

29. Zur Kenntnis der Triterpene.

(102. Mitteilung¹)).

Abbau der Oleanolsäure zu einem C₂₆-Oxy-tetrasäure-lacton.

von L. Ruzicka, A. Rudowski, J. Norymberski und O. Jeger.

(22. XII. 45.)

Vor kurzem²) haben wir ein Arbeitsprogramm zum direkten Nachweis des Methyls am Kohlenstoffatom 5³) des Oleanan-Gerüstes aufgestellt, das bei den früheren Abbauproben nicht erfasst werden konnte. Die dazu brauchbaren isomeren C₂₆-Oxy-tetrasäure-lactone XII und XIII wurden präparativ aus dem Hederagenin gewonnen, aus welchem sie jedoch relativ schwer zugänglich sind. Wir suchten deshalb nach einem bequemeren Verfahren zur Herstellung dieser Verbindungen.

Auf folgendem Wege liess sich nun die Verbindung XIII bzw. ihr Anhydrid (IXa) in zwei Stufen aus dem leicht zugänglichen Oleanolsäure-lacton (I)⁴) mit guter Ausbeute erhalten.

Das Oleanolsäure-lacton (C₃₀H₄₈O₃) gibt mit Phosphorpentachlorid in Petroläther-Lösung eine ungesättigte, bei 297–299° schmelzende Verbindung C₃₀H₄₆O₂ (II).

Vor kurzem konnten wir zeigen, dass man aus α-Amyrenonol und Lupanol mit Phosphorpentachlorid unter Retropinakolin-Umlagerung und Ringverengerung Verbindungen erhält, in welchen der Ring B dem oxydativen Abbau zugänglich ist⁵). Dass aus Oleanolsäure-lacton ein analoges Produkt entsteht, liess sich durch Oxydation von II mit Osmiumtetroxyd beweisen. Man erhält dabei ein Diol C₃₀H₄₈O₄ (III) vom Smp. 315–320°, welches bei der Umsetzung mit Blei(IV)-acetat eine Verbindung C₂₇H₄₀O₃ (IV) liefert. IV ist mit dem schon früher aus Hederagenin gewonnenen C₂₇-Keto-lacton identisch⁶), wodurch die Teilformel II bewiesen ist.

Die Verbindung II ist demnach analog gebaut wie das aus α-Amyrin zugängliche α-Amyradienon-I, kann also als Anhydro-oleanolsäure-lacton-I bezeichnet werden.

Bei der Oxydation mit Chromsäure in kochender Eisessiglösung entsteht aus II das gesuchte, früher aus Hederagenin und Sumaresinolsäure gewonnene Anhydrid-

¹) 101. Mitt. Helv. **29**, 204 (1946).

²) Helv. **27**, 1185 (1944).

³) An der Brücke zwischen den Ringen A und B.

⁴) Winterstein und Stein, Z. physiol. Ch. **199**, 64 (1931).

⁵) Helv. **28**, 767, 942, 1628 (1945).

⁶) Helv. **26**, 2242 (1943).

lacton der C_{26} -Oxy-tetrasäure (IXa), welches durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt identifiziert wurde. Auch der Methyl-ester IXb ist mit dem früher beschriebenen Präparat identisch. IXa erhält man ferner in einer bedeutend gesteigerten Ausbeute bei der Ozonisation von II und der oxydativen Spaltung des nicht isolierten, amorphen Ozonides mit Chromsäure.

Die Wasserabspaltung mit Phosphorpentachlorid ist das einzige bisher gefundene Verfahren, um zu der Verbindung II zu gelangen. Bei der Wasserabspaltung mit aktivierter Fullererde in siedender Xylol-Lösung entsteht nämlich aus Oleanolsäure-lacton (I) vorwiegend ein bei $272-274^{\circ}$ schmelzendes Produkt $C_{30}H_{46}O_2$ (V). Die Verbindung ist ein Isomeres von II und lässt sich daraus durch Kochen mit alkoholischem Chlorwasserstoff oder durch Behandlung mit Palladium-Calciumcarbonat und Wasserstoff in alkoholischer Lösung erhalten. Eine analoge Verschiebung der Doppelbindung haben wir früher bei Umwandlungsprodukten der Sumaresinolsäure¹⁾ und des α -Amyrins²⁾ beobachtet. Wie früher kann auch diesmal angenommen werden, dass die Isomeren $C_{30}H_{46}O_2$ (II und V) das gleiche Kohlenstoffgerüst besitzen und sich nur durch die Lage der bei der Wasserabspaltung entstehenden Doppelbindung unterscheiden.

