

11. Zusammenfassung

11.1. Deutschsprachige Fassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Identifizierung und stereoselektive Synthese terpenoider oder acetogener, ungesättigter Substanzen, die in sieben unterschiedlichen Kommunikationssystemen als Signalstoffe auftreten können.

Eine kurze Einleitung (Kap. 1) erörtert Vorkommen, Biosynthese und Funktion von Terpenen und Acetogeninen¹²³ und insbesondere ihre Rolle als flüchtige Botenstoffe. Im folgenden Abschnitt wird eine Übersicht über literaturbekannte Möglichkeiten zur stereoselektiven Darstellung von C-C-Doppelbindungen gegeben. Der dritte Abschnitt formuliert eine allgemeine Themenstellung, die in den jeweiligen Kapiteln konkretisiert wird.

Die ungesättigten Signalstoffe, die in dieser Arbeit behandelt werden, fungieren meist als flüchtige Botenstoffe, die von Insekten emittiert und von Individuen anderer oder der gleichen Art wahrgenommen werden. In einem der sieben Projekte werden acetogenine Signalstoffe beschrieben, die jedoch nicht der Kommunikation bei Insekten dienen, sondern vermutlich als Botenstoffe zwischen Zellen wirken. Sie werden als sogenannte konjugierte Linolsäuren (CLA) bezeichnet und sind in der Literatur als Isomerengemische als anabol, anticancerogen und antiatherogen charakterisiert worden. Eine natürliche Quelle dieser zweifach ungesättigten Fettsäuren stellt die bakterielle Isomerisierung von Linolsäure in Rindermägen dar. Die vorliegende Arbeit berichtet in Kapitel 4 über stereoselektive Synthesen verschiedener CLA-Isomere, namentlich der (9E,11E)- (**70**), (10E,12Z)- (**78**), (7E,9Z)- (**85**), (9Z,11E)- (**93**) und (9Z,11Z)-(**116**) konfigurierten Octadecadiensäuren. Des Weiteren wird die Synthese eines ¹³C- und eines Deutero-markierten CLA-Isomers, nämlich der [1-¹³C]- (9Z,11E)- (**109**) bzw. der [9,10-d₂]- (9Z,11E)-Octadecadiensäure (**99**), vorgestellt.

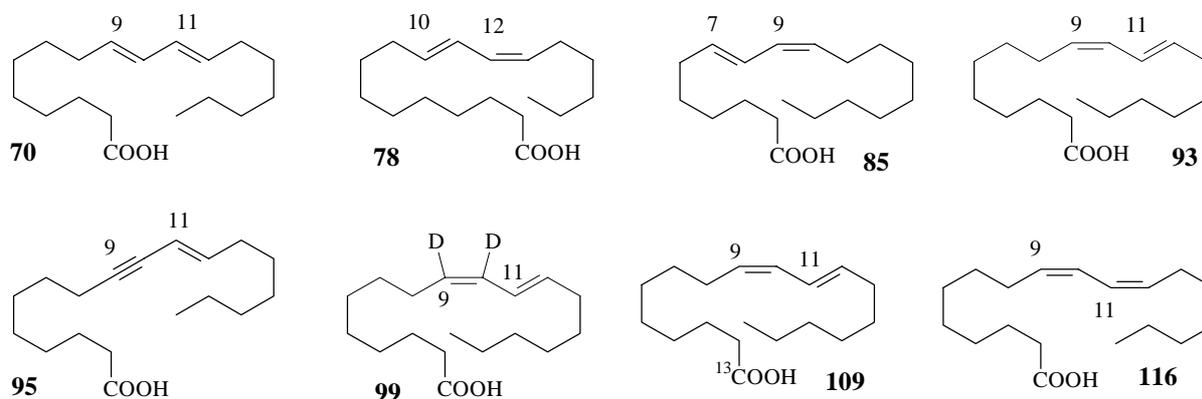


Abb. 11.1.

