

C. H. Brieskorn und H. P. Süss¹⁾

Die Triterpenoide der Birnen- und Apfelschale*)

Aus dem Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Würzburg
(Eingegangen am 15. Februar 1974)

Neben schon von anderen Rosaceen her bekannten Triterpensäuren wird aus den Schalen von Birne und Apfel erstmals 3 β ,19 α -Dihydroxyursa-12-en-2-on-17-säure isoliert. Sie erhält den Namen Prolonsäure (4).

Triterpenoids from the Peels of Pear and Apple

Besides triterpenic acids known from other Rosaceae the 3 β ,19 α -dihydroxyursa-12-en-2-on-17-acid, so far not described, is isolated. The acid is called pirolonic acid (4).

Während über die Triterpenoide der Apfelschale schon einige recht genaue Aussagen vorliegen²⁾, wissen wir über ihr Vorkommen in der Birnenschale noch sehr wenig. Seifert³⁾ isolierte eine nichtkristallisierende Substanz, deren Eigenschaften dem aus Weintrauben gewonnenen "Vitin" (= Oleanolsäure) ähnelten. Diesen Stoff identifizierte Sando⁴⁾ als Ursolsäure. Holtzem⁵⁾ fand die gleiche Triterpensäure auch im Blatt des Birnbaumes.

Als Ausgangsmaterial dienten die Schalen der Birnensorte "Williams Christ". Ihr Anteil macht 0,13 % der Frucht aus. Die getrockneten Schalen wurden zunächst mit Petroläther, anschließend mit Äther extrahiert. Aus dem Ätherextrakt isolierten wir insgesamt 72,1 % Triterpensäuren. Sie setzen sich wie folgt zusammen (Tab. 1):

Tabelle 1: Die Triterpensäuren des Ätherextraktes der Birnenschale in g %

Ursolsäure	46,6	Tormentsäure	0,1
Oleanolsäure	13,3	2 α -Hydroxyoleanolsäure	2,8
Pomolsäure	29,3	2 α -Hydroxyursolsäure	6,9
Pomonsäure	0,3	2-Oxopomolsäure (Prolonsäure)	0,7

* Herrn Professor Dr. Dr. h. c. Eugen Bamann zum 75. Geburtstag gewidmet.

1 H. P. Süss, Teil der Dissertation Univ. Würzburg, 1973.

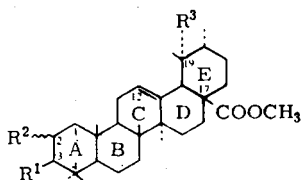
2 C. H. Brieskorn und H. Klinger, Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 120, 269 (1963); C.H. Brieskorn und H. Wunderer, Chem. Ber. 100, 1252 (1967).

3 W. Seifert, Landwirtsch. Versuchsstat. 45, 29 (1895).

4 C. E. Sando, K. S. Markley und S. B. Hendricks, J. biol. Chemistry 111, 133 (1935).

Die so Auftrennung des Triterpensäuregemisches gelang erst nach Methylierung. Zuerst wird Pomonsäuremethylester (1) eluiert und durch chemische wie physikalische Verfahren identifiziert. Anschließend folgt als Hauptfraktion das Estergemisch von Ursol- und Oleanolsäure. Über ihre silylierten Methylester werden ihre Anteile gc identifiziert und gc quantitativ nach Rosanski⁶⁾ bestimmt. Die nächste Fraktion enthielt Pomolsäuremethylester (1a). Der polare Teil des Triterpengemisches beträgt etwa 10 % des Ätherextraktes. Er besteht so aus zwei Fraktionen. Sie lassen sich aufeinanderfolgend von der Säule eluieren und erhalten die Arbeitsbezeichnungen P I und P II.

P I ist nach Acetylierung in zwei Komponenten auftrennbar, die sich deutlich im Rf-Wert unterscheiden. Das Hauptprodukt wird mit P I-acetat, die in erheblich geringerer Menge vorhandene polarere Begleitsubstanz als P III-acetat bezeichnet. P I-acetat entspricht nach den Analysendaten einem Diacetyltriterpensäuremethylester. Im NMR weisen Zwillingspeaks (je 3 H) bei 1,94 und 2,01 ppm auf zwei vicinale Acetylgruppen hin⁷⁾. Ein 1 H-Dublett bei 4,66 ppm stammt vom H an C-3. Das Dublett beweist die vicinale Anordnung der Acetylgruppen an C-2 und C-3. Die Kopplungskonstante ($J = 10,5$ Hz) spricht für eine trans-diaxiale Anordnung der H an C-2 und C-3 und weist auf $2\alpha,3\beta$ -Glykole (diacetyliert) hin⁸⁾. Im MS dominieren die Produkte a und b der RDA-Spaltung^{9)*}.



	R ¹	R ²	R ³
1	=O	H	OH
1a	OH	H	OH
1b	OH	α OH	H
1c	OH	α OH	OH
1d	OAc	β OH	OH
1e	OAc	α OH	OH

5 H. Holtzem, Arch. Pharmaz. 291, 308 (1958).

6 A. Rozanski, Analytic. Chem. 38, 36 (1966).

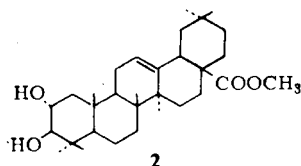
7 M. Shamma, R. E. Glick und R. O. Mumma, J. org. Chemistry 27, 4512 (1962).

8 H. Suhr, Anwendung der kernmagnetischen Resonanz in der organ. Chemie, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1965.

