

## DITERPENE—VI<sup>1</sup>

### NEUTRALE BESTANDTEILE AUS DEM HARZ VON *LARIX EUROPAEA* D.C. (PINACEAE)

K. BRUNS

Institut für Holzchemie und chemische Technologie des Holzes der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, 205 Hamburg 80

(Received in Germany 18 November 1968; Received in the UK for publication 27 November 1968)

**Zusammenfassung**—Aus den neutralen Anteilen des Balsams von *L. europaea* wurde eine Carbonylfraction (I) und ein Nicht-Carbonylfraction (II) abgetrennt. Fraktion (I) enthielt, nach Oxydation mit CrO<sub>3</sub>, Dehydroabietin-, Isopimar-, Pimar-, Abietin- und Neoabietinsäure. In der Fraktion II wurde 13-epi-Manool als 3,5-Dinitrobenzoat identifiziert.

**Abstract**—The carbonyl (I) and non-carbonyl fractions (II) from the neutral part of the oleoresin of *L. europaea* have been separated. Chromic acid oxidation of I yields dehydroabietic, isopimaric, pimaric, abietic and neoabietic acids. In fraction II, 13-epi-manool was identified as its 3,5-dinitrobenzoate.

DER neutrale Anteil des Lärchenbalsams enthält als Hauptbestandteil 6 $\alpha$ -Acetoxylabda-8(17),14-dien-13 $\beta$ -ol (Larixylacetat). Larixylacetat und das daraus durch Verseifung erhältliche Diol (Larixol) waren schon verschiedentlich Gegenstand eingehender Untersuchungen.<sup>2-8</sup> Über weitere neutrale Bestandteile aus Lärchenbalsam bestehen unseres Wissens bisher keine Literaturangaben. Lediglich Norin *et al.* wiesen in einer Arbeit kurz darauf hin, dass Labda-8(17), 14-dien-13 $\beta$ -ol (13-epi-Manool) im neutralen Anteil des Lärchenbalsams vorkommt.<sup>7</sup>

Bei der Aufarbeitung von Lärchenbalsam verbleibt nach Entfernen des Terpeninöls, der sauren Bestandteile und des Larixols ein viskoser Rückstand, der durch Behandlung mit Girard-Reagens-T in eine Carbonylfraction (I) und eine Nicht-Carbonylfraction (II) getrennt werden kann.

Aus I wird nach Reinigung an Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ein farbloses, viskoses Öl erhalten, das im Gaschromatogramm 6 Komponenten verschiedener Intensität aufwies. Im IR-Spektrum waren die für Aldehyde charakteristischen Banden bei 2700 und 1725/cm zu erkennen. Die Oxydation von I mit CrO<sub>3</sub>/Eisessig lieferte ein Säuregemisch, das

Substanz	Fp °C	Misch-Fp °C	GLC-Retent. Zeit (min/sec)	DC-R <sub>f</sub> -Werte*
III	62.5–63.5		8.44	0.71
Dehydroabietin säure-methylester	62.5–63.5	61–63°	8.44	0.70
IV	61.5–62.5		7.22	0.74
Isopimarsäure-methylester	62.5	61–62.5	7.23	0.74

\* SiO<sub>2</sub>/Benzol.

TABELLE 1. NMR-SIGNALE\* VON III, DEHYDROABIETINSÄURE-METHYLESTER, IV UND ISOPIMARSÄURE-METHYLESTER

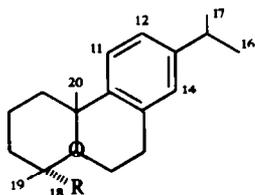
Substanz	C <sub>30</sub> -Me	C <sub>19</sub> -Me	C <sub>16</sub> /C <sub>17</sub> -Me	C <sub>18</sub> -CO <sub>2</sub> -Me	C <sub>7</sub> -H	C <sub>11</sub> /C <sub>12</sub> -H <sub>2</sub>	C <sub>16</sub> -H <sub>2</sub>
III	1.22 (s) 3H	1.28 (s) 3H	1.23 (d) 6H J = 7.0 Hz	3.66 (s) 3H	6.88 (s) 1H	7.06 (q) 2H J = 5 Hz	—
Dehydroabietin-säuremethylester	1.22 (s) 3H	1.28 (s) 3H	1.23 (d) 6H J = 6.8 Hz	3.66 (s) 3H	6.89 (s) 1H	7.06 (q) 2H J = 5 Hz	—
IV	0.87 (s) 3H	1.28 (s) 3H	C <sub>17</sub> 0.92 (s) 3H	3.65 (s) 3H	5.32 (m) 1H	C <sub>15</sub> -H 5.83 (q) 1H J <sub>AB</sub> = 10 Hz J <sub>AC</sub> = 17.5 Hz	4.99 (2d) 1H 4.76 (d) 1H
Isopimarsäure-methylester <sup>11</sup>	0.86 (s) 3H	1.25 (s) 3H	0.90 (s) 3H	3.63 (s) 3H	5.30 (m) 1H	5.82 (q) 1H J <sub>AB</sub> = 10 Hz J <sub>AC</sub> = 17.5 Hz	4.99 (2d) 1H 4.77 (d) 1H

