheint, dass dieses aus einer pflanzlichen Vorstufe der Nahrung der Rinder stammt. Cholegenin wurde erstmals aus Ochsen-galle^{26,27} isoliert. Es unterscheidet sich vom Nuatigenin nur dadurch, dass die OH-Gruppe an C-3 α -ständig ist und die Doppelbindung Δ^5 fehlt. Beide Änderungen könnten eventuell auf die Tätigkeit der Pansenbakterien zurückgehen, die auch die Glykosidspaltung vornehmen, so dass vermutet werden darf, dass Nuatigenin oder Analoga auch noch in anderen Pflanzen als Glykoside vorkommen.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunkte wurden auf dem Kofler-Heiztisch-Mikroskop in der Anordnung nach Kofler-Weygand bestimmt. Die Mikroanalysen wurden teilweise ausgeführt von Dr. Ing. A. Schoeller, Kronach und in der Mikroanalytischen Abteilung des Organisch-Chemischen Instituts. Die spezifische Drehung wurde mit einem Zeiss-Winkel-Polarimeter gemessen, die UV Absorption mit einem CARY 14, die IR-Spektren mit einem Perkin-Elmer-Spektrophotometer Modell 221 mit Gitterprismenaustauscheinheit und die NMR-Spektren mit einem Varian A 60 in der Spektralanalytischen Abteilung des hiesigen Instituts angefertigt.

Das Al₂O₃ für die Durchlaufchromatographie von Woelm, neutral, alkalifrei, wurde durch Sieben auf einheitliche Korngröße (63 μ und 71 μ) gebracht und, soweit nicht besonders vermerkt, mit der Aktivitätsstufe III nach Brockmann verwendet.

Für die Papierchromatographie, absteigend, Papier Schleicher & Schüll 2043 b Mgl, wurde das System A, Isobutanol: Formamid: Wasser 10:1:2, verwendet.³⁴ Zur Entwicklung wurde das Papier, nach dem Auftragen der Substanz 1 Stde. im Dampfraum des Chromatographiezylinders äquilibriert. Zur Anfärbung diente Zinntetrachlorid (5 ccm in 40 ccm Eisessig und 40 ccm Chloroform, 5 Min. auf 110°)³⁵ und Antimontrichlorid³⁶ (25 g in 100 ccm Chloroform, 2 Min. auf 110°). Die Dünnschichtchromatographie wurde nach Tschesche *et al.*³⁵ an Kieselgel G (Merck) durchgeführt. Zum Entwickeln dienten Gemische von Chloroform-Methanol und Chloroform-Aceton. Angefärbt wurde nach McAleer und Kozlowski,³⁷ Lapin *et al.*³⁸ mit Vanillin-Phosphorsäure, nach Okanishi

³² T. Tsukamoto, T. Kawasaki, T. Yamauchi und Y. Shimauchi, *Pharm. Bull. Tokyo* **5**, 492 (1957).

³³ M. E. Wall und S. Serota, *J. Amer. Chem. Soc.* **78**, 1747 (1956).

³⁴ R. Tschesche, U. Axen und G. Snatzke, *Liebigs Ann.* **53**, 297 (1963).

³⁵ R. Tschesche und D. Forstmann, *Chem. Ber.* **90**, 2383 (1957).

³⁶ R. Tschesche, W. Freytag und G. Snatzke, *Chem. Ber.* **92**, 3053 (1959).

³⁷ W. J. McAleer und M. A. Kozlowski, *Arch. Bioch. Biophys.* **66**, 120 (1959).

³⁸ C. Sannie, S. Heitz und H. Lapin, *C. R. Seances Acad. Sci.* **233**, 1670 (1951); C. Sannie und H. Lapin, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1080 (1952).

et al.³⁹ mit Zimtaldehyd und Nitrobenzol und mit Antimontrichlorid in der oben beschriebenen Weise.

Isolierung des Glykosids P. 60 kg fein zerkleinerte Wurzeln* wurden mit 560 l Methanol extrahiert. Die vereinigten Auszüge wurden im Vakuum auf 12 l eingedampft, diese mit der gleichen Menge Wasser versetzt und von dem gebildeten Niederschlag getrennt. Die wässrige Phase wurde mit Petroläther (Sdp. 60–95°) und Chloroform ausgeschüttelt und anschliessend auf 12 l eingeeengt. Die enthaltenen Glykoside wurden mit n-Butanol extrahiert und der gesamte Extrakt im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rohextrakt bildete eine orangegelbe körnige Masse (225 g), in der als ein Hauptbestandteil das Glykosid P (R_f -Wert 0.71 im System A) festgestellt wurde.

