

## 222. Zur Kenntnis der Triterpene.

189. Mitteilung<sup>1)</sup>.

### Über die experimentelle Verknüpfung der Steroide mit Di- und Triterpenen II<sup>2)</sup>)

von D. Arigoni<sup>3)</sup>, J. Kalvoda, H. Heusser, O. Jeger und L. Ruzicka.

(12. X. 55.)

Durch Herstellung identischer Abbauprodukte aus Lanosterin (I) und Manool (II)<sup>4)</sup>, sowie durch Umwandlung des Cholesterins (III) in Dihydro-lanosterin<sup>5)</sup> ist es gelungen, die cyclischen Di- und Triterpene mit den Steroiden konfigurativ zu verknüpfen. Nachfolgend berichten wir über Versuche, die eine weitere, direkte experimentelle Verknüpfung der beiden grossen Gruppen alicyclischer Naturstoffe gestatteten<sup>6)</sup>.

Bereits vor zwei Jahren haben *H. Heusser, E. Beriger, R. Anliker, O. Jeger & L. Ruzicka*<sup>2)</sup> einen Abbau des Ergosterins D (XVI) zur (+)-trans-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-essigsäure (XIV) beschrieben. Es gelang nun, die gleiche Säure XIV, sowie die am C-1 stereoisomere (-)-cis-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-essigsäure (XV) auf einfacherem Wege aus dem Diterpen Abietinsäure (IV) zu bereiten.

Als Ausgangsmaterial für unsere Versuche diente ein tricyclisches Keton  $C_{18}H_{24}O$ ,  $[\alpha]_D = +120^\circ$  (in Chloroform), welches erstmals von *A. Brossi, H. Gutmann & O. Jeger*<sup>7)</sup> aus der Abietinsäure (IV) über die Zwischenprodukte V, VI und VII erhalten worden war.

Man hatte ursprünglich angenommen, dass dieses Keton sterisch einheitlich ist, mit der Abietinsäure am C-5 konfigurativ übereinstimmt und eine trans-Verknüpfung der Ringe A/B aufweist (vgl. VIII)<sup>7)</sup>. Es sei erwähnt, dass es chromatographisch gereinigt wurde und bei der Behandlung mit Alkali unverändert blieb. Die Konfigurationszuteilung an das Keton  $C_{18}H_{24}O$ ,  $[\alpha]_D = +120^\circ$  (in Chloroform), muss aber noch genauer überprüft werden, weil *R. P. Jacobsen*<sup>8)</sup> bei der Wiederholung unserer Versuche, wobei die Ozonisationsprodukte von VII ohne chromatographische Reinigung an Alumi-

<sup>1)</sup> 188. Mitt., *Helv.* **38**, 1517 (1955).

<sup>2)</sup> 1. Mitt., *Helv.* **36**, 1918 (1953).

<sup>3)</sup> Diss. ETH., Zürich 1954.

<sup>4)</sup> *E. Kyburz, B. Riniker, H. R. Schenk, H. Heusser & O. Jeger, Helv.* **36**, 1891 (1953).

<sup>5)</sup> *R. B. Woodward, A. H. Patchett, D. H. R. Barton, D. A. J. Ives & R. B. Kelly, J. Amer. chem. Soc.* **76**, 2852 (1954).

<sup>6)</sup> Teilweise vorgetragen am 4. August 1953 an der *Gordon Conference, Chemistry of Steroids and Related Natural Products*, in New Hampton, N.H., USA.

<sup>7)</sup> *Helv.* **35**, 1730 (1950); vgl. ferner *G. Stork & A. Burgstahler, J. Amer. chem. Soc.* **73**, 3544 (1951).

<sup>8)</sup> *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4709 (1953).

niumoxyd isoliert wurden, ein unstabiles, sterisch reines Isomeres  $C_{18}H_{24}O$ ,  $[\alpha]_D = +153^\circ$  (in Chloroform), fassen konnte<sup>1)</sup>. Durch Behandlung mit Alkali liess sich dieses Keton in das zuerst beschriebene, gegen Alkali stabile Präparat  $C_{18}H_{24}O$ ,  $[\alpha]_D = +116^\circ$  (in Chloroform), überführen. Daraus ergibt sich, dass das Keton von *Brossi, Gutmann & Jeger* bereits bei der Aufarbeitung, möglicherweise an Aluminiumoxyd, isomerisiert wurde. Es ist zweifelhaft, ob dieses Präparat einheitlich ist. Die nachfolgenden Versuche sprechen eher dafür, dass es ein Gemisch der beiden Stereoisomeren VIII und IX darstellt.