\*  $\sigma$ -Werte in CDCl<sub>3</sub>; interner Standard TMS; s = Singulett, d = Dublett, q = Quadruplett, m = nichtaufgelöstes Multipllett.

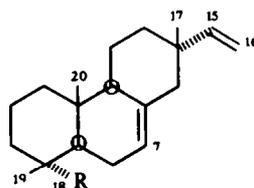
nach Veresterung mit Diazomethan im Gaschromatogramm zwei Hauptpeaks und mehrere Nebenprodukte enthielt.

Durch Chromatographie an  $\text{SiO}_2/\text{AgNO}_3$ <sup>9</sup> konnten beide Hauptprodukte isoliert werden, die durch chemischen und spektroskopischen Vergleich mit authentischem Material identifiziert wurden. In der vorstehenden Übersicht sind die gefundenen Daten der isolierten Substanzen III und IV sowie der Vergleichssubstanzen zusammengestellt.

Aus dem Vergleich der physikalischen Daten geht hervor, dass es sich bei den Substanzen III und IV um Dehydroabietinsäure- bzw. Isopimarsäure-methylester<sup>10</sup> handelt und infolgedessen Dehydroabietinal (V) und Isopimaranal (VI) Bestandteile der Carbonylfraction I sind.



III: R = CO<sub>2</sub>Me  
V: R = CHO



IV: R = CO<sub>2</sub>Me  
VI: R = CHO

Im Einklang mit den physikalischen Daten stehen auch die IR-, Massen- und NMR-Spektren von III, IV und Dehydroabietinsäure- bzw. Isopimarsäure-methylester (vgl. Tabelle 1).

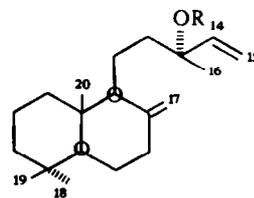
Nach der chromatographischen Abtrennung von III und IV an  $\text{SiO}_2/\text{AgNO}_3$  wurden alle weiteren Eluate vereinigt. In den vereinigten Eluaten wurden neben III and IV weiterhin Pimarsäure-, Abietinsäure- und Neoabietinsäure-methylester gaschromatographisch nachgewiesen.

Das Vorkommen der entsprechenden Aldehyde in I ist biochemisch verständlich, da die gleichen Harzsäure-Typen auch in den sauren Anteilen des Balsams aus *L. europaea* gefunden worden sind.<sup>12</sup>

Die Nicht-Carbonylfraction (II) hinterblieb bei der Behandlung mit Girard-Reagens-T als gelblicher, viskoser Rückstand, der nach Reinigung an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ein farbloses Öl (VII) lieferte, das teilweise kristallisierte. Das IR-Spektrum von VII enthielt charakteristische Banden bei 890, 919, 1410, 1640 und 3100/cm ( $\text{>C=CH}_2$  und  $\text{—CH=CH}_2$ ); 1368, 1385/cm ( $\text{>C(CH}_3)_2$ ) und 3410/cm (OH). Zur Identifizierung von VII wurde das 3,5-Dinitrobenzoyl-derivat (VIII) herangezogen, für das im Vergleich zu den entsprechenden Manoolderivaten<sup>13</sup> folgende analytischen Daten erhalten wurden.

Substanz	Fp	$\alpha_{589}^*$
VIII	122.5–124°	+ 31.05 <sup>oa</sup>
13-epi-Manool-3,5-dinitrobenzoat	116.5–118°(z)	+ 33.0 <sup>ob</sup>
Manool-3,5-dinitrobenzoat	95–96°	+ 8.0 <sup>ob</sup>

\* In Chloroform; <sup>a</sup> (20°); <sup>b</sup> (22°).



