

möglich, diese mit den β -Ketosäureestern ebenso wie mit Aminoäthanol-(2) abzufangen. Ausser den ähnlichen Eigenschaften mit den O-Diphenylboryl-aminoäthylestern⁶ sind sie zu Umsetzungen verwendbar. Das Reaktionsvermögen der Verbindungen liegt bei Umsetzungen zwischen dem der Anhydride und den O-Diphenylboryl-aminoäthylestern. Ihre Verwendung ist dann zweckmässig, wenn die B,B-Diphenyl-boroxazolidine zu Nachweisen anderer stickstoffhaltiger Verbindungen weniger geeignet sind. Die vor einiger Zeit beschriebenen qualitativen Nachweise mit dem Diphenylborinsäureanhydrid⁶ können ebenso mit den β -Ketosäureester-Chelaten durchgeführt werden und sind zu quantitativen Bestimmungen geeignet. Dafür ist vor allem die starke Bathochromie geeignet. So ist eine spektrophotometrische Feststellung von Alkaloiden, Betainen, Flavon-3-olen, Polyäthylenoxiden usw. in μ g-Mengen möglich.

Das Verhalten der Chelate aus den Diarylborinsäuren und β -Oxocarbonsäureestern ist insofern bemerkenswert, als sie trotz ihrer Stabilität gegenüber hydrolytischen Einflüssen mit geeigneten Reaktionspartnern die Borinsäure frei werden lassen.

Die ausführliche Beschreibung der Methode erfolgt in analytischen Zeitschriften. Auf die von uns auch aus β -Diketonen und Borinsäuren dargestellten Verbindungen soll hingewiesen werden.

Sowohl die aus β -Ketocarbonsäureestern als auch die aus β -Diketonen und Borinsäuren dargestellten Chelate sind häufig den Umsetzungsprodukten der Borinsäuren mit Aminoäthylester vorzuziehen. So liegen z. B. die Smp. wesentlich niedriger, die eine Senkung der Reaktions-

temperatur um etwa 50° erlauben. Das wirkt sich vorteilhaft bei der Einführung des Diphenylborylrestes in Kristall-Komplex-Verbindungen, wie z. B. Nickeldimethylglyoxin, aus. Auch zur strukturellen Unterscheidung sind die oben beschriebenen Chelate geeignet. Mit Cinchonin entsteht ein kristallines Derivat, dagegen nicht mit Chinin. Den gleichen Unterschied weisen Chinidin und Cinchonidin auf⁷.

Summary. Diarylborinic acids form stable chelates with β -keto acid esters. Borinic acids, when being synthesized, can be stabilized in compounds resulting from the combination with β -keto acid esters. The chelates so formed are suitable—like the free borinic acids or their anhydrides—for further transformation. These chelates have several advantages in comparison with those formed with β -amino ethanol.

R. NEU

Chemisches Forschungslaboratorium der Firma Dr. Willmar Schwabe GmbH, Karlsruhe-Durlach (Deutschland), 2. Oktober 1962.

⁶ R. NEU, Naturwissenschaften 44, 181 (1957).

⁶ R. NEU, Chem. Ber. 87, 802 (1954); Z. analyt. Chem. 142, 335 (1954); 143, 30 (1954); Naturwissenschaften 43, 82 (1956); 45, 311 (1958).

⁷ Vorgesehen für Mikrochimica Acta (Wien).

Isolierung von 4 α -Methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-dien-3 β -ol aus *Solanum tuberosum* sowie über die Identität dieser Verbindung mit α_1 -Sitosterin¹

In einer früheren Mitteilung² berichteten wir, dass im unverseifbaren Anteil des Petrolätherextrakts von Blättern der Kartoffelpflanze, *Solanum tuberosum* «Aquila», neben β -Sitosterin (Stigmast-5-en-3 β -ol) 2 weitere digitoninfällbare Substanzen A und B vorkommen. Sie liessen sich dünnschichtchromatographisch differenzieren und durch Säulenchromatographie an Silicagel bzw. Florisil präparativ trennen (Mengenverhältnis: β -Sitosterin 32,8%, Subst. A 60,4%, Subst. B 6,8%).

Substanz A konnte inzwischen als Cycloartenol (9 β ,19-Cyclo-5 α -lanost-24-en-3 β -ol) identifiziert werden³.

Substanz B erwies sich als nicht einheitlich und wurde in 2 Komponenten aufgetrennt: Substanz B₁ Smp. 129°C, $[\alpha]_D^{25} + 68,2^\circ$, und Substanz B₂ Smp. 163–164°C, $[\alpha]_D^{25} + 1,0^\circ$. Substanz B₂ (Ausbeute 8 · 10⁻³% des Blatt-trockengewichts) besitzt, wie durch die nachstehend angeführten experimentellen Befunde bewiesen wurde, die

¹ Sterine und Triterpenole. III. Mitteilung. – II. Mitteilung s. ².

