

SUMMARY

The conversion of bicyclo[10.3.0]-1,12-epoxy-13-pentadecanone into 4-cyclopentadecyne-1-one, effected by *p*-tolylsulfonylhydrazine under mild conditions and in high yield, provides an example of a new fragmentation reaction.

Organisch-chemisches Laboratorium
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich

FIRMENICH & Co.
Laboratoire d'Etudes des Procédés
La Plaine, Genève

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] G. OHLOFF, J. BECKER & K. H. SCHULTE-ELTE, *Helv.* **50**, 705 (1967).
 [2] L. RUZICKA, M. STOLL & H. SCHINZ, *Helv.* **9**, 249 (1926).
 [3] E. LEDERER in L. Zechmeister, «Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe», Springer-Verlag, Wien, **6**, 87 (1950).
 [4] L. RUZICKA, *Helv.* **9**, 715, 1008 (1926); L. RUZICKA & M. STOLL, *Helv.* **77**, 1308 (1934).
 [5] W. R. BAMFORD & T. S. STEVENS, *J. chem. Soc.* **1952**, 4735.
 [6] K. BIEMANN, G. BÜCHI & B. H. WALKER, *J. Amer. chem. Soc.* **79**, 5558 (1957).
 [7] E. WEITZ & A. SCHEFFER, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **54**, 2327 (1921).
 [8] P. S. WHARTON & P. H. BOHLEN, *J. org. Chemistry* **26**, 3615 (1961).
 [9] A. ESCHENMOSER & A. FREY, *Helv.* **35**, 1660 (1952); C. A. GROB & W. BAUMANN, *Helv.* **38**, 594 (1955); neueste Literaturzusammenstellung: C. A. GROB & P. W. SCHIESS, *Angew. Chemie* **79**, 1 (1967).
 [10] P. S. WHARTON, *J. org. Chemistry* **26**, 4781 (1961); E. J. COREY, R. B. MITRA & H. UDA, *J. Amer. chem. Soc.* **85**, 362 (1963); *ibid.* **86**, 485 (1964); J. A. MARSHALL & CH. J. V. SCANIO, *J. org. Chemistry* **30**, 3019 (1965).

72. Das biologische Verhalten von Fettsäuren mit Dreifachbindung II: Behenolsäure¹⁾

von K. Bernhard, K. Yekundi und H. R. Greub

(9. II. 67)

Von der *Ratte* wird Stearolsäure sowohl in das Depotfett als auch in die Lipide der Leber eingebaut, zum Teil auf Kosten der Ölsäure, welche entsprechend abnimmt. Aus dem Harn liess sich ein Metabolit, die 5-Decin-disäure $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_3-\text{C}\equiv\text{C}-(\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$ isolieren [1]. Das bevorzugte Auftreten von C_{18} -Säuren in den Körperlipiden findet vielleicht darin eine Erklärung, dass das nicht streng auf eine bestimmte Kettenlänge eingestellte Enzym, welches mit dem Glycerinphosphat und 2 Mol. aktiver Fettsäure eine Phosphatidsäure und schliesslich ein Triglycerid bildet, am schnellsten mit C_{16} - und C_{18} -Säuren reagiert.

Erucasäure $\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_2$ wird selbst nach mehrwöchiger Fütterung von Rapsöl höchstens zu 4–6% in den Fettdepots angetroffen [2]. Von der gleichfalls 22 C-Atome

¹⁾ Vorgetragen anlässlich der Tagung der Schweiz. Gesellschaft für Biochemie, Zürich, 3. Juni 1966.

aufweisenden Behenolsäure $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{C}\equiv\text{C}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{COOH}$ mit einer Dreifachbindung in Stellung 13–14 war zu erwarten, dass sie sich ähnlich verhalte. Nach Gaben des gut verträglichen Triglycerides während 21 Tagen an Tieren mittleren Gewichtes fanden wir, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, im Mittel 3,1% Behenolsäure in den Depotfetten. Gegenüber den Kontrollen trat eine deutliche Veränderung des Fettsäurespektrums ein, indem vermehrt Linolen- und Arachidonsäure nachgewiesen werden konnten. Ölsäure war signifikant vermindert. Die Aufarbeitung der Lebern, d.h. die Gewinnung der Gesamtlipide und der beiden Fraktionen Neutralfette und Phosphatide, führte zum Resultate, dass Behenolsäure darin nicht nachweisbar war. Auch in den Hirnlipiden kommt sie nicht vor. In dieser Hinsicht unterscheidet sie sich von der Erucasäure, die in den Neutralfetten der Leber und anderer Organe auftritt.

