

- [11] a) F. Kaplan, M. L. Mitchell, *Tetrahedron Lett.* **1979**, 759–762; b) H. Tomioka, H. Okuno, Y. Izawa, *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 5278–5283; c) V. A. Nikolaev, V. V. Popik, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 4483–4486.
- [12] D. F. Taber, J. C. Amedio, R. G. Sherill, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 3382–3384.
- [13] D. F. Taber, J. C. Amedio, K. Raman, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2984–2990.
- [14] Schon früher wurde bei der direkten Photolyse von Diazomalonsäuredimethylester ein kleiner Anteil von Singulett-Triplett-Umwandlung festgestellt: Bei der Addition des Carbens an Alkene blieb die Konfiguration nur zu ca. 90% erhalten.^[5a]
- [15] D. F. Taber, E. H. Petty, *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 4808–4809.
- [16] R. Malherbe, H. Dahn, *Helv. Chim. Acta* **1974**, 57, 2492–2503.
- [17] S. Julia, G. Cannic, G. Linstrumelle, *C. R. Séances Acad. Sci. Ser. C* **1967**, 264, 1890–1892.
- [18] a) K. B. Wiberg, E. Martin, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 5035–5041; b) J. R. Durig, F. S. Feng, A. Wang, H. V. Phan, *Can. J. Chem.* **1991**, 69, 1827–1844; c) siehe auch: J. P. Bowen, A. Pathiaseril, S. Profeta, N. L. Allinger, *J. Org. Chem.* **1987**, 52, 5162–5166.
- [19] a) X. Wang, K. N. Houk, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1870–1872; b) K. B. Wiberg, K. E. Laidig, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 1872–1874.
- [20] ΔE von Methylacetat wird durch polare Lösungsmittel herabgesetzt:
a) K. B. Wiberg, M. W. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 1078–1084; b) J. D. Evanseck, K. N. Houk, J. M. Briggs, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 10630–10638.

Kationische Zwischenstufen und fehlerhafte Kontrolle während der enzymatischen Cyclisierung von Squalen zu Hopanoiden**

Catherine Pale-Grosdemange,* Corinna Feil,
Michel Rohmer* und Karl Poralla

Triterpene gehören zu einer Gruppe von Naturstoffen, in der viele Verbindungen durch enzymatische Cyclisierungen von Polyenen entstehen, die auf sehr unterschiedliche Weise verlaufen können. Solche Cyclisierungen bringen zusammen mit der Bildung der übrigen cyclischen Isoprenoide eine außergewöhnliche Vielfalt höchst unterschiedlicher Naturstoffe hervor.^[1, 2] Allein in der Gruppe der Triterpene kommen etwa 100 verschiedene Grundgerüste in der Natur vor.^[3] Dank molekularbiologischer Techniken und neuer Reinigungsmethoden ist jetzt eine hochreine Squalen-Hop-22(29)-en-Cyclase (SHC) verfügbar, die frei von Verunreinigungen

[*] Prof. Dr. M. Rohmer, Dr. C. Pale-Grosdemange
Institut Le Bel, Université Louis Pasteur
4 rue Blaise Pascal, F-67070 Strasbourg (Frankreich)
Fax: (+33) 3-88-41-61-01
E-mail: mirohmer@chimie.u-strasbg.fr

Dr. C. Feil, Prof. Dr. K. Poralla
Biologisches Institut der Universität
Mikrobiologie/Biotecnologie
Auf der Morgenstelle 28, D-72076 Tübingen
E-mail: poralla@uni-tuebingen.de

[**] Wir danken Thomas Härtner für die Produktion und Isolierung des Rohgemisches der Triterpene, Jean-Daniel Sauer für die NMR-Messungen, Estelle Nastio und Jacques Blanzat für die Aufnahme von Massenspektren und Dr. Pierre Albrecht (ULP, Strasbourg) für eine Probe Neohopen. Unsere Zusammenarbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 323) und durch ein Stipendium der Alexander-von-Humboldt-Stiftung (M.R.) gefördert.