Bei der Reduktion des Ketons  $[\alpha]_D = +116^\circ$  nach *Wolff-Kishner* oder nach *Huang-Minlon* entstehen nach unseren Erfahrungen Gemische von Kohlenwasserstoffen  $C_{18}H_{26}$ , die ein spezifisches Drehungsvermögen von  $+38^\circ$  bis  $+59^\circ$  (in Chloroform) aufweisen. Dagegen werden bei der Reduktion dieses Ketons nach *Clemmensen* unter den von *H. H. Zeiss & W. B. Martin*<sup>2)</sup> angegebenen Bedingungen Kohlenwasserstoffpräparate mit der konstanten Drehung von  $+52^\circ$  erhalten. *Zeiss & Martin* haben angenommen, dass hier der reine trans-Kohlenwasserstoff Xa vorliegt. In der Tat besteht aber auch dieses Präparat aus einem Gemisch der am C-5<sup>3)</sup> epimeren Kohlenwasserstoffe Xa und Xb, da es, wie nachfolgend gezeigt wird, beim Abbau des aromatischen Ringes die stereoisomeren Säuren XIV und XV liefert.

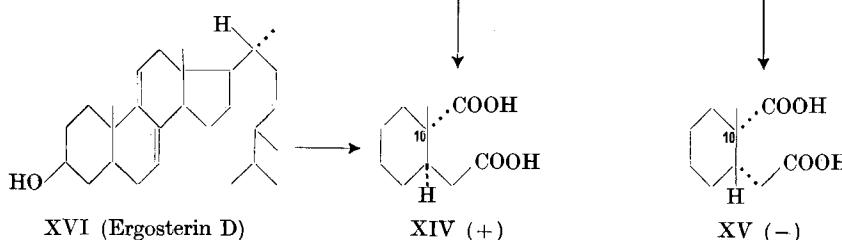
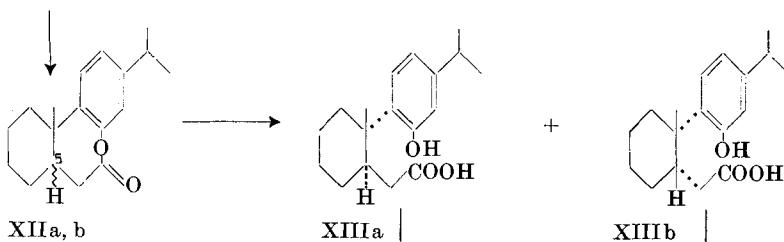
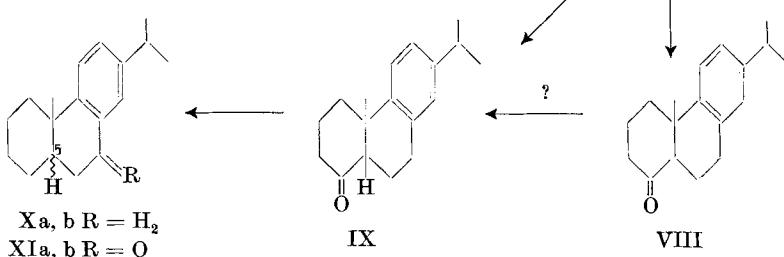
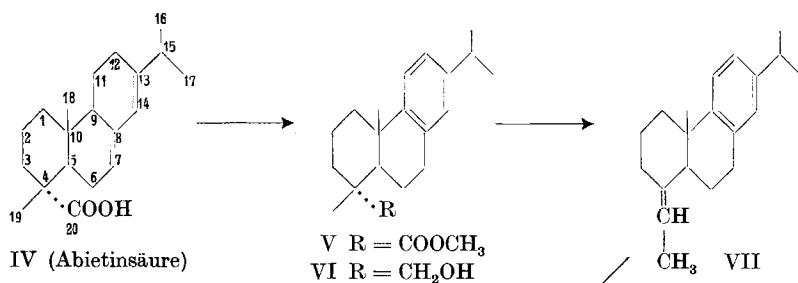
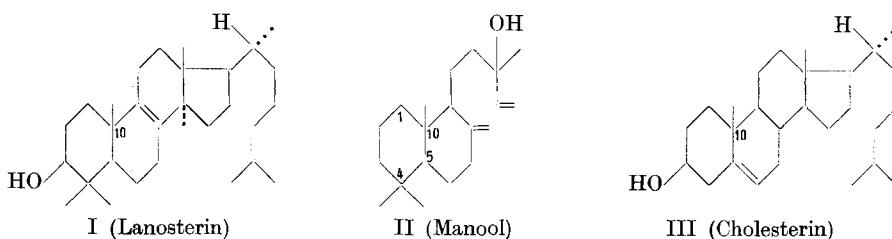
Für den weiteren Abbau des Gemisches der Verbindungen Xa und Xb war es vorteilhaft, zunächst den mittleren Ring zwischen C-7 und C-8 zu öffnen. Dies gelang auf folgendem Wege: durch milde Oxydation von Xa und Xb mit Chrom(VI)-oxyd bei  $20^\circ$  wurde zunächst am C-7 eine Ketogruppe eingeführt. Das ölige Gemisch der Ketone XIa und XIb liess sich dann durch Behandlung mit Benzopersäure in Chloroformlösung bei  $20^\circ$  in ein Gemisch der Lactone XIIa und XIIb überführen, das nicht isoliert, sondern direkt zum Gemisch der phenolischen Säuren XIIIa und XIIIb verseift wurde.