12 g des Rohextrakts wurden an 1500 g Al_2O_3 mit wassergesättigtem n-Butanol chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 30 ccm des genannten Lösungsmittels. R_f -Werte im System A.

TABELLE 1

Fraktionen	Eindampfrückstand	R_f -Wert
1–40	0.60 g	
41–48	0.90 g	
49–57	0.40 g	
58–65	0.13 g	
66–72	—	
73–83	—	
84–144	5.80 g	0.71; 0.55
145–161	0.65 g	0.71; 0.55
162–192	0.18 g	0.71; 0.55
193–216	—	

Das erhaltene Glykosid P in den Fraktionen 84–144 war durch einen polareren Stoff (R_f -Wert 0.55) in sehr geringer Menge verunreinigt. Er gibt mit den Sprühreagentien den gleichen Farbton wie das Glykosid P und liess sich auch in Fällungsversuchen nicht ganz abtrennen. Das Glykosid P ist löslich in Wasser, in Äthanol, weniger gut in Methanol. Hämolytischer Index ca. 1:500.⁴⁰ Mit Cholesterin bildet es in Äthanol keine schwerlösliche Additionsverbindung.⁴¹ Es gelang nicht, das Glykosid P in kristalliner Form zu erhalten.

Hydrolyse des Glykosids P. 1 g des Glykosids P wurde in 25 ccm Äthanol, 8 ccm Wasser und 17 ccm konz. Salzsäure gelöst, die Lösung mit 60 ccm Benzol (Wasser:Äthanol 1:1 gesättigt) überschichtet und 90 Min. auf 80° erhitzt. Nach Erkalten wurde mit Benzol ausgeschüttelt, die organische Phase mit 2 N $NaHCO_3$ und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Eindampfen im Vakuum ergab einen Rückstand von 0.22 g. An Kieselgel entwickelt mit Chloroform: Methanol 55:4 liessen sich vier Verbindungen (R_f -Werte 0.51; 0.55; 0.81 und 0.88) nachweisen. Für die Darstellung grösserer Mengen der Genine wurden jeweils 25 g des Rohextraktes nach dem oben angegebenen Verfahren gespalten und analog aufgearbeitet. Es wurden 42 g Hydrolysat erhalten.

Chromatographie des Hydrolysates an Al_2O_3 . 42 g Hydrolysat wurden an 1400 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 740 ccm der genannten Lösungsmittel in 1, 2 der Tabelle 2. R_f -Werte an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform: Methanol 55:4.

Die Fraktionen 21–25 enthielten die Verbindungen (Ia und IIa). Zu ihrer Trennung wurde der Rückstand 17.0 g in 140 ccm Pyridin und 60 ccm Acetanhydrid gelöst und 24 Stdn. bei 37° stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde auf Eis gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde mit 2N HCl, Wasser, 2N $NaHCO_3$ und Wasser gewaschen. Nach Trocknen über

* Der Firma Dr. Madaus und Co., Köln-Merheim, danken wir für die Verarbeitung des Ausgangsmaterials.

³⁹ T. Okanishi, A. Akahori und F. Yasuda, *Ann. Rep. Shionogi Res. Lab.* 8, 927 (1958).

⁴⁰ bestimmt nach *Pharmacopoea Helvetica* V, Suppl. II, S. 135.

⁴¹ A. Windaus, Hoppe-Seyler's *Z. Physiol. Chem.* 65, 110 (1910).

TABELLE 2

Fractionen	Eluiermittel	Menge	Eindampfrückstand	R_F -Wert
1-2	Bzl	1480 ccm	2.13 g	
3-9	Bzl	5390 ccm	7.00 g	0.81; 0.88
10-16	Bzl:CHf 7:3	2850 ccm		
	Bzl:CHf 6:4	2080 ccm	2.10 g	
17-20	Bzl:CHf 6:4	150 ccm		
	Bzl:CHf 5:5	1220 ccm		
	Bzl:CHf 2:8	1720 ccm	3.03 g	
21-25	Bzl:CHf 2:8	120 ccm		
	Bzl:CHf 2:8 + 1.0% MeOH	1910 ccm		
	Bzl:CHf 2:8 + 1.5% MeOH	1600 ccm	17.00 g	0.51; 0.55
26-27	Bzl:CHf 2:8 + 2.0% MeOH	1010 ccm	1.20 g	

Abkürzungen: Bzl = Benzol; CHf = Chloroform; MeOH = Methanol.