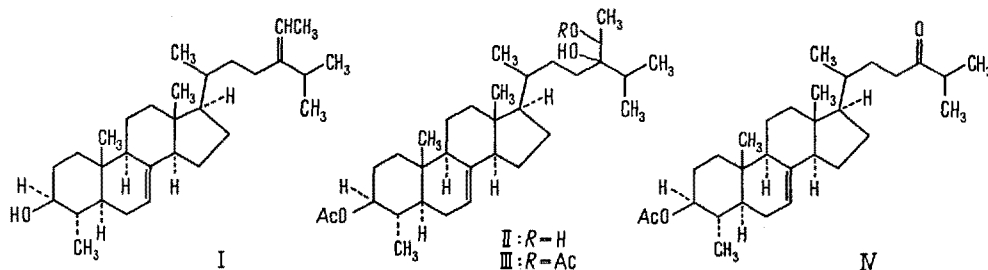
² K. SCHREIBER, G. OSSKE und G. SEMMNER, Exper. 17, 463 (1961).

³ K. SCHREIBER und G. OSSKE, Die Kulturpflanze 10, 372 (1962).

⁴ Alle Smp. korrigiert; alle Drehwerte in Chloroform. Herrn Dr. K. HELLER, Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm, Jena, danken wir für die Aufnahme der IR-Spektren. Die Mikroanalysen wurden von Herrn Dr. A. SCHOKLER, Kronach (Obfr.), ausgeführt.

Vergleich der physikalischen Konstanten von 4 α -Methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-dien-3 β -ol (I) aus *S. tuberosum* (Substanz B₂) mit denen von α_1 -Sitosterin und 5 α -Citrosta-7,24(28)-dien-3 β -ol

	Sterin Smp. °	$[\alpha]_D$	Sterinacetat Smp. °	$[\alpha]_D$	Sterinbenzoat Smp. °	$[\alpha]_D$	Tetrahydrosterinacetat Smp. °	$[\alpha]_D$
4 α -Methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-dien-3 β -ol aus <i>S. tuberosum</i>	163–164	+ 1,0°	142–144	+ 32,8°	163	+ 45,8°	145–146	+ 40,0°
α_1 -Sitosterin ⁵	164–166	– 1,7°	137	+ 28,6°	168–172	+ 41,8°	147–148	+ 39,4°
5 α -Citrosta-7,24(28)-dien-3 β -ol ^{7–10}	162–164	+ 24°	142–143	+ 43°	160–163	+ 51°	144–145	+ 39°



Konstitution 4 α -Methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-dien-3 β -ol (I) (ber. für C₃₀H₅₀O (426,7) 84,43% C, 11,81% H; gef. 83,72% C, 11,65% H). Sie ist auf Grund ihrer Eigenschaften sehr wahrscheinlich mit dem aus Getreidekeimölen isolierten α_1 -Sitosterin⁶ identisch (vgl. Tabelle)⁶. Für α_1 -Sitosterin ist Konstitution I bereits früher vermutet worden^{7,8}.

Bei Acetylierung von Substanz B₂ wurde ein Monoacetat (ber. für C₃₂H₅₂O₂ (468,8) 81,99% C, 11,18% H; gef. 81,94% C, 11,09% H), bei Benzoylierung ein Monobenzoat (ber. für C₃₇H₅₄O₂ (530,8) 83,72% C, 10,26% H; gef. 83,21% C, 9,95% H) gebildet (vgl. Tabelle). Die katalytische Hydrierung des Acetats mit Platin in Essigsäure + etwas HCl führte zu einem Tetrahydroderivat, das in allen Eigenschaften (Smp. und Misch-Smp., [α]_D, IR-Spektrum) mit authentischem 3 β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -stigmastan (3 β -Acetoxy-5 α -cistrostan)^{10,11} übereinstimmte¹² (vgl. Tabelle; ber. für C₃₂H₅₆O₂ (472,8) 81,29% C, 11,94% H; gef. 81,44% C, 11,74% H). Hydroxylierung von Substanz-B₂-acetat mit Osmium(VIII)-oxid/Pyridin ergab 3 β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -stigmast-7-en-24 ξ ,28 ξ -diol (II)¹³, das mit Perjodsäure bzw. Blei(IV)-acetat unter Bildung von Acetaldehyd und 3 β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -cholest-7-en-24-on¹⁴ (IV)⁸ gespalten wurde. Der Acetaldehyd wurde in Form seines 2,4-Dinitrophenylhydrazons durch Smp., Misch-Smp., IR-Spektrum und Papierchromatographie¹⁵ identifiziert. Das Keton IV (ber. für C₃₀H₄₈O₂ (456,7) 78,89% C, 10,59% H; gef. 79,17% C, 10,57% H) hat einen Smp. von 116–117°C und [α]_D²⁰ + 28,8°; IR-Banden bei 1706 und 1730 cm⁻¹ in Nujol (Lit.⁸: Smp. 116–118°C, [α]_D + 25°, IR-Banden bei 1706 und 1736 cm⁻¹ in KBr).