Die letzte Stufe unserer Reaktionsfolge bestand in einer energetischen Ozonisation des Gemisches von XIIIa und XIIIb. Wir fanden, dass es zweckmäßig ist, die Ozonisation in einem Chloroform-Methanol-Gemisch bei  $20^\circ$  durchzuführen und die Abbauprodukte mit wässriger Perameisensäure nachzuoxydieren. Die erhaltenen Säuren wurden mit Diazomethan verestert und das Estergemisch sorgfältig destilliert. Auf diese Weise konnte eine bei  $72 - 79^\circ$  (0,15 mm) siedende Fraktion abgetrennt werden, die nun mit 25-proz. wässriger-methylalkoholischer Kalilauge verseift wurde. Das erhaltene amorphe Säuregemisch wurde schliesslich durch präparative Chromatographie an Cellulosepulver in zwei einheitliche, kristalline Fraktionen aufgetrennt.

<sup>1)</sup> Vgl. auch *H. H. Zeiss & W. B. Martin*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5935 (1953).

<sup>2)</sup> J. Amer. chem. Soc. **75**, 5935 (1953).

<sup>3)</sup> Beachte die neue Numerierung des Kohlenstoffgerüstes der Abietinsäure (IV)!



Die leichter eluierbaren Fraktionen lieferten ein bei 140—142° schmelzendes Präparat, das ein spezifisches Drehungsvermögen von +11,4° (c = 1,4 in Aceton) aufweist. Anhand des Misch-Smp. wurde diese Verbindung, mit dem Abbauprodukt von Ergosterin D, der (+)-trans-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-essigsäure (XIV)<sup>1)</sup> identifiziert. Ferner gelang es, aus den schwer eluierbaren Fraktionen eine bei 160—162° schmelzende Verbindung  $C_{10}H_{18}O_4$ ,  $[\alpha]_D = -5^\circ$  (c = 0,75 in Aceton), zu isolieren, welche als die mit der Säure XIV stereoisomere (-)-eis-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-essigsäure (XV)<sup>2)</sup> erkannt wurde.

Durch diese direkte Verknüpfung der Abietinsäure (IV) mit dem Ergosterin D (XVI), sowie durch die eingangs erwähnten, experimentell festgelegten Beziehungen zwischen Lanosterin (I), Manool (II) und Cholesterin (III), ist die stereochemische Identität des als Bezugssystem dienenden, asymmetrischen Kohlenstoffatoms 10 der Steroide mit dem entsprechenden Kohlenstoffatom der cyclischen Di- und Triterpene endgültig gesichert. Die Übereinstimmung der absoluten Konfiguration von C-10 bei Steroiden und Triterpenen, die erstmals von *W. Klyne*<sup>3)</sup> auf Grund von molekularen Drehungsverschiebungen und von *V. Prelog*<sup>4)</sup> anhand des Verlaufes von asymmetrischen Synthesen abgeleitet wurde, ist im Hinblick auf die Biogenese von Sterinen und Triterpenen von Interesse.

Der *Rockefeller Foundation* in New York und der *CIBA Aktiengesellschaft* in Basel danken wir für die Unterstützung dieser Arbeit. Ferner möchten wir auch an dieser Stelle Herrn Dr. *G. C. Harris*, *Hercules Powder Co.*, Wilmington, Delaware, USA., für die grosszügige Überlassung grösserer Mengen des Dehydro-abietinsäure-methylesters (V) bestens danken.