Natriumsulfat wurde im Vakuum eingedampft. Die erhaltenen Acetate wurden an 1000 g Al_2O_3 chromatographiert. Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 720 ccm der in der Tabelle 3 genannten Lösungsmittel. R_F -Werte an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:1.

Nuatigenin-diacetat. Die Fraktionen 5-6 enthielten Nuatigenin-diacetat (IIb), gering verunreinigt durch einen unpolaren Anteil, der durch Umkristallisieren aus Methanol-Petroläther (Sdp. 60-95°) entfernt werden konnte. (IIb) wurde in Form von Stäbchen (1.20 g) vom Schmp. 156-159° erhalten. $[\alpha]_D^{25} = -95^\circ$ ($c = 2.0$, Chloroform). ($C_{27}H_{44}O_6$ (514.7); Ber: C, 72.34; H, 9.01; Gef: C, 72.59; H, 9.01%).

TABELLE 3

Fractionen	Eluiermittel	Menge	Eindampfrückstand	R_F -Wert
1-4	Cycl:Bzl 8:2	660 ccm		
	Cycl:Bzl 5:5	1650 ccm		
	Cycl:Bzl 2:8	570 ccm	2.30 g	
5-6	Cycl:Bzl 2:8	1440 ccm	1.60 g	0.49; 0.55
7-10	Cycl:Bzl 2:8	660 ccm		
	Bzl	2200 ccm	1.80 g	
11-14	Bzl	2100 ccm		
	Bzl:CHf 7:3	780 ccm	4.19 g	0.34; 0.40
15-17	Bzl:CHf 7:3	1950 ccm		
	Bzl:CHf 5:5	210 ccm	3.30 g	0.34; 0.40
18-22	Bzl:CHf 5:5	3600 ccm	1.10 g	0.34
23	Bzl:CHf 5:5 + 1% MeOH	720 ccm	0.50 g	

Abkürzungen: Cycl = Cyclohexan; Bzl = Benzol; CHf = Chloroform; MeOH = Methanol.

Nuatigenin. 0.8 g Diacetat (IIb) wurden mit 80 ccm 1 proz. methanolischer Kalilauge eine Stunde unter Rückfluss erhitzt, die Lösung mit der gleichen Menge Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde an 25 g Al_2O_3 chromatographiert. Benzol:Chloroform 2:8 mit 1% Methanol ergab 0.372 g Plättchen vom Schmp. 210-214°. $[\alpha]_D^{25} = -93^\circ$ ($c = 2.0$, Chloroform). ($C_{27}H_{44}O_4$ (430.6); Ber: C, 75.31; H, 9.83; Gef: C, 75.22; H, 9.76%).

Isonuatigenin: Die Fraktionen 11-22 enthielten Isonuatigenin als Monoacetat (Ib). Zur Isolierung dienten die Fraktionen 18-22. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Petroläther (Sdp.

60–95°) wurden 0.894 g (Ib) Stäbchen vom Schmp. 215.5–218.5° erhalten. $[\alpha]_D^{25} = -140^\circ$ ($c = 2.0$, Chloroform). ($C_{27}H_{44}O_6$ (472.6); Ber: C, 73.69; H, 9.38; Gef: C, 73.57; H, 9.30%).

Die Fraktionen 11–17 enthielten neben der Verbindung (Ib) einen unpolaren Begleiter (R_F -Wert 0.40). Da er sich nicht durch Umkristallisieren entfernen liess, wurde der Rückstand (7.5 g) mit einer 1 proz. methanolischen Kalilauge unter Rückfluss verseift. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde (Ia) an 22 g Al_2O_3 chromatographiert. Benzol:Chloroform 2:8 mit 1% Methanol eluierten 5.2 g (Ia). Davon wurde 1 g aus wässrigem Methanol umkristallisiert und Stäbchen vom Schmp. 248–251° erhalten. $[\alpha]_D^{25} = -123^\circ$ ($c = 2.0$, Chloroform). ($C_{27}H_{44}O_4 \cdot CH_3OH$ (462.7); Ber: C, 72.69; H, 10.02; Gef: C, 72.44; H, 9.96%).

2.0 g (Ia) wurden mit 100 ccm Acetanhydrid 18 Stdn. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit 50 ccm Methanol aufgenommen, die Lösung mit Wasser versetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde mit Wasser, 2 N $NaHCO_3$ und Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Anschliessend wurde im Vakuum eingedampft und an 50 g Al_2O_3 chromatographiert. Cyclohexan:Benzol 7:3 eluierten 1.53 g (Ic), die aus Petroläther (Sdp. 60–95°) umkristallisiert wurden. Ausbeute 1.27 g Plättchen vom Schmp. 211.5–215.5°. $[\alpha]_D^{25} = -109^\circ$ ($c = 2.0$, Chloroform). ($C_{21}H_{36}O_6$ (514.7); Ber: C, 72.34; H, 9.01; Gef: C, 72.27; H, 8.96%).

