

PERSPEKTIVEN DER BIOGENESE UND DER CHEMIE DER TERPENE

L. RUŽIČKA

Organisch-Chemisches Laboratorium ETH, Universitätsstrasse 6, Zürich 6, Schweiz

VON DER EMPIRISCHEN ZUR BIOGENETISCHEN ISOPRENREGEL

Vor einigen Jahren wurde in einer "Faraday Lecture" die "History of the Isoprene rule" behandelt¹, man hätte aber ebensogut sagen können "History of the Terpene Chemistry", denn der Fortschritt der Terpenchemie hängt eng zusammen mit der Entwicklung der Isoprenregel. Beide Gebiete haben sich stets fruchtbringend gegenseitig beeinflusst.

Es lassen sich in der Geschichte der Terpenchemie und der Isoprenregel drei Perioden unterscheiden. Schon gegen das Ende der Vorgeschichte, 1884, als man weder für Isopren noch für ein einziges Terpen eine begründete Formel aufstellen konnte, bemerkte Tilden: "from the easy transformation of two C_5H_8 into $C_{10}H_{16}$ and *vice versa* it appears probable that the molecule of terpine is composed symmetrically of two halves, $(C_5H_8)_2 = (C_{10}H_{16})$ ". Nur drei Jahre später beginnt mit dem Auftreten von Otto Wallach² die *erste Periode* der Terpenchemie und der Isoprenregel, die bis zum Anfang der zwanziger Jahre dieses Jahrhunderts reicht. In diese Periode fällt der systematische Ausbau der Chemie der Monoterpene. Von fast allen bekannten Verbindungen dieser Reihe waren richtige Konstitutionsformeln bekannt. Wallach³ hatte 1887 als Aufbauprinzip der Monoterpene die Zusammensetzung aus zwei Molekülen Isopren vorgeschlagen, und auch für Sesquiterpene einen Aufbau des Kohlenstoffgerüsts aus drei Molekülen Isopren in Erwägung gezogen. Die Kohlenstoffgerüste der ersten zwei Sesquiterpene, deren Struktur eindeutig aufgeklärt werden konnte, α -Santalol (Semmler, 1910) und Farnesol (Kerschbaum, 1913), sind tatsächlich aus drei Isoprenresten zusammengesetzt, ohne dass es die Autoren nötig gefunden hätten diese Tatsache hervorzuheben*. Eine Isoprenregel als wegweisende Arbeitshypothese bei der Konstitutionsaufklärung gab es eben damals nicht. So kam es, dass im Rahmen der wenigen Arbeiten, welche in dieser Periode die Konstitutionsaufklärung von Sesqui- und Diterpenen ernstlich anstrebten—aber wegen ungenügendem experimentellem Material noch nicht zum Ziele gelangten—Formeln zur Diskussion gestellt wurden, die der Isoprenregel widersprachen.

* Der Schreibende hatte 1912 als Mitarbeiter seines Lehrers Staudinger die Konstitution der Chrysanthemumsäure (23, I) aufgeklärt, ohne dass ihm einige Jahre lang die Terpenatur dieser Säure in den Sinn gekommen wäre. Diese Arbeit wurde aus äusseren Gründen erst 12 Jahre später publiziert⁵².

Die *zweite Periode* der Isoprenregel, in der diese Bezeichnung erst geprägt wurde, reicht von 1921–1953. Damals wurde die systematische Konstitutionsaufklärung der Sesquiterpene⁴ und der Diterpene⁵, etwas später auch der Triterpene⁶ aufgenommen, wobei sich die konsequent als Arbeitshypothese angenommene Isoprenregel an zahlreichen Beispielen bewährte und bald allgemeine Anerkennung und Anwendung fand. Der Schreibende hatte aber trotzdem wiederholt darauf hingewiesen, dass die Isoprenregel kein Gesetz sei, sondern in jedem neuen Fall einer Konstitutionsaufklärung stets wieder auf die Probe gestellt wird⁷.

Und tatsächlich tauchte 1937 die erste Ausnahme von der empirischen Isoprenregel auf, als Simonsen⁸ für Eremophilon die Formel (1, II)* bewiesen hatte. Robinson erklärte hypothetisch die Bildung von (1, II) durch Umlagerung der in der Pflanze vielleicht zuerst vorliegenden normalen Terpenverbindung (1, I).

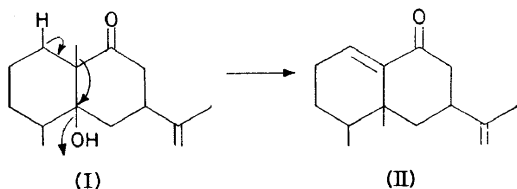


Abb. 1. Hypothetischer Mechanismus der Biogenese des Eremophilons

Erst 1952 begegnete man in Zürich, dank besonders den Bemühungen von Jeger, der zweiten Ausnahme als die Konstitutionsaufklärung des Lanosterols (2, II) beendet war⁹. Diese Ausnahme blieb nicht ein kurioser Einzelfall, wie bei Eremophilon, sondern gestaltete sich zum Ausgangspunkt für die Rationalisierung der Biogenese der Terpene und der Steroide.

Woodward und Bloch¹⁰ erkannten, dass sich die Biogenese des Cholesterols (2, III) (ein Terpenoid!) aus Squalen (2, I), —die schon 1926 Channon¹¹ auf Grund biochemischer Experimente erwogen hatte—bei Annahme von Lanosterol (2, II) (ein Steroidtriterpen) als Zwischenstufe gut erklären liesse. Diese Annahme konnte von Bloch¹² und anderen Arbeitsgruppen, besonders jener von Popják und Cornforth¹³, im Verlaufe weniger Jahre eindeutig bewiesen werden. Dabei bediente man sich—im Bestreben die Provenienz eines jeden einzelnen Kohlenstoffatoms kennen zu lernen—in zwei verschiedenen Versuchsreihen als Ausgangsmaterial der Essigsäure, die in der einen Versuchsreihe mit ¹⁴C in der Methylgruppe, in der anderen Versuchsreihe mit ¹⁴C in der Carboxylgruppe markiert war.

In der Formelgruppe 2 bedeuten die kleinen Quadrate das betreffenden Kohlenstoffatome aus der Methylgruppe der Essigsäure herühren, in der selbstverständlichen Annahme, dass die aus der Essigsäure

* In dieser Abhandlung sind die Formeln in Formelgruppen zusammengefasst, die fortlaufend mit arabischen Zahlen numeriert sind. Die Formeln in jeder Formelgruppe sind mit römischen Zahlen bezeichnet. Bei der Umzeichnung meiner Formel-Zeichnungen sind leider zahlreiche Ungeschicklichkeiten unterlaufen, die ich zu entschuldigen bitte.

entstandene—damals noch nicht als Substanz bekannte—“Isopreneinheit” (isoprene unit) eine Markierung aufweisen muss, die aus der Formel (2, I) ersichtlich ist.

Die zwölf bei allen drei Formeln (2, I–III) nicht markierten Stellen bedeuten Herkunft von der Carboxylgruppe der Essigsäure. Beim Cholesterol (2, III) wurde durch Abbau die Herkunft aller 27 Kohlenstoffatome ermittelt und die nach der Squalen-Lanosterol Hypothese angenommene Markierung

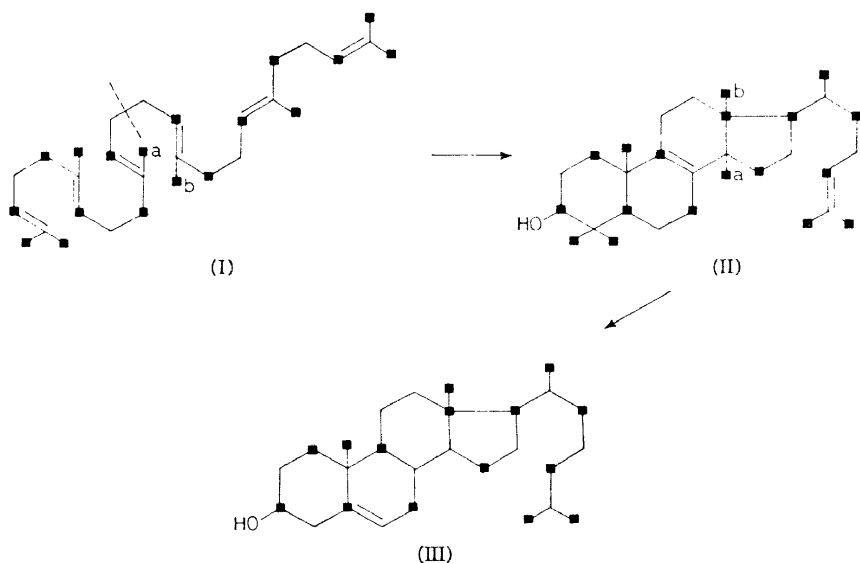


Abb. 2. Lanosterol als Zwischenprodukt der Biogenese des Cholesterols aus Squalen

restlos bestätigt. Für Squalen (2, I) sind die Markierungen entsprechend seiner Biogenese aus zwei Farnesylresten (3, I → II → IV) eingezeichnet, ebenso bei Lanosterol (2, II), entsprechend der angenommenen Cyclisierung (2, I → II) und Wanderung der mit a und b bezeichneten mittleren Methylgruppen des Squalens*. Der Beweis, dass Cholesterol wirklich aus Squalen *via* Lanosterol entstanden ist, ist als einwandfrei zu betrachten, da biogenetisch markiertes Squalen wie auch Lanosterol in besonderen Versuchen in markiertes Cholesterol übergeführt werden konnten.

In einem Vortrag¹⁴ “The Isoprene Rule and the Biogenesis of Terpenic Compounds” wurde 1953 darauf hingewiesen, dass auch die damals bekannten drei Untergruppen der pentacyclischen Triterpene, repräsentiert durch ihre Hauptvertreter Lupeol, α -Amyrin und β -Amyrin, mechanistisch aus Squalen abgeleitet werden können. Im gleichen Vortrag konnte an Hand zahlreicher Beispiele aus den anderen Terpengruppen, den Monoterpenen, Sesquiterpenen und Diterpenen, die “empirische” durch die

* Über den Mechanismus der Cyclisierung und der Wanderung der Methylgruppen siehe Formelgruppe 8 und 9.

“biogenetische” Isoprenregel ersetzt werden, die nicht nur die Struktur der Terpene definiert, sondern gleichzeitig auch deren Biogenese arbeits-hypothetisch beschreibt. Damit war die *dritte Periode* der Isoprenregel eingeleitet.

Da wenige Jahre später die biogenetischen Bausteine der Terpene, die “Isopreneinheit” (isoprene unit) als Δ^3 - und Δ^2 -Isopentenyl-pyrophosphat (5, IV und V) erkannt wurden, kann man die *biogenetische Isoprenregel* (3, I–V) folgendermassen definieren:

“Bei der Biogenese der Terpene entstehen aus Isopreneinheiten vom Typus des Δ^3 - und Δ^2 -Isopentenyl-pyrophosphats zuerst die aliphatischen Vorstufen vom Typus des Geraniols, Farnesols, Geranylgeraniols, Squalens, Lycopersens und anderer Isoprenologen, die cyclisiert, umgelagert und weiter umgeformt werden können.”

Unter der Bezeichnung “vom Typus des” soll verstanden werden, dass ausser den in der Formelgruppe 3 angeführten all-*trans* Formen auch gewisse *cis*-Formen in Frage kommen, besonders bei den Alkoholen. Es könnten aber auch die isomeren tertiären Alkohole, die mit den primären Alkoholen im Allyl-Gleichgewicht stehen, wie Linalool, Nerolidol, Geranyl-linalool beteiligt sein. Ähnlich könnte als Isopreneinheit auch ein tertiäres Isopentenol auftreten (z.B. 24, I).

