

aus III nach HOLYSZ⁹. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der Tatsache, dass 4-Chlor- Δ^4 -3-ketosteroide unter gleichen Bedingungen in 4-Chlor- $\Delta^{4,6}$ -3-ketosteroide umgewandelt werden, und ist demzufolge ein Beweis für die Konstitution von III.

Die Chlorierung von Verbindung VI mit Sulfurylchlorid in Pyridin⁸ ergab 6-Chlor- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androstanadien-7-on (VII); Fp.: 171–173°C; $[\alpha]_D$: −381,4° ($c = 1,0$); λ_{max} : 292 m μ ; $\epsilon = 19400$; v_{max} : 1028, 1280, 1571, 1628, 1684, 1730 cm^{−1}; $C_{21}H_{27}O_3Cl$ (362,90) ber. 69,50% C, 7,50% H, 9,77% Cl; gef. 69,15% C, 7,72% H, 10,15% Cl; Ausbeute: 69,7%.

Verseifung von VII mit *p*-Toluolsulfonsäure in Methanol ergab 6-Chlor- $\Delta^{17\beta}$ -hydroxy- $\Delta^{4,6}$ -androstanadien-7-on (VIII); Fp.: 172–174°C; $[\alpha]_D$: −391,7° ($c = 1,0$); λ_{max} : 292 m μ ; $\epsilon = 18800$; v_{max} : 1570, 1622, 1680, 3615 cm^{−1}; $C_{19}H_{25}O_2Cl$ (320,87) ber. 71,12% C, 7,85% H, 11,05% Cl; gef. 71,49% C, 7,55% H, 11,14% Cl; Ausbeute: 87,3%.

Zur Darstellung von 6-Chlor- $\Delta^{17\alpha}$ -methyl- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androstanadien-7-on (X) und 6-Chlor- $\Delta^{17\alpha}$ -methyl- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androsten-7-on (XIII) gingen wir vom $\Delta^{17\alpha}$ -Methyl- $\Delta^{3\beta}$, $\Delta^{17\beta}$ -diacetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androsten-7-on¹⁰ (XI) aus.

Abspaltung der 3-Acetoxygruppe aus XI mit äthanolischer Salzsäure ergab $\Delta^{17\alpha}$ -Methyl- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androstanadien-7-on (IX); Fp.: 143–145°C (¹⁰ 140–141°C); $[\alpha]_D$: −344,1° ($c = 1,0$), (¹⁰ $350 \pm 1,5$); λ_{max} : 280 m μ ; $\epsilon = 22800$ (¹⁰ λ_{max} : 280 m μ , $\epsilon = 21090$); v_{max} : 1278, 1597, 1628, 1658, 1725 cm^{−1}; $C_{22}H_{30}O_3$ (342,50) ber. 77,15% C, 8,83% H; gef. 77,05% C, 8,79% H; Ausbeute: 61,5%.

Aus dieser Verbindung wurde durch Chlorierung mit Sulfurylchlorid in Pyridin⁸ 6-Chlor- $\Delta^{17\alpha}$ -methyl- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androstanadien-7-on (X) erhalten; Fp.: 154–157°C; $[\alpha]_D$: −338° ($c = 1,0$); λ_{max} : 292 m μ ; $\epsilon = 18850$; v_{max} : 1278, 1570, 1623, 1682, 1730 cm^{−1}; $C_{22}H_{29}O_3Cl$ (376,93) ber. 70,10% C, 7,75% H, 9,41% Cl; gef. 69,89% C, 7,57% H, 9,72% Cl; Ausbeute: 70,5%.

Die katalytische Hydrierung von IX mit Palladium auf $CaCO_3$ unter Normaldruck in Methanol lieferte 17α -Methyl- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androsten-7-on (XII) in einer Ausbeute von 91,5%; Fp.: 177–179°C; $[\alpha]_D$: −160,4° ($c = 0,5$); λ_{max} : 238 m μ ; $\epsilon = 12850$; v_{max} : 1280, 1632, 1670, 1729 cm^{−1}; $C_{22}H_{32}O_3$ (344,50) ber. 76,70% C, 9,36% H; gef. 76,63% C, 8,99% H.