Im Einklang mit der angenommenen Konstitution von V stehen weiter folgende Reaktionen. Die Einwirkung von Osmiumtetroxyd auf V führt zu einem bei $293-296^{\circ}$ schmelzenden Diol $C_{30}H_{48}O_4$ (VI), welches mit Blei(IV)-acetat eine Verbindung $C_{30}H_{46}O_4$ (VII) liefert. Darnach liegt in dem Isomeren vom Smp. $272-274^{\circ}$ (V) die Doppelbindung nicht in einer Seitenkette, da sonst bei der Oxydation des aus ihr gewonnenen α -Glykols eine Verbindung mit geringerer Kohlenstoffzahl entstehen müsste. VII ist gegen Chromsäure bei Zimmertemperatur beständig, wonach die gleichfalls zur Diskussion stehende Formulierung als Keto-aldehyd (VIII) an Wahrscheinlichkeit verliert. V ist also analog gebaut wie das früher beschriebene α -Amyradienon-II und wird demnach Anhydro-oleanolsäure-lacton-II benannt.

Bei der Oxydation mit Chromsäure unter den gleichen Bedingungen, die oben bei der Oxydation des Anhydro-lactons-I (II) angegeben worden sind, liefert das Anhydro-lacton-II (V) in der Hauptsache ein neutrales Oxydationsprodukt $C_{30}H_{44}O_3$, welches im U.V. ein Absorptionsmaximum bei $240\text{ m}\mu$, $\log \varepsilon = 4,0^3)$ besitzt. Die Verbindung $C_{30}H_{44}O_3$ ist mit dem aus Sumaresinolsäure gewonnenen Produkt gleicher Zusammensetzung XI)⁴⁾ nicht identisch und könnte demnach mit Vorbehalt als X⁵⁾ formuliert werden.

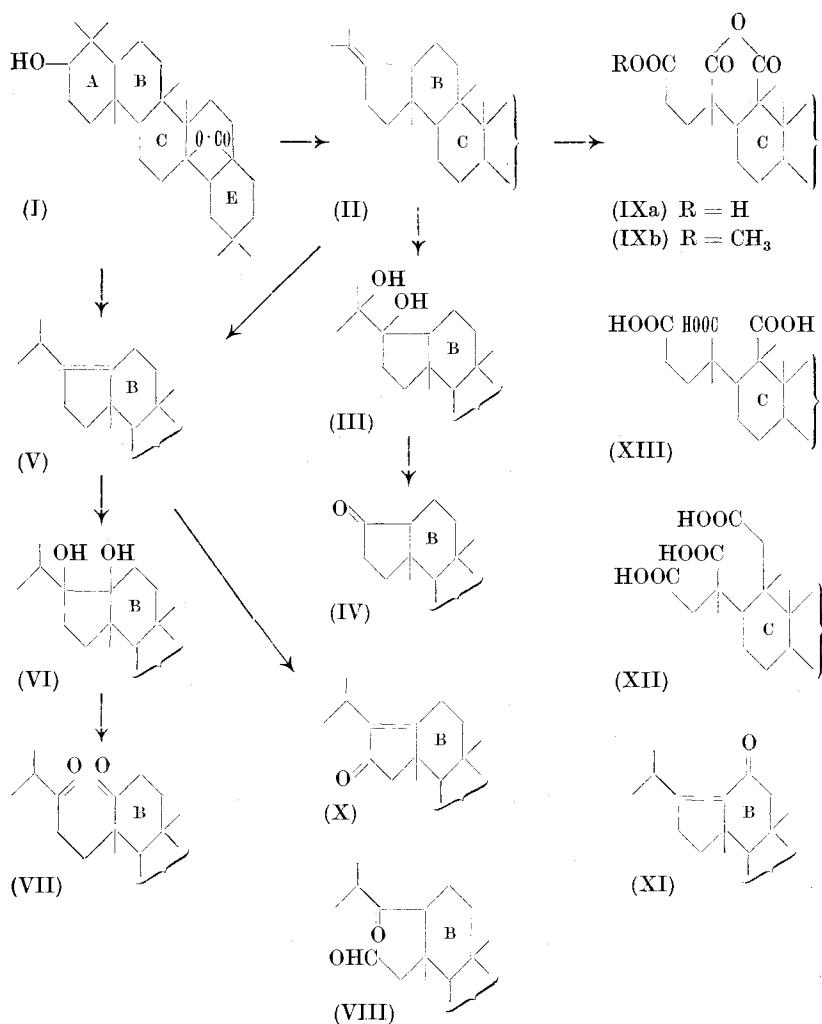
¹⁾ Helv. **28**, 380 (1945).