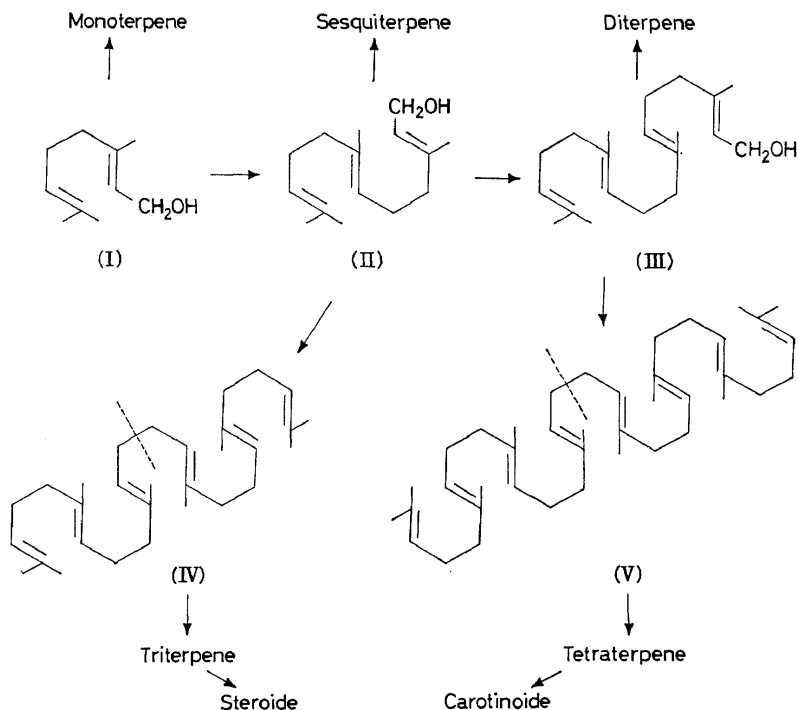


Abb. 3. Aliphatische Terpene als Ausgangsstufen nach der biogenetischen Isoprenregel

I: Geraniol III: Geranylgeraniol V: Lycopersens
 II: Farnesol IV: Squalen

BIOGENESE UND CHEMIE DER TERPENE

Alle Terpengerüste, die ohne "Umlagerungen und andere Umformungen" entstehen, folgen selbstverständlich der empirischen Isoprenregel. Sogar zahlreiche Terpengerüste, welche die nach der biogenetischen Isoprenregel erlaubten Umlagerungen und anderen Umformungen durchgemacht haben (wie z.B. Lupeol, α - und β -Amyrin, Taraxerol, Abietinsäure und viele andere), folgen gleichfalls der empirischen Regel, da die Umlagerungen oft zu Kohlenstoffgerüsten führen, die aus Isopreneinheiten zusammengesetzt sind. Wäre dies nicht der Fall, so hätte die empirische Isoprenregel nicht so lange allein herrschend sein und einen ab und zu falschen Weg der Biogenese vortäuschen können. Andere durch Umlagerung und Umformung entstandene Terpene (wie z.B. Eremophilon, Lanosterol, Grayanotoxin, Friedelin, Dammarenolsäure und andere), folgen dagegen der empirischen Regel *nicht*. Es sind dies die Terpene, die zur Aufstellung der biogenetischen Isoprenregel geführt haben und führen mussten. Während fünfzehn Jahre vergingen bis die Struktur des zweiten Vertreters dieser Sondergruppe aufgeklärt war, folgten sich während der letzten 10 Jahre weitere Zugehörige alljährlich Schlag auf Schlag. Diese Tatsache ist nicht so sehr der Regel zu verdanken—obwohl sie gute Dienste bei der Konstitutionsaufklärung leisten kann—sondern war vielmehr bedingt durch die Koinzidenz der Einführung und Bewährung neuer, besonders physikalischer Methoden in die organisch-chemische Arbeitstechnik. Dadurch gelingt heute die Aufklärung gewisser kompliziert gebauter polycyclischer Naturverbindungen in einem Bruchteil der Zeit, die früher dafür notwendig gewesen wäre.

BIOGENESE DES MEVALOLACTONS UND DER EIGENTLICHEN ISOPRENBAUSTEINE

Nachdem zahlreiche Bemühungen auf synthetischem Wege eine Verbindung ausfindig zu machen, die in biogenetischen Versuchen als "Isoprenbaustein" (= "Isopreneinheit", = "aktives Isopren") dienen kann, keinen Erfolg hatten, gelang des Rätsels Lösung 1956 in der Arbeitsgruppe von Folkers^{15, 16}, bei der Suche nach dem Wuchsstoff für einen Lactobacillus, wobei das (–) β -Hydroxy- β -methyl- δ -valerolacton (4, IV) entdeckt wurde, das wegen seiner grossen Bedeutung als *Vorstufe der eigentlichen Isoprenbausteine* die abgekürzte Bezeichnung Mevalolacton erhielt.

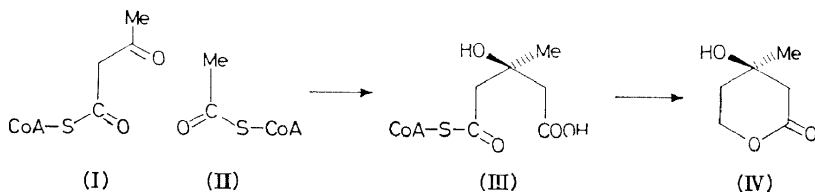


Abb. 4. Biogenese des Mevalolactons

Die Biosynthese des Mevalolactons (4, IV) verläuft auf einem Nebenwege der Biogenese normaler Fettsäuren. Unsere Kenntnisse über den enzymatischen Mechanismus dieser Synthese beruhen auf den Arbeiten verschiedener Arbeitsgruppen¹⁷⁻¹⁹ die hier aber nur in aller Kürze angedeutet werden können. Acetoacetyl-Coenzym A (4, I) wird mit Acetyl-Coenzym A

(4, II) kondensiert, wobei an der Seite des Acetats einseitige Verseifung eintritt und die Estersäure (4, III) entsteht. Die Estergruppe wird weiter zur primären Alkoholgruppe reduziert. Die absolute Konfiguration des so entstandenen (–)-Mevalolactons ist als R-Form bestimmt worden²⁰ (4, IV).

In der biogenetischen Praxis wird das synthetische 2-¹⁴C-Mevalolacton* verwendet, von dem aber nur die (–)-Form biologisch verwertet und quantitativ in Terpene eingebaut wird. Ausgehend von markiertem Mevalolacton ist meistens der Einbau von ¹⁴C wesentlich höher als ausgehend von Essigsäure. Die Organismen, die zum Terpenaufbau befähigt sind, können auch die rasche Umwandlung der (–)-Form in die eigentlichen Isoprenbausteine (5, IV und V) durchführen.

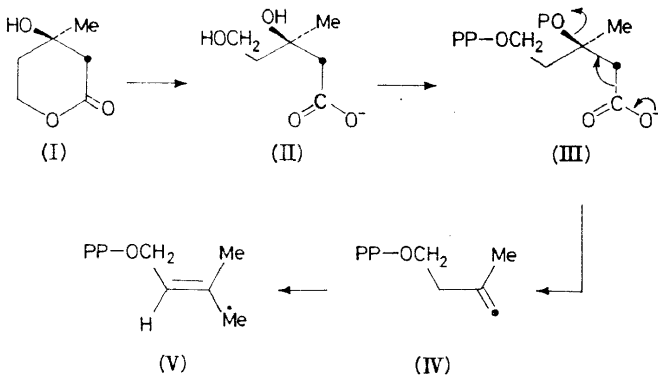


Abb. 5. Biogenese des Δ^2 - und des Δ^3 -Isopentenyl-pyrophosphat*

Das 2-¹⁴C-Mevalolacton (5, I) (im folgenden durch die übliche Abkürzung MVL bezeichnet) wird bei der Biogenese von Terpenen in Form des Mevalonats (5, II) ins Phosphat-pyrophosphat (5, III) umgewandelt, das durch Abspaltung von Kohlendioxyd und Phosphorsäure in den Isoprenbaustein Δ^3 -Isopentenyl-pyrophosphat (5, IV) übergeht. Daraus wird durch eine Isomerase der für besondere Zwecke benötigte zweite Isoprenbaustein, das γ,γ -Dimethyl-allyl-pyrophosphat [= Δ^2 -Isopentenyl-pyrophosphat (5, V)] bereitet. Diese beiden Pyrophosphate, die man als zwei Varianten des "aktiven Isoprens" bezeichnen kann, wurden auch synthetisch hergestellt und als solche für weitere Kondensationen verwendet²¹.

BIOGENESE DER VON DER BIOGENETISCHEN ISOPRENREGEL VORGESEHENEN ALIPHATISCHEN VORSTUFEN DER CYCLISCHEN TERPENE

An diesen biogenetischen Arbeiten sind die Arbeitsgruppen Bloch²², Cornforth-Popják²³, Grob²⁴ und Lynen²⁵ beteiligt. Es sollen hier nur kurz zusammenfassend die für uns wichtigsten Resultate angedeutet werden, ohne auf die vielen überaus interessanten Einzelheiten einzugehen.

* Von der Formelgruppe 5 an sind in den Formeln die vom 2-¹⁴C-MVL herrührenden radioaktiven Markierungen mit ● bezeichnet, falls keine anderen Angaben gemacht werden.

BIOGENESE UND CHEMIE DER TERPENE

In der Formelgruppe 6 ist der Mechanismus der Kopf-Schwanz-Kondensation der aktiven Isopreneinheiten zu isoprenologen aliphatischen Ketten angeführt. Um diese Kondensationskette einzuleiten ist das γ,γ -Dimethylallyl-pyrophosphat (6, I = 5, V) notwendig, da es als Allylderivat eine wesentlich reaktionsfähigere Pyrophosphatgruppe aufweist als (6, II = 5, IV). In der enzymatischen Kondensation reagiert beim (6, I) die ursprüngliche 5-CH₂-Gruppe des MVL mit der ursprünglichen 2-CH₂-Gruppe des MVL beim (6, II). Da im so entstandenen Geranylpyrophosphat (6, III) eine reaktionsfähige Allylgruppierung vorliegt, findet die Verlängerung der Kette zum Farnesol-pyrophosphat (6, IV) durch Kondensation mit (6, II)

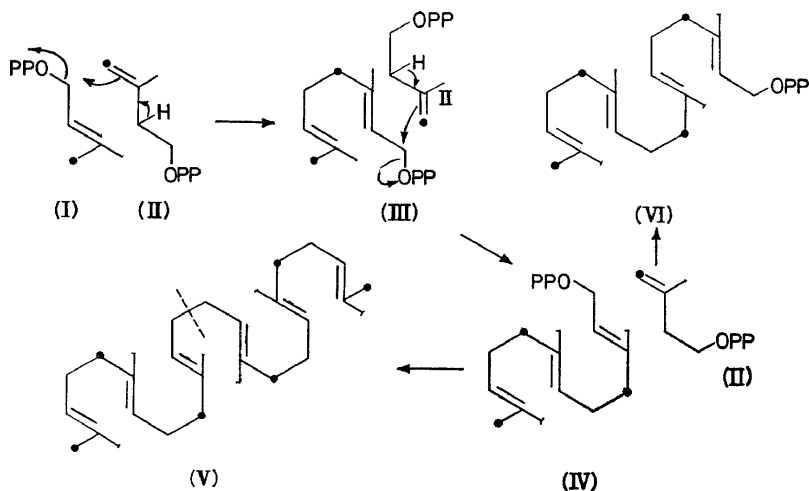


Abb. 6. Biogenese aliphatischer Terpene aus Δ^2 - und Δ^3 -Isopentenyl-pyrophosphat

statt. Da fast alle mit der Untersuchung dieser Reaktionen beschäftigten Arbeitsgruppen die Biogenese des Squalens (6, V) zum Ziele hatten und daher Enzymssysteme benützten, die nicht fähig sind die weitere Verlängerung der Kette nach dem Kopf-Schwanz-Prinzip zu katalysieren, ist mit Ausnahme des Geranylgeraniols²⁴ (6, VI) die Biogenese höherer Isoprenologen, wie sie z.B. in den Ubichinonen enthalten sind, noch eine Aufgabe künftiger Forschung.

Ausgehend von 2-¹⁴C-MVL (5, I) wurde die biogenetische Reihe bis zum Squalen (6, I-V) durchgeführt, das zur Kontrolle ozonisiert wurde. Die Verteilung der Radioaktivität in den Spaltprodukten des Ozonids entsprach der Erwartung: die aus den mittleren vier Kohlenstoffatomen entstandene Bernsteinsäure war inaktiv, das Aceton enthielt 1/3 und die Lävulinsäure 2/3 der totalen Aktivität^{23, 26}. Die Aktivität war bei der Lävulinsäure auf die β -Methylengruppe beschränkt, die endständige Methylgruppe der Lävulinsäure war dagegen frei von Aktivität, wodurch der oben geschilderte Mechanismus der Kondensation zwischen (6, I) und (6, II) bewiesen wird.

Während die Kondensationen bis zum Farnesol-pyrophosphat kein Reduktionsmittel benötigen*, ist für die Verdoppelung des Farnesylrestes

* Dies gibt wohl für alle Kopf-Schwanz Kondensationen (z.B. \rightarrow 6, VI).

(Schwanz-Schwanz-Kondensation!) zu Squalen (6, V) die Anwesenheit der reduzierten Stufe von Triphosphopyridinnucleotid (TPNH) unbedingt erforderlich.

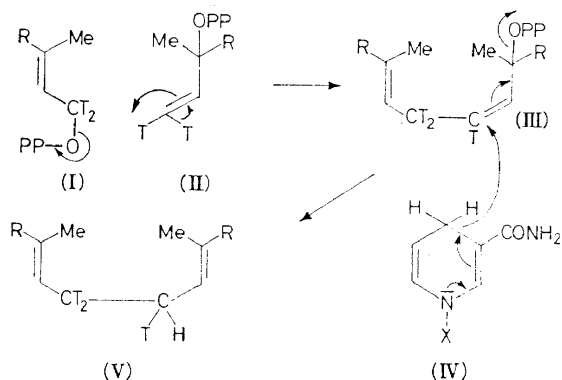


Abb. 7. Mechanismus der Biogenese des Squalens
 I: Farnesol-PP III: Zwischenstufe V: Squalen
 II: Nerolidol-PP IV: TPNH

Der Arbeitsgruppe Cornforth-Popják²⁷ gelang die Aufklärung der Rolle, die das TPNH bei der Verdoppelung der Farnesylreste spielt. Die Reaktionsreihe (6, I–6, V) wurde mit dem synthetisch hergestellten 5- T_2 -MVL durchgeführt. Die Isoprenbausteine (6, I und II) enthalten daher die Gruppierung CT_2 . Es wird so ein Squalen erhalten (7, V), in welchem alle ursprünglichen CT_2 -Gruppen im biosynthetisierten Squalen intakt waren bis auf eine der zwei Methylengruppen in der Mitte der Kette, in welcher ein Atom Tritium durch Wasserstoff ausgetauscht war. Der Umstand, dass die Methylengruppen, die bei den Kondensationen (6, I–IV) beteiligt sind, keinen Austausch von Tritium erleiden, ist ein weiterer Beweis für den reinen Additionsmechanismus der Kondensationen bis zum Farnesol. Um eindeutig zu entscheiden, woher das in der Mitte der Squalenkette von aussen eingetretene Wasserstoffatom (7, V) kommt, wurde die Biogenese des Squalens aus nicht mit Tritium markierten Ausgangsstufen (6, I–IV) in Gegenwart von TPNT (worin das T rechts Tritium bedeutet) durchgeführt. Nach der Ozonisation des erhaltenen Squalens enthielt die aus der Mitte des Moleküls stammende Bernsteinsäure fast 1 Atom Tritium. Aus diesen Resultaten kann gefolgert werden, dass im Gegensatz zur Kopf-Schwanz-Kondensation, die tatsächlich auf einer reinen Additionsreaktion beruht, die Schwanz-Schwanz-Kondensation eine kompliziertere unsymmetrisch verlaufende Kondensation sein muss. Es wurde dafür die in der Formelgruppe 7 angegebene Erklärung vorgeschlagen, wobei (7, V) das Squalen mit dem einen durch TPNH ausgetauschten Tritium vorstellt.