durch zelluläre Lipide ist.^[4] Diese Cyclase, wie auch die Lanosterin- und Cycloartenol-Cyclase, katalysiert die komplexeste bekannte Ein-Schritt-Reaktion der Biochemie.^[5] Zur Bildung des Hopangerüstes werden dreizehn kovalente Bindungen gelöst oder gebildet, neun chirale Zentren etabliert und fünf Ringe synthetisiert. Man muß annehmen, daß reaktive carbokationische Zwischenstufen entstehen, wodurch Nebenreaktionen ablaufen könnten, die unterdrückt werden müssen.^[6] Darüber hinaus ist der Ausschluß von Wasser aus dem aktiven Zentrum ein Problem für die SHC, wie man aus der gleichzeitigen Bildung von Hopan-22-ol **3** (Diplopterol) und Hop-22(29)-en **2** (Diplopten) ersieht.^[6]

Einige Nebenprodukte fallen in geringen Mengen bei der enzymatischen Cyclisierung von Squalen **1** zu Diplopten **2** an. Das Vorkommen dieser Nebenprodukte kann mit tetra- und pentacyclischen carbokationischen Zwischenprodukten erklärt werden und macht somit den Mechanismus der Bildung des Hopangerüstes deutlicher. Bei der gaschromatographischen Analyse der Produkte der enzymatischen Cyclisierung von Squalen **1** wurden Nebenprodukte gefunden, deren Peaks im Spektrum zwischen denen der Squalen- und der Diploptenfraktion lagen und die mengenmäßig jeweils 0.9–2 % der Diploptenfraktion ausmachten. Die gleiche Produktverteilung wurde auch bei der Untersuchung einer hochreinen SHC ohne Poly(His)-Anhang (His tag) erhalten, der sonst für die schnelle Reinigung an einer Nickel-Affinitätssäule erforderlich ist. Vorläufigen Ergebnissen aus GC-MS-Messungen zufolge haben alle Nebenprodukte eine relative Molekülmasse von 410 und sind daher isomer zu Squalen und Diplopten.

Diese Verbindungen wurden durch eine Dünnschichtchromatographie (DC) auf mit Silbernitrat imprägniertem Kieselgel getrennt und jeweils durch GC-MS identifiziert. Neohop-13(18)-en **4** und Eupha-7,24-dien **8** wurden als Reinsubstanzen erhalten. Ihre ¹H-NMR- sowie ihre MS-Daten waren mit Literaturwerten identisch.^[7–9] Die Struktur von **8** wurde letztlich durch den direkten Vergleich (GC, GC-MS, ¹H-NMR) mit aus Butyrospermol synthetisiertem **8** bestätigt. Neohop-13(18)-en **4** wurde durch Coinjektion zusammen mit einer Referenzprobe gaschromatographisch und durch GC-MS-Analyse eindeutig identifiziert. Die zwei isomeren Kohlenwasserstoffe **6** und **7** konnten nicht voneinander getrennt werden. ¹H-NMR- und MS-Daten von **6** waren identisch mit den Literaturwerten für Dammara-13(17),24-dien aus *Polyodium fauriei*; diese Struktur wurde durch Vergleich mit den hydrierten Cyclisierungsprodukten von 2,3-Dihydrosqualen (s. unten) bestätigt.^[10] Verbindung **7** wurde als 17-Isodammar-12,24-dien anhand des ¹H-NMR-Spektrums des 24,25-Dihydroderivats identifiziert; 17-Isodammar-12-en wurde durch enzymatische Cyclisierung von 2,3-Dihydrosqualen mit einem zellfreien Extrakt von *Alicyclobacillus acidocaldarius* erhalten.^[11] Die katalytische Hydrierung einer Mischung aus **6** und **7** reduzierte selektiv die Doppelbindung in der Seitenkette unter Bildung eines Gemisches von 17-Isodammar-12-en und Dammar-13(17)-en; dies wurde durch einen Vergleich (GC-MS, ¹H-NMR) mit früher beschriebenen Referenzverbindungen nachgewiesen.^[11] Die chemischen Verschiebungen der Methylgruppen des tetracyclischen Gerüsts von **6** waren annähernd identisch mit denen der 24,25-Dihydroverbindung. Die ungesättigte Seitenkette mit einer