³⁾ Aufgenommen in alkoholischer Lösung.

²⁾ Helv. **28**, 1628 (1945).

⁴⁾ Helv. **28**, 380 (1945).

⁵⁾ Bzw. als Isomeres mit semicyclischer Lage der Doppelbindung, welche mit dem Absorptionsmaximum besser im Einklang stehen würde.



Der *Rockefeller Foundation* in New York danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil¹⁾.

Einwirkung von Phosphorpentachlorid auf Oleanolsäure-lacton (I).

5,5 g Oleanolsäure-lacton²⁾ werden in 250 cm³ Petroläther suspendiert, dann im Verlaufe von 3 Stunden portionsweise mit 3,6 g Phosphorpentachlorid versetzt und das Gemisch 20 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nur ein Teil der Substanz geht dabei in die Lösung; der Rückstand wird von der Lösung getrennt und in Chloroform

¹⁾ Alle Schmelzpunkte sind korrigiert. Die spez. Drehungen wurden in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge bestimmt.

²⁾ Hergestellt in Anlehnung an die Vorschrift von Winterstein und Stein, Z. physiol. Ch. 199, 64 (1931).

gelöst. Die Petroläther- und Chloroform-Lösungen werden getrennt, mit Wasser und verdünnter Natronlauge gewaschen, getrocknet und eingedampft. Die Rückstände werden vereinigt (5,7 g) und über eine Säule aus 100 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

Fraktionen 1—6 1,3 Liter Benzol-Petroläther (1:1) 3,30 g Smp. 286—291° (Hochvakuum)
 7—9 1,5 Liter Benzol-Petroläther (1:1) 0,22 g Smp. 270—278° (Hochvakuum)
 10—13 1 Liter Benzol 0,30 g chlorhaltig, ölig
 14—17 2,5 Liter Äther 1,90 g Smp. 337—342° (Hochvakuum)

Fraktionen 1—6 und 7—9 krystallisieren aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 297—299° (Hochvakuum); sie sind chlorfrei und geben mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung. Das Analysenpräparat wurde im Hochvakuum bei 215° sublimiert.

3,722; 3,740 mg Subst. gaben 11,143; 11,213 mg CO₂ und 3,529; 3,487 mg H₂O

C₃₀H₄₆O₂ Ber. C 82,14 H 10,57%
 Gef. „ 81,70; 81,82 „ 10,61; 10,43%

[α]_D = -1° (c = 0,678)

Es liegt das Anhydro-oleanolsäure-lacton-I (II) vor. Fraktionen 10—13 sind vorläufig nicht weiter untersucht worden.

Fraktionen 14—17 bestehen aus unverändertem Ausgangsmaterial.

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-I (II) mit Ozon und Chromsäure zum C₂₆-Oxy-tetrasäure-lacton-anhydrid (IXa).

550 mg Subst. werden in 25 cm³ Chloroform gelöst und bei 0° bis zum Verschwinden der positiven Tetranitromethan-Probe ozonisiert. Das Chloroform wird dann verdampft, der Rückstand in 16 cm³ siedendem Eisessig mit einer Lösung von 1,06 g Chromtrioxyd in 14 cm³ Eisessig versetzt und das Gemisch 1 Stunde am Rückfluss erhitzt. Der Kalium-hydrogencarbonat-Auszug (360 mg) gibt aus Aceton-Hexan Blättchen oder Nadeln vom Smp. 244—246°. Zur Analyse wurde über Nacht bei 110° im Hochvakuum getrocknet.