Die Umsetzung von XII mit Sulfurylchlorid in Pyridin⁸ führte zum 6-Chlor- $\Delta^{17\alpha}$ -methyl- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy- $\Delta^{4,6}$ -androsten-7-on (XIII); Fp.: 139–142°C; $[\alpha]_D$: −158,3° ($c = 0,5$); λ_{max} : 254 m μ ; $\epsilon = 12760$; v_{max} : 1278, 1599, 1692, 1730 cm^{−1}; $C_{22}H_{31}O_3Cl$ (378,95) ber. 69,72% C, 8,25% H, 9,35% Cl; gef. 69,96% C, 8,35% H, 9,73% Cl; Ausbeute: 74,2%.

Die Verbindungen III, IV, V, VII, VIII, X, XII und XIII sind unseres Wissens noch nicht beschrieben. Über die pharmakologischen Eigenschaften von III, VII, X und XIII wird an anderer Stelle berichtet.

Summary. 6-Chloro- $\Delta^{17\beta}$ -acetoxy-5-androsten-7-one and some of its derivatives have been prepared from Δ^5 -steroids by a synthesis involving elimination of the substituent from position 3, introduction of a 7-keto group by allyloxidation and chlorination of the resulting compound with sulphuryl chloride.

H. J. SIEMANN,
W. POHNERT und S. SCHWARZ

Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm,
Jena (DDR), 3. Dezember 1963.

⁹ R. P. HOLYSZ, J. Amer. chem. Soc. 75, 4432 (1953).

¹⁰ V. SCHWARZ, Coll. Czech. chem. Commun. 26, 1958 (1961).

¹¹ Wir danken Herrn Dr. K. HELLER (Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm) für Aufnahme und Interpretation der IR-Spektren.

Zur Biosynthese des Plumierids

In den letzten Jahren wurde eine Reihe von stark sauerstoffhaltigen terpenoiden Pflanzenstoffen, wie Asperulosid¹, Aucubin², Catalposid³, Genipin⁴, Loganin⁵ und Verbenalin⁶ konstitutionell geklärt. Diese Stoffe leiten sich strukturell vom Iridodial^{7,8} ab. Ein zusätzliches Strukturelement enthalten Plumierid (I)⁹, Fulvoplumierin¹⁰ und die Plumericine¹¹.

Im folgenden berichten wir über Versuche zur Biosynthese des Plumierids (I) mit Essigsäure-1-¹⁴C und Mevalonsäure-2-¹⁴C als Vorläufer.

Experimentelles. Blätter von *Plumiera acutifolia* (Apo-cynaceae) wurden im Licht in eine wässrige Lösung vom Natriumacetat-1-¹⁴C bzw. Natriummevalonat-2-¹⁴C gestellt. Nach der Aufnahme dieser Lösungen wurde 0,1-prozentige wässrige Glucoselösung zugesetzt. Nach 5 Tagen hat man aus den Blättern das Plumierid isoliert und durch Chromatographie und Umlkristallisation bis zur konstanten Aktivität gereinigt. 1,03% bzw. 0,13% der zugesetzten Aktivität sind im Glucosid wiedergefunden worden. Die mit inaktivem Material verdünnten radioaktiven Präparate wurden den im Formelschema aufgeföhrten Abbaureaktionen unterzogen (vgl. ⁹). Die Abbauprodukte wurden chromatographisch gereinigt und dünnenschichtchromatographisch auf ihre Einheitlichkeit

überprüft. Die erhaltenen, einfachen Mono- und Dicarbonsäuren wurden als *p*-Bromphenacyl- bzw. Di-*p*-bromphenacylester isoliert und gereinigt. Die ¹⁴C-Aktivitäten

¹ J. GRIMSHAW, Chem. and Ind. 1961, 403. — L. H. BRIGGS, B. F. CAIN, P. W. LE QUESNE und J. N. SHOOLERY, Tetrahedron Letters 1963, 69.

² W. HAEGELE, F. KAPLAN und H. SCHMID, Tetrahedron Letters 1961, 110. — S. FUJISE, H. OBARA und H. UDA, Chem. und Ind. 1960, 289. — J. GRIMSHAW und H. R. JUNEJA, Chem. and Ind. 1960, 856.

³ J. M. BOBBITT, D. W. SPIGGLE, S. MAHBOOB, W. VON PHILIPSBORN und H. SCHMID, Tetrahedron Letters 1962, 321.

⁴ C. DJERASSI, T. NAKANO, A. N. JAMES, L. H. ZALKOW, E. J. EISENBRUNN und J. N. SHOOLERY, J. org. Chem. 26, 1192 (1961).

⁵ K. SHETH, E. RAMSTAD und J. WOLINSKY, Tetrahedron Letters 1961, 394.

