

SIEGFRIED HUNECK und GÜNTHER SNATZKE

Triterpene, IX¹⁾**Über die Triterpene aus der Rinde von *Sambucus nigra* L.
und die Darstellung von 3-epi-Ursolsäure**

Aus dem Institut für Pflanzenchemie der Technischen Universität Dresden in Tharandt und
dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Bonn

(Eingegangen am 8. Juli 1964)

Die Isolierung von Ursolsäure (als Methylester), Betulin, α -Amyrin, β -Sitosterin, Cerylalkohol und n-Heptacosan aus der Rinde von *S. nigra* L. sowie die Darstellung von 3-epi-Ursolsäure und einigen Derivaten werden beschrieben.

Die Gattung *Sambucus* L. aus der Familie der *Caprifoliaceae* umfaßt in Mitteleuropa die Arten *Sambucus nigra* L., *S. racemosa* L. und *S. ebulus* L., von denen die erstere am intensivsten untersucht wurde²⁾. In einer neueren Arbeit fand J. ZELLNER³⁾ neben Phytosterin und Cerylalkohol folgende nicht näher definierte Substanzen: Nadeln vom Schmp. 216°, Nadeln vom Schmp. 179°, Nadeln vom Schmp. 245° und ein Produkt vom Schmp. 298°, von dem er annahm, es sei mit Platanolsäure (= Betulinsäure) identisch.

Bei einer erneuten Untersuchung der im Herbst gesammelten Rinde von *S. nigra* L. wurde diese zunächst mit Hexan extrahiert, der resultierende Auszug verseift und das Unverseifbare in einen in Hexan leicht löslichen Anteil (A) und schwer löslichen Anteil (B) getrennt. Anteil A wurde säulenchromatographisch in vier Komponenten getrennt, bei denen es sich nach Schmp., Misch-Schmp. und Analyse wahrscheinlich um n-Heptacosan, α -Amyrin, Cerylalkohol und β -Sitosterin handelt.

Anteil B lieferte nach wiederholter Kristallisation ein Produkt vom Schmp. 250 bis 252°, das sich als Betulin erwies.

Nach der Extraktion mit Hexan wurde die Rinde getrocknet und mit Äther ausgezogen. Der Ätherextrakt wurde mit Natronlauge geschüttelt, die Zwischenschicht abgetrennt, mit Schwefelsäure zerlegt und die resultierende Säure mit Diazomethan verestert. Nach Chromatographie erhielt man eine Substanz vom Schmp. 169–170°, nach IR-Spektrum, Schmp. und Misch-Schmp. sowie dünnenschichtchromatographischem Verhalten identisch mit Ursolsäure-methylester. Das IR-Spektrum zeigt die für Ursolsäurederivate typischen Banden im Bereich von 1392–1355 und 1330 bis 1245/cm⁴⁾. Das Massenspektrum von Ursolsäure-methylester zeigt die geforderte Molmasse von 470 und außerdem die für Δ^{12} -ungesättigte Ursene und Oleanene charakteristischen Fragmente⁵⁾.

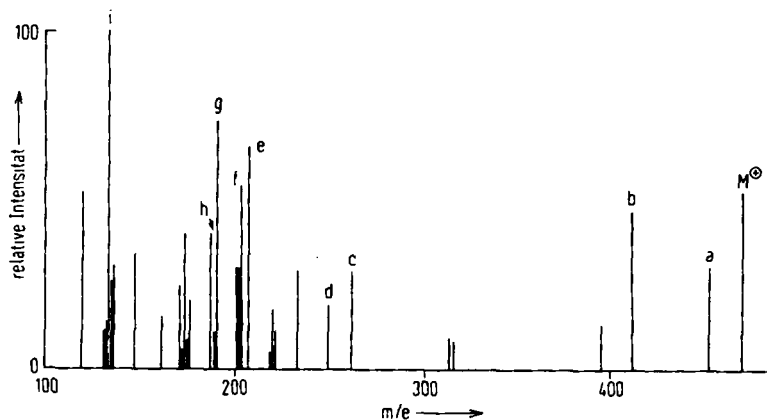
¹⁾ VIII. Mitteil.: S. HUNECK, Tetrahedron Letters [London] 1963, Nr. 28, 1977.