9 P. Capella, E. Fedeli und M. Cirimele, Chem. and Ind. 1963, 1590.

* Bei der RDA-Spaltung entspricht a den Ringen D und E und b den Ringen A und B des Triterpenoidgerüsts.

Eine Perjodatoxidation — es resultieren 2,3-Seco-Verbindungen¹⁰⁾ — beweist die 2,3-Diolstruktur in P I. Im DC zeigt entacetyliertes P I den gleichen Rf-Wert wie authentischer 2 α -Hydroxyursolsäuremethylester. Nach dem GC ist P I ein Gemisch der Methylester von 2 α -Hydroxyursolsäure¹¹⁾ (1b) und 2 α -Hydroxyoleanolsäure (2)^{12,13)}.



P II erwies sich dc als einheitlich. Nach Elementaranalyse, Summenformel, IR und MS mußte es ein dreifach hydroxylierter Triterpensäuremethylester der Ursen- oder Oleanenreihe sein. P II liefert nur ein Diacetat. Eine der drei Hydroxylgruppen ist weder acetylierbar noch oxidierbar, muß also tertiärer Natur sein. Die tertiäre OH-Gruppe ist im Bruchstück a des MS enthalten. Wie IR, NMR und MS zeigen, ist sie axial an C-19 angeordnet. Die beiden acetylierbaren Hydroxylgruppen sind nach der RDA-Spaltung im Fragment b ($m/e = 223$ bei P II bzw. $m/e = 307$ bei P II-acetat) aufzufinden. Das NMR-Spektrum weist wie bei P I-acetat auf ein acetyliertes 2,3-Glykol im Ring A hin. Die Protonen an C-1, C-2 und C-3 bilden ein ABXY-System, dessen AB-Teil nach hohem Feld verschoben ist und mit den anderen Gerüstprotonen zusammenfällt. Der XY-Teil des Systems erscheint als 2 H Multipllett¹⁴⁾ im Bereich von 4,66 – 5,20 ppm. Das darin enthaltene 1 H Dublett bei 4,73 ppm ($J = 10,5$ Hz) ist dem H an C-3 zuzuschreiben, während das 1 H Multipllett dem Proton an C-2 zugeordnet werden muß. Die chemische Verschiebung der Methylgruppe C-29 liefert einen Hinweis auf die Zugehörigkeit von P II zur Ursanreihe. Die α -Glykolstruktur wird durch Perjodatspaltung von P II bewiesen. P II ist der Methylester von 2 $\alpha,3\beta,19\alpha$ -Trihydroxyurs-12-en-17-säure (1c). Die Säure ist identisch mit dem Aglykon des Glucosids *Tormentosid* aus der Wurzel von *Potentilla tormentilla* L. Das Aglykon wurde von Janot¹⁴⁾ als Tormentsäure bezeichnet. Mit authentischer Vergleichssubstanz bestand Übereinstimmung.

10 G. Zweyrohn, Zum Vorkommen von drei weiteren Triterpensäuren im Blatt von *Rosmarinus officinalis* L., Diss. Univ. Würzburg, 1969.

11 A. T. Glen, W. Lawrie, J. McLean und M. El-Garby Younes, J. chem. Soc. (London) C, 1967, 510.

12 R. Tschesche und G. Poppel, Chem. Ber. 92, 320 (1959).

13 R. Tschesche, E. Henckel und G. Snatzke, Liebigs Ann. Chem. 676, 175 (1964).

14 P. Potier, B. C. Das, A. M. Bui, M.-M. Janot, A. Pourrat und H. Pourrat, Bull. Soc. chim. France 1966, 3458.

P III-acetat verhält sich einheitlich. Durch NMR und IR wird das Triterpen-Grundgerüst gesichert^{7,15}). Im Elektronenspektrum erscheint eine Endabsorption, die der Doppelbindung an C-12 von Ursen- bzw. Oleanenderivaten entspricht^{16,17}). Das MS zeigt die typische formale RDA-Spaltung des Ringes C. Die relativen Intensitäten der Spaltprodukte a und b sind verhältnismäßig gering.

P III enthält eine bei Raumtemperatur acetylierbare sekundäre Hydroxylgruppe (Fehlen des für primäre Acetylgruppen typischen Fragments M-73 im MS). Im NMR von P III-acetat stammt das 3H-Singulett bei 2,15 ppm von den Acetylprotonen. Eine zweite, nicht acetylierbare Hydroxylgruppe ruft im IR die scharfen Banden bei 3520 (OH-Valenz) und 930/cm (C-O-Valenz) hervor. Diese Gruppe ist mit Jones-Reagens¹⁸) nicht oxidierbar. Dem Proton dieser Hydroxylfunktion kommt im NMR das Signal bei 2,58 ppm (1 H) zu. Mit D₂O kann es nicht ausgetauscht werden. Der Peak m/e 410 entsteht durch Abspalten von Essigsäure und Fragment m/e 72 mit der Summenformel C₄H₈O. Es enthält die tertiäre OH-Gruppe. Diese Fragmentierung, die einer RDA-Spaltung des Ringes E entspricht, kann durch Auffinden eines "metastabilen peaks" von 349,0 (ber. 348,75) belegt werden¹⁹). Den ungewöhnlichen Basispeak m/e 179 liefern nach Brieskorn und Wunderer²⁾ Triterpensäuren mit einer tertiären axialen Hydroxylgruppe an C-19. Diesen Befund erhärtet das NMR: im Bereich der Methylgruppenresonanz sind zwei Signale nach sehr tiefem Feld verschoben. Das Signal bei 1,29 ppm entspricht einer Gruppierung C(OH)CH₃²⁾. Danach sollte P III der Ursanreihe angehören²⁷). Die zweite "tiefe" Resonanz bei 1,20 ppm rührt von der axialen C-27 Methylgruppe her^{2,14,20-23}). P III-acetat weist im Elektronenspektrum ein sehr schwaches Maximum bei $\lambda = 290$ nm ($\epsilon = 103$) auf. Lage und Intensität dieser Absorption sind für ein isoliertes Keton typisch²⁴). Nach dem IR (breite C=O Valenzschwingung mit einer Aufspaltung bei 1710/cm) liegt ein Sechsringketon vor²⁵). Auf Grund des MS wird es den Ringen A/B des Triterpenge-