### Experimenteller Teil<sup>5)</sup>.

*trans*-(?)-Keton VIII. 310 mg des nach *R. P. Jacobsen*<sup>6)</sup> bereiteten Semicarbazons von VIII, Smp. 232—233°,  $[\alpha]_D = +300^\circ$  (c = 1,25), wurden in 20 cm<sup>3</sup> Methanol und 8 cm<sup>3</sup> Wasser suspendiert, und das Gemisch 20 Min. mit 0,5 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure zum Rückfluss erhitzt. Nach der üblichen Aufarbeitung wurden 246 mg eines farblosen Öls erhalten, welches zur Analyse zweimal in einem Kugelrohr bei 140° Badtemperatur (0,1 mm) destilliert wurde.  $[\alpha]_D = +138^\circ$  (c = 1,16).

$C_{18}H_{24}O$  Ber. C 84,32 H 9,44% Gef. C 83,93 H 9,18%

*cis*-(?)-Keton IX<sup>7)</sup>. 3,243 g des *trans*-(?)-Ketons VIII wurden 2 Std. mit 2,1-proz. methylalkoholischem Kaliumhydroxyd erhitzt. Nach der Aufarbeitung wurden 3,111 g Substanz,  $[\alpha]_D = +116^\circ$  (c = 1,10), erhalten.

<sup>1)</sup> *H. Heusser, E. Beriger, R. Anliker, O. Jeger & L. Ruzicka, Helv.* **36**, 1918 (1953).

<sup>2)</sup> *F. Gautschi, O. Jeger, V. Prelog & R. B. Woodward, Helv.* **38**, 296 (1955).

<sup>3)</sup> *J. chem. Soc.* **1952**, 2916.

<sup>4)</sup> *W. G. Dauben, D. F. Dickel, O. Jeger & V. Prelog, Helv.* **36**, 325 (1953).

<sup>5)</sup> Die Smp. sind korrigiert und wurden in einer im Hochvakuum zugeschmolzenen Kapillare bestimmt. Die optischen Drehungen wurden, sofern nichts anderes angegeben ist, in Chloroform in einem Rohr von 1 dm Länge gemessen.

<sup>6)</sup> *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 4709 (1953).

<sup>7)</sup> Vgl. *A. Brossi, H. Gutmann & O. Jeger, Helv.* **33**, 1730 (1950).

*Überführung des cis-(?) -Ketons IX in ein Gemisch der Kohlenwasserstoffe Xa und Xb.* a) Reduktion nach *Huang-Minlon*. 1,247 g Substanz wurden in 10 cm<sup>3</sup> Äthanol und 40 cm<sup>3</sup> Diäthylenglykol gelöst, die Lösung mit 6 g Hydrazinhydrat versetzt und 2 Std. zum Rückfluss erhitzt. Danach wurde 1 g Kaliumhydroxyd zugegeben, das Gemisch von Äthanol befreit und 4 Std. auf 200° erhitzt. Nach der Aufarbeitung wurden 986 mg eines dünnflüssigen, braunen Öls erhalten, welches in Petroläther gelöst und an einer Säule aus 50 g Aluminiumoxyd (Akt. I) chromatographiert wurde. 100 cm<sup>3</sup> Petroläther eluierten insgesamt 822 mg farbloses Öl vom Sdp. 125° (0,1 mm). Je nach dem Ansatz wurde ein spezifisches Drehungsvermögen von +38° bis +59° gefunden.

C<sub>18</sub>H<sub>26</sub> Ber. C 89,19 H 10,81% Gef. C 89,15 H 10,90%

b) Reduktion nach *Clemmensen*<sup>1)</sup>. 212 mg Substanz IX, gelöst in 4 cm<sup>3</sup> Eisessig und 1 cm<sup>3</sup> Toluol, wurden mit 2,2 g amalgamiertem Zink versetzt und das Gemisch nach Zugebung von 2,5 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure 20 Std. zum Rückfluss erhitzt, wobei portionenweise noch weitere 5 cm<sup>3</sup> konz. Salzsäure zugegeben wurden. Nach der Aufarbeitung resultierten 202 mg Öl, welches in Petroläther gelöst und durch eine Säule aus 7 g Aluminiumoxyd (Akt. I) filtriert wurde (182 mg). Zur Analyse gelangte eine im Kugelrohr bei 125° (0,1 mm) siedende Fraktion. [α]<sub>D</sub> = +52° (c = 0,98).