VIII: R = CO—C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>(NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>  
IX: R = H

Die NMR-Signale von VII stimmten mit den von anderer Seite gefundenen chemischen Verschiebungen gut überein.<sup>13</sup>

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass VIII mit 13-epi-Manool-3,5-dinitrobenzoat identisch ist. Dies bedeutet gleichzeitig die Bestätigung des von anderen Autoren angedeuteten Vorkommens von 13-epi-Manool (IX) im Balsam von *L. euopaea*, das auch im Balsam von *L. sibirica* Ledb. gefunden worden ist.<sup>14</sup>

#### EXPERIMENTELLER TEIL

Die Schmelzpunktbestimmungen erfolgten nach Kofler. Die IR-Spektren wurden in KBr mit einem Leitz-IR-Spektrograph (NaCl-Prisma), die NMR-Spektren mit einem Varian-A-60-A-Gerät in  $\text{CDCl}_3$  aufgenommen. Die spezifischen Drehungen wurden mit dem lichtelektrischen Zeiss-Polarimeter LEP A 2, wenn nicht anders angegeben, in Chloroform gemessen. Die Gaschromatogramme wurden mit dem Gerät F 6 (FID) der Fa. Perkin-Elmer auf einer Kapillarsäule (Silicongummi SE 30, 50 m) aufgenommen.

*Trennung der Neutralteile des Balsams aus L. euopaea in Carbonylfraction (I) und Nicht-Carbonylfraction (II).* Die Aufarbeitung des Balsams und die Abtrennung der Neutralteile erfolgte nach bekannter Vorschrift.<sup>3</sup> Die auf diese Weise erhaltenen Neutralteile wurden mit Äthanol. KOH verseift und danach das Larixöl durch Kristallisation abgetrennt. Die Mutterlaugen wurden vom Lösungsmittel befreit und lieferten einen nichtkristallisierenden, viskosen Rückstand. 100 g Mutterlaugen-Rückstand wurden in 125 ml absol. Äthanol gelöst und mit 12.5 g Girard-Reagens-T und 12.5 ml Eisessig versetzt. Das Gemisch wurde anschließend unter Feuchtigkeitsausschluss 2 Stunden auf dem Wasserbad am Rückfluss zum Sieden erhitzt und über Nacht stehen gelassen. Danach wurde das Reaktionsgemisch in 1 l Eiswasser eingegossen, das 7.85 g NaOH enthielt. Unter Zugabe von Äther wurde, zur besseren Trennung, einige Stunden stehen gelassen und danach erschöpfend mit Äther extrahiert. Der ätherische Extrakt wurde mit 2n-Soda extrahiert, mit Wasser neutral gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels hinterblieben als Nicht-Carbonylfraction (II) 85 g zähes, oranges Öl.

Die verbliebene wässrige Phase wurde mit 2n- $\text{H}_2\text{SO}_4$  bis  $\text{p}_\text{H}$  1 angesäuert und zur vollständigen Zersetzung des Hydrazons einige Stunden stehen gelassen. Danach wurde mit Äther erschöpfend extrahiert, mit Wasser neutral gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels verblieb die Carbonylfraction (I; 14.6 g, gelbl. Öl).

5.0 g I wurden in 5 ml Petroläther (40–80°) gelöst und an 200 g  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Woelm, neutral, Akt. II) chromatographiert (Säulen- $\phi$ : 3 cm, Füllhöhe: 30.5 cm). Durch Elution mit 400 ml Petroläther (40–80°) wurden 3.57 g eines farblosen, klaren Öls erhalten; IR (Film): frei von OH-Banden, 2700 und 1725/cm (CHO).

*Oxydation der Carbonylfraction (I) mit  $\text{CrO}_3$ .* Zu 1.7 g I (nach Säulenchromatographie), gelöst in 15 ml Eisessig, wird unter Rühren und Eiskühlung eine Lösung von 2.2 g  $\text{CrO}_3$  p.A. in 3.65 ml Wasser und 7.2 ml Eisessig zugesetzt. Anschließend wurde 2 Stunden gerührt, wobei das Reaktionsgemisch Raumtemperatur erreichte. Danach wurde in 150 ml Wasser eingegossen und mit Äther extrahiert. Der ätherische Extrakt wurde 5 × mit Wasser gewaschen und danach 4 × mit je 70 ml 1% iger NaOH extrahiert. Die wässrige Phase wurde mit 2n-Essigsäure angesäuert und 4 × mit Petroläther (40–80°) extrahiert. Der Extrakt wurde mit Wasser neutral gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Nach Abdampfen des Lösungsmittels hinterblieben 529 mg saure Anteile (sprödes Harz), die in ätherischer Lösung mit  $\text{CH}_2\text{N}_2$  verestert wurden.