Das Hydroxylierungsprodukt II lieferte bei Acetylierung mit Acetanhydrid/Pyridin 3 β ,28 ξ -Diacetoxy-4 α -methyl-5 α -stigmast-7-en-24 ξ -ol (III) vom Smp. 173–174°C und [α]_D²⁰ + 26,4° (ber. für C₃₄H₅₆O₅ (544,8) 74,96% C, 10,36% H; gef. 75,53% C, 10,36% H). Die Verbindungen III und IV geben, wie auch Substanz B₂, positiven Selen-dioxid-Test nach FIESER¹⁶ sowie die für Δ^7 -Verbindungen charakteristische¹⁷ stark positive Liebermann-Burchard-Reaktion. Bei der Perbenzoesäure-Titration des doppelt-ungesättigten I-acetats wurden, wie erwartet, 3 Äquivalente verbraucht¹⁸.

Das aus Kartoffelblättern isolierte und mit α_1 -Sitosterin wahrscheinlich identische 4 α -Methylsterin besitzt somit die gleiche Konstitution I wie das aus Pampelmusen- bzw. Orangenschalenöl gewonnene 5 α -Cistrosta-7,24(28)-dien-3 β -ol^{8–10}, von dem es sich, soweit bisher bekannt, nur durch seine spezifische Drehung unterscheidet (vgl. Tabelle). Da beide Sterine auch in der Konfiguration ihrer Asymmetriezentren übereinstimmen, muss dieser Unterschied auf einer *cis-trans*-Isomerie an der $\Delta^{24(28)}$ -Doppelbindung beruhen²⁰. Auf eine solche Möglichkeit ist bereits von MAZUR und SONDHEIMER⁸ bei der Diskussion der α_1 -Sitosterinkonstitution hingewiesen worden.

Das gemeinsame Vorkommen von Cycloartenol, 4 α -Methyl-stigmastadienol (I) und β -Sitosterin in *Solanum*

⁵ E. S. WALLIS und E. FERNHOLZ, J. Amer. chem. Soc. 58, 2446 (1936). – S. BERNSTEIN und E. S. WALLIS, J. Amer. chem. Soc. 61, 1903, 2308 (1939). – S. W. GLOYER und H. A. SCHUETTE, J. Amer. chem. Soc. 61, 1901 (1939). – S. BERNSTEIN, E. J. WILSON und E. S. WALLIS, J. org. Chem. 7, 103 (1942). – D. H. R. BARTON, J. chem. Soc. (Lond.) 1945, 813; 1946, 512.

⁶ Für einen direkten Vergleich stehen Originalproben von α_1 -Sitosterin bzw. seinen Derivaten nicht mehr zur Verfügung; vgl. 7.

⁷ Y. MAZUR, A. WEIZMANN und F. SONDHEIMER, Bull. Res. Council Israel 7A, 82 (1958).

⁸ Y. MAZUR und F. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. 80, 6296 (1958).

⁹ A. WEIZMANN und Y. MAZUR, J. org. Chem. 23, 832 (1958).

¹⁰ Y. MAZUR, A. WEIZMANN und F. SONDHEIMER, J. Amer. chem. Soc. 80, 1007, 6293 (1958).

¹¹ Stigmastan und seine Derivate besitzen 20 β_F , 24 α_F -d.h. (20R,24R)-Konfiguration. – K. TSUDA, R. HAYATSU und Y. KISHIDA, Chem. and Ind. 1959, 1411. – K. TSUDA, Y. KISHIDA und R. HAYATSU, J. Amer. chem. Soc. 82, 3396 (1960). – Y. KISHIDA, Chem. and Ind. 1960, 465; Chem. Pharm. Bull. (Tokyo) 8, 357 (1960). – Siehe 19, p. 385.

¹² Herrn Prof. Dr. F. SONDHEIMER und Herrn Dr. Y. MAZUR, Rehovoth (Israel), sind wir für die Überlassung von authentischem 3 β -Acetoxy-4 α -methyl-5 α -stigmastan sehr verbunden.