Die Fraktionen 3–9 der Tabelle 2 enthielten die Verbindungen (IIIa und IVa). Zu ihrer Trennung wurde der Rückstand (7.0 g) in 70 ccm Pyridin und 30 ccm Acetanhydrid gelöst und 24 Stdn. bei 37° stehen gelassen. Das Reaktionsgemisch wurde wie üblich aufgearbeitet und der Rückstand an 300 g Al_2O_3 chromatographiert. (R_F -Werte an Kieselgel; entwickelt mit Chloroform:Aceton 48:2.5). Zum Eluieren jeder Fraktion dienten 360 ccm der genannten Lösungsmittel in der Tabelle 4.

TABELLE 4

Fraktionen	Eluiermittel	Menge	Eindampfrückstand	R_F -Wert
1–2	Cycl	720 ccm	0.40 g	
3–5	Cycl	720 ccm		
	Cycl:Bzl 3:1	360 ccm	0.65 g	
6	Cycl:Bzl 3:1	360 ccm	0.70 g	0.90; 0.81
7–9	Cycl:Bzl 3:1	1080 ccm	1.20 g	0.81
10	Cycl:Bzl 1:3	360 ccm	0.30 g	0.81; 0.47
11–13	Cycl:Bzl 1:3	1080 ccm	0.90 g	0.41
14–15	Cycl:Bzl 1:3 + 1% MeOH	720 ccm	2.30 g	

Abkürzungen: Cycl = Cyclohexan; Bzl = Benzol; MeOH = Methanol.

Anhydronuatigenin. Die Fraktionen 7–9 enthielten Anhydronuatigenin als Acetat. Durch Umkristallisieren aus Methanol-Petroläther (Sdp. 60–95°) konnten 0.93 g in Form von Plättchen vom Schmp. 133–136° erhalten werden (IVb). $[\alpha]_D^{25} = -140^\circ$ ($c = 1.72$, Chloroform). $\lambda_{max} = 234 \mu$ ($\log \epsilon = 4.22$). ($C_{28}H_{44}O_4$ (454.6); Ber: C, 76.61; H, 9.31; Gef: C, 76.83; H, 9.29%).

0.6 g (IVb) wurden mit 60 ccm einer 1 proz. methanolischen Kalilauge eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung konnte durch Umkristallisieren aus wässrigem Methanol 0.38 g (VIa) in Form von Stäbchen vom Schmp. 165–168° erhalten werden. $[\alpha]_D^{25} = -95^\circ$ ($c = 1.70$, Chloroform). $\lambda_{max} = 234 \mu$ ($\log \epsilon = 4.19$). ($C_{27}H_{40}O_3$ (412.6); Ber: C, 78.59; H, 9.77; Gef: C, 78.48; H, 9.47%).

Anhydroisouatigenin. Die Fraktionen 11–13 enthielten Anhydroisouatigenin. Durch Umkristallisieren aus wässrigem Methanol konnten 0.672 g in Form von Stäbchen vom Schmp. 137–140° erhalten werden (IIIa). $[\alpha]_D^{25} = -181^\circ$ ($c = 2.0$, Chloroform). $\lambda_{max} = 234 \mu$ ($\log \epsilon = 4.31$). ($C_{27}H_{40}O_3$ (412.6); Ber: C, 78.59; H, 9.77; Gef: C, 78.21; H, 9.72%).

Abbau der Verbindung (Ia) zum $\Delta^{6,16}$ -Pregnadien-3 β -ol-20-on (Va). 1.0 g Isonuatigenindiacetat (Ic) und 2 ccm Acetanhydrid wurden im Einschlussrohr 18 Stdn. auf 195° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde geöffnet und der Inhalt nach Zugabe von 0.4 ccm Wasser auf dem Wasserbad kurz erhitzt. Zu der essigsäuren Lösung wurden 10 ccm Eisessig und 0.25 g Natriumacetat hinzugegeben und auf 15° abgekühlt. Während 15 Min. wurde unter Rühren 0.4 g Chromtrioxid, gelöst in 1.5 ccm Eisessig, in Wasser. Das Oxydationsgemisch blieb anschliessend eine Stunde bei 22° stehen, dann wurde aufgenommen hinzugefügt und mit Äther erschöpfend extrahiert. Die ätherische Phase wurde mit