15 A. R. H. Cole und D. W. Thornton, J. chem. Soc. (London) 1956, 1007.

16 D. H. R. Barton, H. T. Cheung, P. J. L. Daniels, K. G. Lewis und J. F. McGhie, J. chem. Soc. (London) 1962, 5163.

17 R. A. Micheli und F. H. Applewhite, J. org. Chemistry 27, 345 (1962).

18 K. Bowden, I. M. Heilbron, E. R. H. Jones und B. C. L. Weedon, J. chem. Soc. (London) 1946, 39.

19 H. Budzikiewicz, C. Djerassi und D. H. Williams, Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds, Holden-Day Inc., San Francisco 1965.

20 J. B. Carr und A. C. Huitric, J. org. Chemistry 29, 2506 (1964).

21 Y. Kawazoe, Y. Sato, M. Natsume, H. Hasegawa, T. Okamoto und K. Tsuda, Chem. Pharmac. Bull. (Tokyo) 10, 338 (1962).

22 T. Okamoto und Y. Kawazoe, Chem. Pharmac. Bull. (Tokyo) 11, 643 (1963).

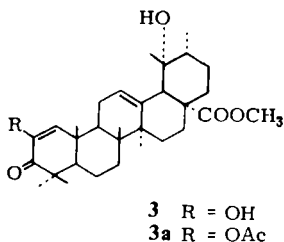
23 J. N. Shoolery und M. T. Rogers, J. Amer. chem. Soc. 80, 5121 (1958).

24 A. I. Scott, Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Products, Pergamon Press, Oxford 1964.

25 I. M. Allison, W. Lawrie, J. McLean und J. M. Beaton, J. chem. Soc. (London) 1961, 5224.

rütes zugeordnet. Die Fragmentierung ergibt einen Hinweis auf Vorliegen eines α -Acetoxiketons²⁶⁾.

Beim Verseifen von P III-acetat wird nur der Acetyl- nicht jedoch der Methyl-ester gespalten. Neben der unveränderten tertiären OH-Gruppe erscheinen im IR des Verseifungsproduktes **3** die Schwingungen einer assoziierten Hydroxylfunktion. Der M^+ -Peak beträgt nicht, wie P III erwarten ließ, $M = 500$, sondern nur 498. Der Verlust von 2 H weist auf eine bei der Verseifung erfolgte Oxidation hin. Die C=O Absorption der Ketogruppe ist von 1710 nach 1660/cm verschoben. Eine zusätzliche scharfe Bande bei 1645/cm (C=C) wird als typisches Merkmal eines α,β -ungesättigten Ketons gewertet²⁸⁾²⁹⁾³⁰⁾. Das Maximum im Elektronenspektrum bei $\lambda = 270$ nm ($\epsilon = 6610$) weist nach Lage und Intensität der Absorption auf ein konjugiertes Keton mit einer OH-Gruppe an der Doppelbindung hin^{28,30,31)}. Mit NaOH erfolgt eine charakteristische bathochrome Verschiebung^{14,28)}. Das entstandene 1,2-Diketon liegt im Alkalischen als „Diosphenol“ vor³⁰⁾, erkennbar an der Rotfärbung mit methanol. $FeCl_3$ -Lösung. Im MS von **3** treten die bei Ring-A-Diosphenolen beobachteten Spaltstücke auf^{32,33)}. Das 1H-Singulett bei 6,29 ppm im NMR beweist das isolierte vinyllische Proton an C-1. Den Protonen der beiden OH-Gruppen an C-2 und C-19 kommen die beiden 1H-Signale bei 5,91 (breit) und 2,57 ppm zu. **3** stimmt mit einer Verbindung überein, die Janot¹⁴⁾ bei der Oxidation von Tormentsäuremethylester (**1c**) erhalten hat und ist 2,19 α -Dihydroxyursa-1,12-dien-3-on-17-säuremethylester. Beim Acetylieren von **3** resultiert **3a**. Seine angenommene Struktur steht in Einklang mit dem MS.



26 R. H. Shapiro und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. 86, 2825 (1964).

27 G. Snetzke, F. Lampert und R. Tschesche, Tetrahedron (London) 18, 1417 (1962).

28 S. Huneck, Chem. Ber. 98, 1837 (1965).

29 R. N. Jones, P. Humphries, E. Packard und K. Dobriner, J. Amer. chem. Soc. 72, 86 (1950).

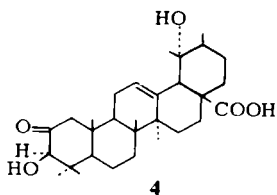
30 D. Lavie, E. Glotter und Y. Shvo, Tetrahedron (London) 19, 1377 (1963).