¹³ Bemerkenswert ist, dass bei der Umsetzung von Substanz-B₂-acetat mit 2,4 Mol. OsO₄ in Pyridin bei Raumtemperatur (48 h) lediglich die $\Delta^{24(28)}$ -Doppelbindung und nicht beide Doppelbindungen hydroxyliert wurden. Das ebenfalls $\Delta^{7,24(28)}$ -ungesättigte Cistrostadienol gab unter etwa gleichen Bedingungen 4 α -Methyl-5 α -stigmastan-3 β ,7 α ,8 α ,24 ξ ,28 ξ -pental¹⁰; vgl. zur Hydroxylierung von Δ^7 -Verbindungen auch 14.

¹⁴ O. WINTERSTEINER und M. MOORE, J. Amer. chem. Soc. 65, 1507 (1943).

¹⁵ L. HORNER und W. KIRMSE, Liebigs Ann. Chem. 597, 48 (1955). – Entwicklung der Chromatogramme mit Hexan: Rf von Acetaldehyd-2,4-dinitrophenylhydrazone 0,43.

¹⁶ L. F. FIESER, J. Amer. chem. Soc. 75, 4395 (1953).

¹⁷ D. R. IDLER und C. A. BAUMANN, J. biol. Chem. 203, 389 (1953).

¹⁸ Bezüglich Epoxydation von Δ^7 vgl. 14,19. Darauf hingewiesen sei, dass bei der Perbenzoesäure-Titration von α_1 -Sitosterin-3,5-dinitrobenzoat nur 2 O-Atome verbraucht wurden⁵.

¹⁹ L. F. FIESER und M. FIESER, Steroide (Weinheim 1961), p. 268.

²⁰ Ob es sich bei Fucosterin (Stigmasta-5,24(28)-dien-3 β -ol)²¹ und «29-Isufucosterin»²² um ein analoges *cis-trans*-Isomerenpaar handelt, scheint noch nicht vollständig geklärt, da der mol. Drehungsbeitrag der 24-Äthyliden-Gruppe von «29-Isufucosterin» (–21°) nicht mit dem von Cistrostadienol (+90°) übereinstimmt. Die entsprechenden Werte für I aus *S. tuberosum* und Fucosterin betragen –8° bzw. –18°. Ebenso ist die Frage der absoluten Konfiguration an der $\Delta^{24(28)}$ -Doppelbindung noch offen und erfordert weitere Untersuchungen.

²¹ I. M. HEILBRON, R. F. PHIPERS und H. R. WRIGHT, Nature (Lond.) 133, 419 (1934); J. chem. Soc. (Lond.) 1934, 1572. – H. B. MAC-PHILLAMY, J. Amer. chem. Soc. 64, 1732 (1942). – D. H. HEY, J. HONEYMAN und W. J. PEAL, J. chem. Soc. (Lond.) 1950, 2881.

²² J. P. DUSZA, J. org. Chem. 25, 93 (1960).

tuberosum dürfte im Hinblick auf die Biogenese dieser Verbindungen von Interesse sein.

Summary. The 'sterol fraction' from leaves of the potato plant, *Solanum tuberosum*, was found to contain a minor constituent, the structure of which has been established as 4 α -methyl-5 α -stigmasta-7,24(28)-diene-3 β -ol (I). This sterol is most probably identical with α_1 -sitosterol and has

the same constitution as citrostadienol, differing only in the configuration of the $\Delta^{24(28)}$ -double bond.

K. SCHREIBER und G. OSSKE

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben, Kreis Aschersleben (Deutschland), 1. Oktober 1962.

Synthesis of Enniatin B

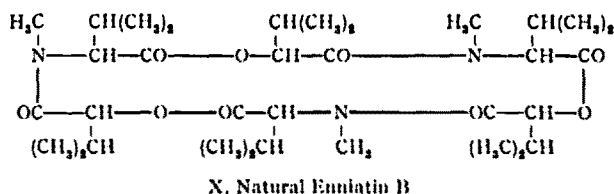
In 1947 PLATTNER et al.¹ isolated from a number of fusarium strains the antibacterial metabolite Enniatin B for which they proposed the structure of a cyclic tetrapeptolide². Recently SHEMYAKIN et al.³ were able to demonstrate by synthesis that Enniatin B did not possess this structure. In the meantime one of us (W. K.-Sch.) repeated the molecular weight determination for this natural product according to a novel method developed by SIMON⁴. To our surprise we found a value of 655 (ethyl acetate) according to this thermo-electric method instead of 426 as calculated for a cyclotetrapeptolide. These measurements suggested the possibility that Enniatin B could be a cyclohexapeptolide (molecular weight = 639) rather than a cyclotetrapeptolide since all the degradation results presented by PLATTNER et al.² would still be in agreement with such a formula.