*Säulenchromatographische Abtrennung von III und IV aus den Oxydationsprodukten von I.* 902 mg Methylestergemisch aus I wurden in 6 ml Petroläther (40–80°) gelöst und an 15 g  $\text{SiO}_2/\text{AgNO}_3$  (28%) unter Lichtausschluss chromatographiert (Säulen- $\phi$ : 2 cm; Füllhöhe: 7 cm). Die Fraktionen 1–3 (Petroläther; 300 ml) enthielten keine Substanz. Fraktion 4–6 (Petroläther/2% Äther; 300 ml) enthielt Substanz III, die spontan kristallisierte. Fraktion 7–13 (Petroläther/2% Äther; 700 ml) enthielt Substanz IV. Die folgenden Fraktionen 14–23 (Petroläther/15–40% Äther) wurden vereinigt und gaschromatographisch untersucht. Substanz III wurde aus 80% igem Methanol mehrfach umkristallisiert.

Fp 62–63.5°; farbl. Nadeln;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$  56.46° (Äthanol;  $c = 4.26$ ) [Lit.:<sup>10</sup> Fp 63–64.5°;  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 61^\circ$ ;  $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$  268  $\mu\text{m}$  ( $\epsilon = 724$ ); 276  $\mu\text{m}$  ( $\epsilon = 740$ )]; MG: 314 (Massenspektrum); (Gefunden: C, 80.36; H, 9.81; Ber.f.  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$ : C, 80.21; H, 9.62%); UV:  $\lambda_{\text{max}}^{\text{Äthanol}}$  267.5  $\mu\text{m}$  ( $\epsilon = 561$ ); 275.5  $\mu\text{m}$  ( $\epsilon = 710$ ); IR: 1710, 1244/cm ( $\text{CO}_2\text{Me}$ ); arom. Banden.

Die Fraktionen 7–13 wurden vereinigt und in Petroläther an  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (Woelm, neutral, Akt. II) gereinigt. Es resultierte ein farbloses Produkt, das aus Methanol umkristallisiert wurde. Substanz IV: Fp 61–62.5°;

farbl. Nadeln;  $[\alpha]_{589}^{25}$ , 0° (Äthanol);  $c = 6.16$  [Lit.:<sup>10</sup> Fp 61.5–62.5°;  $[\alpha]_{589}^{25}$ , 0° (Äthanol)]. MG: 316 (Massenspektrum). (Gefunden: C, 79.60; H, 10.43; Berf.  $C_{21}H_{32}O_2$ : C, 79.70; H, 10.19%); IR: 835, 868, 920, 987, 1634/cm ( $CH=C$  und  $-CH=CH_2$ ); 1710, 1242/cm ( $CO_2Me$ ).

Die Fraktionen 14–23 wurden unter folgenden Bedingungen gaschromatographisch untersucht: Silicongummi SE 30; Säulenlänge: 50 m (Golay); Trägergas:  $N_2/1.7$  at–; Temperatur: 230°; Detektor: FID.

Für die Komponenten des Gemisches wurden folgende relative Retentionsvolumina (Methylester; Isopimarsäure-methylester = 1.00) gefunden: Pimarsäure (0.95), Dehydroabietinsäure (1.04), Abietinsäure (1.12), Neoabietinsäure (1.25). Die gefundenen Werte stimmten mit denen eines authentischen Harzsäure-Gemisches gut überein.

*Isolierung von 13-epi-Manool (IX) aus der Nicht-Carbonylfraction (II).* 1.87 g II, gelöst in 5 ml Petroläther (40–80°), wurden an 72 g  $Al_2O_3$  (Woelm, neutral, Akt. II) chromatographiert (Säulen- $\phi$  2,1 cm; Füllhöhe: 23 cm). Die Fraktionen 1–14 (Petroläther 40–80°; 1400 ml) enthielten keine Substanz. Fraktion 15–21 (Benzol–Petroläther/2:1; 700 ml) enthielt 1.45 g eines farblosen Öls, das nach wiederholter Chromatographie unter gleichen Bedingungen IX lieferte, welches nach einigen Tagen teilweise kristallisierte.  $[\alpha]_{589}^{25}$ , +45.94° ( $c = 2.89$ ). NMR ( $\sigma$ -Werte): 0.68 (s) 3H ( $C_{20}-Me$ ); 0.81 (s)/0.87 (s) 6H ( $C_{18/19}-di-Me$ ); 1.27 (s) 3H ( $C_{16}-Me$ ); 4.53 (s) 1H/4.83 (s) 1H ( $C_{17}-H_2$ ); 4.99 (2d) 1H/5.23 (2d) 1H ( $C_{15}-H_2$ ); 5.96 (q) 1H ( $C_{14}-H$ );  $J_{AB} = 10$  Hz;  $J_{AC} = 17$  Hz;  $J_{BC} = 1.8$  Hz.