31 A. K. Devi, S. V. Ghat und S. C. Bhattacharyya, Indian J. Chem. 7, 1279 (1969); ref. C. A. 72, 79257 (1970).

32 E. Lund, H. Budzikiewicz, J. M. Wilson und C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. 85, 1528 (1963).

33 C. W. Shoppee, T. E. Bellas, R. E. Lack und S. Sternhell, J. chem. Soc. (London) 1965, 2483.

Bei P III-acetat sind die Absorptionen der Ketogruppe im IR (1710/cm) und Elektronenspektrum (290 nm) bezeichnend für einen α -Ketoester^{24,34}. Zu klären bleibt, ob sich die Oxogruppe an C-2 oder C-3 befindet, da bei Autoxidationen im alkalischen Milieu Isomerisierungen die Regel sind³⁵. Bei P III-acetat verläuft die Isomerisierung infolge der geminalen Methylgruppen an C-4 nur in einer Richtung. Stets muß 3 resultieren. Zum Unterschied von 3 sollte sich in P III-acetat die Oxo-funktion an C-2 befinden. Nur dann kann an C-3 ein Wasserstoff stehen, der nicht koppelt und das 1H-Singulett bei 4,92 ppm im NMR ergibt^{30,36-38}. Bei einer Keto-gruppe an C-3 würde das H an C-2 als Multiplett (1H; ABX-System) bei sehr tiefem Feld erscheinen^{38,39,40}. Die Oxogruppe an C-2 bewirkt die paramagnetische Ver-schiebung des H-Atoms an C-3^{8,34}. Daraus ergeben sich für das H an C-3 eine axiale 3α - und für die Acetylgruppe eine äquatoriale 3β -Position. Wird P III-acetat mit NaBH₄ in Gegenwart von Borsäure als Puffer reduziert, so entstehen nicht quantita-tiv 2β , 19 α -Dihydroxy-3-acetyl-ursolsäure-methylester (**1d**) und 2α , 19 α -Dihydroxy-3-acetyl-ursolsäure-methylester (**1e**). **1d** und **1e** können sc getrennt werden. **1d** ist das Hauptprodukt. Die Acetylgruppe an C-3 bleibt unter den gewählten Bedingungen bei der Reduktion erhalten. Im NMR-Spektrum von **1d** fehlt das dem H an C-3 zu-kommende Singulett bei 4,92 ppm. Das H an C-3 koppelt mit dem neuen H an C-2 zum 1H-Dublett bei 4,63 ppm. Die Verschiebung nach höherem Feld erklärt das Fehlen der Carbonylfunktion an C-2 und sie bestätigt zusätzlich die axiale Anordnung an C-3. Das H an C-2 von **1d** koppelt als X-Teil eines ABX-Systems⁴¹ mit dem be-nachbarten C-1 Proton (AB). Es erscheint als 1H-Multiplett mit dem Zentrum bei 4,10 ppm. Die Konfiguration der OH-Gruppe an C-2 folgt aus der Kopplungskon-stanten $J = 3,5$ Hz (cis-axial-äquatorial)⁸ des Dubletts bei 4,63 ppm in Übereinstim-mung mit dem dc-Verhalten. **1d** und **1e** ergeben bei der Oxidation wieder P III-acetat.



34 R. G. Wilson und D. H. Williams, *Tetrahedron* (London) 25, 155 (1969).

35 R. E. Lack und A. B. Ridley, *J. chem. Soc. C* (London) 1968, 3017.

36 P. R. Enslin, C. W. Holzapfel, K. B. Norton und S. Rehm, *J. chem. Soc. C* (London), 1967, 964.

37 G. Snatzke, P. R. Enslin, C. W. Holzapfel und K. B. Norton, *J. chem. Soc. C* (London) 1967, 972.

38 L. K. Williamson und W. S. Johnson, *J. Amer. chem. Soc.* 83, 4623 (1961).

39 A. K. Bose, M. S. Manhas und E. R. Malinowski, *J. Amer. chem. Soc.* 85, 2795 (1963).

40 C. W. Shoppe und J. C. P. Sly, *J. chem. Soc. (London)* 1959, 345.

41 D. H. Williams und J. Fleming, *Spektroskopische Methoden in der organ. Chemie*, Thieme-Verlag, Stuttgart 1968.

Durch circulardichroitische Messung, über die an anderer Stelle berichtet wird, konnte bestätigt werden, daß P III die Struktur eines Methylesters der $3\beta,19\alpha$ -Dihydroxy-urs-12-en-2-on-17-säure (**4**) besitzt. Für sie wird der Name *Pirolonsäure* vorgeschlagen. Wegen der Isomerisierung beim alkalischen Verseifen konnte **4** bisher nur als Acetyl-methylester erhalten werden.

Alle aufgefundenen Triterpensäuren sind auch in Schalen frisch geernteter Birnen enthalten. Die in Birnenschalen vorkommenden Triterpensäuren wiesen wir auch in Apfelschalen der Sorte „Tiroler Jonathan“ nach. Der Anteil an Schalen macht 0,27 % der Frucht aus. Der Ätherextrakt der Schale enthält 94 % Triterpensäuren. Ursolsäure, Oleanolsäure, Pomonsäure (**1**) und Pomolsäure (**1a**) sind als Inhaltsstoffe der Apfelschale bereits bekannt. 2α -Hydroxyursolsäure (**1b**), 2α -Hydroxyoleanolsäure (**2**), Tormentsäure (**1c**) und Pirolonsäure (**4**) werden erstmals in Apfelschalen aufgefunden.