THEORIE UND EXPERIMENT BEI DER BIOGENESE TETRACYCLISCHER UND PENTACYCLISCHER TRITERPENE

In der ersten Fassung¹⁴ der biogenetischen Isoprenregel von 1953 wurden stereochemische Fragestellungen nur am Rande gestreift. Aber schon 1955

konnten²⁸, besonders dank Bemühungen von Eschenmoser und Arigoni, Mechanismen der Biogenese aus *all-trans* Squalen (6, V) angegeben werden, die eindeutig nicht nur die Struktur, sondern auch die Konfiguration aller damals bekannten (auch der inzwischen neu dazugekommenen) tetracyclischen und pentacyclischen Triterpene abzuleiten gestatten. Selbstverständlich war die Struktur und Konfiguration aller dieser Triterpene vorher nach üblichen Methoden der Konstitutionsaufklärung bestimmt worden.

Wenn man bedenkt, dass sich von den Strukturen einzelner Triterpene, wie beim Lupeol und α -Amyrin, 1024 Stereoisomere (512 Razemate) ableiten lassen, so müssen an die Stereospezifität (*a*) der Cyclisation des Squalens und (*b*) der Umlagerungsreaktionen, die der Cyclisation folgen, genaue Anforderungen gestellt werden. Wegen vieler Einzelheiten muss auf die Originalliteratur und Übersichtsreferate verwiesen werden (deutsch^{28, 29}, englisch^{1, 14, 30, 31, 31a}, französisch³²). Hier können nur kurze Andeutungen gemacht werden.

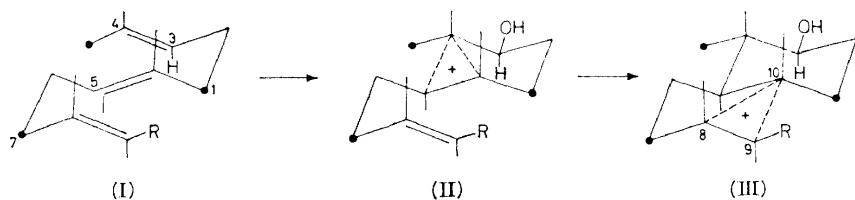


Abb. 8. Mechanismus der stereospezifischen Cyclisation des Squalens

(a) Stereospezifität der Cyclisierung

Eine Voraussetzung für die stereospezifische Cyclisation ist die *all-trans* Konfiguration des Squalens (das natürliche Squalen ist die *all-trans* Form³³), das durch das cyclisierende Enzym entweder in der Sesselform (8, I) oder der Bootform (= Wannenförmigkeit) gefaltet wird. Wird nun die Cyclisation des Ringes A durch Addition eines positiven Teilchens, z.B. das formal angenommene $(OH)^+$, an die Position 3 der endständigen Doppelbindung eingeleitet (8, I), so muss das entstandene Kation an der freien Drehbarkeit um die Bindung 3-4 verhindert werden. Diese Hinderung kann man dem cyclisierenden Enzym zumuten. In der Reaktionsmechanistik pflegt man die Behinderung der freien Drehbarkeit eines Kations durch Formulierung eines überbrückten Kations anzudeuten (8, II). Die so zustandegekommene Konformation des Zwischenzustandes des Ringes A ist ein Garant für den stereospezifischen Ringschluss: die Ebenen der beiden am Ringschluss beteiligten Doppelbindungen liegen annähernd parallel zueinander, und die beim Ringschluss zustandegekommenen neuen Bindungen (Bindung des Hydroxyls am C-3 und Ringbindung zwischen C-4 und C-5) befinden sich in einer Ebene, die senkrecht liegt zu den Ebenen der beiden ursprünglichen Doppelbindungen. Dieser Ringschluss wird daher als *antiplanare* Addition bezeichnet; früher hiess es *antiparallele* Addition, da die beim Ringschluss entstandenen Bindungen zueinander parallel liegen. Voraussetzung für den stereospezifischen Verlauf der weiteren Ringschlüsse des Squalens ist die Forderung, dass das in der Formel (8, II) angedeutete

überbrückte Kation fließend in das überbrückte Kation (8, III) übergeht, das vom Enzymsystem je nach der gewünschten Konfiguration des Cyclisierungsproduktes entweder in Sesselform (wie in 8, I-III) oder aber in Bootform gefaltet wird. Die Stereospezifität einer Reihe von Cyclisierungsreaktionen ist nur dann gewährleistet, wenn diese Reaktionen nach dem Non-stop Prinzip (= synchron) vor sich gehen, d.h. wenn vor dem Erreichen des gewünschten Endproduktes kein stabiles Zwischenprodukt auftritt, sei es durch Abstossung eines Protons oder Absättigung der positiven Ladung durch Anlagerung eines negativen Teilchens.

(b) Stereospezifität der Umlagerungen

Ringumlagerungen (Ringerweiterung, Ringverengung) bzw. Umlagerungen durch Wanderung von Substituenten, insbesondere von Methylgruppen, die häufig mit der Biogenese von Terpenen gekoppelt sind, können nur dann stereospezifisch verlaufen, wenn sie gleichfalls nach dem Non-stop Prinzip vor sich gehen, wie unten unter (iii) ausgeführt wird.

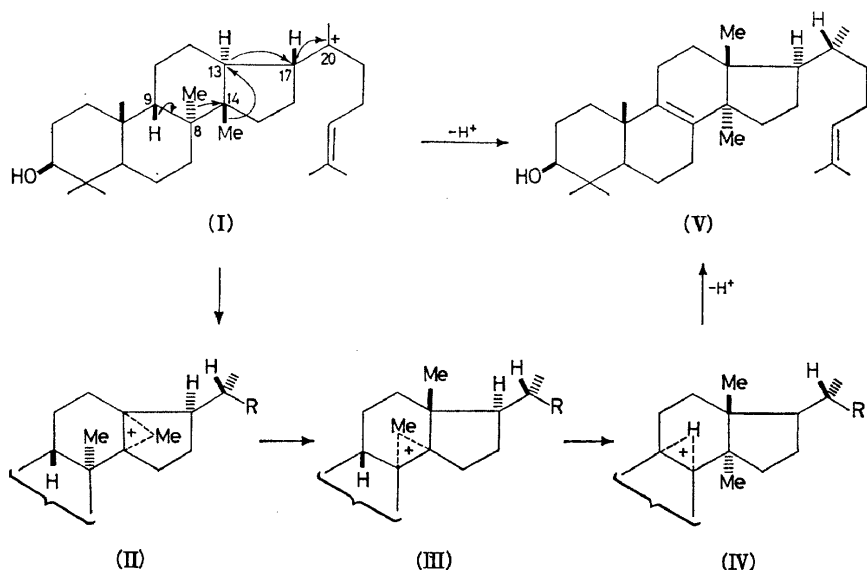


Abb. 9. Mechanismus der stereospezifischen Wanderung der Methylgruppen bei der Biogenese des Lanosterols

Die 1955 zur Erklärung der Stereospezifität gemachten Annahmen konnten von Bloch bei seinen biogenetischen Experimenten zur Umwandlung des Squalens *via* Lanosterol in Cholesterol (Formelgruppe 2) auf sichere Füße gestellt werden:

(i) Die oxydative Einleitung der Cyclisierung, deren genauer Mechanismus auch heute noch unbekannt ist, wird bewiesen durch die Beobachtung von Bloch³⁴, dass unter anaeroben Bedingungen das cyclisierende Enzymsystem Squalen nicht cyclisieren kann. Wird dagegen die Cyclisierung in Anwesenheit von $^{18}\text{O}_2$ durchgeführt, so ist nachher ^{18}O in der 3-Hydroxylgruppe

anwesend. Fügt man nur $H_2^{18}O$ dem Cyclisierungsansatz zzu, so tritt kein ^{18}O ins Hydroxyl ein.

(ii) Die Annahme des Non-stop Prinzips wird gestützt durch die Feststellung von Bloch³⁴, dass bei Anwesenheit von Deuteriumoxyd in biogenetischen Experimenten mit Squalen kein Deuterium im Endprodukt nachweisbar ist.

(iii) Sowohl von Bloch³⁵ wie auch von Cornforth³⁶ wurde auf verschiedenen Wegen, deren Wiedergabe hier nicht möglich ist, der eindeutige Beweis erbracht, dass die Wanderungen der zwei Methylgruppen (9, II–IV) bei der Biogenese des Lanosterols (9, I–9, V) tatsächlich 1,2-Wanderungen sind, wie in der schon oben zitierten Abhandlung²⁸ "Eine stereochemische Interpretation der biogenetischen Isoprenregel" gefordert wird. Diese Wanderung der Methylgruppen ist ja nur ein Teil der nach dem Non-stop Prinzip verlaufenden fünf Elektronenverschiebungen (9, I → 9, V).

Eburicolsäure (10, I)

Diese 31 Kohlenstoffatome enthaltende Homotriterpensäure ist ein Derivat des Lanosterols, in welchem (a) ein Methyl zum Carboxyl oxydiert ist, (b) in der langen Seitenkette ein Kohlenstoffatom eingebaut ist (an der gleichen Stelle der langen Seitenkette wie das 28. Kohlenstoffatom bei Ergosterol), und (c) die ursprüngliche Doppelbindung in Richtung des neuen Kohlenstoffatoms gewandert ist. Die Biogenese von (10, I) war von Interesse (a') um zu sehen ob auch bei anderen Triterpenderivaten als Lanosterol die Biogenese nach der Squalenregel vor sich geht, und ob auch andere Organismen als Hefe und tierisches Gewebe nach dem gleichen

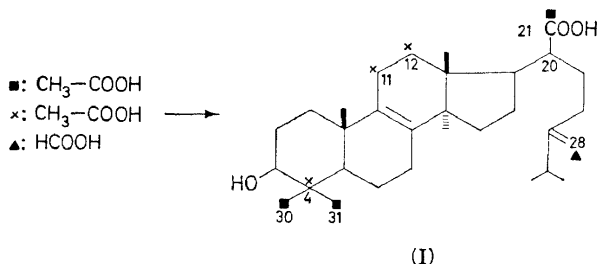


Abb. 10. Biogenese der Eburicolsäure

Schema arbeiten, und (b') ob sich das 28. Kohlenstoffatom von (10, I) aus Ameisensäure ableitet in Analogie zum 28. Kohlenstoff des Ergosterols³⁷. Diese beiden Fragen konnten bestätigt werden. Gearbeitet wurde in Gegenwart des *Polyporus sulfureus* in drei Parallelversuchen³⁸.

(a) Ausgehend von 2-¹⁴C-Acetat gewonnene (10, I) war erwartungsgemäss in den mit ■ bezeichneten Positionen markiert (vgl. dazu 2, II).

(b) Ausgehend von 1-¹⁴C-Acetat waren die mit x bezeichneten Positionen markiert [entsprechend (2, II) wo die nicht bezeichneten Positionen vom Carboxyl des Acetats herrühren].

(c) Ausgehend von ¹⁴C-Ameisensäure war das neu eingetretene Kohlenstoffatom (28) markiert. Andere Positionen als die in (10, I) angezeichneten wurden nicht geprüft.

BIOGENETISCHE MECHANISMEN UND EXPERIMENTE BEI PENTACYCLISCHEN TRITERPENEN PFLANZLICHEN URSPRUNGS

Die zur Biogenese des Squalens nötigen Enzymsysteme kommen nicht nur im tierischen Organismus und bei Mikroorganismen vor, sondern sicher auch bei Pflanzen. Schon die Tatsache, dass sich Struktur und Konfiguration aller pflanzlichen Triterpene nach einer einheitlichen Konzeption von Squalen ableiten lässt, spricht für das Vorkommen der zur Squalensynthese befähigten Enzyme auch im Pflanzenreich. Squalen konnte markiertes tatsächlich schon aus pflanzlichem Gewebe isoliert werden³⁹. Bei den zwei in diesem Kapitel beschriebenen biogenetischen Versuchen konnte Squalen tatsächlich als Substanz isoliert* werden, und seine Bildung aus 2-¹⁴C-MVL konnte man in letzter Zeit auch in anderen Pflanzen beobachten⁴⁰.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass biogenetische Versuche auf dem Terpenegebiet bei Pflanzen im allgemeinen mühsamer sind als bei den geduldigeren Mikroorganismen und bei Arbeiten mit tierischem Material. Es ist daher nicht verwunderlich, dass eingehendere biogenetische Versuche auf dem pflanzlichen Terpenegebiet bisher recht selten geblieben sind. So kommt es, dass die zwei Versuchsreihen, die in diesem Abschnitt beschrieben werden, die ersten umfangreicheren biogenetischen Untersuchungen auf pflanzlichem Gebiet sind, nicht nur in der Triterpen- sondern auch in der Diterpen- und Sesquiterpen-Reihe.