²⁾ C. WEHMER, Die Pflanzenstoffe, Bd. II, 1184, G. Fischer-Verlag, Jena 1931.

³⁾ S.-B. Akad. Wiss. Wien, math.-naturwiss. Kl., Abt. IIb, 135, 165 [1926].

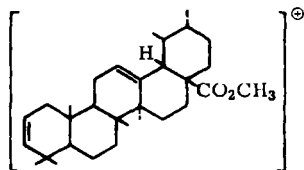
⁴⁾ G. SNATZKE, F. LAMPERT und R. TSCHESCHE, Tetrahedron [London] 18, 1417 [1962].

⁵⁾ H. BUDZIKIEWICZ, J. M. WILSON und C. DJERASSI, J. Amer. chem. Soc. 85, 3688 [1963].

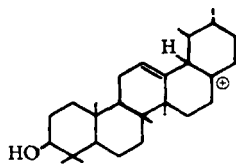


Massenspektrum von Ursolsäure-methylester

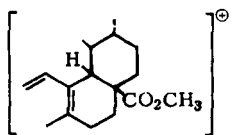
Zuordnung der Peaks zu den Fragmenten:



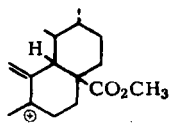
a



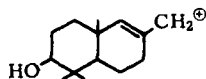
b



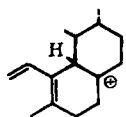
c



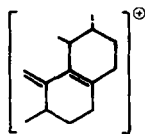
d



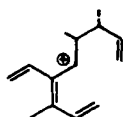
e



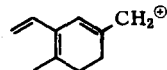
f



g



h



i

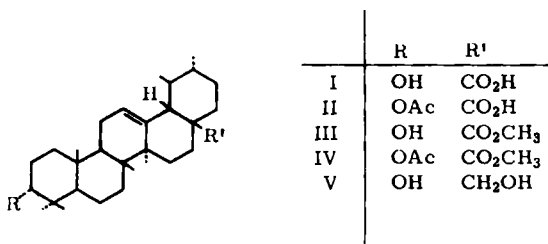
| | a | b | c | d | e | f | g | h | i |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| <i>m/e</i> | 452 | 411 | 262 | 249 | 207 | 203 | 190 | 189 | 133 |

Der Peak bei *m/e* 190 dürfte dem Fragment g zuzuordnen sein, das durch Verlust der 28-Methoxycarbonylgruppe aus dem Fragment d entsteht.

Zur weiteren Charakterisierung des Ursolsäure-methylesters wurde der Acetylursolsäure-methylester und der Ursolsäure-methylester hergestellt; beide Substanzen waren mit aus authentischer Ursolsäure bereiteten Verbindungen identisch.

S. nigra L. enthält also sowohl Vertreter der α -Amyrin-Reihe, als auch ein Triterpen der Lupan-Reihe, ein weiterer Hinweis auf die enge biogenetische Beziehung beider Reihen zueinander.

Nach der kürzlich erfolgten Isolierung und Synthese von 3-epi-Oleanolsäure⁶⁾ schien es interessant, auch die bisher nicht bekannte 3-epi-Ursolsäure (I) herzustellen. Sie entsteht bei der MEERWEIN-PONNDORF-Reduktion von Ursonsäure neben Ursolsäure, läßt sich zu Ursonsäure rückoxydieren, zur 3-epi-Acetyl-ursolsäure (II) acetylieren und zum 3-epi-Ursolsäure-methylester (III) verestern. Letzterer ist auch durch MEERWEIN-PONNDORF-Reduktion aus Ursonsäure-methylester zugänglich und liefert bei der Acetylierung 3-epi-Acetyl-ursolsäure-methylester (IV). Schließlich läßt sich 3-epi-Ursolsäure-methylester mit Lithiumaluminiumhydrid zum 3-epi-Uvaol (V) reduzieren.