Wasser gewaschen und zu einem Sirup eingedampft. Dieser wurde in 20 ccm t-Butanol aufgenommen und mit einigen Tropfen konz. wässr. Kalilauge neutralisiert. Zu dieser Lösung wurden 1 g Kaliumhydroxid gelöst, in 1·2 ccm Wasser, hinzugegeben und bei 30° 3 Stdn. gerührt. Anschliessend wurde mit Wasser aufgenommen und im Äther extrahiert. Die ätherische Phase wurde nach Waschen mit Wasser über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Die erhaltenen 0·54 g Abbauprodukt wurden an 20 g Al_2O_3 chromatographiert. Cyclohexan: Benzol 2:8 eluierten 0·372 g (Va). Durch Umkristallisieren aus Aceton wurden 0·28 g Plättchen vom Schmp. 209–212° erhalten. (R_F -Wert 0·41 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:3). $[\alpha]_D^{25} = -36^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). $\lambda_{max} = 239 m\mu$ ($\log \epsilon = 3\cdot92$). ($C_{21}H_{30}O_2$ (314·5); Ber: C, 80·21; H, 9·62; Gef: C, 80·08; H, 9·56%).

0·2 g (Va) wurden in 10 ccm Pyridin gelöst und die Lösung mit 3 ccm Acetanhydrid versetzt 24 Stdn. bei 37° stehen gelassen. Die Lösung wurde im Vakuum eingedampft, und durch Umkristallisieren aus Methanol konnten 0·135 g Acetat (Va) in Form von Stäbchen vom Schmp. 174–176° erhalten werden, (R_F -Wert 0·65 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:3). $[\alpha]_D^{25} = -34^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). $\lambda_{max} = 239 m\mu$ ($\log \epsilon = 3\cdot91$). ($C_{22}H_{32}O_2$ (356·5); Ber: C, 77·49; H, 9·05; Gef: C, 77·23; H, 8·94%).

Abbau der Verbindung (IIa) zum $\Delta^{1,10}$ -Pregnadien-3 β -ol-20-on (Va). 0·2 g Nuatigenin-diacetat (IIb) wurden nach dem oben beschriebenen Verfahren abgebaut. 0·12 g Abbauprodukt wurden an 4·0 g Al_2O_3 chromatographiert. Cyclohexan: Benzol 2:8 eluierten 0·08 g (Va). Die Umkristallisation aus Aceton lieferte 0·064 g Plättchen vom Schmp. 208–211°. (R_F -Wert 0·47 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:3). $[\alpha]_D^{25} = -38^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). $\lambda_{max} = 239 m\mu$ ($\log \epsilon = 3\cdot90$). ($C_{21}H_{30}O_2$ (314·5); Ber: C, 80·21; H, 9·62; Gef: C, 80·11; H, 9·41%).

0·45 g (Va) wurden in üblicher Weise acetyliert und aufgearbeitet. Nach Umkristallisieren aus Methanol wurden 0·032 g Acetat (Va) in Form von Stäbchen vom Schmp. 174–175° erhalten. (R_F -Wert 0·65 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:3). $[\alpha]_D^{25} = -37^\circ$ ($c = 1\cdot0$, Chloroform). $\lambda_{max} = 239 m\mu$ ($\log \epsilon = 3\cdot90$). ($C_{22}H_{32}O_2$ (356·5); Ber: C, 77·49; H, 9·05; Gef: C, 77·20; H, 8·84%).

Hydrierung der Verbindung (Ia) zum 5 α -Furostan-3 β ,25,27-triol (VIa). 0·4 g Isonuatigenin (Ia) wurden mit 0·2 g PtO_2 in 100 ccm Eisessig bei Zimmertemperatur und Normaldruck hydriert. Nach 3 Stdn. war die Wasserstoffaufnahme nach Aufnahme von 1·95 Mol. beendet. Nach Abfiltrieren des Katalysators wurde die Lösung im Vakuum eingedampft und der Rückstand an 12 g Al_2O_3 chromatographisch aufgetrennt. Chloroform mit 0·5% Äthanol eluierten 0·32 g der Tetrahydroverbindung (VIa). Durch Umkristallisieren aus Petroläther (Sdp. 60–95°) konnten 0·28 g in Form von Plättchen vom Schmp. 173–175° erhalten werden. (R_F -Wert 0·41 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:6). $[\alpha]_D^{25} = -6^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). ($C_{27}H_{46}O_4$ (434·6); Ber: C, 74·61; H, 10·67; Gef: C, 74·47; H, 10·58%).