Δ^{24} -Doppelbindung wurde über die zwei breiten Singulets der Methylgruppe dieser Doppelbindung bei $\delta = 1.606$ und 1.643 , das breite Triplet des vinylischen Protons H24 bei $\delta = 5.10$ ($J = 6.0$ Hz) und das C21-Methyldublett bei $\delta = 0.789$ ($J = 7.0$ Hz) identifiziert. Bei Verbindung **7** wurde das Vorliegen der Δ^{12} -Doppelbindung durch das Signal des olefinischen Protons H12 in Form eines Doppeldoubletts bei $\delta = 5.20$ ($J = 3.2$ und 5.6 Hz) sowie durch das intensive Signal bei m/z 218 bestätigt, welches durch das Produkt einer Retro-Diels-Alder-Reaktion verursacht wird, die charakteristisch für Triterpengerüste mit Δ^{12} -Doppelbindungen ist. Die beiden letzten Merkmale wurden auch für Dammar-12-en anhand der $^1\text{H-NMR}$ - und Massenspektren gefunden.^[10]

Die Verbindungen **5** und **9** wurden auch als Gemisch erhalten. Die aus den $^1\text{H-NMR}$ - und GC-MS-Spektren erhaltenen Daten der im kleineren Anteil vorliegenden Verbindung **9** waren identisch mit den Literaturwerten für Dammara-20(21),24-dien.^[8] Das Massenspektrum von Verbindung **5** war fast identisch mit dem von Dammara-20(21),24-dien **9**.^[8] Jedoch waren die chemischen Verschiebungen der fünf Methylgruppen-Singulets deutlich verschieden voneinander. Die Signale der Seitenketten-Protonen waren jedoch ähnlich und deuteten auf zwei Doppelbindungen in der Seitenkette von **9** hin. Eine Isopropylidengruppe, die einer Δ^{24} -Doppelbindung entspricht, wurde durch zwei breite Singulets der Methylgruppen an der Doppelbindung bei $\delta = 1.618$ und 1.684 sowie durch das breite Triplet des olefinischen H24-Atoms bei $\delta = 5.11$ ($J = 6.7$ Hz) nachgewiesen. Die zweite Doppelbindung wird durch zwei olefinische Protonen-Singulets bei $\delta = 4.87$ und 4.91 (im Unterschied zu einer olefinischen Methylengruppe) charakterisiert und entspricht einer $\Delta^{20(21)}$ -Doppelbindung. Der Kohlenwasserstoff **5** wurde deshalb vorläufig als 17-Isodammara-20(21),24-dien identifiziert. Seine Struktur ist im Einklang mit dem hypothetischen Biogeneseschema, das man für die Bildung der Triterpenoide von *A. acidocaldarius* aufstellen kann (Schema 1). Ein 17-Isodammaran, welches aus dem Abfangen eines kationischen Zwischenprodukts resultiert, wurde bei der SHC als Cyclisierungsprodukt von (3S)-29-Methyliden-2,3-oxidosqualen beschrieben.^[12] Da Verbindungen der 17-Isodammaran-Reihe noch nie als Naturprodukte gefunden wurden, erfordert ihre eindeutige Identifizierung die Synthese einer Referenzverbindung.