3,705 mg Subst. gaben 9,203 mg CO₂ und 2,600 mg H₂O

C₂₆H₃₆O₇ Ber. C 67,80 H 7,88%
 Gef. „ 67,79 „ 7,85%

[α]_D = ± 0° (c = 0,942)

Nach Schmelzpunkt und Mischprobe ist die Verbindung mit dem früher beschriebenen C₂₆-Oxy-tetrasäure-anhydrid-lacton (IXa) identisch¹.

Der Soda-Auszug (50 mg) konnte bis jetzt nicht krystallin erhalten werden, die Neutralprodukte der Oxydation (90 mg) wurden bis jetzt nicht untersucht. Das C₂₆-Oxy-tetrasäure-anhydrid-lacton (IXa) kann in schlechterer Ausbeute bei der direkten Oxydation von II mit Chromtrioxyd in siedender Eisessiglösung erhalten werden.

Der Methylester krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 253—254°. Die Substanz ist nach der Mischprobe mit dem früher von uns beschriebenen Präparat¹) identisch. Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 225° sublimiert.

3,713 mg Subst. gaben 9,289 mg CO₂ und 2,681 mg H₂O

C₂₇H₃₈O₇ Ber. C 68,33 H 8,07%
 Gef. „ 68,28 „ 8,08%

[α]_D = ± 0° (c = 0,573)

Es liegt das C₂₆-Oxy-tetrasäure-anhydrid-methylester-lacton (IXb) vor.

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-I (II) mit Osmiumtetroxyd.

1 g Substanz wird in 20 cm³ Chloroform gelöst und mit 580 mg Osmiumtetroxyd versetzt. Nach 3 Tagen wird die dunkelbraune Lösung abgedampft, der Rückstand in 80 cm³ Benzol-Alkohol (1:1) gelöst und mit 1 g Kalilauge und 1,6 g Mannit während

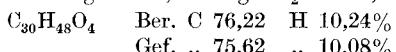
¹⁾ Helv. 28, 380 (1945).

5 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Die Lösung wird auf $\frac{1}{3}$ des ursprünglichen Volumens eingeengt, mit Wasser verdünnt und mit Äther gut ausgewaschen. Der Rückstand der ätherischen Lösung (1,08 g) wird in Benzol gelöst und durch eine Säule aus 30 g Aluminiumoxyd (Aktivität I) chromatographiert.

Fraktionen 1—4	500 cm ³ Benzol	40 mg
5—9	1000 cm ³ Benzol	420 mg Smp. 300—310° (Hochvakuum)
10—16	2000 cm ³ Benzol-Äther	480 mg Smp. 310—320° (Hochvakuum)
17—24	1500 cm ³ Äther	130 mg Smp. 308—320° (Hochvakuum)

In den Fraktionen 1—4 liegt unverändertes Ausgangsmaterial vor. Fraktionen 5—9, 10—16, 17—24 werden vereinigt und aus Chloroform-Hexan umkristallisiert. Smp. 315—320°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum über Nacht bei 120° getrocknet.

3,190 mg Subst. gaben 8,839 mg CO₂ und 2,872 mg H₂O



Es liegt das Diol III vor.

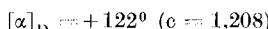
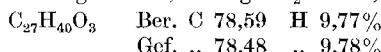
Oxydation des Diols (III) mit Blei(IV)-acetat.

920 mg Substanz vom Smp. 310—315° werden in 20 cm³ Chloroform und 35 cm³ Eisessig gelöst, mit 1,21 g 90-proz. Blei(IV)-acetat versetzt und über Nacht stehen gelassen. Die Lösung wird dann mit Wasser verdünnt und wie üblich aufgearbeitet. Der neutrale Rückstand der Oxydation (910 mg) wird in Benzol-Petroläther (3 : 2) gelöst und durch eine Säule aus 27 g Aluminiumoxyd (Aktivität I—II) chromatographiert.

Fraktionen 1—10	1500 cm ³ Benzol-Petroläther 3:2	410 mg Smp. 280—289° (Hochvakuum)
11—15	800 cm ³ Benzol-Petroläther 3:1	50 mg Smp. 268—276° (Hochvakuum)
16—20	1000 cm ³ Benzol	60 mg Smp. 260—285° (Hochvakuum)

Fraktionen 1—10 krystallisieren aus Chloroform-Methanol in Blättchen vom Smp. 287—289° (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum bei 215° sublimiert.