Gef. C 89,33 H 11,03%

*Gemisch der Ketone XIa und XIb.* Zu einer Lösung von 298 mg des Gemisches der Kohlenwasserstoffe Xa und Xb, [α]<sub>D</sub> = +52°, in 4 cm<sup>3</sup> Eisessig liess man im Laufe von 30 Min. 1,2 cm<sup>3</sup> einer 25-proz. Lösung von Chrom(VI)-oxyd in Eisessig-Wasser (4:1) bei Zimmertemperatur zutropfen. Das Gemisch wurde über Nacht stehengelassen und dann in üblicher Weise aufgearbeitet. Man erhielt 284 mg eines neutralen, gelblichen Öls, welches an einer Säule aus 10 g Aluminiumoxyd (Akt. I) chromatographiert wurde. Mit 100 cm<sup>3</sup> Benzol wurden insgesamt 172 mg farbloses Öl eluiert. Zur Analyse gelangte ein zweimal im Kugelrohr destilliertes Präparat. Sdp. 144° (0,1 mm); [α]<sub>D</sub> = +33° (c = 0,92); UV.-Absorptionsspektrum: Maxima bei 254 und 302 mμ, log ε = 4,00 bzw. 3,27 (in Alkohol); IR.-Absorptionsspektrum: Banden bei 1683, 1610, 1562 und 1492 cm<sup>-1</sup> (in Substanz mit einem *Baird*-double-beam-Spektrographen aufgenommen).

C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>O Ber. C 84,32 H 9,44% Gef. C 84,01 H 9,78%

*2,4-Dinitro-phenylhydrazone.* Das aus dem Gemisch von XIa und XIb bereitete Derivat wurde in Benzol-Lösung an wenig Aluminiumoxyd (Akt. II) chromatographiert. Aus Äther-Methanol kristallisierten Nadeln vom Smp. 144–145°.

C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>N<sub>4</sub> Ber. C 66,03 H 6,47% Gef. C 66,12 H 6,52%

*Abbau des Gemisches der Ketone XIa und XIb zu (+)-trans-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(I)]-essigsäure (XIV)<sup>2)</sup> und (-)-cis-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(I)]-essigsäure (XV)<sup>3)</sup>.* 956 mg Substanz (XIa und XIb) wurden 8 Tage mit 3,6 cm<sup>3</sup> einer Lösung von Benzopersäure in Chloroform (18,4 mg akt. „O“/cm<sup>3</sup>) bei 20° oxydiert, wonach jodometrisch der Verbrauch von 65 mg akt. „O“ (ber. 60 mg) festgestellt wurde. Das Reaktionsgemisch nahm man in Äther auf und wusch die ätherische Lösung nacheinander mit wässriger Kaliumjodidlösung, verd. Natriumsulfatlösung und verd. Natriumcarbonatlösung. Nach der Aufarbeitung resultierten 932 mg Neutralteile (wohl hauptsächlich XIIa und XIIb), welche zwecks Verseifung 2 Std. mit 10-proz. alkoholischem Kaliumhydroxyd zum Rückfluss erhitzt wurden. Danach erhielt man 232 mg unverseifbare und 723 mg saure Anteile, die mit methanolischer Eisen(III)-chlorid-Lösung eine blaue Farbreaktion gaben.

Trotz verschiedener Versuche gelang es nicht, dieses Gemisch der Säuren XIIIa und XIIIb zu kristallisieren. Es wurde daher (723 mg) in 45 cm<sup>3</sup> Chloroform und 5 cm<sup>3</sup> Methanol gelöst, durch die Lösung 4 Std. bei 20° ein starker Ozonstrom (26 mg O<sub>3</sub>/Min.) geleitet und diese nach Zugabe von 20 cm<sup>3</sup> Ameisensäure und 10 cm<sup>3</sup> 30-proz. Wasser-

<sup>1)</sup> Vgl. *H. H. Zeiss & W. B. Martin*, J. Amer. chem. Soc. **75**, 5935 (1953).

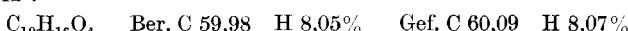
<sup>2)</sup> *H. Heusser, E. Beriger, R. Anliker, O. Jeger & L. Ruzicka*, Helv. **36**, 1918 (1953).