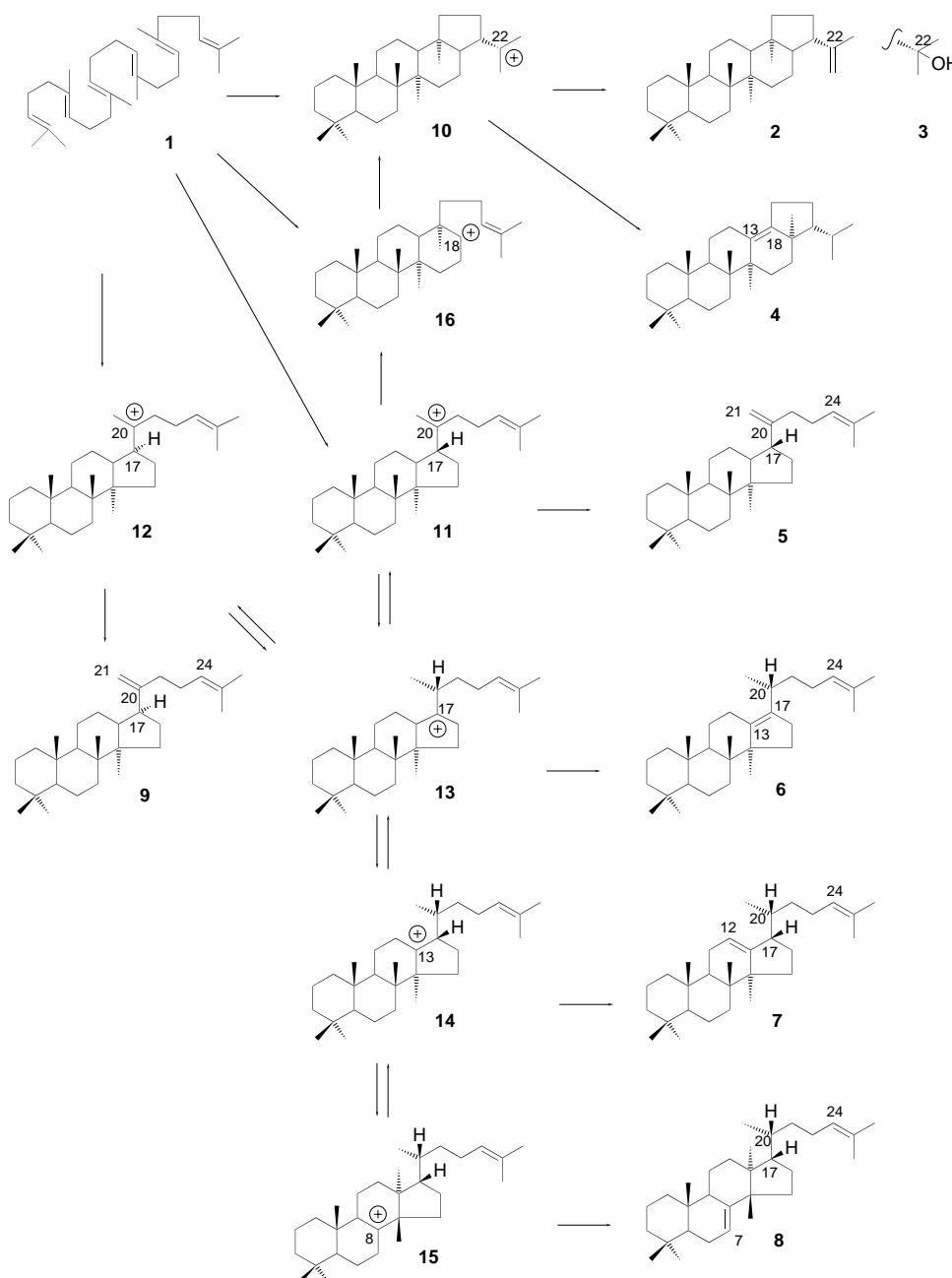
Sechs Nebenprodukte (**4–9**), die alle bei der Squalencyclisierung entstehen, werden neben Diplopten **2** und Diplopterol **3** von der hochreinen SHC aus *A. acidocaldarius* gebildet (Schema 1). Diese Kohlenwasserstoffe sind aber keine Artefakte, die etwa deswegen vom Enzym gebildet wurden, weil seine Katalysefunktion außerhalb der natürlichen Membranumgebung fehlerhaft wäre, sondern wurden auch in Spuren in der Fraktion der von *A. acidocaldarius* produzierten Kohlenwasserstoffe nachgewiesen.