Tabelle 2: Die Triterpensäuren des Ätherextraktes der Apfelschale in g %

Ursolsäure	72,5	2α -Hydroxyursolsäure	7,5
Oleanolsäure		2α -Hydroxyoleanolsäure	
Pomolsäure	17	2-Oxopomolsäure	
Pomonsäure	2	Tormentsäure	1

Wir haben zu danken: der Firma *Helvetia*-Konserven, Groß-Gerau, für das Überlassen der Birnenschalen; Herrn Professor Dr. *H. G. Kuball*, Institut für Physikalische Chemie, Universität Kaiserslautern, für die Bereitstellung des Circulardichrographen; Herrn Dipl.-Chem. *D. Singer* für die Einweisung am Meßgerät und Herrn Professor Dr. *G. Snatzke*, Universität Bochum, für eine zusätzliche Diskussion des CD; Herrn Professor Dr. *M. M. Janot*, Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-Sur-Yvette, für das Überlassen von Diacetyltormentsäuremethylester.

Herr Dr. *Süss* dankt dem Fonds der Chemischen Industrie für die Bew. ligung eines Doktorandenstipendiums.

Beschreibung der Versuche

Schmp.: Mikroskop nach Kofler der Firma Reichert (unkorr.). IR-Spektren: KBr-Preßling oder kapillar (zwischen zwei NaCl-Platten) mit IR-10 Beckman. Zuordnung der Banden erfolgte, wenn nicht anders angegeben, nach Bellamy⁴²) und den Irsco-Tables⁴³). NMR-Spektren: in Deuteriochloroform (Uvasol, Merck) auf Jeol INM-C-60 HL. TMS als innerer Standard. Die Zuordnung der Signale erfolgte, soweit nicht anders angegeben, nach Suhr⁸). Elektronenspektrum: Spek-

42 L. J. Bellamy, *Ultrarotspektrum und chemische Konstitution*, Steinkopff Verlag, Darmstadt 1966.

43 R. G. J. Miller, H. A. Willis und H. J. Hediger, *Irsco Infrared Structural Correlation Tables*, Heyden and Sons Ltd., London 1966.

tralphotometer PMQ II und DMR 21 Zeiss und selbstregistrierendes Spektrophotometer DB Beckman in Methanol (Uvasol, Merck). Circular dichrograph: Cary 60 in peroxidfreiem Dioxan (Uvasol, Merck). Massenspektren: Massenspektrometer LKB 9000 LKB Producter bei 20 eV und 70 eV. Elementaranalysen: Robert Glier, Röhlein über Schweinfurt. Die Angaben über Lösungs- und Fließmittel beziehen sich, wenn nicht anders angegeben, auf Raumteile. Aufarbeitung in der üblichen Weise heißt: die wäßrige Suspension des Reaktionsgemisches wird mit Äther ausgeschüttelt. Die Ätherschicht wird mehrfach mit 5proz. H_2SO_4 und mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Methyliert wurde mit Diazomethan; acetyliert wurde in Pyridin mit Acetanhydrid. Gaschromatographie (GC): mit Varian Aerograph 1800 in Verbindung mit dem Kompensationsschreiber Servogor 2 RE 520 (Fa. Metrawatt) und Varian Aerograph 1520 in Verbindung mit dem Kompensationsschreiber Servogor RE 511 (Fa. Metrawatt). Detektion: FID. Methylpolysiloxan (SE 30) und Methylphenylpolysiloxan (SE 52) als Trennphasen. Folgende Säulen wurden benutzt: 1.) SE 30 4 % auf Gas-Chrom-Q (säure- und alkaligewaschen, silikonisiert, 100–120 mesh, Fa. Sedva); Säulenmaße 4 m x 3 mm (Metallsäule). 2.) SE 30 3 % auf Chromosorb W (AH-DCMS, 80–100 mesh); Säulenmaße 2 m x 3 mm (Metallsäule). 3.) SE 52 5 % auf Aeropack (80–100 mesh); Säulenmaße 1,5 m x 3 mm (Glassäule).

Zur Analyse werden die silylierten Triterpensäuremethylester (a) und die Acetyltriterpensäuremethylester (b) in Chloroform mit einer Hamilton-Spritze aufgegeben. Die Identifizierung erfolgt durch Zuspritzen authentischer Vergleichssubstanzen. Zur quantitativen Auswertung werden die GC auf Lumoprint-LE-4-Papier kopiert und die Peakflächen ausgewogen. Die gc Analyse des Petrolätherextraktes der Birnenschale erfolgte nach⁴⁴⁾. Für die Analyse von a und b galten folgende Bedingungen:

	a	b
Gerät:	Varian Aerograph 1800	Varian Aerograph 1520
Säule:	SE 30 3 % (Säule Nr. 1) SE 52 3 % (Säule Nr. 3)	SE 30 3 % (Säule Nr. 2)
Einspritzblock-temp.	325°	330°
Detektortemp.	275°	280°
Ofentemp.	isotherm 285°	Temperaturprogramm 190°/2°/Min
Trärgas:	25 ml N_2 /Min	28 ml N_2 /Min
Papiervorschub:	12 cm/Std.	12 cm/Std.

Gewinnung parenchymfreier Schalen:

117 kg Birnenschalen („Williams Christ“, gelbe Varietät, Herkunft Bodenseegebiet, September 1970) werden portionsweise mit einer Lösung (pH 4) von Oxalsäure (0,4 %) und Ammoniumoxalat (1,6 %) 20 Min. erhitzt. Nach Auswaschen des abgelösten Parenchyms Lufttrocknen der Schalen und Auslesen von Beimengungen: 1,084 kg Trockenschalen. Sie bestehen aus gelblich-weißen, mit hellbraunen Pigmenten versehenen, glänzenden Häutchen, rollen sich leicht zusammen, fühlen sich fettig-glatt an und riechen stark fruchtig-aromatisch (Birnendaroma).

44 V. Beck, Inhaltsstoffe der Angosturarinde: Bitterstoffe, Alkaloide, Kohlenwasserstoffe, Wachse, Dissertat. Univ. Würzburg 1970.