0·1 g (VIa) wurden in 5 ccm Pyridin gelöst, die Lösung mit 1·5 ccm Acetanhydrid versetzt und die Mischung 24 Stdn. bei 37° stehen gelassen. Die Mischung wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus wässrigem Methanol umkristallisiert. Er lieferte 0·06 g (VIa) Acetat in Form von Prismen vom Schmp. 108–111°. (R_F -Wert 0·48 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 48:2). $[\alpha]_D^{25} = -4^\circ$ ($c = 1\cdot0$, Chloroform). ($C_{31}H_{50}O_4$ (518·7); Ber: C, 71·78; H, 9·72; Gef: C, 71·69; H, 9·70%).

Hydrierung der Verbindung (IIa) zum 5 α -Furostan-3 β ,25,27-triol (VIa). 0·2 g Nuatigenin (IIa) wurden nach dem oben beschriebenen Hydrierungsverfahren in die Tetrahydroverbindung (VIa) überführt. Der Rückstand wurde an 6 g Al_2O_3 chromatographiert. Chloroform mit 0·6% Äthanol eluierte 0·175 g (VIa). Umkristallisieren aus Petroläther (Sdp. 60–95°) ergab 0·12 g Plättchen vom Schmp. 172–175°. (R_F -Wert 0·41 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:6). $[\alpha]_D^{25} = -4^\circ$ ($c = 1\cdot0$, Chloroform). ($C_{27}H_{46}O_4$ (434·6); Ber: C, 74·61; H, 10·67; Gef: C, 74·42; H, 10·56%).

Natriumperjodat-Oxydation des Tetrahydroisonuatigenins (VIa). 0·1 g (VIa) wurden in 15 ccm Dioxan und 2·6 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von 0·075 g Natriumperjodat 3 Stdn. bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Einige Minuten nach der Zugabe des Perjodats begann die Abscheidung von Natriumjodid. Dann wurde die Mischung mit 135 ccm Wasser versetzt und der Niederschlag abfiltriert, dieser wurde mit Wasser gewaschen und getrocknet. Umkristallisieren aus wässrigem Aceton ergab 0·072 g Plättchen 27-nor-5 α -Furostan-3 β -ol-25-on (VIIa) vom Schmp. 142–144°. (R_F -Wert 0·45 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 5:1). $[\alpha]_D^{25} = -6^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). ($C_{26}H_{42}O_4$ (402·6); Ber: C, 77·56; H, 10·52; Gef: C, 77·52; H, 10·48%).

Natriumperjodat-Oxydation des Tetrahydronuatigenins (VIa). 0·1 g (VIa) wurden wie oben beschrieben der Glykospaltung unterworfen. Der erhaltene Rückstand lieferte, aus wässrigem Aceton, umkristallisiert, 0·069 g Plättchen des 27-nor-5 α -Furostan-3 β -ol-25-ons (VIIa) vom Schmp. 141–144°. (R_F -Wert 0·45 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 5:1). $[\alpha]_D^{25} = -5^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). ($C_{30}H_{44}O_2$ (402·6); Ber: C, 77·56; H, 10·52; Gef: C, 77·48; H, 10·61%).

Darstellung des 27-nor-5 α -Furostan-3 β -ol-25-ons (VIIa) aus Δ^{25} -5 α -Furosten-3 β -ol. 2·0 g Δ^{25} -5 α -Furosten-3 β -ol wurden in 40 ccm Pyridin gelöst und nach Zugabe von 10 ccm Acetanhydrid 24 Stdn. bei 37° stehen gelassen. Anschliessend wurde die Lösung zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 45 ccm Dioxan und 11 ccm Wasser gelöst und die Lösung nach Zusatz von 0·150 g OsO₄ 10 Min. stehen gelassen. Dann wurden innerhalb 30 Min. 2·3 g Natriumperjodat hinzugefügt und 3 Stdn. gerührt. Während dieser Zeit wurde das Reaktionsgemisch farblos, und es setzte eine Abscheidung von Natriumjodid in Form eines weissen Niederschlages ein. Nach Abtrennung des Niederschlags wurde die Lösung mit 40 ccm Wasser versetzt, dabei schied sich das Oxydationsprodukt als flockiger Niederschlag aus. Dieser wurde mit 200 ccm einer 1 proz. methanol. Kalilauge 1 Stde. unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser aufgenommen und die Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase wurde nach Waschen mit Wasser über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zu einem Schaum eingedampft. 1·8 g (VIIa) wurden an 54 g Al₂O₃ chromatographiert. Cyclohexan:Benzol 3:7 eluierten 0·8 g Plättchen, die aus wässrigem Aceton umkristallisiert wurden. Ausbeute 0·625 g (VIIa) vom Schmp. 142–144°. (R_F -Wert 0·45 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 5:1). $[\alpha]_D^{25} = -6^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). ($C_{30}H_{44}O_2$ (402·6); Ber: C, 77·56; H, 10·52; Gef: C, 77·50; H, 10·49%).