Die Strukturen der Nebenprodukte kann man von carbokationischen Zwischenstufen ableiten, die möglicherweise an der Bildung des Hopangerüsts beteiligt sind (Schema 1). Das pentacyclische Neohop-13(18)-en **4** resultiert aus einer Umlagerung, die vom kationischen Zentrum am C22-Atom des Hopan-Intermediats **10** induziert wird. Alle tetracyclischen Kohlenwasserstoffe entstehen aus den kationischen Zwi-

schenprodukten 17-Isodammaran **11** oder Dammaran **12**. Das Kation **11** entsteht aus einer all-prä-Sessel-Konformation von Squalen, welche die wahrscheinlichste für die Bildung des Hopangerüsts ist.^[10] Die Beteiligung eines intermediären 17-Isodammarans wird auch durch die Struktur des Cyclisierungsproduktes von (3S)-29-Methyliden-2,3-oxidosqualen gestützt. Die Cyclisierung dieses nichtnatürlichen Substrats der SHC ergab ein 17-Isodammaran, das aus dem Abfangen des Isodammaran-C20-Kations **11** resultiert.^[12] Protonenabspaltung führt zu 17-Isodammara-20(21),24-dien **5**. Andererseits kann das C20-Kation des Dammarans **12** entweder aus der direkten Cyclisierung von Squalen aus dessen prä-Sessel-Sessel-Sessel-Wanne-Konformation^[10] oder aus dem 17-Isodammaran-Kation **11** durch 1,2-Hydridverschiebungen und Rotation der Seitenkette entstehen, um dann nach abschließender Protonenabspaltung Dammara-20(21),24-dien **9** zu ergeben (Schema 1). Die restlichen drei tetracyclischen Kohlenwasserstoffe **6**, **7** und **8** werden aus dem Kation **13** über 1,2-Hydridverschiebungen (im Fall von **8** zusätzlich durch zwei 1,2-Methylverschiebungen) und Protonenabspaltung gebildet.

Die Bildung von tetracyclischen Triterpenen mit einem fünfgliedrigen Ring D durch SHC kann auf die gleiche Weise interpretiert werden wie die Bildung des Rings C bei der Lanosterinbiosynthese.^[13, 14] Die Cyclisierung von Substrat-analoga wie 20-Oxa-2,3-oxidosqualen oder eines verkürzten C₂₀-Oxidosqualenanalogs durch die Oxidosqualen-Cyclase aus Hefe liefert Verbindungen mit einen fünfgliedrigen Ring C. Da dies in einem Markownikow-Prozeß geschieht, ist ihre Bildung begünstigt. Hingegen würde die die erwartete Bildung eines sechsgliedrigen Rings C aus einem Anti-Markownikow-Prozeß resultieren. Deshalb wurde bei der Lanosterinsynthese eine kationische Zwischenstufe mit einem fünfgliedrigen Ring C als natürliches Intermediat postuliert, der dann zu einem Sechsring erweitert wird. Computergestützte Rechnungen ergaben, daß ein solcher Prozeß wahrscheinlich ist, führten jedoch auch zur Voraussage, daß das Gleichgewicht zwischen dem tertiären (Markownikow-) Kation und dem nahezu isoenergetischen sekundären (Anti-Markownikow-) Kation durch gezielte Einführung einer nucleophilen Gruppe verschoben werden kann. Die Beteiligung nucleophiler Gruppen der Cyclase wurde diskutiert,^[15] jedoch könnte auch eine Doppelbindung des Substrats diese Funktion übernehmen. Ein ähnlicher Prozeß kann auch für die Bildung von Ring D bei der Cyclisierung von Squalen zu Diplopten angenommen werden. Aus unbekanntem Grund reagiert das intermediäre C20-Kation (**11** und/oder **12**) aber nicht unter Ringerweiterung, sondern ergibt die tetracyclischen Triterpene **5–9**.