3,709 mg Subst. gaben 10,666 mg CO₂ und 3,240 mg H₂O

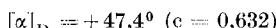
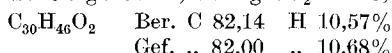


Es liegt das C₂₇-Oxy-keto-lacton (IV)¹ vor.

Erhitzen des Oleanolsäure-lactons (I) mit Fullererde in Xylo-Lösung.

2,7 g Substanz werden in 75 cm³ trockenem Xylo mit 3,8 g aktivierter Fullererde²) während 3 Stunden gekocht, dann abermals mit 4 g Fullererde versetzt und weitere 3 Stunden erhitzt. Nach der Aufarbeitung wird der krystalline Rückstand (2,2 g) dreimal mit 150 cm³ heissem Petroläther extrahiert. Der im Petroläther unlösliche Anteil (780 mg) schmilzt bei 265—267° (Hochvakuum). Nach Umkristallisation aus Chloroform-Methanol erhöht sich der Schmelzpunkt auf 272—274° (Hochvakuum). Das im Hochvakuum bei 230° sublimierte Analysenpräparat gibt mit Tetranitromethan eine Gelbfärbung.

3,708 mg Subst. gaben 11,142 mg CO₂ und 3,540 mg H₂O



Es liegt das Anhydro-oleanolsäure-lacton-II (V) vor.

¹⁾ Helv. 26, 2242 (1943); bei dem Präparat aus Hederagenin wurde irrtümlicherweise eine spez. Drehung von +152° angegeben. Eine nun wiederholte Bestimmung der Drehung ergab $[\alpha]_D = 119^\circ (\text{c} = 0,706)$.

²⁾ Aktiviert durch Erhitzen auf 330° (11 mm).

Über die Verarbeitung der in Petroläther löslichen Reaktionsprodukte werden wir später berichten.

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-II (V) mit Osmiumtetroxyd.

500 mg Substanz werden in 100 cm³ Dioxan gelöst, mit 280 mg Osmiumtetroxyd versetzt und 13 Tage stehen gelassen. Nach der für die Oxydation des Anhydro-lactons-I beschriebenen Aufarbeitung erhält man 560 mg Substanz, die in Benzol gelöst und durch eine Säule aus 18 g Aluminiumoxyd (Aktivität I-II) chromatographiert werden.

Fraktionen 1—7 1500 cm³ Benzol 150 mg amorph

8—20 2000 cm³ Äther 400 mg Smp. 280—290° (Hochvakuum)

Die Fraktionen 1—7 wurden verworfen. Die Eluate 8—20 krystallisieren aus Chloroform-Methanol in Nadeln vom Smp. 293—296° (Hochvakuum). Zur Analyse wurde im Hochvakuum 14 Stunden bei 110° getrocknet.

3,762 mg Substanz gaben 10,454 mg CO₂ und 3,376 mg H₂O

C₃₀H₄₈O₄ Ber. C 76,22 H 10,24%

Gef. „ 75,83 „ 10,04%

[α]_D = +13° (c = 0,829)

Es liegt das Diol (VI) vor.

Oxydation des Diols (VI) mit Blei(IV)-acetat.

50 mg des Diols werden in 2 cm³ Chloroform und 5 cm³ Eisessig gelöst und mit 65 mg 90-proz. Blei(IV)-acetat versetzt. Aus Aceton-Hexan erhält man Nadeln vom Smp. 202—203,5°. Zur Analyse wurde im Hochvakuum 14 Stunden bei 110° getrocknet.

3,712 mg Subst. gaben 10,397 mg CO₂ und 3,295 mg H₂O

C₃₀H₄₆O₄ Ber. C 76,55 H 9,85%

Gef. „ 76,44 „ 9,93%

[α]_D = -16,5° (c = 0,903)

Es liegt das Diketon (VII) vor.

Beim Versuch der Oxydation von VII mit Chromtrioxyd in Eisessiglösung bei 20° wird das Oxydationsmittel nicht verbraucht und VII quantitativ zurückgewonnen. Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit dem Ausgangsmaterial 202—203,5° (Hochvakuum)

[α]_D = -18° (c = 0,935)

Oxydation des Anhydro-oleanolsäure-lactons-II (V) mit Chromsäure.