Diese beiden Versuchsreihen wurden unternommen zur Beantwortung einer subtilen stereochemischen Frage. Bei der Besprechung der in der Formelgruppe 6 beschriebenen Biogenese des Squalens wurde betont, dass die Resultate der Ozonisierung des aus 2-¹⁴C-MVL biosynthetisierten Squalens (6, V) den einwandfreien Beweis lieferten für die spezifische Lokalisierung der Markierung in den vier Methylengruppen die vom Isopentenylpyrophosphat (6, II) herrühren. Da aber die beiden Enden des Squalens biogenetisch vom Dimethylallyl-pyrophosphat (6, I) stammen, erhebt sich die Frage, ob beim Übergang von (6, II) in (6, I) die ganze Markierung am ursprünglichen Kohlenstoffatom bleibt oder aber auf beide Methylgruppen von (6, I) verschmiert wird. Frühere Versuche bei Monoterpenen sprachen für die erste Alternative. Es sei daran erinnert, dass bei der Diskussion der stereospezifischen Cyclisierung des Squalens (Formelgruppe 8) das Verbot der freien Drehbarkeit der (CH₃)₂C⁺-Gruppierung um die Bindung 3-4 aufgestellt wurde. Sollte also in (6, I) nur die eine Methylgruppe markiert sein, so müsste diese spezifische Markierung auch bei der stereospezifischen Cyclisierung zu pentacyclischen Triterpenen erhalten bleiben. Die gleiche Schlussfolgerung könnte man auch für das andere Ende (Ring E) pentacyclischer Triterpene ziehen.

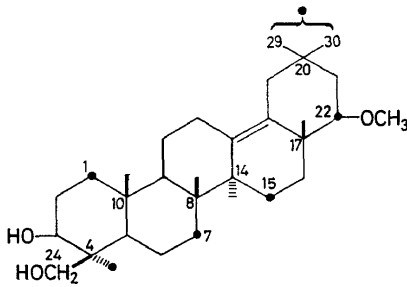
Zur endgültigen Klärung dieser plausiblen Annahmen sind natürlich nur solche Derivate pentacyclischer Triterpene geeignet, bei denen die eine der *gem*-Dimethylgruppen sich strukturell von der anderen unterscheidet. Für die Untersuchung im Ringe A wurden die Sojasapogenole, besonders das Sojasapogenol D (11, I) gewählt, für den Ring E das Lupeol (11, IIa)

* Unveröffentlichte Versuche von P. Nägeli und D. Arigoni.

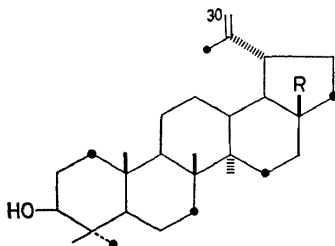
und seine sauerstoffreicheren Derivate Betulin und Betulinsäure (11, IIb und IIc).

Sojasapogenol D

Zur Biogenese dieses 22-Methoxy-24-hydroxy- δ -amyris (11, I) liess man Sojabohnen in Gegenwart von 2- 14 C-MVL keimen⁴¹. Die aus den Keimlingen isolierte Phytosterin-Fraktion und die Sojasapogenol-Fraktion wiesen annähernd die gleiche spezifische Aktivität auf. Die CH_2OH -Gruppe von (11, I) war frei von Aktivität und das nach der Entfernung dieser Gruppe resultierende Norketon enthielt noch die totale Aktivität. Die Kohlenstoffatome 4, 8, 10, 14, 17 und 20 waren frei von Aktivität, da die Carboxylgruppe der nach Kuhn-Roth erhaltenen Essigsäure nicht radioaktiv war. Von der totalen Aktivität müssen 2/3 auf die vier CH_2 -Gruppen 1, 7, 15, 22 entfallen, der Rest auf die Methylgruppe 23 und eine der *gem*-Dimethylgruppen 29–30. Daraus folgt also eindeutig spezifische Markierung der Methylgruppe 23, sowie streng stereospezifische Cyclisation zum Ring A in Sessel-Faltung (8, I–III). Die markierte Methylgruppe im Ringe A ist diejenige, die im Squalen *cis*-ständig ist zum Wasserstoff am C-3 der Doppelbindung (8, I). Über die Verteilung der Aktivität in den Positionen 29–30 ist keine Aussage möglich.



(I)



- (II a) R = CH_3
 (II b) R = CH_2OH
 (II c) R = COOH

Abb. 11. Biogenese der pflanzlichen Triterpene der Sojasapogenol und der Lupeol-Gruppe

Lupeol, Betulin, Betulinsäure (11, II a–c)

Zur Prüfung, ob auch die Cyclisierung am anderen Ende des Squalens so stereospezifisch verläuft, wie im Ringe A, wurde das Gemisch dieser

drei Triterpene in der Pflanze *Menyanthes trifoliata* aus 2-¹⁴C-MVL biosynthetisiert⁴². Die im Ringe E des Lupeol-Typus gebundene Isopropenylgruppe stammt aus einer der endständigen Isopropylidengruppen des Squalens. In jedem der drei Triterpene wurde die Isopropenylgruppe mit Osmiumtetroxyd und Bleitetraacetat zu Formaldehyd und dem entsprechenden Norketon oxydiert. Der Formaldehyd war in allen drei Fällen frei von Radioaktivität. Auch das Methyl der Acetylgruppe des Norketons wurde in drei Stufen zu Formaldehyd abgebaut: (a) Oxydation des Methyls neben der Ketogruppe mit Seldioxid zu einer Aldehydgruppe, (b) Reduktion des erhaltenen Ketoaldehyds mit Natriumborhydrid zum Glykol, (c) Oxydation desselben mit Bleitetraacetat. Der so erhaltene Formaldehyd aus allen drei Triterpenen enthielt, wie zu erwarten war 1/6 der totalen Aktivität.

Diese Resultate beweisen nicht nur den stereospezifischen Verlauf der Cyclisation im Ringe E, sondern auch der Umlagerungen die sich nach dem Non-stop Prinzip direkt an die Cyclisation anschliessen.

BIOGENETISCHE MECHANISMEN UND EXPERIMENTE BEI DITERPENEN PILZLICHEN URSPRUNGS

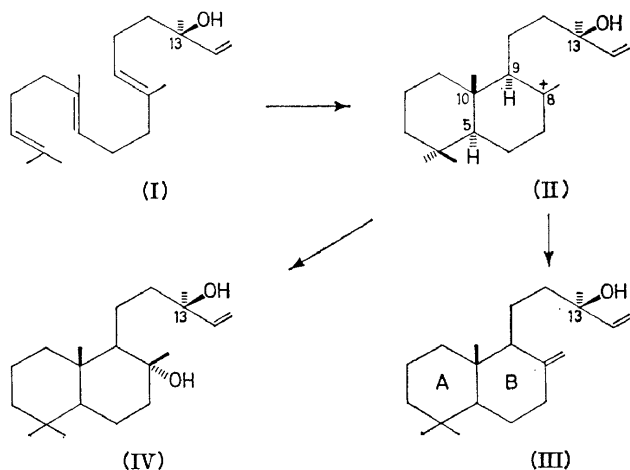


Abb. 12. Mechanismus der Cyclisation des Geranyl-linalools zu Manool

Die zwei tricyclischen Diterpene, Rosenonolacton (13, II) und Mutilin (16, IV), sowie das tetracyclische Norditerpen Gibberellinsäure (15, V), deren Biogenese eingehender untersucht wurde, sind Stoffwechselprodukte von Pilzen. Sie lassen sich nach der biogenetischen Isoprenregel ausgehend vom Geranyl-geraniol oder formal noch einfacher vom Geranyl-linalool ableiten. Im Gegensatz zur Umwandlung des all-*trans* Squalens in tetra- und pentacyclische Triterpene, wobei die stereospezifische Non-stop Cyclisation direkt zu tetra- oder pentacyclischen Kationen führt [vergl. z.B. (9, I)], bleibt die stereospezifische Non-stop Cyclisierung des all-*trans* Geranyl-linalool (12, I) schon beim bicyclischen Kation (12, II) stehen. Da letzteres

nicht direkt in ein überbrücktes Kation übergehen kann wird es in der Natur oft zu einem bicyclischen Endprodukt stabilisiert. Es sind verschiedene derart abgeleitete bicyclische Diterpene bekannt geworden: durch Absättigung mit einer Hydroxylgruppe entsteht aus (12, II) das Sclareol (12, IV), unter Abstossung eines Protons entsteht das Manool (12, III). Auch die Agathendisäure und andere bicyclische Diterpene leiten sich vom Kation (12, II) ab. Bis zu diesem Kation und den genannten Endprodukten führt die Cyclisierung, wie bei der Bildung der Ringe A und B der Triterpene, zu einer anti-*trans* Konfiguration der Substituenten in 5, 10 und 9.

Weitere Umlagerungen und Cyclisierungen, ausgehend vom Kation (12, II) oder von dem Endprodukt (12, III) führen zu verschiedenen tricyclischen Naturverbindungen. Die Biogenese von drei derselben, die oben genannt sind, ist untersucht worden und soll hier besprochen werden.

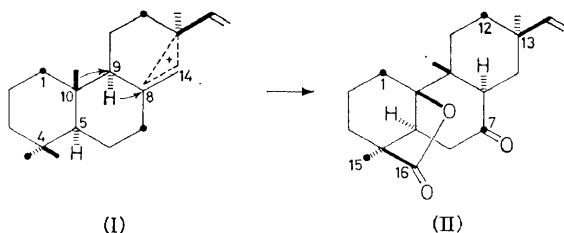


Abb. 13. Mechanismus der Biogenese des Rosenonolactons

Rosenonolacton (13, II)

Die Biogenese des vom Pilz *Trichotecium roseum* L. produzierten (13, II) kann vom Manool (12, III) abgeleitet werden. Der Anstoss zur Cyclisierung des Ringes C geht von der Hydroxylgruppe aus, wobei das überbrückte Kation (13, I) entstehen kann, dessen Absättigung in unserem Falle zu einigen Elektronentransporten führt, die über überbrückte Kationen stereospezifisch verlaufen können. Dabei wandert die Methylgruppe von 10 nach 9, eine Hydroxylgruppe besetzt die Lücke in 10, und nach Oxydation eines Methyls und einer Methylengruppe ist man bei Rosenonolacton (13, II)* gelangt. Zur Prüfung solcher Überlegungen wurde in zwei Laboratorien^{43, 44} aus 2-¹⁴C-MVL markiertes (13, II) synthetisiert, das nach der biogenetischen Isoprenregel in den Positionen 1, 7, 12 und 15 markiert sein sollte. Die von beiden Arbeitsgruppen erhaltenen Resultate stehen in vollem Einklang mit der angenommenen Ableitung.

Es seien hier einige besonders typische Abbaureaktionen des markierten (13, II) kurz angedeutet⁴⁴. Das Dihydro-rosenonolacton wurde in die ungesättigte Carbonsäure (14, I) übergeführt und daraus Kohlendioxyd (C-16) abgespalten, das frei von Radioaktivität war, während der Rest des Moleküls (14, V) noch die ganze Aktivität enthielt. Durch Oxydation des Dihydrorosenonolactons mit Kaliumpermanganat wird der Ring B zu (14, II) geöffnet. Diese Ketolactonsäure spaltet beim Erhitzen Kohlendioxyd ab, das 1/4, der zurückbleibende Rest dagegen 3/4 der totalen Aktivität enthielt. Die Position 7 ist also markiert. Die Ketolactonsäure

* Die Konfiguration am C-13 ist nach einer Privatmitteilung von D. Arigoni sehr wahrscheinlich die in der Formel (12, II) angegebene.

zerfällt mit Alkali in (14, III) und (14, IV). Die Ketodicarbonsäure (14, III) (Ring A), die 3/4 der totalen Aktivität enthält, wurde nach Kuhn-Roth zu Essigsäure oxidiert: das Carboxyl (Position 4) dieser Essigsäure war frei von Aktivität, das Methyl (Position 15) dagegen enthielt 1/3 der totalen Aktivität von (14, III). Da die Umlagerungen und Umformungen, die vom (13, I) zu Rosenonolacton führen relativ einfach sind, kann mit sehr grosser Wahrscheinlichkeit auf die angenommenen Positionen 1 und 12 für die restlichen Markierungen geschlossen werden.

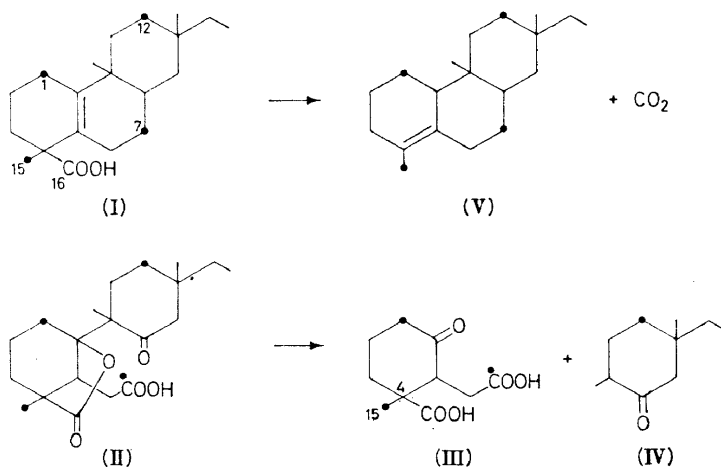


Abb. 14. Biogenetische Experimente bei Rosenonolacton

Gibberellinsäure (15, V)

Dieses 19-Kohlenstoffatome enthaltende Nor-diterpen wird vom Pilz *Gibberella fujikuroi* produziert. Die Biogenese kann vom Diterpen (–)-Kauren (15, IV) abgeleitet werden, das gleichfalls ein Metabolit des genannten Pilzes ist. Die Entstehung von (15, IV) könnte aus Geranyl-linalool über das Enantiomere (15, I) des Manools verlaufen, das wohl stereospezifisch über ein überbrücktes Kation [enantiomer zu (13, I)] zum tricyclischen Kation (15, II) und weiter zum tetracyclischen Kation (15, III) cyclisiert wird. Letzteres geht unter Abstossung eines Protons in das (15, IV) über. Von (15, IV) kommt man zu (15, V) durch Abstossung der Methylgruppe aus der Position 10, Verengung des Ringes B und schliesslich die aus der Formel (15, V) ersichtlichen Oxydationen sowie Einführung einer Doppelbindung in den Ring A.