Die Synthesen der einzelnen Isomere beruhen im wesentlichen auf C-C-Verknüpfungen durch Alkinkopplungen bzw. stereoselektiv geführten Wittig- oder Horner-Emmonsreaktionen,

wobei die Dreifachfachbindung frühzeitig zu (E)-konfigurierten bzw. spät in der Syntheseroute zu (Z)-konfigurierten C-C-Doppelbindungen reduziert werden können. Das Synthesekonzept der CLA-Isomere basiert auf einer Art „Baukastensystem“, so dass mehrere Isomere aus gemeinsamen Vorstufen dargestellt werden können. In Ausnahmefällen wird in der Arbeit auf den Naturstoff (11E)-Octadec-11-en-9-insäure (**95**) aus *Santalum album* als Ausgangsverbindung zurückgegriffen, so dass durch wenige Umwandlungen CLA-Isomere erhalten werden. In Kooperationen mit der FDA in Washington, DC (USA), und dem Institut für Ernährungsforschung, bei Potsdam, konnte gezeigt werden, dass die in Milchprodukten bereits bekannte Octadeca-7,9-diensäure (7E,9Z)-Konfiguration (**85**) besitzt, bzw. dass das (10E,12Z)-konfigurierte CLA-Isomer (**78**) für den anabolen Effekt in Fettzellkulturen von Hamstern verantwortlich ist. Auf Grund dieses zuletzt genannten Ergebnisses wurde außerdem (E)-Octadec-10-ensäure synthetisiert. Resultate der Biotests liegen noch nicht vor.

Im fünften Kapitel wird eine kurze und effiziente Synthese des (7E,9Z)-Dodeca-7,9,11-trienylacetats (**129**) beschrieben, welches einen Inhaltsstoff des gekreuzten Traubenwickler-Weibchen (*Lobesia botrana*) darstellt.

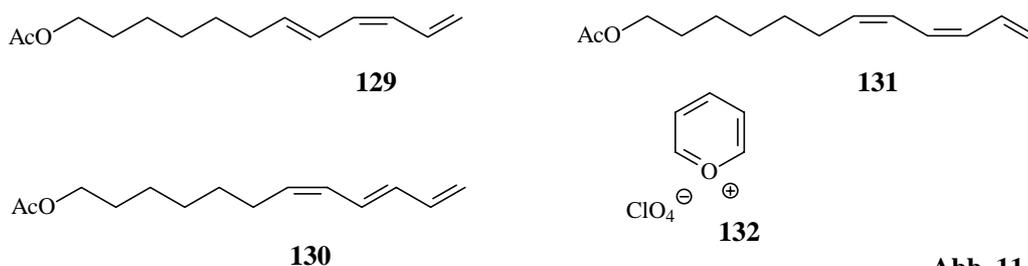


Abb. 11.2.

Die Schlüsselreaktion der Synthese ist die Ringöffnung eines Pyrryliumkations (**132**), wobei der daraus entstehende, zweifach ungesättigte Aldehyd mit Triphenylmethylentphosphoran abgefangen und verlängert werden konnte. Der Syntheseversuch des (7Z,9Z)-Dodeca-7,9,11-trienylacetats (**131**), welches als möglicher Inhaltsstoff bei *Lobesia botrana* Weibchen in Frage kam, misslang. Zwar hatte nach neunstufiger Synthese die (Z,Z)-konfigurierte, dreifach ungesättigte Kohlenstoffkette zwischenzeitlich wie gewünscht vorgelegen, doch war eine spontane, sogenannte [1,7]-H-Wanderung erfolgt. Diese Art der Umlagerung ist in der Literatur bekannt und führt aus (Z,Z)-konfigurierten terminal konjugierten Trienen zu internen Trienen. In einer Kooperation mit der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil (Schweiz) hatte sich gezeigt, dass das (7Z,9E)-Dodeca-7,9,11-trienylacetat (**130**) eine lockende Wirkung auf *Lobesia botrana*-Männchen hat.

In Kapitel 6 werden eine racemische und eine enantioselektive Route zur Synthese des Rezeptorblockers 7-Vinyldecylacetat (**146**) bei Männchen des falschen Apfelwicklers *Cryptophlebia leucotreta* beschrieben (s. Abb. 11.3.).