Extraktion der Hydroxytriterpensäuren:

Die Trockenschalen werden zunächst mit Petroläther, dann mit Äther erschöpfend soxhletiert. Ausbeute: 113 g eines grünen Pulvers, entsprechend 10,4 % der Trockenschale.

Trennung der Hydroxytriterpensäuren:

Der Ätherextrakt wird zur Trennung der Triterpensäuren methyliert. Nach üblicher Aufarbeitung über Kieselgel (0,05–0,2 mm Merck) (Belastung 1 : 40) mit Petroläther/Äther sc.

Fraktion	Elutionsmittel (Petroläther/Äther)	Triterpensäuren als Methylester
1	75 + 25	Wachsanteil
2	75 + 25	Pomonsäure
3	75 + 25	Ursol- und Oleanolsäure
4	75 + 25	Pomolsäure
5	20 + 80	P I und P III
6	20 + 80	P II
7	0 + 100	Pigmente und Farbstoffe

Oleanolsäure- und Ursolsäuremethylester:

Fraktion 3: Identifizierung gc; quantitative Bestimmung gc; Mengenverhältnis 3,5 : 1 Ursolsäure/Oleanolsäure.

Pomolsäuremethylester (1a):

Fraktion 4 aus Petroläther/Äther große, farblose Würfel oder lange Nadeln. Schmp.: 126–128° (Zers.), Lit.: Schmp.²⁾ 126–128°, Mischschmp. keine Depression.

Acetyl-pomolsäuremethylester:

Acetylierung von 1a; aus Petroläther lange, farblose Nadeln. Schmp.: 248–249°, Lit. Schmp.²⁾ 248–249°, Mischschmp. keine Depression.

Pomolsäure:

500 mg 1a mit 40 ml KOH/Äthylenglykol⁴⁵⁾ (10 %) verseifen (170°; Metallbad). Nach 5 Std. ist dc kein 1a mehr nachweisbar. Mit 100 ml Wasser verdünnen, ansäuern (H₂SO₄, 20 %) und mit Äther ausschütteln. 440 mg Pomolsäure nach SC (25 g SiO₂; Petroläther/Äther 1 + 1), aus Petroläther/Äthanol feine glänzende Plättchen. Schmp.: 300–302°, Lit. Schmp.²⁾ 300–302° (Zers.).

C₃₀H₄₈O₄ (472,7) Ber.: C 76,23, H 10,23; Gef.: C 74,53, H 10,23, Mol.-Gew. 472 (ms).

Pomonsäuremethylester (1):

Fraktion 2: aus Petroläther/Äther farblose, große Prismen. Schmp.: 205°, Lit. Schmp.²⁾ 204°, Mischschmp. keine Depression.

45 S. Brewis und T. G. Halsall, J. chem. Soc. (London) 1961, 646.

Pomonsäure:

100 mg Ia in 30 ml Aceton mit 0,2 ml Jones-Reagenz (2,67 g CrO₃, 2,3 ml H₂SO₄ konz. und 10 ml H₂O) oxidieren. Nach 5 Min. Zugabe von 50 ml Wasser. Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abziehen, Reaktionsprodukt ausschütteln und über SiO₂ (Petroläther/Äther 6 + 4) sc reinigen; aus Äthanol 80 mg I, feine Nadeln. Schmp.: 248–251° (Zers.).

C₃₀H₄₆O₄ (470,7) Ber.: C 76,55, H 9,85; Gef.: C 76,30, H 10,07, Mol.-Gew. 470 (ms).

IR: 3570 scharf, 3500–3100 breit (OH), 1700 Schulter (C=O Keton), 1680 (C=O Säure), 935/cm (C-OH 19). MS % rel. Int.: 470 (M⁺) 18, 452 (M-H₂O) 72, 437 (M-H₂O-CH₃) 13, 424 (M-HCOOH) 95, 352 (M-HCOOH-C₄H₈O) 50, 264 (a) 10, 246 (a-H₂O) 35, 234 (a-C₂H₄) 35, 219 (a-COOH) 38, 218 (a-HCOOH) 33, 205 (b) 60, 201 (a-COOH-H₂O) 70, 165 (a-C₂H₄-71) 20, 146 (a-HCOOH-C₄H₈O) 100.

Trennung P I von P III:

Fraktion 5 (8,4 g) wird acetyliert und sc an Kieselgel (Belastung 1 : 50) mit Petroläther/Äther 7 + 3 in ihre Komponenten zerlegt: 6,3 g P I-acetat und 450 mg P III-acetat.

Identifizierung von P I-acetat als Mischung von 1b- und 2-diacetat:

200 mg P I-acetat mit 30 ml KOH/Methanol (5 %) 3 Std. unter Rückfluß verseifen. Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestillieren, Reaktionsprodukt mit Wasser ausfällen, mit Äther ausschütteln, über Na₂SO₄ trocknen. Erhaltenes P I silylieren. Die übliche Einwirkungszeit des Silylierungsmittels reicht bei einer α-Glykolstruktur⁴⁶ nicht aus. Erst nach längerem Stehen des silylierten P I wird ein einheitliches und reproduzierbares GC erhalten.

Glykolspaltung von P I:

10 mg P I mit 2 ml Natriummetaperjodatlösung (2 %) in 20 ml Methanol bei Raumtemp. oxidieren. Nach 72 Std. dc kein P I. Im DC entstehen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin mehrere orange Flecken.

Tormentsäuremethylester (1c):

Aus Fraktion 6 mit Petroläther feine, farblose Nadeln; P II (1c). Schmp.: 152–154°, Lit. Schmp.¹⁴⁾; 156°.