Einen weiteren Fütterungsversuch von zwei- und vierwöchiger Dauer führten wir an ausgewachsenen Ratten durch (Tabelle 2). Die Depotfette enthielten 2 bzw. 4% Behenolsäure, letztere war aber weder in den Neutralfetten noch in den Phosphatiden der Leber anzutreffen.

Aus dem Harn erhielten wir in einer Ausbeute von ca. 5% bezogen auf die verarbeitete Behenolsäure 5-Decin-disäure. Die Dreifachbindung übt einen hemmenden Einfluss auf die Reaktionsfolgen der β -Oxydation aus. Die ω -Oxydation lässt eine Dicarbonsäure entstehen, welche aber nicht von der neugebildeten, sondern nur von der vorhandenen Carboxylgruppe aus unter sechsmaliger Abspaltung von Acetyl-CoA verkürzt wird. Sowohl nach Stearolsäure- als nach Behenolsäure-Gaben bildet sich derselbe Metabolit, eine Dicarbonsäure mit erhaltener Dreifachbindung. Da der

Tabelle 1. Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Depotfetten von Ratten nach Gaben von Behenolsäure als Triglycerid während 21 Tagen (Tiere von 160–170 g; Tiere 11–16 Kontrollen)

Tier-Nr.	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4	22:1
1	0,2	1,7	29,6	7,3	4,4	33,0	13,3	3,1	2,7	4,6
2	0,1	1,9	27,4	8,7	3,9	33,7	16,7	3,2	1,7	2,5
3	0,2	1,6	26,6	8,4	4,0	36,0	12,7	3,0	3,2	4,1
4	0,1	1,7	29,3	7,5	3,8	33,0	16,7	3,6	1,1	2,9
5	0,1	1,5	28,1	8,5	4,3	38,2	12,1	2,8	2,0	2,1
6	0,1	1,9	30,2	8,5	3,9	34,0	13,2	3,6	1,4	2,9
7	0,1	2,0	32,9	10,7	3,8	32,0	11,0	2,4	1,6	3,3
8	0,1	2,0	29,6	8,4	3,8	34,0	14,8	3,2	1,8	2,3
9	0,2	1,7	31,1	6,3	4,1	38,8	12,6	1,8	0,6	2,9
10	0,1	2,1	29,2	7,2	5,3	32,9	14,0	2,9	3,3	3,0
\bar{x}	0,1	1,8	29,4	8,2	4,1	34,6	13,7	3,0	1,9	3,1
11	0,2	1,8	28,9	8,0	3,7	41,6	15,4	0,4	0,2	–
12	0,3	2,1	28,5	7,8	4,9	41,0	15,0	0,1	0,2	–
13	0,2	1,9	28,5	8,4	3,7	41,6	15,4	0,5	<0,1	–
14	<0,1	2,1	33,2	6,8	4,1	38,8	13,7	1,4	<0,1	–
15	<0,1	1,7	26,1	5,8	3,2	42,8	18,5	1,5	<0,1	–
16	0,5	2,4	25,7	9,2	3,7	39,7	18,3	0,4	<0,1	–
\bar{x}	0,2	2,0	28,5	7,7	3,9	40,9	16,1	0,7	0,1	–

Tabelle 2. *Zusammensetzung der Fettsäuren aus den Depotfetten von Ratten nach Gaben von Behenol-säure-triglycerid* (Mittelwerte für je 5 ausgewachsene Tiere)

Dauer Wochen	Säuren								
	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	20:4	22:1
2	1,4	21,4	8,4	3,8	30,9	25,8	5,4	1,3	2,0
4	1,6	21,7	8,5	4,8	30,8	21,2	5,4	2,2	4,0

prozentuale Anteil aber nur gering ist, vermag der Tierkörper die beiden Acetylenfettsäuren auch völlig abzubauen.