Die in Gegenwart des genannten Pilzes aus 2-¹⁴C-MVL durchgeführte Biogenese⁴⁵ sollte ein Produkt mit den in (15, V) angegebenen Markierungen liefern. Die Markierungen der Methylgruppe-15 und des Carboxyls am Ring B sind eindeutig bewiesen, daher muss die Verengung des Ringes B so vor sich gehen, dass das ursprüngliche Ringglied 7 zu einem Substituenten (Carboxylgruppe) wird. Das Kohlenstoffatom 16 war frei von Radioaktivität. Die Markierungen in den Positionen 1 und 12 können mit

grosser Wahrscheinlichkeit indirekt gefolgt werden wie beim Rosenonolacton.

Da sowohl beim Rosenonolacton wie bei der Gibberellinsäure von den beiden Substituenten in der Position 4 nur der eine (die Methylgruppe 15) markiert ist, folgt eindeutig, dass die Non-stop Cyclisation der aliphatischen Vorstufe zum Ring A streng stereospezifisch vor sich gehen muss.

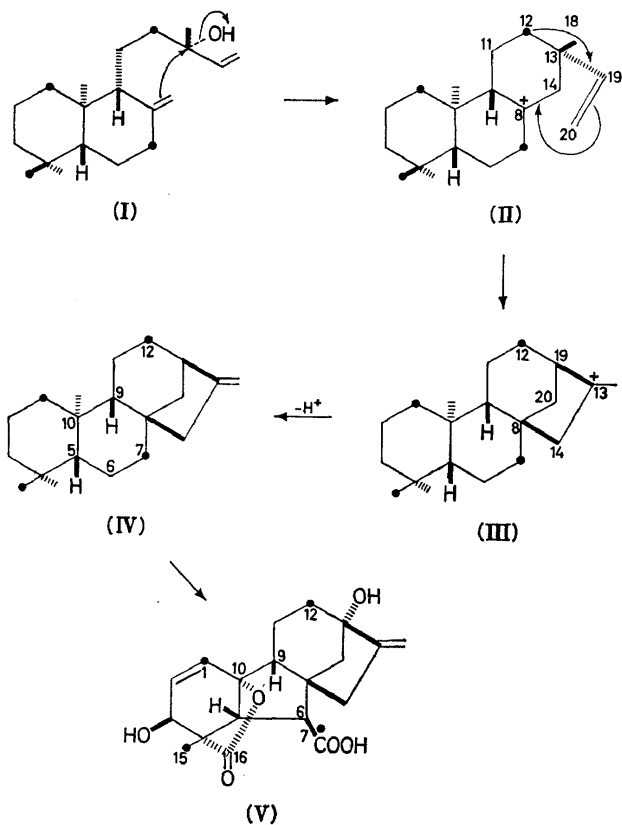


Abb. 15. Mechanismus und Experiment bei der Biogenese der Gibberellinsäure

Mutilin

Das vom Pilz *Pleurotus mutilus* erzeugte Pleuromutilin (16, IVa) ist der Glykolsäureester des Diterpens Mutilin (16, IV)*. Dass es sich bei (16, IV) um eine Verbindung handelt, die der biogenetischen Isoprenregel streng gehorcht, war nicht so leicht ersichtlich wie bei Rosenonolacton und Gibberellinsäure. Das ganz neuartige tricyclische Ringsystem, in welchem zum erstenmal bei Terpenen ein Achtring festgestellt wurde, der hier mit einem Fünfring und einem Sechsring kondensiert ist, lässt sich dennoch eindeutig

* Über die Konstitution und die biogenetische Ableitung (16, I-III) hat Arigoni in einem Vortrag im Mai 1962 in Napoli berichtet⁴⁶. Die Konstitutionsaufklärung ist ausführlich beschrieben in der 1961 im Druck erschienenen Dissertation von Naegeli⁴⁷.

von dem gleichen bicyclischen Kation (16, I) ableiten, dem wir in der Formelgruppe 12 begegnet sind. Bei der biogenetischen Ableitung von (16, IV) findet die Absättigung dieses Kations durch fünf stereospezifische in (16, I) angegebene Elektronentransporte statt, mit der die Verengung des Ringes A, die Wanderung der Methylgruppe von der Position 10 nach 9, und

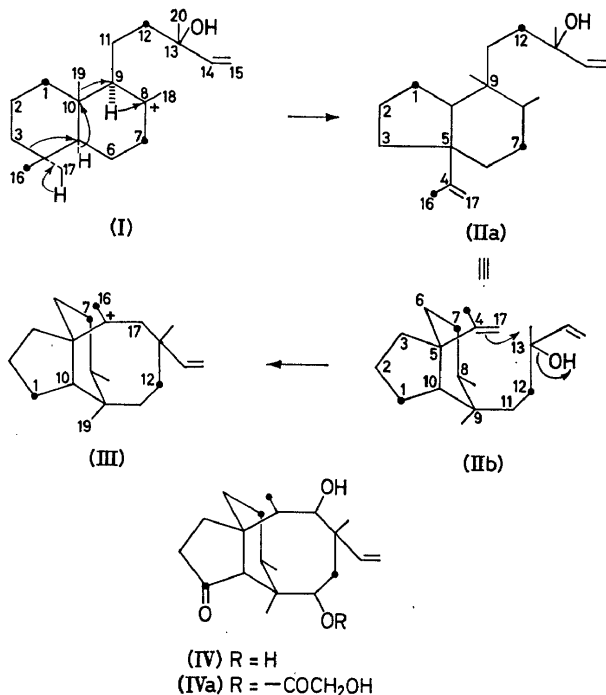


Abb. 16. Mechanismus der Biogenese des Mutilins

Entstehung einer Doppelbindung in 4–17 verbunden ist (16, IIa). Beim Formulieren von (16, IIa) in einer anderen Schreibweise (16, IIb) ist leicht ersichtlich, dass zwischen den Positionen 17 und 13 (nach Abstoßung des Hydroxyls aus der Position 13) die Cyclisation zum Achtring stattfinden kann (16, III). Das so abgeleitete Kation liefert nach Absättigung und Oxydation Mutilin (16, IV).

Diese elektronisch korrekte Ableitung des (16, IV) aus Geranyl-linalool (12, I) konnte durch zwei biogenetische Versuchsreihen* gestützt werden.

Biogenese von Mutilin aus 2-¹⁴C-Mevalolacton (17, I und II)

Das in Gegenwart des *Pleurotus mutilus* hergestellte Mutilin (17, I) sollte in den Positionen 1, 7, 12, 16 markiert sein, wie ein Blick auf die Formeln (16, I–III) zeigt.

(a) Die aus dem markierten (17, I) nach Kuhn–Roth bereitete Essigsäure

* D. Arigoni hat über die Biogenese in Milano im Symposium der Accademia dei Lincei Ende September 1962 vorgetragen (der Vortrag befindet sich im Druck).

enthält in der Methylgruppe 1/4 der totalen Aktivität des Mutilins. Von den Methylgruppen des Mutilins kann nur jene in der Position 16 markiert sein, da die andere der ursprünglichen *gem*-Dimethylgruppe der Ausgangsstufe (16, I) als Ringglied 17 im Mutilin enthalten ist. Aus der vollen Markierung des ursprünglichen Methyls 16 folgt nicht nur stereospezifischer Verlauf der Cyclisierung von Geranyl-linalool zu (16, I), sondern auch der Ringverengung zu (16, II) und der weiteren Cyclisierung zum tricyclischen Ringsystem (16, III).

(b) Umsetzung des Mutilins mit Phenyllithium und energische Oxydation des entstandenen Phenylcarbinols liefert Benzoësäure deren Carboxyl [Position 1 in (17, I)] 1/4 der totalen Aktivität enthält.

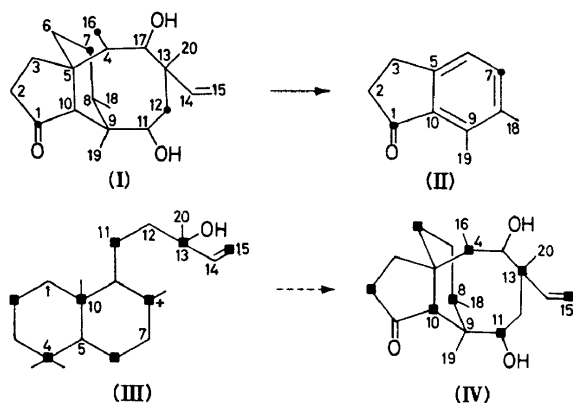


Abb. 17. Biogenetische Experimente bei Mutilin

(c) Bei verschiedenen Abbaureaktionen, die hier nicht beschrieben werden, wurde eindeutig gezeigt, dass die beiden aus je vier Kohlenstoffatomen bestehenden Gruppierungen (8, 9, 18, 19) und (20, 13, 14, 15) keine Aktivität enthalten.

(d) Das durch Dehydrierung des Mutilins mit Selen entstandene Keton (17, II) enthält die Hälfte der totalen Aktivität. Da nach (b) das Kohlenstoffatom 1 Sitz von 1/4 der totalen Aktivität ist, kommt für den Sitz des anderen Viertels, unter Voraussetzung der Richtigkeit des angenommenen sehr plausiblen Verlaufs der Biogenese (16, I–III), nur die Position 7 in Frage, die sowohl in (16, I) wie auch in (17, I) zur Isopreneinheit 7, 8, 18, 9, 11 gehört.

Somit sind zwei Markierungen (1 und 16) auf direktem Wege bewiesen, die dritte (7) indirekt aber mit grosser Wahrscheinlichkeit gefolgert. Als Träger der vierten Markierung wird Position 12 angenommen, die an die leeren vier Kohlenstoffatome 20, 13, 14, 15 grenzt (17, I), mit denen zusammen sie eine Isopreneinheit bildet.

Biogenese des Mutilins aus 1-¹⁴C-Essigsäure

In der Carboxylgruppe markierte Essigsäure als Ausgangsstufe der Biogenese sollte beim Kation (16, I) zu einer Aktivitätsverteilung entsprechend (17, III) führen, und beim Mutilin entsprechend (17, IV). Von den acht

Markierungen konnte die in der Position 15 nach der Ozonisierung als aktiver Formaldehyd nachgewiesen werden. Oxydation nach Kuh-Roth lieferte 4 Mol Essigsäure, von denen aber nur drei im Carboxyl markiert waren (die aus den Positionen 16-4, 20-13, 18-8 stammenden). Als Ort der Entstehung der nicht markierten Essigsäure kommt nach (17, IV) nur die Position 19-9 in Betracht. Daraus folgt, dass das Methyl 19 ein benachbartes aktives Kohlenstoffatom, das ursprünglich sein Carboxyl war, durch Wanderung verlassen hat. Dieses verlassene Kohlenstoffatom kann nur jenes in 10 sein. Die Position 11 für das ursprünglich zum Methyl 19 gehörende Carboxyl kann mit grosser Sicherheit ausgeschlossen werden bei Betrachtung des Weges der Elektronentransporte von (16, I) zu (16, II).

Die bei diesen biogenetischen Versuchen bisher erhaltenen Resultate stehen in vollem Einklang mit der gemäss der biogenetischen Isoprenregeln angenommenen Ableitung des Mutilins vom aliphatischen Grundkörper der Diterpene.

BIOGENETISCHE MECHANISMEN UND EXPERIMENTE BEI EINEM SESQUITERPEN PILZLICHEN URSPRUNGS TRICHOTECOLON

Biogenese des Trichotecolons

Trichotecolon [(18, IIa) = (21, IXcc)] ist als Isocrotonsäureester (Trichotecin) ein Metabolit des gleichen Pilzes, *Trichotecium roseum* L., der das Rosenonolacton produziert. Es handelt sich um eine der zahlreichen Sesquiterpenverbindungen, die sich vom Farnesol formal über die Zwischenstufe des Bisabolens (21, IVcc) ableiten lassen.