C₃₁H₅₀O₅ Mol.-Gew. Ber.: 502,7; Gef.: 502 (ms).

IR: 3630 Schulter, 3480 breit (OH), 1720 (C=O Ester), 935/cm (C-OH 19). NMR: δ [ppm] 2,97 (d, 1H, J-10, 5 Hz, H C-3), 2,57 (s, 1H, OH C-19), 2,36 (s, 2H, 2 x OH C-2/C-3).

Diacetyl-tormentsäuremethylester (1c-diacetat):

1c-diacetat aus Chloroform/Methanol, glänzende farblose Plättchen. Schmp.: 200–201°, Lit. Schmp.¹⁴⁾; 202° (Mischschmp. keine Depression).

C₃₅H₅₄O₇ (586,8) Ber.: C 71,64, H 9,28; Gef.: C 71,80, H 9,50, Mol.-Gew. 586 (ms).

IR: 3550 scharf (OH), 1740–1720 breit (C=O Ester), 1260–1230 breit (C-O-C Acetat), 925/cm (C-OH 19). NMR: δ [ppm] 5,05 (q, 1H, J = 14,8 Hz, H C-2), 4,73 (d, 1H, J = 10,5 Hz, H C-3), 2,58 (s, 1H, OH C-19), 2,03 (s, 3H, Ac), 1,97 (s, 3H, Ac).

46 W. Richter, M. Vecchi, W. Vetter und W. Walther, *Helv. chim. Acta* 50, 364 (1967).

Glykolspaltung von Tormentsäuremethylester:

1c mit Perjodat (wie oben) quantitativ oxidieren.

Acetyl-Pirolonsäuremethylester (4-acetat):

Nach Abtrennen von P I-acetat verbleibt P III-acetat: aus Petroläther/Äther 260 mg farblose Plättchen (4-acetat), aus Methanol feine Nadeln.

Schmp.: 231 – 233° $[\alpha]_D^{20} = +101^\circ$ ($c = 1,04$; CHCl_3); $[M]_D = 547,4$

$\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_6$ (542,8) Ber.: C 73,03; H 9,29; Gef.: C 72,95; H 9,28; Mol.-Gew. 542 ms.

IR: 3520 scharf (OH), 2960, 2930, 2865 ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$), 1740 Schulter, 1730 ($\text{C}=\text{O}$ Ester), 1710 ($\text{C}=\text{O}$ Keton), 1610 ($\text{C}=\text{C}$), 1445, 1430 ($=\text{C}-\text{CH}_2-$), 1390, 1370 ($\text{C}-\text{CH}_3$), 1255, 1230, 1210, 1190 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$ Ester), 1150 ($\text{C}-\text{O}$ Keton), 1050, 1030, 1010 ($\text{C}-\text{OH}$ ac. C-3), 930 ($\text{C}-\text{OH}$ 19), 830, 805/ cm ($=\text{CH}-$).

NMR: δ [ppm] 5,33 (t, 1H, H C-12), 4,92 (s, 1H, H C-3), 3,58 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$ C-17), 2,58 (s, 1H, OH C-19), 2,15 (s, 3H, Ac, c-3), 1,29 (s, 3H, $-\text{CH}_3$ C-19), 1,20 (s, 3H, $-\text{CH}_3$ C-14), 109, 0,89 (2x), 0,84, 0,67 (5 x $-\text{CH}_3$).

MS: % rel. Int.: 542 (M^+)29, 527($\text{M}-\text{CH}_3$)37, 524($\text{M}-\text{H}_2\text{O}$)13, 509($\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}$)4, 483($\text{M}-\text{COOCH}_3$)37, 482($\text{M}-\text{HCOOCH}_3$)91, 467($\text{M}-\text{HCOOCH}_3-\text{CH}_3$)18, 424($\text{M}-\text{COOCH}_3-\text{CH}_3\text{COO}$)13, 423($\text{M}-\text{HCOOCH}_3-\text{CH}_3\text{COO}/\text{M}-\text{COOCH}_3-\text{CH}_3-\text{COOH}$)6, 422($\text{M}-\text{HCOOCH}_3-\text{CH}_3\text{COOH}$)8, 410($\text{M}-\text{HCOOCH}_3-\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$)89, 278(a)4, 263(b)8, 260(a- H_2O)9, 250(a- C_2H_4)10, 247(b- CH_3-H)45, 219(a- COOCH_3)22, 218(a- HCOOCH_3)21, 203(b- CH_3COOH)20, 201(a- $\text{COOCH}_3-\text{H}_2\text{O}$)51, 187(247- CH_3COOH)49, 179(a- C_2H_4-71)100, 146(218- $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$)84, 133(201-68)35.

CD: 336 (0), 310 (+1,43), 301 (+2,23), 292 (+2,14), 246 (0) nm, ($c = 4,77 \times 10^{-1}$ mM; Dioxan Uvasol, peroxidfrei).

UV: λ_{max} 290 nm; $\epsilon = 103$ ($c = 3,88 \times 10^{-2}$ mM; Methanol).

2,19 α -Dihydroxy-ursa-1,12-dien-3-on-17-säuremethylester (3):

80 mg P III-acetat (4-acetat) mit 30 ml KOH/Methanol (5 %) 3 Std. unter Rückfluß verseifen. Lt. DC Umsetzung zu mehreren Reaktionsprodukten. Hauptprodukt über SiO_2 (50 g; Fraktomat Y-3; Petroläther/Äther 9 + 1) von polaren Nebenprodukten abtrennen. Nach zweimaliger Reinigung über SiO_2 wird 3 als glasiger Rückstand (30 mg) erhalten, der nicht kristallisiert. Schmp. 83° (unscharf).