Dehydratisierung der Verbindung (Ia) zum $\Delta^{1,24}$ -Spirostadien-3 β -ol (VIIIa). 1·0 g Isonuatigeninmonoacetat (Ib) wurde in 40 ccm Pyridin gelöst und bei 0° unter ständigem Rühren 5 ccm Thionylchlorid hinzugegeben. Nach 2 Stdn. wurde die Lösung auf Eis gegossen und mit Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Phase ergab nach Waschen mit 2 N HCl, Wasser, 2 N NaHCO₃ und Wasser nach Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen im Vakuum einen dunkelbraunen Rückstand von 0·84 g. Er wurde an 30 g Al₂O₃ chromatographiert; Cyclohexan:Benzol 6:4 eluierten 0·409 g $\Delta^{1,24}$ -Spirostadien-3 β -ol-acetat (VIIIb), die aus Methanol umkristallisiert wurden. Ausbeute 0·24 g Stäbchen vom Schmp. 217–220°. (R_F -Wert 0·65 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 48:2). $[\alpha]_D^{25} = -141^\circ$ ($c = 2\cdot0$, Chloroform). ($C_{30}H_{44}O_4$ (454·6); Ber: C, 76·61; H, 9·31; Gef: C, 76·78; H, 9·32%).

Hydrierung des $\Delta^{1,24}$ -Spirostadien-3 β -ol-acetats (VIIIb) zum Diosgeninacetat (IXb). 0·1 g (VIIIb) wurden mit 0·05 g PtO₂ in 100 ccm Äthanol bei Zimmertemperatur und Normaldruck hydriert. Nach einer Stunde war die Wasserstoffaufnahme mit 1·10 Mol beendet. Der Katalysator wurde abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingedampft. Da bei der Hydrierung die beiden Isomeren α und β gebildet werden (R_F -Werte 0·58 und 0·53, an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 48:2), wobei die α -Form überwiegt, wurde zu ihrer Trennung der Rückstand an 5 g Al₂O₃ chromatographiert. Es gelang nicht, das β -Isomere einheitlich und frei von α zu erhalten. Dieses oder Diosgeninacetat (IXb) konnte nach Chromatographie und Umkristallisieren aus Methanol in Prismen vom Schmp. 196–199° erhalten werden. Ausbeute 0·034 g. $[\alpha]_D^{25} = -121^\circ$ ($c = 1\cdot0$, Chloroform). ($C_{30}H_{44}O_4$ (456·6); Ber: C, 76·27; H, 9·71; Gef: C, 76·31; H, 9·69%).

Hydrierung des $\Delta^{1,24}$ -Spirostadien-3 β -ol-acetats (VIIIb) zum Tigogeninacetat (Xb). 0·1 g (VIIIb) wurden mit 0·1 g PtO₂ in 80 ccm Äther und 20 ccm Eisessig bei Zimmertemperatur und Normaldruck hydriert. Nach drei Stunden war die Wasserstoffaufnahme mit 1·90 Mol beendet. Der Katalysator wurde abfiltriert und die Lösung im Vakuum eingedampft. Die Doppelbindung in Δ^5 wurde praktisch quantitativ in die 5 α -Form übergeführt. Bei der Hydrierung der zweiten Doppelbindung in Δ^{24} entstanden die beiden Isomeren α und β (R_F -Werte 0·68 und 0·64 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 48:2). Auch hier überwiegt die Bildung des α -Isomeren. Der Eindampfrückstand wurde an 5 g Al₂O₃ chromatographiert. Es gelang nicht, das β -Isomere einheitlich zu erhalten. Das α -Isomere, Tigogeninacetat, konnte nach Chromatographie und Kristallisation aus Methanol als Stäbchen vom Schmp. 204–206° erhalten werden. Ausbeute 0·018 g. $[\alpha]_D^{25} = -65^\circ$ ($c = 0\cdot8$, Chloroform). ($C_{30}H_{44}O_4$ (458·7); Ber: C, 75·94; H, 10·11; Gef: C, 75·77; H, 10·24%).