Beim *Hunde* führte Behenolsäure-Triglycerid nicht zu 5-Decin-disäure, es ist aber nicht ausgeschlossen, dass nach grösseren Dosen dieser Metabolit auch auftritt. Wir stellten in früheren Versuchen nach Fütterung von Behenol- oder Stearolsäure bei gleichzeitigen Gaben signierter Azelainsäure eine Verminderung ihres Deuteriumgehaltes fest [3] und vermuteten eine mögliche Entstehung aus den verabreichten Säuren mit Dreifachbindung. Inzwischen haben wir festgestellt [4], dass Hundeharn und auch menschlicher Harn Azelainsäure in kleinen Mengen als normalen Bestandteil enthalten, die Isotopenverdünnung daher allein schon deshalb in Erscheinung treten muss. Nachdem aber laut Chromatogramm beim Behenolsäureversuch eine Vermehrung der Azelainsäure im Hundeharn vorliegt, ist die Möglichkeit ihrer Bildung aus Behenolsäure nicht auszuschliessen. Zudem liess sich zeigen, dass auch Bernsteinsäure um rund das Doppelte ihres normalen Wertes vorlag. Da Azelainsäure und eine Reihe anderer Dicarbonsäuren, wie WEITZEL [5] zeigte, die Bernsteinsäureausscheidung erhöhen, ist unser Befund ein weiterer Hinweis auf eine vermehrte Azelainsäurebildung unter den genannten Bedingungen.

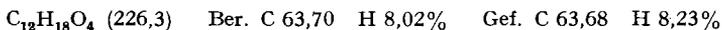
Experimentelles. – Die Behenolsäure erhielten wir aus Erucasäure [3]. Den gas-chromatographisch auf Reinheit geprüften Methylester führten wir mit Triacetin in das Triglycerid über.

1. *Fütterungsversuche an Ratten:* 10 weibliche Ratten im Gewichte von 160–170 g erhielten mit einem fettfreien Futter während 3 Wochen 105 g Triglycerid oder pro Tier 9,6 g Behenolsäure (3 g pro die/kg). Fünf Tiere dienten als Kontrollen, deren Futter anstelle des Triglycerides 5% Schweinefett enthielt. Weiteren 10 männlichen, ausgewachsenen, 400 g schweren Ratten gaben wir mit dem gleichen Futter 3 g Triglycerid pro kg Körpergewicht und Tag. Ein Teil wurde nach 2 Wochen, ein anderer Teil nach 4 Wochen getötet. In allen Fällen haben wir die Leber entfernt und einzeln aufgearbeitet. Ihre Gesamtlipide betragen im Mittel 5,1 und bei den Kontrollen 6,1% des Leberfrischgewichtes. Die Auftrennung in Neutralfette und Phosphatide ergab im Mittel 10,2, bei den Kontrollen 34,2% Neutralfette und 83,8 bzw. 65,8% Phosphatide. Die Fettsäuren beider Fraktionen enthielten keine Behenolsäure.

Von den ausgewachsenen Tieren wurden aus den Lebern die Gesamtfettsäuren durch direkte Verseifung gewonnen. Die vereinigten Hirne haben wir extrahiert und in Phosphatide, Cerebroside und Sphingomyeline aufgetrennt. Behenolsäure war in keiner dieser Fraktionen enthalten. Zur Gewinnung der Gesamtfettsäuren wurde der Carcass direkt verseift.

Die gas-chromatographischen Analysen erfolgten wie früher.