<sup>3)</sup> *F. Gautschi, O. Jeger, V. Prelog & R. B. Woodward*, Helv. **38**, 296 (1955).

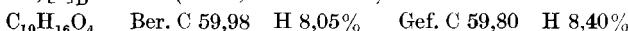
stoffperoxyd 2 Std. zum Sieden erhitzt. Darauf wurde das Lösungsmittelgemisch im Wasserstrahlvakuum eingedampft und der Rückstand in neutrale und saure Anteile aufgetrennt. Die erhaltenen Säuren (390 mg) wurden mit Diazomethan verestert, das Estergemisch in Benzol gelöst und die Lösung durch eine Säule von 10 g Aluminiumoxyd (Akt. III) filtriert. Das Filtrat — 257 mg Substanz — wurde im Hochvakuum in einem Kragenkolben sorgfältig destilliert und die bei 72—79° (Badtemperatur; 0,15 mm) gesammelte Fraktion (115 mg farbloses Öl,  $n_D = 1,4630$ ) über Nacht mit 6 cm<sup>3</sup> einer Lösung von 5 g Kaliumhydroxyd in 10 cm<sup>3</sup> Methanol und 10 cm<sup>3</sup> Wasser unter Rückfluss verseift. Die Aufarbeitung lieferte 104 mg amorphe Säuren, die, mit einem Löffel Cellulosepulver und wenig Aceton verrührt, auf eine 2,4×40 cm-Säule von Cellulosepulver (*Whatman* standard grade) aufgetragen wurden. Eluiert wurde mit einem Gemisch von 40 Teilen Aceton, 40 Teilen Methyläthylketon, 20 Teilen Wasser und 5 Teilen Ammoniak, wobei man im ganzen 90 Fraktionen von je 15 cm<sup>3</sup> sammelte<sup>1)</sup>.

Die Fraktionen 20—23 enthielten 43 mg Eluat. Dieses wurde in 10 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst, die Lösung mit verd. Schwefelsäure kongosauer gemacht und gründlich ausgeäthert. Nach der Aufarbeitung wurden 39 mg Säuren erhalten, welche beim Bespritzen mit Aceton teilweise kristallisierten. Durch Verreiben auf Tonplatte gelang es, die feste Substanz von anhaftenden Ölen zu befreien. Nach zweimaliger Kristallisation aus Aceton-Hexan schmolz das Präparat bei 140—142°;  $[\alpha]_D = +11,4^\circ$  ( $c = 1,40$  in Aceton). Nach Smp., Misch-Smp. und spezifischer Drehung liegt die (+)-trans-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-essigsäure (XIV) vor. Für das früher<sup>2)</sup> aus dem Ergosterin D (XVI) erhaltene Präparat wurden Smp. 140—142°,  $[\alpha]_D = +12,6^\circ$  ( $c = 1,782$  in Aceton) gefunden.

Zur Analyse gelangte ein im Hochvakuum bei 135° sublimiertes Präparat vom Smp. 140—142°.



Die Fraktionen 24—27 (59 mg) wurden wie Fraktionen 20—23 aufgearbeitet und gereinigt, wonach 15 mg Kristalle vom Smp. 158—160° resultierten. Diese wurden noch zweimal aus Aceton-Hexan umkristallisiert und im Hochvakuum bei 145° sublimiert. Smp. 160—162°,  $[\alpha]_D = -5^\circ$  ( $c = 0,75$  in Aceton).



Nach Smp., Misch-Smp. und spez. Drehung liegt die (−)-cis-[2-Methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-essigsäure (XV)<sup>3)</sup> vor.

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung *W. Manser*) ausgeführt.

#### SUMMARY.

Stepwise oxidative degradation of abietic acid (IV) leads to the stereoisomeric acids (+)-trans-[2-methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-acetic acid (XIV) and (−)-cis-[2-methyl-2-carboxy-cyclohexyl-(1)]-acetic acid (XV). Since the dextrorotatory acid XIV had already been obtained from ergosterol D (XVI), this result represents a further proof of the stereochemical identity of C-10 in the steroids and the cyclic di- and triterpenes.

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

<sup>1)</sup> In Vorversuchen auf Papierstreifen (*Whatman*, Nr. 2) wurde das gleiche Gemisch als absteigende Phase benutzt. Als Entwickler diente eine alkoholische Lösung von Bromthymolblau.

<sup>2)</sup> *Helv.* **36**, 1918 (1953).

<sup>3)</sup> *Helv.* **38**, 296 (1955).