Darstellung des Nuatigenins (IIa) aus Isonuatigenin (Ia). 0·2 g Isonuatigeninmonoacetat (Ib) wurden in 200 ccm Aceton gelöst und bei 25° innerhalb 20 Min. 3 ccm einer 8 N Chromschwefelsäure-Lösung hinzugefügt; die Mischung wurde 35 Min. bei Zimmertemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in Wasser aufgenommen, der Niederschlag abfiltriert und in Äther gelöst.

Die ätherische Phase wurde mit einer 5-proz. NaHCO_3 -Lösung ausgeschüttelt. Diese wurde mit 6 N HCl angesäuert und der sich ausscheidende Niederschlag abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Ausbeute 0·16 g. Das Ausgangsmaterial hatte einen R_F -Wert 0·71, das Oxydationsprodukt (XIb) einen R_F -Wert 0·19 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:4. 0·16 g (XIb) wurden in 160 ccm Benzol und 80 ccm Äther gelöst und zu einer Mischung von 0·12 g LiAlH_4 in 16 ccm Äther hinzugegeben und eine Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nach Erkalten wurde unter Eiskühlung 20 ccm Essigester hinzugegeben und 30 Min. weiter gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend mit 10 g Magnesiumsulfat in 100 ccm Wasser aufgenommen und weitere 30 Min. gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und die wässrige mit Äther ausgeschüttelt. Der gesamte Extrakt wurde mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand 0·094 g wurde an 4 g Al_2O_3 chromatographiert. Benzol:Chloroform 2:8 mit 1% Methanol eluierten 0·048 g der Verbindung (IIa). (R_F -Wert 0·55 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Methanol 55:4). Umkristallisieren aus wässrigem Methanol ergab 0·026 g Plättchen vom Schmp. 209–212°. $[\alpha]_D^{25} = -95^\circ$ ($c = 1\cdot0$, Chloroform). ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4$ (430·6); Ber: C, 75·31; H, 9·83; Gef: C, 75·20; H, 9·75%).

Umlagerung von Nuatigenin (IIa) in Isonuatigenin (Ia). 0·04 g Nuatigenin (IIa) wurden in 20 ccm 95 proz. Äthanol gelöst, mit 2 ccm 6N HCl versetzt und 30 Min. bei 37° stehen gelassen. Es wurde in Wasser aufgenommen, der entstandene Niederschlag abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Aus wässrigem Methanol umkristallisiert wurden 0·032 g Isonuatigenin (Ia) vom Schmp. 248–250° erhalten. $[\alpha]_D^{25} = -121^\circ$ ($c = 1\cdot0$, Chloroform). ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ (462·7); Ber: C, 72·69; H, 10·02; Gef: C, 72·38; H, 9·88%).

Das Umlagerungsprodukt ist identisch mit dem Material, das aus dem Hydrolysat des Glykosids P isoliert werden konnte.

Umlagerung des 3-Anhydronuatigenins (IVa) in 3-Anhydroisonuatigenin (IIIa). 0·7 g 3-Anhydronuatigenin (IVa) wurde in 300 ccm 95 proz. Äthanol gelöst, die Lösung mit 30 ccm 6 N HCl versetzt und 30 Min. bei 37° stehen gelassen. Dann wurde Wasser hinzugefügt, der entstandene Niederschlag abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Anschließend wurde in 10 ccm Benzol und 5 ccm Pyridin gelöst, mit 3 ccm Acetanhydrid versetzt und 18 Stdn. bei 37° stehen gelassen. Nach der üblichen Aufarbeitung wurde das Acetat an 25 g Al_2O_3 chromatographiert. Cyclohexan:Benzo 3:1 eluierten zunächst 0·048 g 3-Anhydronuatigeninacetat (IVb), dann 0·42 g 3-Anhydroisonuatigenin (IIIa). (R_F -Werte 0·81 bzw. 0·47 an Kieselgel, entwickelt mit Chloroform:Aceton 48:2·5). Durch Umkristallisieren aus Methanol-Petroläther (Sdp. 60–95°) konnten 0·36 g Stäbchen (IIIa) vom Schmp. 138–140° erhalten werden. $[\alpha]_D^{25} = -179^\circ$ ($c = 2\cdot0$; Chloroform). $\lambda_{\text{max}} = 234 \mu\text{m}$ ($\log \epsilon = 4\cdot30$). ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_3$ (412·6); Ber: C, 78·59; H, 9·77; Gef: C, 78·25; H, 9·68%).

Das Umlagerungsprodukt ist identisch mit 3-Anhydroisonuatigenin (IIIa), das aus dem Hydrolysat des Glykosids P isoliert werden konnte.

Den Herrn Dr. G. Legler und Dr. G. Snatzke danken wir für wertvolle Ratschläge.