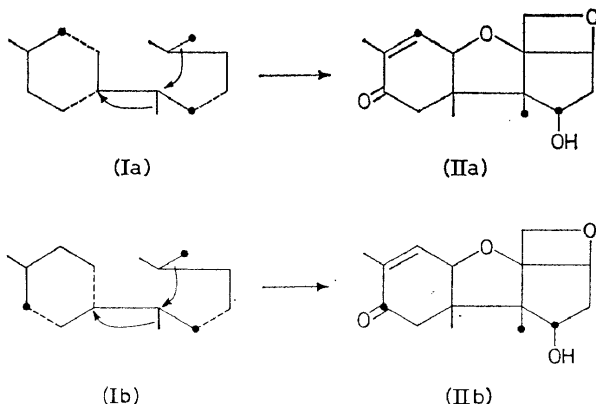


Abb. 18. Schematische Ableitung der Biogenese des Trichotecolons aus Farnesol

Sowohl Konstitutionsaufklärung⁴⁸ wie auch die Untersuchung der Biogenese⁴⁹ ausgehend von 2-¹⁴C-MVL wurden von E. R. H. Jones durchgeführt. Wie schon oben erwähnt wurde, ist dies die erste gründlich durchgeführte biogenetische Arbeit auf dem Gebiet cyclischer Sesquiterpene. Jones erwähnt ausdrücklich, dass die Struktur des Trichotecolons "does obey the Ružička biogenetic isoprene rule". Obwohl Jones die Konfiguration des (18, IIa) bis auf ein* Asymmetriezentrum (siehe 21, IXcc) auf Grund

* Vielleicht ist auch die Konfiguration der Hydroxylgruppe unsicher.

experimenteller Resultate ableiten konnte (21, IX), vermeidet er bei der Formulierung des biogenetischen Weges, der vom Farnesol zu Trichotecolon führt, eine der vier theoretisch möglichen geometrischen Isomeren des Farnesols zu benutzen, sondern begnügt sich, wohl absichtlich mit der Andeutung von markierten Isopreneinheiten im Gerüst des Farnesols (Formelgruppe 18), obwohl das markierte Skelett (18, Ia) als *trans, cis*-Farnesol gedeutet werden kann und das Skelett (18, Ib) als *cis, cis*-Farnesol, denn schliesslich ohne Doppelbindungen gibt es keine Cyclisation.

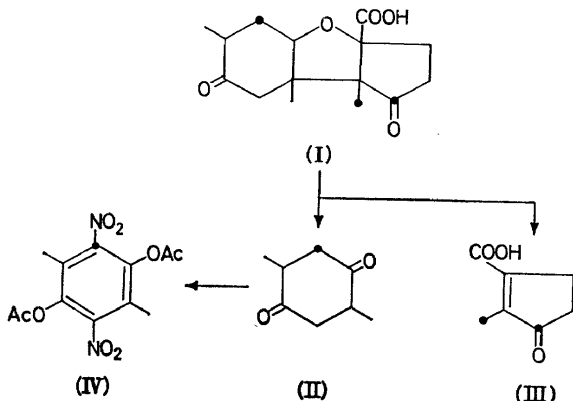


Abb. 19. Biogenetische Experimente bei Trichotecolon

Das bei der Biogenese aus $2\text{-}^{14}\text{C}$ -MVL erhaltene⁴⁹ markierte (18, IIa) wurde durch eine Reihe zuverlässiger Reaktionen in die Ketocarbonsäure (19, I) übergeführt, die sich durch Michael-Spaltung zu Derivaten der beiden Ringe (19, II) und (19, III) abbauen liess. Das (19, II) wurde durch Acetylierung, Dehydrierung und Nitrierung in (19, IV) übergeführt. Diese Verbindung enthält $1/3$ der totalen Aktivität des (18, IIa) und liefert bei der Behandlung mit Baryumhypobromit neben inaktiver Essigsäure und inaktivem Baryumcarbonat aktives Brompikrin, das $0,5\text{ }^{14}\text{C}$ enthielt, woraus gefolgert werden muss, dass die Markierung an einer der zwei Positionen sitzt, die durch die Nitrogruppen gekennzeichnet sind. Von diesen zwei Positionen kommt auf Grund der drei Markierungen des Farnesols nur die in der Formel (19, IV) angegebene in Frage, jedenfalls nicht die in *p*-Stellung davon. Das Derivat des Fünfringes (19, III) lieferte bei der Oxydation nach Lemieux $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Bernsteinsäure, $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Essigsäure und inaktives Kohlendioxyd. Letzteres leitet sich von der Carboxylgruppe des (19, III) ab; danach wie auch auf Grund der Markierung der Essigsäure ist Wanderung des spezifisch markierten Methyls aus der *gem*-Dimethylgruppierung (18, Ia) bewiesen. Daraus folgt weiter, dass schon im Farnesol wie auch im Bisabolen spezifische Markierung eines der Methyle in der endständigen *gem*-Dimethylgruppe vorlag und dass alle Reaktionen an denen die *gem*-Dimethylgruppe teilnimmt, streng stereospezifisch verlaufen mussten. Das markierte Carboxyl der Bernsteinsäure kann nur von der markierten Ketogruppe des Fünfringes herrühren. Eine Markierung in der α -Stellung zum Carboxyl in (19, III) ist so gut wie ausgeschlossen, da sonst bei allen Vorstufen, die noch die ursprüngliche *gem*-

Dimethylgruppe enthalten zwei markierte Kohlenstoffatome nebeneinander hätten sitzen müssen.

Jones deutet an, dass prinzipiell auch noch eine andersartige Markierung des Sechsrings entsprechend dem Schema (18, Ib) \rightarrow (18, IIb) denkbar gewesen wäre, die allerdings durch den eben geschilderten Abbau des biogenetisch markierten (18, IIa) ausgeschlossen wird.

ABLEITUNG DER BIOGENESE DES BISABOLENS UND DES TRICHOTECOLONS AUSGEHEND VON RÄUMLICHEN FORMELN DES FARNESOLS*

In der Formelgruppe 20 ist ein Schema für die Biogenese des Bisabolens sowohl ausgehend vom *trans-cis*-Farnesol (20, Itc) wie auch vom *cis,cis*-Farnesol (20, Icc) angegeben. Die Umsetzungen (20, Itc) \rightarrow (20, IVtc) und (20, Icc) \rightarrow (20, IVcc), die von den beiden Farnesolen zu den beiden untereinander abweichenden Formeln des Bisabolens (20, IVtc) und (20, IVcc) führen, verlaufen stereospezifisch über überbrückte Kationen nach dem Non-stop Schema und beruhen auf den gleichen Prinzipien welche die eindeutige Ableitung der Konfiguration der Ringglieder aller tetracyclischer und pentacyclischer Triterpene erlauben (auch der Isopropenylgruppe bei Lupeol).

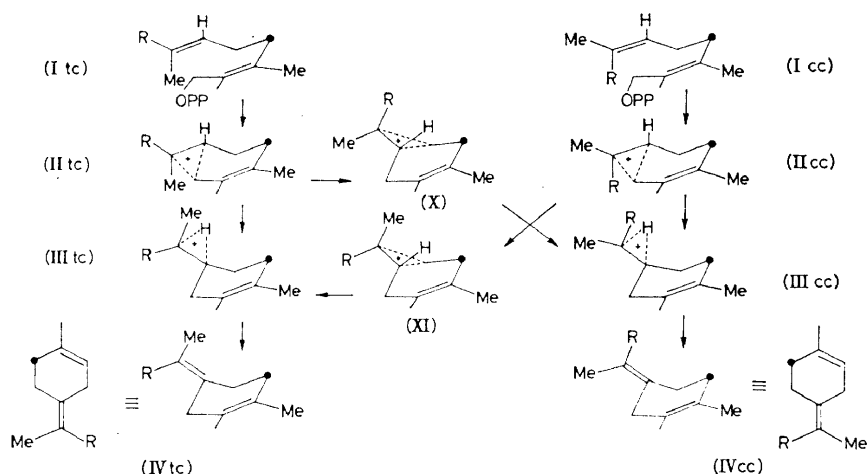


Abb. 20. Mechanismen der Cyclisation von *trans, cis*- und von *cis, cis*-Farnesol zu zwei verschiedenen Bisabolenen

Die beiden Bisabolene [(20, IVtc) = (21, IVtc)] und [(20, IVcc) = (21, IVcc)] unterscheiden sich voneinander durch verschiedene räumliche Lage der Substituenten Me und R an der semicyclischen Doppelbindung. Versucht man nun ausgehend von diesen beiden Bisabolenen über überbrückte Kationen (21, IVtc \rightarrow IXtc) das markierte Trichotecolon abzuleiten, so kommt man vom Bisabolene (21, IVtc) zum Trichotecolon (21, IXtc) mit

* Privatmitteilung von D. Arigoni.

einer Markierung im Sechsring, die durch die biogenetischen Versuche von Jones ausgeschlossen wurde. Ausgehend vom Bisabolon (21, IVcc) gelangt man dagegen zur richtigen Position der Markierung im Sechsring (21, IXcc).

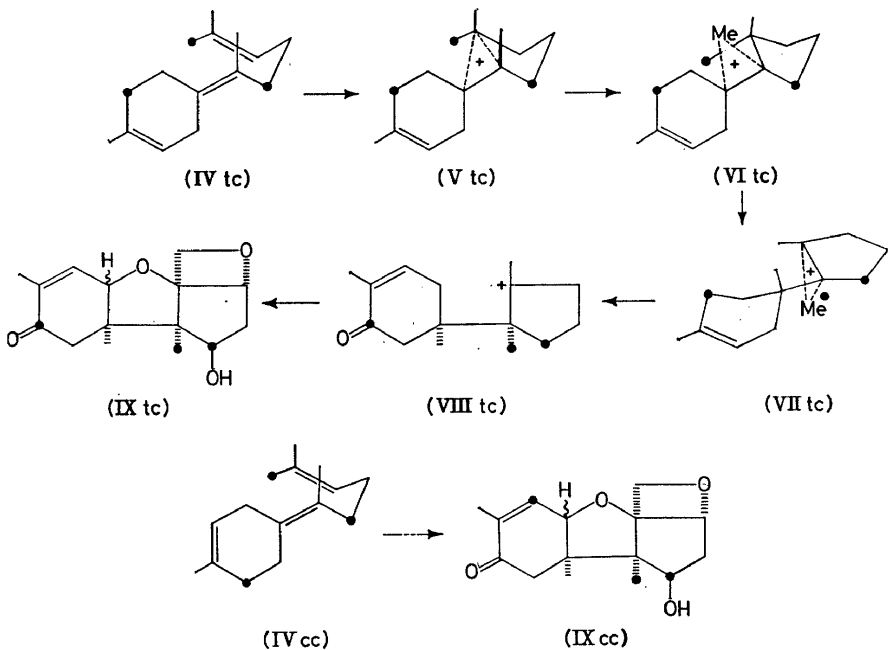


Abb. 21. Mechanismen der Cyclisation der zwei Bisabolene zu verschieden markiertem Trichotecolon

Das Bild ändert sich aber, wenn man in beiden Reaktionsreihen vom Farnesol zum Bisabolon (Formelgruppe 20) nach dem Zwischenzustand (20, II_{tc}) und (20, II_{cc}) eine gleichartige Umlagerung zu (20, X) und zu (20, XI) einschaltet, wie sie bei der Ableitung der tetracyclischen Triterpene (Steroidtriterpene) notwendig war, um den Unterschied zwischen der Konfiguration der Seitenkette des Euphols und des Tirucallols zu erklären¹ (vgl. 90 → 93 → Euphol, und 90 → 91 → 92 → Tirucallol)*.

Die analoge Umlagerung ist notwendig, um den Unterschied der Konfiguration der Seitenkette zwischen dem konfigurativ übereinstimmenden Paar *Lanosterol/Cholesterol* einerseits und dem enantiomeren Paar 20-*isolanosterol/Sargasterol* andererseits zu erklären¹ (vgl. 83 → 86 → 20-*isolanosterol* und 83 → 84 → 85 → *Lanosterol*)†. Auch der Unterschied der Konfiguration in der Seitenkette der *beiden Dammarendiole* ist auf eine solche Umlagerung zurückzuführen¹ (90, 91, 94, 95)†.

Auf dem Umweg über (20, X) bzw. (20, XI) kommt man also von *trans, cis*-Farnesol (20, I_{tc}) zur richtigen Position (20, IV_{cc}) und vom *cis, cis*-Farnesol (20, I_{cc}) zur falschen Position (20, IV_{tc}) der Markierung im Sechsring des Trichotecolons.

* Die Zahlen 90–93 bedeuten Formelnummern der zitierten Abhandlung¹.

† Die Zahlen 83–86 und 90, 91, 94, 95 bedeuten Formelnummern der zitierten Abhandlung¹.

Eine Entscheidung zwischen den beiden Alternativen wird sich erst treffen lassen durch biogenetische Versuche, ausgehend von geeignet markierten Zwischenstufen. Auch die Entscheidung darüber, wie die Biogenese cyclischer Sesquiterpene ausgehend von den verschiedenen stereoisomeren Farnesolen vor sich geht, erfordert sehr gründliche, aber auch sehr mühsame biogenetische Experimentalarbeiten.

Die Feststellung der Markierungen bei der Biogenese des Trichotecolons⁴⁹ ist nicht nur wichtig für dieses eine Sesquiterpen, sondern wirft auch ein Licht auf Unterschiede der biogenetischen Mechanismen zwischen den verschiedenen grossen Gruppen der cyclischen höheren Terpenverbindungen, den Sesqui-, Di- und Triterpenen.