$\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_5$ Mol.-Gew.: Ber.: 498,7, Gef.: 498 (ms).

IR: 3540, 3430(OH), 1720 ($\text{C}=\text{O}$ Ester), 1660, 1645 ($\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{C}$ konjugiertes Keton), 930 ($\text{C}-\text{OH}$ 19), 865/ cm ($\text{C}=\text{C}$).

NMR: δ [ppm] 6,29 (s, 1H, H C-1), 5,91 (breit, 1H, OH C-2), 5,36 (t, 1H, H C-12), 3,57 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$ C-17), 2,57 (s, 1H, OH C-19), 1,20(3x), 1,09, 0,95, 0,88, 0,74 (7 x $-\text{CH}_3$).

UV: λ_{max} 270 nm $\epsilon = 6610$ ($c = 4,62 \times 10^{-2}$ mM; Methanol).

2-Acetoxy-19 α -hydroxy-ursa-1,12-dien-3-on-17-säuremethylester 3a:

20 mg 3 acetylieren: aus Chloroform/Methanol 15 mg 3a, rosettenartige Sternchen. Schmp. 195-196°.

$\text{C}_{33}\text{H}_{48}\text{O}_6$ (Mol.-Gew.) Ber.: 540,8; Gef.: 540 (ms).

IR: 3540 scharf (OH), 1760 (C=O Acetat), 1720 (C=O Methylat), 1675, 1640 (C=O, C=C konjugiertes Keton), 935 scharf (C–OH 19), 865/cm (C=C).

UV: $\lambda_{\max}$ 266 nm, ϵ 3240 ($c = 2,78 \times 10^{-2}$ mM; Methanol).

Reduktion von 4-acetat:

100 mg 4-acetat (P III-acetat) in 10 ml Methanol und in Gegenwart von 200 mg Borsäure in kleinen Anteilen mit 200 mg NaBH₄ versetzen. Nach 12 Std. Reaktionsgemisch bei Raumtemp. chromatographieren. Lt. DC unvollständige Umsetzung zu zwei polareren Produkten. Zugabe von 10 ml 1proz. Essigsäure zum Eluat und abdestillieren am Rotationsverdampfer. Reaktionsgemisch mit CHCl₃ ausschütteln und nach üblicher Aufarbeitung über Kieselgel (50 g; Petroläther/Äther 6 + 4) sc. Neben P III-acetat wird als Hauptprodukt 1d und in geringer Menge 1e mit etwas kleinerem R_f-Wert erhalten. 1d und 1e mit Chromschwefelsäure/Aceton zu P III-acetat rückoxidieren. 1d aus Äther/Petroläther, farblose, feine Nadeln (40 mg). Schmp. 191–193°.

C₃₃H₅₂O₆ (Mol.-Gew.) Ber.: 544,8; Gef.: 544 (ms).

IR: 3510 (OH), 1720 (C=O Ester), 1265 (C–O–C Acetat), 930/cm (C–OH 19).

NMR: δ [ppm] 5,34 (t, 1H, H C-12), 4,63 (d, 1H, $J_{\text{ea}}=3,5$ Hz, H C-3), 4,10 (m, 1H, H C-2), 3,68(s, 1H, OH C-2), 3,59(s, 3H, –OCH₃ C-17), 2,58(s, 1H, OH C-19), 2,15(s, 3H, Ac C-3), 1,26(3x), 1,11, 1,00, 0,90, 0,72(7 x –CH₃).

MS % rel. Int.: 544(M⁺)28, 529(M–CH₃)4, 526(M–H₂O)8, 511(M–CH₃–H₂O)4, 485(M–COOCH₃)28, 484(M–HCOOCH₃)84, 469(M–HCOOCH₃–CH₃)20, 466(M–HCOOCH₃–H₂O)12, 425(M–COOCH₃–CH₃COOH/M–HCOOCH₃–CH₃COO)8, 424(M–HCOOCH₃–CH₃COOH)28, 412(M–HCOOCH₃–C₄H₈O)12, 278(a)12, 265(b)10, 260(a–H₂O)20, 250(a–C₂H₄)16, 219(a–COOCH₃)24, 218(a–HCOOCH₃)28, 206(b–CH₃COO)32, 205(b–CH₃COOH)44, 201(209–H₂O/218–OH)32, 187(205–H₂O)20, 179(a–C₂H₄–71)100, 146(218–C₄H₈O)40.

Nachweis der Birnenschalen-Triterpenoide in Apfelschalen:

5 kg Äpfel "Tiroler Jonathan" liefern nach dem Oxalatverfahren 13,5 g Trockenschalen. Aufarbeitung wie oben; 3 g Ätherextrakt, Aufarbeitung wie oben.

Anschrift: Prof. Dr. C. H. Brieskorn, D 8700 Würzburg, Am Hubland

[Ph 406]

A. E. Szabó, G. Stájer, E. Vinkler

Zur Gaschromatographie der Oxydationsprodukte des Phenylbutazons

Aus dem Institut für Pharmazeutische Chemie der Medizinischen Universität Szeged
(Eingegangen am 6. März 1974)

Die Oxidation des Phenylbutazons (1) wurde gaschromatographisch untersucht. Es erwies sich, daß die Oxidation mit Wasserstoffperoxid in basischem und mit Permanganat in saurem Milieu zu Valeriansäure führt. Mit Permanganat im alkalischen Milieu entsteht dagegen Buttersäure.

Aufgrund des Ergebnisses der Oxidation von Zwischenprodukten folgt, daß die Permanganat-oxidation des Phenylbutazons im basischen Milieu nicht über die aus der n-Butyltartronsäure