320 mg Substanz werden in 16 cm³ Eisessig und 6 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit einer Lösung von 670 mg Chromtrioxyd in 8 cm³ Eisessig während 1 Stunde gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung konnten weder aus dem Kaliumhydrogen-carbonat-Auszug (90 mg) noch aus dem Soda-Auszug (70 mg) krystalline Produkte erhalten werden. Der neutrale Anteil der Oxydation (200 mg) wird durch eine Säule aus 2,5 g Aluminiumoxyd (Aktivität I-II) chromatographiert.

Fraktionen 1—11 920 cm³ Benzol-Petroläther (1:1) 70 mg Krystalle

12—16 500 cm³ Benzol 60 mg Krystalle

17—23 600 cm³ Benzol-Äther (1:1) 50 mg Öl

Fraktionen 1—11: Blättchen aus Chloroform-Methanol vom Smp. 350—354° (Hochvakuum). Die Substanz konnte bis jetzt nicht analysenrein erhalten werden.

Fraktionen 12—16: Aus Chloroform-Methanol bei 253—255° (Hochvakuum) schmelzende, gegen Tetranitromethan gesättigte Blättchen. Analysiert wurden zwei verschiedene, im Hochvakuum bei 180° sublimierte Präparate.

3,770; 3,806 mg Subst. gaben 10,959; 11,090 mg CO₂ und 3,308; 3,353 mg H₂O

C₃₀H₄₄O₃ Ber. C 79,60 H 9,80%

Gef. „ 79,33; 79,52 „ 9,82; 9,86%

Es liegt die Verbindung X (?) vor.

Isomerisierung des Anhydro-oleanolsäure-lactons-I (II).

a) Mit Chlorwasserstoff in Alkohol.

120 mg Substanz werden in 100 cm³ Alkohol und 5 cm³ Tetrachlorkohlenstoff gelöst und mit 4 cm³ konz. Salzsäure 3 Stunden gekocht. Die Lösung wird im Vakuum auf die Hälfte eingeengt, in Wasser gegossen und wie üblich aufgearbeitet. Das Präparat krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen, die bei 269—270° (Hochvakuum) schmelzen, halogenfrei sind, mit Tetranitromethan Gelbfärbung und mit Anhydro-oleanolsäure-lacton-II keine Schmelzpunktserniedrigung geben. Nach weiterem Umlösen steigt der Schmelzpunkt auf 271—273° (Hochvakuum).

$$[\alpha]_D = +43^\circ \text{ (c} = 0,812\text{)}$$

b) Mit Palladium-Calciumcarbonat in Wasserstoffatmosphäre.

100 mg Substanz werden in 140 cm³ Feinsprit gelöst und mit 100 mg Palladium-Calciumcarbonat in Wasserstoffatmosphäre bei Zimmertemperatur während 20 Stunden geschüttelt. Die Substanz krystallisiert aus Chloroform-Methanol in Blättchen, die bei 270—272° (Hochvakuum) schmelzen und mit Anhydro-oleanolsäure-lacton-II (V) keine Schmelzpunktserniedrigung geben.

$$[\alpha]_D = +43^\circ \text{ (c} = 0,847\text{)}$$

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung von Hrn. W. Manser ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

30. Untersuchungen über die Gewebsatmung

1. Die Aktivierbarkeit der tierischen Atmung durch Aminosäuren

von S. Edlbacher und O. Wiss (unter Mitwirkung von Frieda Nebiker)

(22. XII. 45.)

Die gegenwärtigen Anschauungen über den Mechanismus der tierischen Gewebsatmung verdanken wir in erster Linie den grundlegenden Arbeiten von O. Warburg über das strukturgebundene eisenhaltige Häminferment. Die theoretisch wichtigen Untersuchungen von H. Wieland einerseits und Thunberg andererseits über Dehydrierungsvorgänge bildeten die Voraussetzung zur Entdeckung des wasserlöslichen eisenfreien Atmungsfermentes. Auch hier hat wiederum O. Warburg mit seiner Schule mit der Entdeckung des gelben Fermentes den entscheidenden Schritt getan. R. Kuhn, Theorell, P. Karrer, H. von Euler und Green haben dann in erster Linie entscheidende Fortschritte dieser Arbeitsrichtung erzielt. Die Charakterisierung der Cytochrome, einer dritten essentiellen Komponente der tierischen Atmung verdanken wir vor allem Untersuchungen von Keilin und Theorell. Später wurden dann durch Warburg und von Euler die Pyridin-Proteide als weitere enzymatische