BIOGENETISCHE MECHANISMEN UND EXPERIMENTE BEI MONOTERPENEN PFLANZLICHEN UND PILZLICHEN URSPRUNGS

Mycelianamid (22, I)

Dieses Metabolit des Pilzes *Penicillium griseofulvum* ist für die Terpenbiogenese von Interesse, da sich daraus beim Behandeln mit Natrium in flüssigem Ammoniak der durch eine phenolische Hydroxylgruppe an ein aliphatisches Monoterpengerüst gebundene Rest abspalten lässt. Man

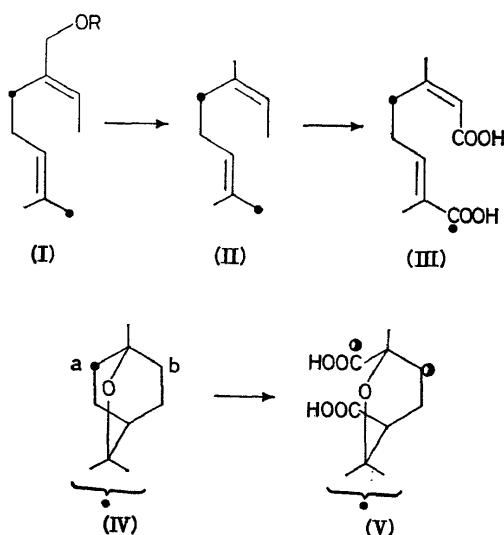


Abb. 22. Biogenese des Dihydro-myrcens und des Cineols

erhält so die Verbindung (22, II), die man als *Dihydromyrcen* (= *Dihydroocimen*) oder *Desoxy-geraniol* (bzw. *Desoxy-nerol*) bezeichnen kann*. Das aus 2-¹⁴C-MVL biosynthetisierte⁵⁰ (19, II) wurde mit Ozon gespalten. Der Acetaldehyd war frei von Aktivität, die Lävulinsäure (+ Lävulinaldehyd) sowie das Aceton enthielten je ca. 50 Prozent der totalen Aktivität. Die aus dem Aceton bereiteten Abbauprodukte, Essigsäure sowie Jodoform, enthielten je ca. 25 Prozent der totalen Aktivität, wonach nicht entschieden werden

* Die Stereochemie der Doppelbindung ist nicht bekannt.

kann ob die Aktivität auf beide Methylgruppen verteilt ist, oder sich spezifisch auf eine Methylgruppe beschränkt. Eine Entscheidung wurde durch biologische ω -Oxydation des (22, II) im Körper eines Kaninchens getroffen: in der erhaltenen Dicarbonsäure (22, III) wurde durch den Abbau nach Schmid 50 Prozent der totalen Aktivität in den Carboxylgruppen nachgewiesen. Da der durch Abbau mit Ozon erhaltene Acetaldehyd frei von Aktivität war, kann gefolgert werden, dass die ganzen 50 Prozent Aktivität in dem aus der Isopropylidengruppe stammenden Carboxyl sitzen. Daraus ergibt sich, dass das Kaninchen stereospezifisch das aktive Methyl der Isopropylidengruppe oxydiert hat, und dass die Biogenese des Monoterpen-Anteils des (22, I) stereospezifisch (in Bezug auf beide Markierungen) verlaufen ist.

Cineol (22, IV)

Endzweige von *Eucalyptus globulus* Lab. liess man aus einer wässrigen Lösung $2\text{-}^{14}\text{C}$ -MVL aufnehmen⁵¹. Das isolierte (22, IV) wurde zur Cineolsäure (22, V) oxydiert und in deren beiden Carboxylgruppen zusammen 25 Prozent der Aktivität festgestellt; da nur das obere Carboxyl markiert sein dürfte und das Cineol aus zwei symmetrischen Hälften besteht, so folgt, dass die beiden mit a und b bezeichneten Positionen zusammen die Hälfte der totalen Aktivität aufweisen. Die andere Hälfte ist wohl in der *gem*-Dimethylgruppierung enthalten.

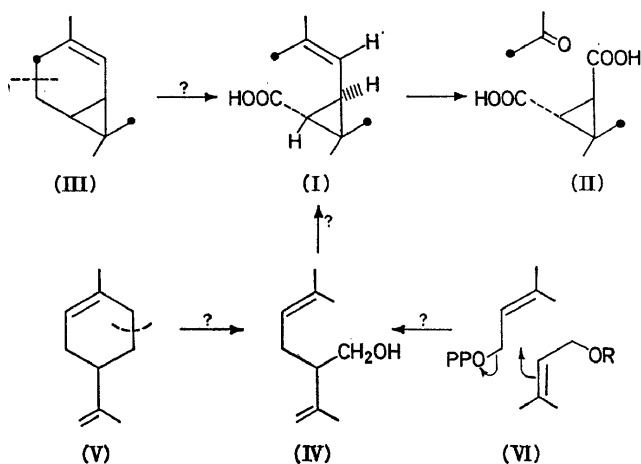


Abb. 23. Biogenese der Chrysanthemumsäure und Ableitung der Biogenese des Lavandulols

Chrysanthemumsäure⁵² (23, I)

Diese Säure kann gewonnen werden durch Verseifung der Pyrethrine, der in den Blüten von *Chrysanthemum cinerariifolium* Bocc. enthaltenen starken Gifte für Kaltblütler. Lässt man die Pflanze $2\text{-}^{14}\text{C}$ -MVL aufnehmen, so wird radioaktive (23, I) erhalten, die an den in der Formel bezeichneten Positionen markiert ist⁵³. Spaltung mit Ozon liefert Aceton und trans-Caronsäure; beide enthalten je die Hälfte der totalen Aktivität. Abbau des

Acetons zu Essigsäure oder zu Jodoform führt zu Produkten, die jedes die Hälfte der Aktivität des Acetons aufweisen.

Nach diesen Resultaten könnte die Chrysanthemumsäure biogenetisch entweder durch ungewöhnliche Kondensation eines der "aktiven Isoprene" oder aber durch Spaltung einer Bindung des Δ^4 -Carens (23, III) entstanden sein. Es ist immerhin zu bedenken, dass bei der Ozonisation der (23, I) *trans*-Caronsäure entsteht, beim Abbau der Carene man dagegen zur *cis*-Caronsäure gelangt.

UNGEWÖHNLICHE KONDENSATION "AKTIVER ISOPRENE"

Auch für die noch nicht untersuchte Biogenese des im Lavendelöl in sehr geringer Menge vorkommenden Lavandulol⁵⁴ (23, IV) kommt entweder Spaltung einer Bindung des Limonens (23, V) oder aber eine ungewöhnliche Kondensation eines der aktiven Isoprene (z.B. des Dimethyl-allylpyrophosphats (23, VI)) in Frage.

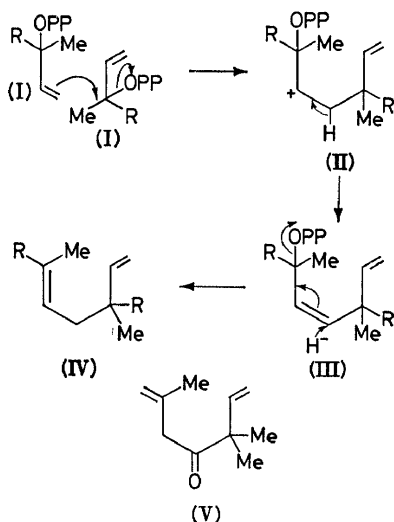


Abb. 24. Hypothetischer Mechanismus der Biogenese des Artemisiaketons

Für die experimentell noch nicht untersuchte Biogenese des dem *Artemisiaketons* (24, V)^{55, 56} zugrunde liegenden Kohlenwasserstoffs käme auch eine ungewohnte aber doch schon diskutierte Kondensationsart in Frage, die dem reduzierenden Mechanismus der Biogenese des Squalens (Formelgruppe 7) nachgebildet wäre. Der γ,γ -Dimethyl-allylalkohol (5, V) könnte nach einer Allylumlagerung in den tertiären α,α -Dimethyl-allylalkohol (24, I; R = CH_3) übergehen, der als Pyrophosphat die Rolle eines "aktiven Isoprens" übernehmen würde. Die Kondensation zweier Moleküle (24, I; R = CH_3) sollte über das Kation (24, II; R = CH_3) zu (24, III; R = CH_3) führen, das durch Aufnahme von H^- des TPNH und Abstoßen des Pyrophosphatanions den Kohlenwasserstoff (24, IV; R = CH_3) liefern würde, der zum Artemisiaketon (24, V) umgeformt werden könnte.

Das Artemisiaketone ist nicht das einzige Analogon der Biogenese des Squalens. Eine reduzierende Kondensation wird wohl den Reaktionsmechanismus jeder Schwanz-Schwanz-Kondensation in der Terpenreihe vorstellen. So haben auch Souček, Herout und Šorm⁵⁷ für die Erklärung der Biogenese des aus dem Bergamottöl isolierten Isodigeranyl (=Geranyl-linalyl) [24, IV; R = CH₂CH₂CH=C(CH₃)₂] den Cornforth'schen Mechanismus der Schwanz-Schwanz-Kondensation übernommen.

α-Pinen

Für die Biogenese des α-Pinens wurden zwei Wege in Erwägung gezogen¹⁴: (a) ionischer Mechanismus ausgehend vom Kation aus Limonen (25, I) → α-Pinen (25, II), oder (b) Radikalmechanismus ausgehend von Ocimen (25, IV) → α-Pinen (25, III) im Sinne einer Umkehrung der Pyrolyse von α-Pinen über Ocimen zu Allo-ocimen. Ein zweiter ionischer Weg zu (25, III) würde bestehen in der Reaktion zwischen der (+)-Ladung in (25, I) und der Methylengruppe in α-Stellung zur Doppelbindung⁵⁸.

Vor kurzem⁵⁸ wurde eine Biogenese des α-Pinens aus 2-¹⁴C-MVL in einer *Pinus nigra austriaca* beschrieben. Abbau zur Norpinsäure, in der die totale Radioaktivität des α-Pinens enthalten war, spricht für Markierung (25, III).

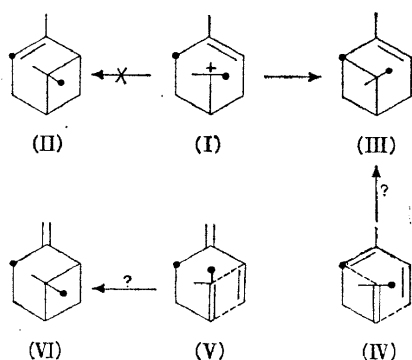


Abb. 25. Biogenetische Mechanismen und Experimente bei α- und β-Pinen

Eine Entscheidung zwischen ionischem und Radikalmechanismus wäre vielleicht bei β-Pinen möglich. Falls die Biogenese des β-Pinens über Myrcen (25, V) verläuft (Umkehrung der Pyrolyse!) wären die Markierungen entsprechend (25, VI).

Thujon

Auch für Thujon kommen analoge ionische Mechanismen in Frage wie für α-Pinen. Biogenetische Versuche⁵⁹ mit *Thuja occidentalis* und 2-¹⁴C-MVL ergaben ein Thujon mit der Markierung (26, III), da der Abbau zum Diketon (26, IV) führte, das beide Markierungen enthielt. Daher wäre die biogenetische Alternative¹⁴ (26, I) → (26, II) ausgeschlossen.

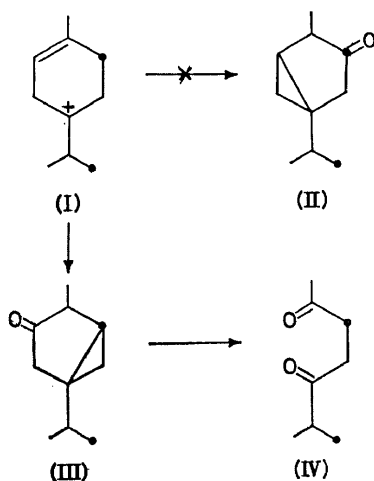


Abb. 26. Biogenese des Thujons

Schlusswort

Wir haben im vorangehenden eine Übersicht gegeben über die gründlicheren biogenetischen Arbeiten auf dem Gebiet der Terpene und haben feststellen können, dass die erhaltenen Resultate mit der Biogenetischen Isoprenregel ausgezeichnet harmonisieren. Und so kommt es, dass die Ableitung der Struktur neu aufgeklärter Terpene—besonders solcher mit umgelagertem Kohlenstoffgerüst—nach der Definition der neuen Regel allmählich zur Selbstverständlichkeit geworden ist. In einer solchen Ableitung liegt schon die *Einladung zu biogenetischen Versuchen*. Während man früher Biogenese ausschliesslich am Papier gemacht hat, sind wir nun doch an einem Entwicklungspunkt der Terpenchemie angelangt, wo die Feststellung eines neuartigen Kohlenstoffgerüsts als Anreiz und als Vorarbeit für eine Exkursion in das Reich der Biogenese betrachtet werden sollte.

Nach bald 10-jähriger Erfahrung lohnt es sich vielleicht gewisse Aspekte der biogenetischen Isoprenregel einer zusammenfassenden und vergleichenden Diskussion zu unterziehen.

Von den drei Gruppen chemischer Operationen die für die Fertigstellung des Terpenmoleküls verantwortlich sind, den Cyclisationsreaktionen, den Umlagerungen und den weiteren Umformungen, hat die *Cyclisation* selbstredend den grössten Einfluss auf die Architektur des Moleküls. Die *Umlagerungen* sind meistens mit der Cyclisation gekoppelt und führen zur Fertigstellung der Molekülarchitektur. Der Bau der aliphatischen Ausgangsstufe bestimmt die maximal mögliche Anzahl von Ringbildungen und Umlagerungen, das cyclisierende Enzym dagegen die Anzahl der wirklich stattfindenden Umsetzungen. Die Enzyme können von den gegebenen Möglichkeiten eine Auswahl treffen, der Mechanismus der gewählten Reaktion wird aber vom Molekül bestimmt.

Die Cyclisierung des Squalens, die wir als Beispiel wählen, geht bis zu einem tetra- oder pentacyclischen Kation, deren Neutralisierung ohne

weitere Umlagerung zu bekannten Naturprodukten führen kann. Die Neutralisierung kann zu einer grösseren Anzahl umgelagerter Kohlenstoffgerüste führen, die unter Wanderung von Hydridionen und Methylgruppen entstehen. Es kommen in der Natur Zwischenprodukte dieser Umlagerungen vor, wobei eine, zwei, drei und bei den pentacyclischen Triterpenen im extremen Fall des Friedelins sogar vier Methylgruppen gewandert sind, d.h. alle Methylgruppen, die bei dem gegebenen Mechanismus überhaupt wandern könnten.