Die Molekularrotationsdifferenz zwischen II und I sowie zwischen IV und III hat einen negativen Wert, entsprechend der axialen Stellung der Hydroxylgruppe am C-Atom 3.

| Verbindung | $[M]_D^\circ$ | ΔOAc° |
|--|---------------|--------------------|
| 3-epi-Acetyl-ursolsäure (II) | +105 | |
| 3-epi-Ursolsäure (I) | +297 | -192 |
| 3-epi-Acetyl-ursolsäure-methylester (IV) | +154 | |
| 3-epi-Ursolsäure-methylester (III) | +179 | -25 |

Ferner sind die OH-stretching Frequenzen (aufgenommen in sehr kleiner Konzentration in Tetrachlormethan) der axialen 3-Hydroxyl-Verbindungen im Vergleich zu den 3-äquatorialen Hydroxyl-Verbindungen nach höheren Werten verschoben, z. B. 3-epi-Ursolsäure-methylester 3634/cm, Ursolsäure-methylester 3630/cm^{7,8)}.

Untersuchungen über die Inhaltsstoffe der Rinde von *Sambucus racemosa* L. sind im Gange.

Herrn Dipl.-Phys. S. MIERSCH vom Institut für Elektrochemie und physikalische Chemie der Technischen Universität Dresden sei recht herzlich für die Aufnahme des Massenspektrums gedankt.

⁶⁾ S. HUNECK, Tetrahedron [London] **19**, 479 [1963].

⁷⁾ I. L. ALLSOP, A. R. H. COLE, D. E. WHITE und R. L. S. WILLIX, J. chem. Soc. [London] **1956**, 4868.

⁸⁾ H. S. AARON und C. P. RADER, J. Amer. chem. Soc. **85**, 3046 [1963].

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Die IR-Spektren wurden mit dem Perkin-Elmer-Spektralphotometer 221 mit Gitter-Prismen-Austauscheinheit aufgenommen. Als Lösungsmittel diente, wenn nicht anders vermerkt, Tetrachlormethan. Das Massenspektrum wurde mit einem Atlas IS 12/56-Gerät aufgenommen.

Aufarbeitung der Rinde von S. nigra L.: 1000 g getrocknete und feingemahlene Rinde von *S. nigra* L. werden 3 Tage mit Hexan extrahiert und der Extrakt eingedampft. Die resultierende grüne halb feste Masse wird in 600 ccm Äthanol und 200 ccm Benzol mit 50 g Kaliumhydroxyd 2 Stdn. unter Rückfluß erhitzt, das Lösungsmittelgemisch sodann i. Vak. abdestilliert, der Rückstand mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Die äther. Lösung wird mit 10-proz. Natronlauge und Natriumchloridlösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft: 7.2 g orangefarbener wachsartiger Rückstand.

Diesen Rückstand trennt man durch Erwärmen mit 300 ccm Hexan in einen löslichen (A) und unlöslichen Anteil (B). Anteil A wird über 60 g Al_2O_3 (Akt.-St. I, neutral) chromatographiert:

| Fraktion | ccm Eluens | Schmp. |
|----------|---------------------------|----------|
| 1 | 2000 Hexan | 58—59° |
| 2 | 2000 Hexan/Benzol (9 : 1) | 58—59° |
| 3 | 3000 Hexan/Benzol (8 : 2) | Öl |
| 4 | 500 Hexan/Benzol (1 : 1) | 176—178° |
| 5 | 3000 Hexan/Benzol (1 : 1) | 50—60° |
| 6 | 2000 Benzol | 45—55° |
| 7 | 500 Äther | 134—135° |

Die beiden Frakt. 1 und 2 liefern nach wiederholter Kristallisation aus Aceton 0.1 g Blättchen vom Schmp. 59—60°, wahrscheinlich *n-Heptacosan*.