¹²³ mit einer Gewichtung auf Fettsäureabkömmlinge

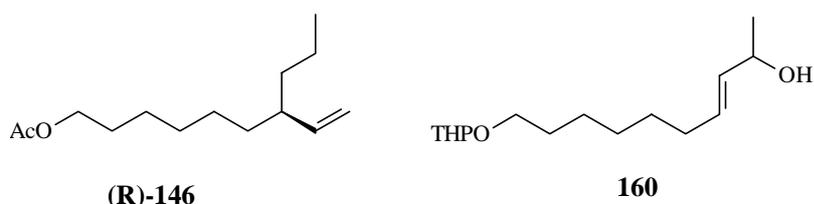


Abb. 11.3.

Diese unnatürliche, physiologisch hochaktive Substanz, die dem natürlichen Pheromon ähnelt, konnte in der Synthese des Racemats aus geschütztem Glycidol durch Epoxidöffnung und nachfolgend durch eine heteroatom-assistierte Cupratsubstitution eines sekundären Tosylats dargestellt werden. Die Schlüsselschritte der zweiten, enantioselektiven Synthese liegen in der kinetischen Racematspaltung des sekundären Allylalkohols (**160**) durch Sharplessepoxidierung und einer anschließenden [3.3]-sigmatropen Johnson-*ortho*-Ester-Claisen-Umlagerung. Ergebnisse der Biotests in Kooperation mit dem Labor für Ökologische Chemie der Universität Stellenbosch (Südafrika) liegen noch nicht vor. Es ist aber nicht unwahrscheinlich, dass das (R)-Enantiomer und das Racemat von 7-Vinyldecylacetat (**146**) unterschiedlich stark an den Pheromonrezeptor der *Cryptophlebia leucotreta*-Männchen binden.

In Kooperation mit dem Institut für Phytopathologie der Universität Kiel wurden die Oberflächenextrakte von *Alloxysta victrix* Weibchen in GC-MS-Untersuchungen analysiert, um den weiblichen Sexuallockstoff, für dessen Existenz es bei Männchen verhaltenstypische Hinweise gab, zu identifizieren. Als Inhaltsstoff konnte Geranylacetone (**174**) identifiziert werden, das in ersten Biotests eine aktive Wirkung als Lockstoff zu haben scheint.

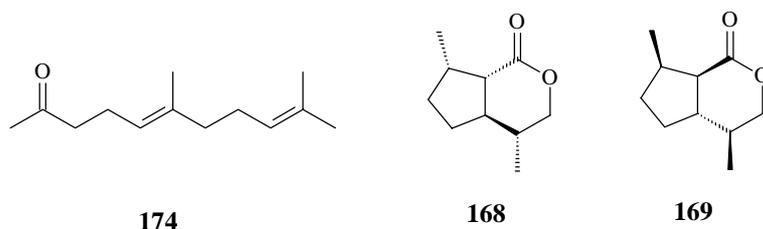


Abb. 11.4.

Um die Identifizierung anderer Inhaltsstoffe bei *Alloxysta victrix* Weibchen abzuschließen, und eine Reihe bereits bekannter *trans*-verknüpfter Dihydronepetalactone zu komplettieren, wurden die Dihydronepetalactone **168** und **169** synthetisiert. Es zeigte sich aber im Retentionszeitenvergleich mit den natürlichen Inhaltsstoffen und bereits bekannten, synthetischen *trans*-verknüpften Dihydronepetalactonen, dass **168** und **169** keine Naturstoffe bei *Alloxysta victrix* Weibchen darstellen.