⁶ G. BÜCHI und R. E. MANNING, Tetrahedron Letters 26, 5 (1960).

⁷ G. W. K. CAVILL, D. L. FORD und H. D. LOCKSLEY, Austr. J. Chem. 9, 288 (1956).

⁸ G. W. K. CAVILL und D. L. FORD, Austr. J. Chem. 13, 296 (1960) und weitere dort zitierte Arbeiten.

⁹ O. HALPERN und H. SCHMID, Helv. chim. Acta 41, 1109 (1958).

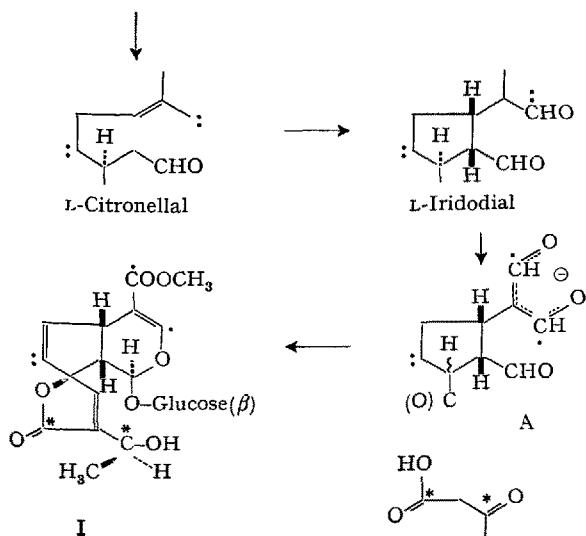
¹⁰ H. SCHMID und W. BENCZE, Helv. chim. Acta 36, 205, 1468 (1953). — G. ALBERS-SCHÖNBERG, W. VON PHILIPSBORN, L. M. JACKMAN und H. Schmid, Helv. chim. Acta 45, 1406 (1962).

¹¹ G. ALBERS-SCHÖNBERG und H. SCHMID, Helv. chim. Acta 44, 1447 (1961).

sind durch *trockene* Verbrennung im Hochvakuum zu Kohlendioxid und anschliessende Messung des Gases im Proportional-Zählrohr bestimmt worden¹². Die Resultate werden nachstehend aufgeführt.

Diskussion. In beiden Experimenten hat nur der Aglykonteil des Plumierids Aktivität aufgenommen, da das Aglykon D (III) dieselbe molare Aktivität besitzt wie Plumierid (I).

2 Mevalonsäure-2-¹⁴C



Beim Acetat-1-¹⁴C-Experiment finden sich gut 90% der in I inkorporierten Aktivität in den C-Atomen 8, 10, 11, 12, 13 und 14 entstammenden Äthylbernsteinsäure (X) wieder. Die Hälfte davon ist im C-Atom 13, die andere Hälfte im C-Atom 12 lokalisiert. Diese Verteilung weist darauf hin, dass die C-Atome 12 und 13 von den Carboxylgruppen, die C-Atome 11 und 14 von den Methylgruppen zweier Essigsäuremolekülen stammen. Baustein für dieses Vier-Kohlenstoff-Segment könnte Acetessigsäure sein.

Auch Mevalonat-2-¹⁴C ist spezifisch in den Aglykonteil des Plumierids (I) eingebaut worden: Je 25% in den C-Atomen 3 und 15 und ca. 90% der anderen Hälfte in – wahrscheinlich einem – der C-Atome 5, 6 oder 7, wie aus den Aktivitäten von IX und X hervorgeht¹³.

Die erhaltenen Resultate stehen mit der Auffassung im Einklang, dass die Pflanze zum Aufbau des Kohlenstoffgerüstes des Plumierids zwei Essigsäure- und zwei Mevalonsäure-Molekel verwendet¹⁴. Eine etwas detailliertere Hypothese dieses Aufbaues ist nachstehend angeführt¹⁵:

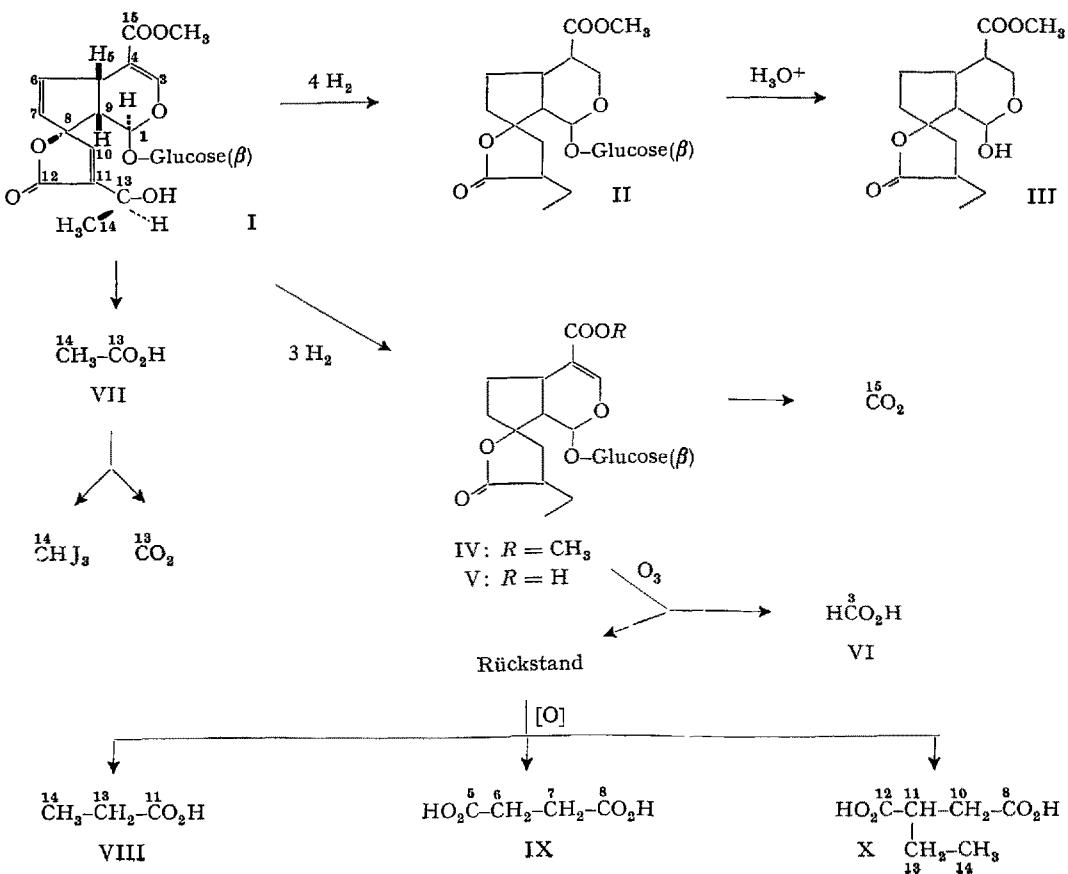
Die eingezeichnete asymmetrische Markierung der ω -ständigen Methylgruppen im Citronellal entspricht der-

¹² J. RUTSCHMANN und W. SCHÖNIGER, Helv. chim. Acta 40, 428, 433 (1957).

¹³ Aus Materialmangel konnte die Aktivität in den Carboxylgruppen der Bernsteinsäure nicht genau bestimmt werden; sie war niedrig.

¹⁴ Prephensäure als möglicher Vorläufer erscheint ausgeschlossen. – E. WENKERT, J. Amer. chem. Soc. 84, 98 (1962).

¹⁵ Zur Terpenbiogenese vgl. P. BERNFELD, *Biogenesis of Natural Compounds* (Pergamon Press 1963), p. 641, 797.



Relative molare Aktivitäten von Plumierid und seinen Abbauprodukten

| Verbindung | Acetat-1- ¹⁴ C-Experiment | | Mevalonat-2- ¹⁴ C-Experiment | |
|---|--------------------------------------|--------|---|--------|
| | Gef. % | Ber. % | Gef. % | Ber. % |
| Plumierid (I) | 100,0 | 100 | 100,0 | 100 |
| Hexahydro-desoxyplumierid (II) | 99,9 | 100 | 98,7 | 100 |
| Aglykon D (III) | 99,8 | 100 | 100,4 | 100 |
| Tetrahydro-desoxyplumierid (IV) | - | - | 100,0 | 100 |
| Tetrahydro-desoxyplumierid-Säure (V) | - | - | 100,7 | 100 |
| CO ₂ aus der Carboxylgruppe von V ^a | - | - | 24,9 | 25 |
| Ameisensäure (VI) | 0,45 | 0 | 25,1 | 25 |
| Essigsäure (VII) ^b | 45,2 | 50 | 0,85 | 0 |
| Propionsäure (VIII) | 44,6 | 50 | 1,1 | 0 |
| Bernsteinsäure (IX) | 4,1 | 0 | 44,3 | 50 |
| Äthylbernsteinsäure (X) | 90,8 | 100 | 0,91 | 0 |
| CO ₂ aus der Carboxylgruppe von VII ^c | 41,3 | 50 | - | - |
| Iodoform aus der Methylgruppe von VII ^c | 1,1 | 0 | - | - |
| CO ₂ aus den Carboxylgruppen von X ^d | 28,6 | 25 | - | - |