Aufarbeitung der Harn: Die vereinigten Harnmengen der 10 Versuchstiere (2200 ml) wurden bei saurer Reaktion erschöpfend mit Äther extrahiert, wobei aus dem Extrakt 8,04 g brauner Rückstand erhalten wurde. Wir haben ihn verseift und die erhaltenen Säuren mit methanolischem Bortrifluorid verestert. Durch Vakuum-Destillation und Verseifung ergaben sich 3,3 g 5-Decin-disäure, die über einer Silicagelkolonne weiter gereinigt wurden; nach Umkristallisieren aus Benzol F. 109–110°. Elementaranalyse des Methylesters:



Durch Hydrierung der 5-Decin-disäure entstand Sebacinsäure.

2. *Versuch am Hund*: Ein 25 kg schwerer Hund erhielt während 6 Tagen 170 g Behenolsäure-triglycerid in steigenden Dosen von 360–1420 mg pro kg/die. Der Ätherextrakt aus dem während der 6 Tage gesammelten Harn wog 7,8 g, derjenige aus dem Harn der 5tägigen Nachperiode 4,0 g. Nach Verseifung wurde verestert und das Estergemisch (etwa 10% der genannten Extraktmenge) gas-chromatographisch analysiert. 5-Decin-disäure war nicht nachweisbar, hingegen vermehrt Bernsteinsäure. Das Methylestergemisch enthielt 38% Bernsteinsäure, ein Wert, der normalerweise etwa 15–20% ausmacht und für die Nachperiode auf 19% absank. Die Azelainsäure stieg vom Normalwert von 15–20% auf 25% an.

Der ASTRA FETT- & ÖLWERKE AG, Steffisburg, sind wir für einen finanziellen Beitrag zu dieser Arbeit zu Dank verpflichtet.

SUMMARY

Behenolic acid fed to rats as a triglyceride is incorporated into depot fat but not into liver lipids. From urine the same metabolite as after feeding of stearolic acid, *i. e.* 5-decyne-dicarboxylic acid, was isolated.

Physiologisch-chemisches Institut
der Universität Basel

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. WAGNER, G. RITZEL & K. BERNHARD, *Helv.* 49, 436 (1965).
- [2] H. WAGNER, E. SEELIG & K. BERNHARD, *Z. physiol. Chem.* 312, 104 (1958).
- [3] K. BERNHARD & U. GLOOR, *Helv.* 36, 296 (1953).
- [4] K. BERNHARD & H. R. GREUB, *Z. klin. Chemie klin. Biochem.*, im Druck.
- [5] G. WEITZEL, *Z. physiol. Chem.* 282, 185 (1947).

73. Über die Struktur der Phenazin-N-oxide

von H. P. Sigg und A. Toth

(9. II. 67)

Für Myxin, ein Breitband-Antibioticum, das aus dem Kulturfiltrat einer *Sporangium* Species isoliert werden konnte [1], wurde kürzlich die Struktur I vorge schlagen [2]. Die bemerkenswerte Formulierung eines N-Peroxids veranlasste uns, die Strukturen verschiedener Phenazin-N-oxide zu überprüfen. Der bekannteste Vertreter dieser Klasse ist Iodinin, das aus *Pseudomonas iodinum* [3], *Brevibacterium crystalloiodinum* [4] und *Waksmania aerata sp. nov.* [5] isoliert werden konnte. Für Iodinin (II) wurde bereits von den Entdeckern die Struktur eines Dihydroxyphenazin-N,N'-dioxids postuliert und die Lage der Hydroxylgruppen wurde 12 Jahre später durch Reduktion zum synthetisch hergestellten 1,6-Dihydroxyphenazin sichergestellt [6]. Iodinin lässt sich durch Oxydation von 1,6-Dihydroxyphenazin mit Persäuren [7] in guter Ausbeute synthetisieren.

Wir können diese Struktur auf Grund folgender Beobachtungen bestätigen. Bei der Methylierung von Iodinin (II) mit Diazomethan entsteht vorwiegend 1,6-Dimethoxyphenazin-N,N'-dioxid (III), welches auch durch Oxydation von 1,6-Dimethoxyphenazin mit *m*-Chlorperbenzoesäure erhalten werden kann. Als Neben-