Alle diese Cyclisationen und Umlagerungen verlaufen stereospezifisch nach dem Prinzip der antiplanaren Addition vom Ring A bis zum Ring E, und die Umlagerungen können vom Ring E bis hinunter zum Ring A ebenfalls stereospezifisch nach dem Prinzip der Wagner–Meerwein Umlagerung vor sich gehen. Ein so einheitliches Bild der *Biogenese bei den Triterpenen*²⁸ ist nur möglich, da sie sich vom strukturell und konfigurativen homogen gebauten Kohlenwasserstoff Squalen ableiten, dessen Architektur den geschilderten geraden Weg erlaubt.

Die cyclischen *Diterpene*, *Sesqui-* und *Monoterpene* haben als *Ausgangsstufen substituierte Allylalkohole*, deren Allylgruppe natürlich zur Umlagerung neigt und dadurch als Unsicherheitsfaktor bei der Beurteilung der Reaktionsmechanismen wirkt. Abgesehen davon, weisen diese Alkohole im Gegensatz zum Squalen *zwei prinzipiell verschiedenartige Enden* auf, von denen jedes für sich eine Cyclisation einleiten kann, die aber auch untereinander einen Ringschluss eingehen können: bei den Monoterpenen ist dies der gebräuchlichste Ringschluss (6-Ring!), bei den Sesquiterpenen kommt auf diese Art der Zehnring und Elfring zu Stande, sowohl als Endprodukt wie wahrscheinlich auch als Zwischenstufe für die Bildung bicyclischer Ringsysteme, bei den Diterpenen ist ein vierzehngliedriger Ring erst vor kurzem beobachtet worden.

Gewisse andere Unterschiede der Cyclisierung bei diesen drei Terpenegruppen sind bedingt durch den *Abstand zwischen den beiden Enden der aliphatischen Kette*. Die grössere Länge des Abstandes bei den Diterpenen ist sicher mit ein Grund dafür, dass die ersten zwei Ringe bei den meisten Diterpenen nicht nur die gleiche Struktur aufweisen wie die Ringe A und B der Triterpene, sondern auch die gleiche *anti-trans* Konfiguration. In der Sesquiterpenreihe kommt die Cyclisierung in der Art der Ringe A und B der Triterpene nur als seltene Ausnahme vor, bei den Monoterpenen überhaupt nicht: die Terpenoide Jonon und Iron sind wohl Abbauprodukte höherer monocyclischer Verbindungen. Die beträchtlichere Manigfaltigkeit der Strukturen des Monoterpen Safranal um bei den Diterpenen, im Vergleich zu den Triterpenen, hängt in erster Linie zusammen mit der Entstehung des dritten und vierten Ringes, der von der Allylgruppierung ausgeht. Von den verschiedenen Möglichkeiten in dieser Richtung haben wir einige bei den drei biogenetisch geklärten Diterpenen kennengelernt. Die relativ grössere Nachbarschaft der beiden zu Cyclisationen neigenden Enden des Farnesoltypus bedingen *bei den Sesquiterpenen die grösste Manigfaltigkeit von Kohlenstoffgerüsten* unter allen Terpenegruppen für die in vielen Fällen eine präzise Ableitung des Bildungsmechanismus erst auf Grund eingehender biogenetischer Experimentalarbeiten möglich sein wird. Diesen verwirrenden Zustand bei den Sesquiterpenen hat Barton mit folgenden treffenden

Worten charakterisiert: "Within the field of sesquiterpenoid chemistry one finds a wide range of oxygenated function, of ring size, and of mechanistic change. If no other type of organic compound were known, organic chemistry would still be a rich and varied field for investigation."

Die Monoterpene haben nur zehn Kohlenstoffatome zur Verfügung, aber trotzdem bedingt die Allylgruppierung in der aliphatischen Ausgangsstufe eine relativ grössere Manigfaltigkeit der Gerüste als man sie bei den Triterpenen kennt. Den Tetraterpenen, deren aliphatische Ausgangsstufe (das Lycopersen) einen analogen Bau wie Squalen aufweist, fehlen die cyclisierenden Enzyme, die fähig wären polykondensierte Ringsysteme aufzubauen. Die Anzahl verschiedenartiger Kohlenstoffgerüste ist bei den Tetraterpenen ausserordentlich gering. Man könnte sagen leider, denn die heptacyclischen Tetraterpene wären ein herrliches Tummelfeld für Liebhaber komplizierter Konstitutionsaufklärungen! Am einfachsten vielleicht — wenigstens vom Standpunkt des niedermolekularen Struktur-Chemikers — liegen die Verhältnisse bei den hochmolekularen Terpenen, dem Kautschuk und der Guttapercha.

Was dann die "weiteren Umformungen" der durch Cyclisation und Umlagerung zustande gekommenen Kohlenstoffgerüste anbelangt, wie Oxydation, Reduktion, Einführung neuer Doppelbindungen, Abspaltung von Methylgruppen, Verkürzung von langen aliphatischen Seitenketten, Öffnung von Ringbindungen, Einführung von zusätzlichen 1-2-Kohlenstoffatomen in das von "Isopreneinheiten" sich ableitende Kohlenstoffgerüst, so handelt es sich da um Reaktionen, die schon seit langem besonders bei alicyclischen Naturverbindungen gut bekannt sind, aber keiner definierbaren Regel folgen.

Nachdem die Prager Kollegen der Symposiumsleitung das Wort "Perspektiven" im Titel vorgeschlagen haben, darf ich vielleicht zum Schluss die vierte Periode der Geschichte der Chemie und Biogenese der Terpene charakterisieren als Periode der Aufklärung der enzymatischen Cyclisation, Umlagerung und Umformung. Diese Periode hat ja eigentlich schon begonnen mit der Anreicherung von Enzymen, die bei der Biogenese der aliphatischen Vorstufen beteiligt sind. Als fünfte Periode käme in Betracht die Zeit, wenn man beginnen wird die existierenden Enzyme zu neuen Aufgaben zu dressieren, wie z.B. Herstellung heptacyclischer Tetraterpene oder für solche und andere Zwecke geeignete neue Enzyme zu züchten bzw. im Laboratorium zu synthetisieren.

Literatur

- ¹ L. Ruzicka. *Proc. Chem. Soc.* **1959**, 341.
- ² L. Ruzicka. "The Life and Work of Otto Wallach," (a) *J. Chem. Soc.* **1932**, 1582; (b) Memorial Lectures, The Chemical Society, Vol. III, 165 (1933).
- ³ O. Wallach. *Ann.* **239**, 1 (1887).
- ⁴ L. Ruzicka und J. Meyer. *Helv. Chim. Acta* **4**, 505 (1921).
- ⁵ L. Ruzicka und J. Meyer. *Helv. Chim. Acta* **5**, 315 (1922).
- ⁶ L. Ruzicka und A. G. van Veen. *Rec. trav. chim.* **48**, 1018 (1929).
- ⁷ L. Ruzicka. Les Prix Nobel en 1945, *Kgl. Boktryckeriet*, p. 197, Stockholm (1947).
- ⁸ J. Simonsen. *The Terpenes*, Cambridge University Press, Vol. III, 212 (1952).
- ⁹ W. Voser, M. V. Mijović, H. Heusser, O. Jeger, und L. Ruzicka. *Helv. Chim. Acta* **35**, 2414 (1952).
- ¹⁰ R. B. Woodward und K. Bloch. *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 2023 (1953).
- ¹¹ H. J. Channon. *Biochem. J.* **20**, 400 (1926).

BIOGENESE UND CHEMIE DER TERPENE

- ¹² K. Bloch. *Vitamins and Hormones* **15**, 119–150 (1957).
¹³ G. Popják. *Ann. Rev. Biochem.* **27**, 533–560 (1958).
¹⁴ L. Ruzicka, A. Eschenmoser, und H. Heusser. *Experientia* **9**, 357 (1953).
¹⁵ D. E. Wolf, C. H. Hoffman, P. E. Aldrich, H. R. Skeggs, L. D. Writh, und K. Folkers. *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 4499 (1956).
¹⁶ P. A. Tavormina, M. H. Gibbs, und J. W. Huff. *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 4498 (1956).
¹⁷ T. T. Tchen. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 6344 (1957).
¹⁸ S. Chaykin, J. Law, A. H. Phillips, T. T. Chen, und K. Bloch. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* **44**, 998 (1958).
¹⁹ F. Lynen. *Ciba Foundation Symposium on Biosynthesis of Terpenes and Sterols*, p. 95, J. and A. Churchill, Ltd., London (1958).
²⁰ M. Eberle und D. Arigoni. *Helv. Chim. Acta* **43**, 1508 (1960).
²¹ H. Eggerer und F. Lynen. *Ann.* **630**, 58 (1960);
 H. Eggerer. *Chem. Ber.* **94**, 174 (1961).
²² K. Bloch. *Ciba Foundation Symposium on Biosynthesis of Terpenes and Sterols*, p. 95, J. and A. Churchill, Ltd., London (1958).
²³ J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, G. Popják, und J. Y. Gore. *Biochem. J.* **66**, 10 P (1957);
69, 146 (1958).
²⁴ E. C. Grob, K. Kirschner, und F. Lynen. *Chimia (Switz.)* **15**, 308 (1961).
²⁵ F. Lynen, H. Eggerer, U. Henning, und Ingrid Kessel. *Angew. Chem.* **70**, 738 (1958).
²⁶ F. Dituri und S. Gurin. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 2650 (1957).
²⁷ G. Popják, D. W. S. Goodman, J. W. Cornforth, Rita H. Cornforth, und R. Ryhage. *Biochem. Biophys. Research Commun.* **4**, 138 (1961).
²⁸ A. Eschenmoser, L. Ruzicka, O. Jeger, und D. Arigoni. *Helv. Chim. Acta* **38**, 1890 (1955).
²⁹ L. Ruzicka. *Perspectives in Organic Chemistry* (Ed. Sir A. Todd), p. 297, Interscience, London (1956).
³⁰ A. Eschenmoser, Dorothée Felix, M. Gut, J. Meier, und P. Stadler. *Ciba Foundation Symposium on Biosynthesis of Terpenes and Sterols*, p. 217, J. and A. Churchill, Ltd., London (1959).
³¹ D. Arigoni. *Biochemical Society Symposium*, No. 19, p. 32 (1960).
³² J. A. Barltrop und N. A. J. Rogers. *Progr. Org. Chem.* **5**, 96, Butterworths (1961).
³³ P. Crabbé und G. Ourisson. *Ind. chim. belge* **22**, 1309 (1958).
³⁴ N. Nicolaidis und F. Laves. *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 2596 (1954).
³⁵ T. T. Tchen und K. Bloch. *J. Biol. Chem.* **226**, 931 (1957).
³⁶ R. K. Maudgal, T. T. Tchen, und K. Bloch. *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 2589 (1958).
³⁷ J. W. Cornforth, Rita H. Cornforth, und A. Pelter. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 112.
³⁸ H. Danielsson und K. Bloch. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 500 (1957).
³⁹ W. G. Dauben, Y. Ban, und J. H. Richards. *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 968 (1957).
⁴⁰ T. Thorbjarnarson und J. C. Drummond. *Analyst* **60**, 23 (1935).
⁴¹ E. Capstick Jr., D. J. Bansted, W. W. Newschwander, J. Blondin, N. R. Rosin, und W. R. Nes. *Biochemistry* (U.S.S.R.) (English Transl.) **1**, 1178 (1962).
⁴² D. Arigoni. *Experientia* **14**, 153 (1958).
⁴³ L. Guglielmetti. *Diss.*, ETH, Zürich (1962).
⁴⁴ A. J. Birch, R. W. Richards, H. Smith, A. Harris, und W. B. Whalley. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 223.
⁴⁵ J. J. Britt und D. Arigoni. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 223.
⁴⁶ A. J. Birch, R. W. Richards, und H. Smith. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 192.
⁴⁷ D. Arigoni. *Gazz. chim. ital.* **92**, 884 (1962).
⁴⁸ P. Naegeli. *Diss.*, ETH, Zürich (1961).
⁴⁹ J. Fishman, E. R. H. Jones, G. Lowe, und M. C. Whiting. *J. Chem. Soc.* **1960**, 3948.
⁵⁰ E. R. H. Jones und G. Lowe. *J. Chem. Soc.* **1960**, 3959.
⁵¹ A. J. Birch, R. J. English, R. A. Massy-Westropp, und H. Smith. *J. Chem. Soc.* **1958**, 369.
⁵² A. J. Birch, D. Boulter, R. J. Fryer, P. J. Thomson, und J. L. Willis. *Tetrahedron Letters* **1** (1959).
⁵³ H. Staudinger und L. Ruzicka. *Helv. Chim. Acta* **7**, 201 (1924).
⁵⁴ P. J. Godin und E. M. Thain. *Proc. Chem. Soc.* **1961**, 452.
⁵⁵ H. Schinz und J.-P. Bourquin. *Helv. Chim. Acta* **25**, 1591 (1942).
⁵⁶ Y. Asahina und S. Takagi. *J. Pharm. Soc. Japan* **873** (1920).
⁵⁷ L. Ruzicka, T. Reichstein, und R. Pulver. *Helv. Chim. Acta* **19**, 646 (1936); **20**, 221 (1937).
⁵⁸ M. Souček, V. Herout, und F. Šorm. *Collection Czechoslovak. Chem. Commun.* **26**, 2551 (1961).
⁵⁹ W. Sandermann und W. Schweers. *Tetrahedron Letters* **257** (1962).
⁶⁰ W. Sandermann und K. Bruns. *Tetrahedron Letters* **259** (1962).
⁶¹ D. H. R. Barton und P. de Mayo. *Quart. Revs. (London)* **189** (1957).