$\text{C}_{27}\text{H}_{56}$ (380.7) Ber. C 85.17 H 14.83 Gef. C 84.82 H 14.55

Aus Frakt. 4 erhält man nach Kristallisation aus Essigester und Methanol/Methylenchlorid 0.08 g Nadeln vom Schmp. 181—182°, identisch mit *α -Amyrin*.

$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ (426.7) Ber. C 84.44 H 11.81 Gef. C 84.20 H 11.93

Eine Probe wurde mit *Acetanhydrid*/Pyridin acetyliert. Nach Kristallisation aus Äthanol/Methylenchlorid prismatische Blättchen vom Schmp. 221—222°, identisch mit *Acetyl- α -amyrin*.

$\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_2$ (468.7) Ber. C 81.99 H 11.18 Gef. C 81.74 H 11.36

Frakt. 5 liefert nach wiederholter Kristallisation aus Aceton eine wachsartige Masse (0.1 g) vom Schmp. 69—71°, wahrscheinlich *Cerylalkohol*.

$\text{C}_{26}\text{H}_{54}\text{O}$ (382.7) Ber. C 81.60 H 14.22 Gef. C 80.80 H 13.55

Frakt. 7 liefert nach Kristallisation aus Methanol/Methylenchlorid 0.09 g Blättchen vom Schmp. 136—137°, identisch mit *β -Sitosterin*.

$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$ (414.7) Ber. C 83.99 H 12.15 Gef. C 83.81 H 12.13

Eine Probe wurde mit *Acetanhydrid*/Pyridin acetyliert, wobei nach Kristallisation aus Methanol/Methylenchlorid Nadeln vom Schmp. 125—126° resultierten, identisch mit *Acetyl- β -sitosterin*.

$\text{C}_{31}\text{H}_{52}\text{O}_2$ (456.7) Ber. C 81.52 H 11.48 Gef. C 81.03 H 11.05

Der in Hexan schwerlösliche *Anteil B* (0.11 g) wird in 25 ccm Benzol über 5 g Al_2O_3 (Akt.-St. I, neutral) chromatographiert. 100 ccm Benzol/Äther (8:2) eluieren ein Produkt, das aus Methanol/Methylenchlorid in Nadeln vom Schmp. 250–252° kristallisiert, identisch mit *Betulin*.

$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_2$ (442.7) Ber. C 81.39 H 11.38 Gef. C 80.97 H 11.18

Eine Probe hiervon wurde mit Ameisensäure in *Allobetulinformiat* übergeführt: Blättchen vom Schmp. 310–312°; eine weitere Probe lieferte nach Acetylierung *Diacetylbetulin* vom Schmp. 220°.

Nach der Hexan-Extraktion trocknet man die Rinde und extrahiert mit 1000 ccm Äther. Der Auszug wird mit 10-proz. Natronlauge geschüttelt, die Zwischenphase abzentrifugiert und auf Tonteller abgepreßt. Dieses Rohprodukt wird in 100 ccm siedendem Methanol gelöst, mit Kohle geklärt, die Lösung mit Salzsäure angesäuert und mit Wasser bis zur Niederschlagsbildung versetzt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag abgesaugt, in 250 ccm Äther gelöst und mit überschüss. Diazomethan behandelt. Nach Aufbewahren über Nacht wird das restliche Diazomethan mit Essigsäure zerstört, die äther. Lösung mit 10-proz. Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft: 0.7 g Öl. Dieses Öl chromatographiert man in 20 ccm Hexan über 20 g Al_2O_3 (Akt.-St. I, neutral). 500 ccm Hexan/Benzol (9:1) eluieren 0.20 g, aus Methanol/Wasser Nadelchen vom Schmp. 115–116°. Nach Trocknen bei 110° schmilzt die Substanz bei 169–170°; $[\alpha]_D^{20}$: +75° ($c = 1.06$, Chlf.): *Ursolsäure-methylester*. IR: 1720 (CO_2CH_3), 3630/cm (OH).