Die Bildung des fünfgliedrigen Rings D ist jedoch auch auf eine andere Art möglich. Die Cyclisierung von 2,3-Dihydro-squalen durch die Squalen-Cyclasen aus *Tetrahymena pyriformis* oder *A. acidocaldarius* führt zu tetracyclischen Triterpenen mit einem fünfgliedrigen Ring D.^[11] Ihr Kohlenstoffgerüst ist identisch mit dem einiger Produkte, die in der vorliegenden Arbeit beschrieben wurden. Dieser Befund legt nahe, daß die terminale Doppelbindung des Squalens das intermediäre sekundäre C18-Kation **16** stabilisiert und deshalb für die Bildung des sechsgliedrigen Rings D notwendig



Schema 1. Hypothetisches Biogeneseschema für die Bildung von Triterpengerüsten durch die Squalen-Hopen-Cyclase aus *Alicyclobacillus acidocaldarius*.

ist.^[15] In ihrer Abwesenheit erfolgt nur die Markownikow-Addition, welche über ein tertiäres Carbokation zu Derivaten des Dammarans oder des 17-Isodammarans führt. Wenn die räumliche Anordnung der terminalen Doppelbindung von Squalen in bezug auf das Kation nicht immer sehr exakt ist, ist die Bildung des Intermediats **16** erschwert. Dies führt zur Bildung der äußerst stabilen Kationen **11** oder **12** sowie einer unvollständigen Cyclisierung (wie beim Fehlen der Doppelbindung) und letztlich zur Bildung von tetracyclischen Triterpenen der Dammaran- und Euphan-Reihe, die kennzeichnend für die fehlerhafte Katalyse der SHC sind. Da diese alternativen Cyclisierungsprodukte auch innerhalb der Bakterienzelle gebildet werden, machen diese Ergebnisse deutlich, daß kationische Intermediate von ausreichend langer

Lebensdauer gebildet werden, die dann auch die Einleitung alternativer Cyclisierungskaskaden ermöglichen.

Eine solche Reaktionsvielfalt sowie ein Mangel an Spezifität der SHC wurde bereits für die Bildung des Rings A berichtet. Alle untersuchten SHCs cyclisieren ihr natürliches Substrat Squalen ebenso wie die beiden Enantiomere von Oxidosqualen.^[16-19] Die Cyclisierung des (3S)-Enantiomers erfordert eine prä-Sessel-Konformation bei der Bildung von Ring A, die des (3R)-Enantiomers eine prä-Wanne-Konformation.^[18] Folglich sind solche Cyclisierungen bei unterschiedlichen Konformationen des Substrats sehr wahrscheinlich mit zumindest kleinen Änderungen der Geometrie des aktiven Zentrums verbunden und lassen eine konformativale Flexibilität der Cyklase vermuten.

Obwohl die Kristallstruktur der SHC bekannt ist,^[20] ist es bis jetzt nicht möglich, die Bindungsstelle von Squalen im aktiven Zentrum exakt zu lokalisieren und die Wechselwirkungen in der katalytischen Höhle zu verstehen. Bei der Bildung von Lanosterin wurden bisher keine Nebenprodukte gefunden. Die OXidosqualen-Cyclase, die zu dieser Sterinvorstufe führt, scheint präzise kontrolliert zu sein, was ihren Einsatz bei der Biosynthese essentieller Metabolite höherer Organismen verständlich macht. Im Unterschied dazu ist die Cyclisierung von Mono- und Sesquiterpenen in Pflanzen von der verstärkten Bildung von Nebenprodukten begleitet.^[21, 22] Vermutlich weisen viele Triterpen-Cyclasen einen ähnlichen Mangel an Spezifität auf, der zu den zahlreichen Triterpengerüsten im Sekundärmetabolismus der Pflanzen führt. Man denke nur an alle mono-,^[23] bi-,^[24] tri-,^[25] tetra-^[7, 8] und pentacyclischen^[26] Triterpenoide, die in Farnen gefunden wurden und die sehr wahrscheinlich wegen des Fehlens einer Sauerstofffunktion am C3-Atom wie bei den bakteriellen Hopanoiden direkt aus Squalen ableitbar sind.