^a Durch Hochvakuumpyrolyse von V, ^b durch modifizierte Kuhn-Roth-Oxydation, ^c durch Pyrolyse des Li-Salzes im Hochvakuum, ^d durch modifizierten Schmidtschen Abbau.

jenigen der aus zwei Mevalonsäure-2-¹⁴C-Einheiten gebildeten terpenoiden Seitenkette im Mycelianamid¹⁶. Die Umwandlung Citronellal → Iridodial liess sich *in vitro* verwirklichen¹⁷. Die bisher nie beobachtete¹⁶ Gleichverteilung der Markierung auf die C-Atome 3 und 15 im Plumierid erfordert die Einschaltung eines Zwischenproduktes, z.B. A, in dem diese zwei C-Atome einander vollkommen äquivalent sind.

Dasselbe Schema gilt vermutlich für die Plumericine und Fulvoplumierin. Ob das aus 10 Kohlenstoffatomen bestehende Aglykongerüst der in der Einleitung genannten terpenoiden Pflanzenstoffe ebenfalls aus zwei Mevalonsäureeinheiten aufgebaut wird, bleibt noch abzuklären. Soweit bekannt, entsprechen diese Verbindungen hinsichtlich ihrer absoluten Konfiguration dem Plumierid¹⁸.

Summary. It has been shown that the leaves of *Pl. acutifolia* incorporate acetate-1-¹⁴C and mevalonate-2-¹⁴C

specifically for the formation of the aglycone moiety of plumieride.

D. A. YEOWELL und H. SCHMID¹⁹

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich (Schweiz), 27. Februar 1964.

¹⁶ A. J. BIRCH, M. KOCOR, N. SHEPPARD und J. WINTER, J. chem. Soc. 1962, 1502.

¹⁷ K. J. CLARK, G. I. FRAY, R. H. JAEGER und R. ROBINSON, Tetrahedron 6, 217 (1959).

¹⁸ Bekannt ist die absolute Konfiguration von Verbenalin⁶, Genipin⁴, Aucubin (siehe eine spätere Mitteilung) und damit auch von Catalposid (W. H. LUNN, D. W. EDWARD und J. T. EDWARD, Chem. and Ind. 1961, 1488).

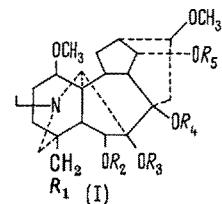
¹⁹ Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds sehr für die Unterstützung der Arbeit, Herrn Dr. J. WÜRSCHI (F. Hoffmann-La Roche & Cie., Basel) für markiertes Mevalonsäure-lakton und Herrn Prof. D. ARIGONI (ZÜRICH) für interessante Diskussionen.

The Biosynthesis of Diterpenoid Alkaloids

In recent years it has generally been assumed that the C₂₀ and C₁₉ skeletons of the alkaloids isolated from plants of the *Garvaya*, *Delphinium* and *Aconitum* species were terpenoid, and as such produced, *in vivo*, from acetate units by the 'mevalonate pathway' so well established for the biosynthesis of many non-alkaloidal terpenes¹. Thus these alkaloids are commonly referred to as the *diterpenoid alkaloids*.

The recent report by HERBERT and KIRBY² that there was no detectable incorporation of mevalonic acid-2-¹⁴C into delpheline (I, R₁=H, R₂=H, R₃+R₄=CH₂, R₅=CH₃)³ biosynthesized in *Delphinium elatum* is therefore most surprising and has prompted us to communicate the results of our initial experiments on the biosynthesis of brownine (I, R₁=OCH₃, R₂=CH₃, R₃=H, R₄=H, R₅=H)⁴

and lycocotonine (I, R₁=OH, R₂=CH₃, R₃=H, R₄=H, R₅=CH₃)⁵.



Sodium acetate-1-¹⁴C, -2-¹⁴C and mevalonic acid-2-¹⁴C dibenzylethylenediamine salt were fed^{6a} to *D. brownii* plants just prior to blossoming. After 8 days the above-ground portion of the plants were harvested, the alkaloids