$\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3$ (470.7) Ber. C 79.10 H 10.71 Gef. C 79.00 H 10.53

Eine Probe lieferte nach Acetylierung mit *Acetanhydrid*/Pyridin und Kristallisation aus Methanol/Wasser prismatische Nadeln vom Schmp. 245–246°, identisch mit *Acetylursolsäure-methylester*. IR: 1730/cm (CH_3CO_2 und CO_2CH_3).

$\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_4$ (512.7) Ber. C 77.29 H 10.22 Gef. C 77.17 H 9.84

Eine weitere Probe wurde mit JONES-Reagenz zum *Ursonsäure-methylester* oxydiert: aus Methanol/Methylenchlorid Prismen vom Schmp. 192–193°. IR: 1703 (3-CO), 1722/cm (CO_2CH_3).

Ursonsäure: 5.0 g *Ursolsäure* (Schmp. 278–279°, aus *Arctostaphylos uva ursi* L. nach P. BILHAM, G. A. R. KON und W. C. J. ROSS⁹⁾ isoliert) werden in 800 ccm über Kaliumpermanganat destilliertem Aceton gelöst und mit JONES-Reagenz oxydiert. Nach dem Verdünnen mit konz. wäbr. Oxalsäurelösung wird der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und aus Methanol umkristallisiert: 2.0 g Prismen vom Schmp. 279–280° (Zers.); IR: 1695/cm (3-CO und CO_2H).

3-epi-Ursolsäure (I): 2.0 g *Ursonsäure* werden in 50 ccm absol. *Isopropylalkohol* mit 4.0 g *Aluminiumisopropylat* 4 Stdn. unter Abdestillieren von Aceton und Alkohol und Zugabe von frischem Isopropylalkohol unter Rückfluß erhitzt; danach ist kein Aceton mehr im Destillat nachweisbar. Das Reaktionsgemisch wird i. Vak. eingedampft, mit Wasser versetzt, mit Salzsäure angesäuert und ausgeäthert. Die äther. Lösung wird mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der hinterbleibende feste Rückstand wird in 200 ccm Benzol unter Erwärmen gelöst und über 100 g Kieselgel chromatographiert. 1000 ccm Benzol/Äther (9:1) eluieren 0.9 g *I*, das aus Methanol in Nadeln vom Doppelschmp. 176–177° und 236–237° kristallisiert. $[\alpha]_D^{20}$: +65° ($c = 1.39$, Chlf.). IR: 1692 (CO_2H), 3632/cm (OH).

$\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$ (456.7) Ber. C 78.89 H 10.59 Gef. C 78.41 H 10.97

1000 ccm Äther eluieren 0.7 g Produkt, das nach Kristallisation aus Methanol bei 275–278° schmilzt und mit *Ursolsäure* identisch ist.

⁹⁾ J. chem. Soc. [London] 1942, 35.

3-epi-Acetyl-ursolsäure (II): Aus 0.2 g *3-epi-Ursolsäure* (I) und 3 ccm *Acetanhydrid* in 3 ccm Pyridin in 24 Stdn. bei 20°. Nach üblicher Aufarbeitung und Kristallisation aus Methanol/Methylenchlorid 0.15 g Nadeln vom Schmp. 267–268° und $[\alpha]_D^{20}$: +21° ($c = 1.19$, Chlf.). IR: 1690 (CO₂H), 1717 (CH₃CO₂) und 3510/cm (CO₂H) (in Chloroform).