Experimentelles

Der N-Terminus der SHC wurde um 6 His-Reste verlängert (His tag). Die rekombinante SHC stammt aus dem thermoacidophilen Bakterium *Alicyclobacillus acidocaldarius*. Das Enzym wurde in *Escherichia coli* exprimiert und zur Homogenität gereinigt, wobei der letzte Schritt eine Nickel-Affinitätschromatographie war.^[4]

Die NMR-Spektren wurden auf einem WP-400-Spektrometer (Bruker) in CDCl_3 bei 300 K aufgenommen, wobei CHCl_3 ($\delta = 7.260$) der interne Standard war. GC-MS-Messungen wurden mit einem TSQ-700-Spektrometer (Finnigan) durchgeführt, wobei die Bedingungen die gleichen waren wie in einer früheren Arbeit.^[11] Die Triterpene wurden aus dem Gemisch der enzymatischen Reaktion mit Hexan/Isopropanol (3/2) extrahiert. Die Rohfraktion (229 mg) wurde mit einer Flash-Chromatographie (CH_2Cl_2 /Hexan (1/1), dann CH_2Cl_2) in eine Kohlenwasserstoff-Fraktion (179 mg) und Diplopteron (31 mg) aufgetrennt.^[27] Nach einer weiteren Flash-Chromatographie (Cyclohexan) erhielt man eine Fraktion, die alle polycyclischen Triterpene (112 mg) enthielt, und eine Fraktion mit Squalen (60 mg). Die polycyclischen Triterpene wurden durch eine DC mit Silbernitrat-Entwicklung (Cyclohexan/Toluol (9/1), zwei Läufe)^[28] getrennt. Dabei ergaben sich folgende Fraktionen (nach steigender Polarität angegeben): Neohop-13(18)-en **4** (Schema 1) sowie unpolare Kohlenwasserstoffe bestehend aus Dammara-12,24-dien **7**, Dammara-13(17),24-dien **6** und Eupha-7,24-dien **8**, Diplopten **2** und zum Schluß ein Gemisch aus Dammara-20(21),24-dien **9**, aus einem Kohlenwasserstoff, der vorläufig als 17-Isodammara-20(21),24-dien **5** charakterisiert wurde, und aus einer Restmenge Diplopten **2**. Diese Fraktionen wurden zusätzlich durch eine zweite DC mit Silbernitrat-Entwicklung gereinigt. Mit Cyclohexan als Laufmittel wurde reines Neohop-13(18)-en ($R_f = 0.7$, 0.3 % des Rohgemisches) erhalten. Das Gemisch aus **6**, **7** und **8** ergab mit Cyclohexan/Toluol (9/1) als Laufmittel ein Gemisch aus **6** und **7** in einem Verhältnis von 54:46, das nicht getrennt werden konnte ($R_f = 0.41$, Ausbeute 0.9 %) sowie **8** ($R_f = 0.48$, Ausbeute 0.2 %). Die Fraktion mit der höchsten Polarität wurde mit Cyclohexan/Toluol (6:4) als Laufmittel in Diplopten **2** ($R_f = 0.64$) und eine nicht trennbare Mischung von **5** und **9** (Verhältnis 82:18, $R_f = 0.25$, Ausbeute 0.6 %) getrennt. Im folgenden werden nur die spektroskopischen Daten der neu identifizierten Kohlenwasserstoffe **5** und **7** ausführlich beschrieben.

17-Isodammara-20(21),24-dien **5** (vorläufige Struktur): $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 0.803$ (s, CH_3), 0.833 (s, CH_3), 0.845 (s, CH_3), 0.902 (s, CH_3), 0.942 (s, CH_3), 1.618 und 1.684 (2s, $2 \times 25\text{-CH}_3$), 4.87 und 4.91 (2s, $2 \times 21\text{-H}$), 5.11 (br.t, $J = 6.7\text{ Hz}$, $2 \times 21\text{-H}$), 5.11 (br.t, $J = 6.7\text{ Hz}$, 24-H); GC-MS: m/z (%): 410 (18) [M^+], 395 (3) [$M^+ - \text{CH}_3$], 367 (3), 341 (2), 299 (5), 231 (15), 218 (11), 203 (11), 191 (100) (Fragmentierung von Ring C), 187 (27) (Fragmentierung von Ring C), 109 (24).