The cyclohexapeptolide structure has now been confirmed by the synthesis of an active substance with all the properties of naturally occurring Enniatin B.

The open chain hexapeptolide IX was built up through the steps outlined in the accompanying reaction scheme.

Our synthesis starts with N-methyl-L-valine recently prepared in our laboratory by a new procedure⁵. It was thereby possible to use benzyloxycarbonyl as the N-protecting group. This represents a considerable advance over the use of *p*-nitro-benzyloxycarbonyl-N-methyl-L-valine applied in the preparation of the cyclotetrapeptolide². Tert. butyl-D- α -hydroxy-isovalerate was obtained via the corresponding O-acetyl derivative. The acid chloride coupling method, first applied in the peptolide series by

SHEMYAKIN⁶ was used throughout. For the ester bonds benzene sulfochloride proved to be very suitable, whereas for the methylated peptide bonds PCl_5 was preferred. Deblocking of the protecting groups was carried out in the usual way.



Full details will be given in Helvetica Chimica Acta.

¹ PL. A. PLATTNER and U. NAGER, Exper. 3, 325 (1947).

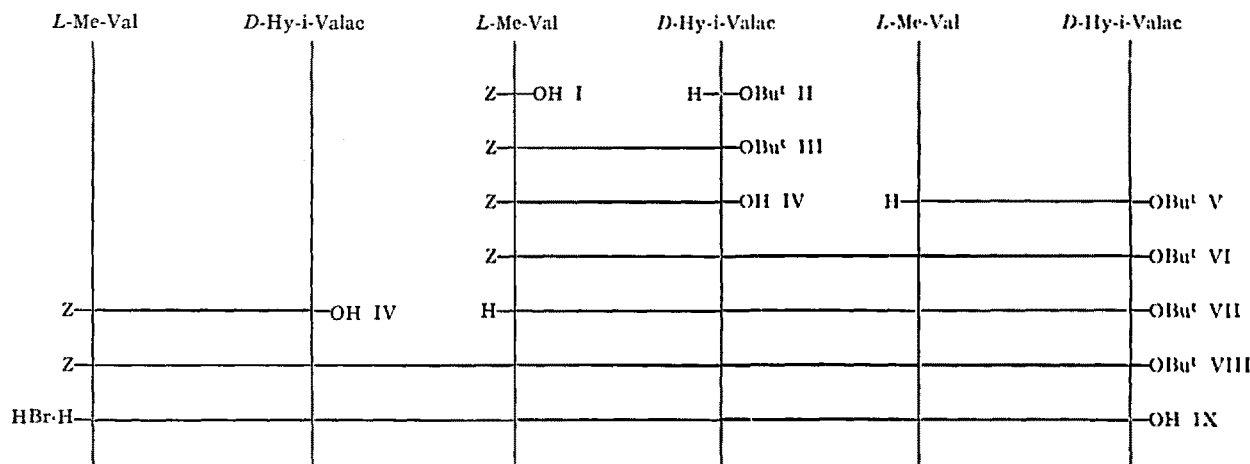
² PL. A. PLATTNER, U. NAGER, and A. BOLLER, Helv. chim. Acta 31, 594 (1948). - PL. A. PLATTNER and U. NAGER, Helv. chim. Acta 31, 605 (1948). - Concerning the use of the expression 'peptolide' see H. GIBIAN and K. LÖBKE, Liebigs Ann. 444, 130 (1961).

³ M. M. SHEMYAKIN, YU. A. OVCHINNIKOV, A. A. KIRYUSHKIN, and V. I. IVANOV, Tetrahedron Letters No. 7, 301 (1962).

⁴ W. SIMON and C. TOMLINSON, Chimia 14, 303 (1960). - D. WEGMANN, C. TOMLINSON, and W. SIMON, Intern. Symposium on Microchemical Techniques, August 13-18, 1961; Pennsylvania State University.

⁵ P. QUITT, J. HELLERBACH, and K. VÖGLER, Helv. chim. Acta 46, in press (1963).

⁶ M. M. SHEMYAKIN, Angew. Chem. 71, 741 (1959); 72, 342 (1960).



Reaction scheme

L-Me-Val = N-methyl-L-valine; D-Hy-i-Valac = α -hydroxy-D-iso-valeric acid; OBu^t = tert. butyl ester; Z = benzyloxycarbonyl.