C₃₂H₅₀O₄ (498.7) Ber. C 77.06 H 10.11 Gef. C 77.05 H 10.24

3-epi-Ursolsäure-methylester (III): 2.5 g *Ursonsäure-methylester* vom Schmp. 188–190° werden in 50 ccm absol. *Isopropylalkohol* mit 5.0 g *Aluminiumisopropylat* 5 Stdn. unter Abdestillieren von Aceton und Alkohol sowie Zugabe von frischem Isopropylalkohol unter Rückfluß erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird i. Vak. eingedampft, mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Die äther. Lösung wird mit Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft. Der Rückstand zeigt im Dünnschichtchromatogramm zwei Flecke mit den R_F -Werten 0.66 (*3-epi-Ursolsäure-methylester*) und 0.33 (*Ursolsäure-methylester*) (Adsorbens: Al₂O₃, Akt.-St. II, neutral, Entwickler: Chloroform, Detektion durch thermische Zers.) und wird in 20 ccm Hexan über 60 g Al₂O₃ (Akt.-St. II, neutral) chromatographiert:

| Fraktion | ccm Eluens | Schmp. |
|----------|---------------------------|----------|
| 1 | 1000 Hexan | — |
| 2 | 1500 Hexan/Benzol (8 : 2) | 171–172° |
| 3 | 700 Hexan/Benzol (1 : 1) | 171–172° |
| 4 | 500 Hexan/Benzol (1 : 1) | — |
| 5 | 250 Äther | 165–168° |

Die Frakt. 2 und 3 liefern nach erneuter Kristallisation aus Methanol 1.5 g *3-epi-Ursolsäure-methylester* (III) in rechteckigen glasglänzenden Prismen vom Schmp. 115–116°, die beim Liegen an der Luft verwittern und nach dem Trocknen (110°) bei 172–173° schmelzen. $[\alpha]_D^{20}$: +38° ($c = 1.28$, Chlf.). IR: 1722 (CO₂CH₃), 3634/cm (OH).

C₃₁H₅₀O₃ (470.7) Ber. C 79.10 H 10.71 Gef. C 78.98 H 10.76

Frakt. 5 liefert nach Kristallisation aus Methanol 0.7 g *Ursolsäure-methylester* in Nadeln vom Schmp. 168–169°.

3-epi-Acetyl-ursolsäure-methylester (IV): Aus 0.25 g *3-epi-Ursolsäure-methylester* (III) und 3 ccm *Acetanhydrid* in 3 ccm Pyridin in 24 Stdn. bei 20°. Nach üblicher Aufarbeitung und Kristallisation aus Methanol/Methylenchlorid 0.20 g glasglänzende Prismen vom Schmp. 164–165°; $[\alpha]_D^{20}$: +30° ($c = 1.52$, Chlf.). IR: 1730/cm (CH₃CO₂, CO₂CH₃).

C₃₃H₅₂O₄ (512.7) Ber. C 77.29 H 10.22 Gef. C 77.47 H 10.66

3-epi-Uvaol (V): Eine Lösung von 0.25 g *3-epi-Ursolsäure-methylester* (III) in 10 ccm Äther wird zu einer Suspension von 0.5 g *Lithiumaluminiumhydrid* in 100 ccm Äther gegeben und 4 Stdn. unter Rückfluß und Rühren erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das überschüss. Reduktionsmittel durch Zugabe von 0.5 ccm Wasser, 0.5 ccm 15-proz. Natronlauge und 1.5 ccm Wasser zerstört, anorganisches Material abgesaugt, das äther. Filtrat mit Natriumsulfat getrocknet und eingedampft, wobei ein farbloses Öl hinterbleibt, das nach mehrstdg. Aufbewahren bei 10° kristallisiert. Nach 2maliger Kristallisation aus Methanol 0.18 g wetzsteinförmige Prismen vom Schmp. 207–208° und $[\alpha]_D^{20}$: +67° ($c = 1.71$, Chlf.). IR: 3620/cm (OH, CH₂OH) (in Chlf.).

C₃₀H₅₀O₂ (442.7) Ber. C 81.39 H 11.38 Gef. C 81.45 H 11.82