3,5-Dinitrobenzolat (VIII). Zu 1.45 g IX, gelöst in 8.4 ml absol. Benzol und 3.9 ml trockenem Pyridin p.A., wurde unter starkem Rühren und Feuchtigkeitsausschluss eine Lösung von 1.5 g Dinitrobenzoylchlorid in 7 ml absol. Benzol zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde dann 20 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschliessend 30 min mit 10 ml Äther am Rückfluss erhitzt. Danach wurde das Gemisch 4 × mit 5%iger HCl, 4 × mit 15%iger NaOH, anschliessend mit Wasser neutral gewaschen und getrocknet. Der nach Abdampfen des Lösungsmittels hinterbliebene Rückstand wurde 5 × aus Methanol- $CH_2Cl_2$  (3:1) umkristallisiert. Fp 122.5–124°; gelb. Nadeln;  $[\alpha]_{589}^{25}$ , +31.05° ( $c = 6.99$ ) (Lit.:<sup>13</sup> Fp 116.5–118° Z;  $[\alpha]_{589}^{25}$ , +33°, Chlf.). (Gefunden: C, 67.14; H, 7.88; N, 5.87; Berf.  $C_{27}H_{36}O_6N_2$ : C, 66.92; H, 7.49; N, 5.78%), IR: 888, 994 1405, 1640, 3100/cm ( $>C=CH_2$  und  $-CH=CH_2$ ); 1718, 1283/cm ( $-O-CO-$ ); 1620, 1540, 1343, 733, 723/cm (aromat. Banden); NMR ( $\sigma$ -Werte): 0.68 (s) 3H ( $C_{20}-Me$ ); 0.82 (s)/0.90 (s) 6H ( $C_{18/19}-di-Me$ ); 1.77 (s) 3H ( $C_{16}-Me$ ); 4.55 (s) 1H/4.90 (s) 1H ( $C_{17}-H_2$ ); 5.15 (2d) 1H/5.55 (2d) 1H ( $C_{15}-H_2$ ); 6.18 (q) 1H ( $C_{14}-H$ ); 9.20 (m) 3H (aromat. Protonen).

*Danksagung*—Frl. R. Poehls möchte ich für ihre wertvolle Mitarbeit bei der Durchführung der Versuche danken. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung dieser Untersuchungen.

## LITERATUR

- <sup>1</sup> V.Mitt.: K. Bruns, *Tetrahedron* **24**, 3417 (1968).
- <sup>2</sup> H. Wienhaus, *Angew. Chem.* **59**, 248 (1947).
- <sup>3</sup> H. Wienhaus, W. Pilz, H. Seibt und H. G. Dässler, *Chem. Ber.* **93**, 2625 (1960).
- <sup>4</sup> M. J. Haeuser, *Bull. Soc. Chim. Fr.* (5), **28**, 1490 (1961).
- <sup>5</sup> M. J. Haeuser, *Ibid.* (5), **32**, 2645 (1965).
- <sup>6</sup> W. Sandermann und K. Bruns, *Tetrahedron Letters* 3757 (1965).
- <sup>7</sup> T. Norin, G. Ohloff und B. Willhalm, *Ibid.*, 3523 (1965).
- <sup>8</sup> W. Sandermann und K. Bruns, *Chem. Ber.* **99**, 2835 (1966).
- <sup>9</sup> T. Norin und L. Westfelt, *Acta Chem. Scand.* **17**, 1828 (1963).
- <sup>10</sup> N. M. Joyce, jr. und R. V. Lawrence, *J. Chem. and Engineering Data* **12**, 279 (1967).
- <sup>11</sup> E. Wenkert, A. Afonso, P. Beak, R. W. J. Carney, P. W. Jeffs und J. D. McChesney *J. Org. Chem.* **30**, 713 (1965); G. Weissmann, *Tetrahedron Letters* 2053 (1968).
- <sup>12</sup> K. Bruns, unveröffentlichte Ergebnisse.
- <sup>13</sup> J. W. Rowe und J. H. Scroggins, *J. Org. Chem.* **29**, 1554 (1964).
- <sup>14</sup> E. N. Schmidt und V. A. Pentegova, *Izv. Sibir. Otd. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim. Nauk* Nr. 11, **3**, 84 (1966).