Dammara-12,24-dien **7**: $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 0.789$ (d, $J = 7.0\text{ Hz}$, 20- CH_3), 0.821 (s, 4 α - CH_3), 0.867 (s, 10 β - CH_3), 0.927 (s, 8 β - CH_3), 0.946 (s, 14 α - CH_3), 1.606

und 1.643 (2s, $2 \times 25\text{-CH}_3$), 5.10 (br.t, $J = 6\text{ Hz}$, 24-H), 5.20 (dd, $J = 3$ und 4 Hz, 12-H); GC-MS: m/z (%): 410 (100) [M^+], 395 (24) [$M^+ - \text{CH}_3$], 367 (2), 341 (9) (allylische Fragmentierung zwischen C22 und C23), 326 (11), 297 (36) [$M^+ - \text{Seitenkette} - 2\text{H}$], 284 (21), 218 (32) Retro-Diels-Alder-Reaktion, induziert durch die Δ^{12} -Doppelbindung), 191 (82) (Fragmentierung von Ring C), 147 (62), 134 (78), 109 (51), 107 (46), 105 (30).

Eingegangen am 30. März 1998 [Z11660]

Stichwörter: Carbokationen • Cyclasen • Hopanoide • Squalen • Terpenoide

- [1] A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger, D. Arigoni, *Helv. Chim. Acta* **1955**, 38, 1890.
- [2] D. E. Cane, *Chem. Rev.* **1990**, 90, 1089.
- [3] J. Buckingham, *Dictionary of Natural Products on CD-ROM*, Version 5.1, Chapman and Hall, London, **1996**.
- [4] C. Feil, R. Suessmuth, G. Jung, K. Poralla, *Eur. J. Biochem.* **1996**, 242, 51.
- [5] E. J. Corey, S. P. T. Matsuda, B. Bartel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, 91, 2211.
- [6] I. Abe, M. Rohmer, G. D. Prestwich, *Chem. Rev.* **1993**, 93, 2189.
- [7] H. Ageta, K. Shiojima, Y. Arai, *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, 35, 2705.
- [8] K. Masuda, K. Shiojima, H. Ageta, *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, 31, 2530.
- [9] I. Abe, M. Rohmer, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1991**, 902.
- [10] Y. Arai, K. Masuda, H. Ageta, *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, 30, 4219.
- [11] I. Abe, M. Rohmer, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1994**, 783.
- [12] I. Abe, T. Dang, Y. F. Zheng, B. A. Madden, C. Feil, K. Poralla, G. D. Prestwich, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 11333.
- [13] E. J. Corey, S. C. Virgil, H. Cheng, C. Hunter Baker, S. P. T. Matsuda, V. Singh, S. Sarshar, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 11819.
- [14] E. J. Corey, H. Cheng, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2709.
- [15] C. Jenson, W. L. Jorgensen, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 118, 10846.
- [16] C. Anding, M. Rohmer, G. Ourisson, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 1274.
- [17] M. Rohmer, C. Anding, G. Ourisson, *Eur. J. Biochem.* **1980**, 112, 549.
- [18] P. Bouvier, Y. Berger, M. Rohmer, G. Ourisson, *Eur. J. Biochem.* **1980**, 112, 541.
- [19] M. Rohmer, P. Bouvier, G. Ourisson, *Eur. J. Biochem.* **1980**, 112, 557.
- [20] K. U. Wendt, K. Poralla, G. E. Schulz, *Science* **1997**, 277, 1811.
- [21] K.-P. Adam, J. Crock, R. Croteau, *Arch. Biochem. Biophys.* **1996**, 332, 352.
- [22] C. L. Steele, J. Crock, J. Bohlmann, R. Croteau, *J. Biol. Chem.* **1998**, 273, 2078.
- [23] Y. Arai, M. Hirohara, H. Ageta, H. Y. Hsu, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 1325.
- [24] K. Shiojima, Y. Arai, K. Masuda, T. Kamada, H. Ageta, *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 5733.
- [25] Y. Arai, M. Hirohara, H. Ageta, *Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 7209.
- [26] G. Berti, F. Bottari, *Progr. Phytochem.* **1969**, 1, 589.
- [27] W. C. Still, M. Kahn, M. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, 53, 2923.
- [28] K. Aitzetmüller, L. A. Guaraldo Goncalves, *J. Chromatogr.* **1990**, 519, 349.