Die GC-MS-Untersuchungen von Oberflächenextrakten bei sechs verschiedenen, europäischen und nordamerikanischen, männlichen Hummeln haben zur Identifizierung von insgesamt 35 flüchtigen Inhaltsstoffen geführt, wobei das Hauptaugenmerk auf den Substanzen 2,3-Dihydrofarnesol (**204**), 2,3-Dihydrofarnesal (**206**) und Geranylcitronellol

(205) lag. Diese Terpene gelten als Markierstoffe, die Drohnen in der Paarungszeit zur Abgrenzung ihres Reviers nutzen. Das stereogene Zentrum dieser Naturstoffe an Position drei konnte bei sechs

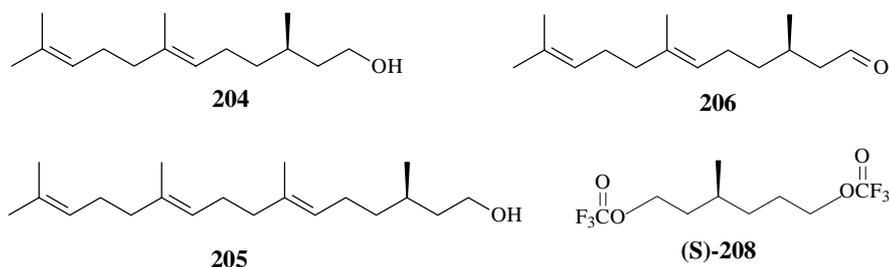


Abb. 11.5.

untersuchten Hummelarten (*Bombus hypnorum*, *B. hunttii*, *B. jonellis*, *B. morrisoni*, *B. balteatus*, *B. affinis*) als (S)-konfiguriert bestimmt werden. Dies gelang, indem diese Substanzen im Naturextrakt oxidativ gespalten und das derivatisierte Fragment **208** durch enantioselektive Gaschromatographie vermessen und mit synthetischem Referenzmaterial verglichen wurde. Die Enantiomerenüberschüsse für diese Verbindungen liegen bei den untersuchten Spezies zwischen ca. 77 und 96 % *ee*.

Die prominenteste Komponente im Oberflächenextrakt bei *Eciton burchelli*, einer tropischen Armeeamise, stellt vermutlich 3,7-Dimethyl-1,3,6-nonatrien (**211**) (Homococimen) dar. Um den Strukturverslag von Prof. Dr. D. Morgan (University of Sussex, UK) absichern und die Stereochemie des Naturstoffes bestimmen zu können, wurden zwei Isomerengemische (Gemisch A und B) synthetisiert, die alle vier geometrischen Isomere von **211** berücksichtigen. Die Synthese des ersten Gemisches (Gemisch A) enthält alle vier geometrischen Isomere, nämlich (3E,Z6)-, (3E,6E)-, (3Z,6Z)- und (3Z,6E)-**211** im Verhältnis von etwa 18:16:3:2.

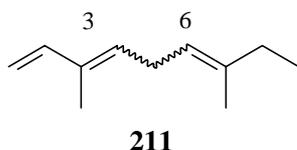


Abb. 11.6.

Die Synthese des zweiten Gemisches (Gemisch B) lieferte die Substanzen (3Z,6Z)- und (3Z,6E)-**211** im Verhältnis von ca. 7:4. Die Synthesen der Isomerengemische basieren im wesentlichen auf säurekatalysierten Umlagerungen von vinyl- bzw. ethinyl-substituierten, tertiären Cyclopropanylalkoholen und abschließend auf einer Wittigreaktion mit Butanon, um die Doppelbindung in Position 6 zu generieren. Der gaschromatographische Retentionszeitenvergleich der Isomerengemische mit den Inhaltsstoffen des Naturextraktes steht noch aus und soll in England vorgenommen werden.

Die Strukturen zweier unbekannter Inhaltsstoffe (M=236 und 250) der Oberflächenextrakte von Ameisen der Gattung *Tetramorium* wurden als (E)-3,7,8,11-Tetramethyldodeca-6,10-

dienal (**232**; Tetramorin I) und (E)-3,4,7,8,11-Pentamethyldodeca-6,10-dienal (**233**; Tetramorin II) postuliert, allerdings konnte die Struktur bislang nicht verifiziert werden. In dieser Arbeit wurden die Oberflächenextrakte von acht verschiedenen Ameisenarten der Gattung *Tetramorium* mit Hilfe der GC-MS Kombination untersucht und der Gehalt der beiden unbekanntenen Substanzen bestimmt. Der oxidative Abbau von Tetramorin I (**232**)

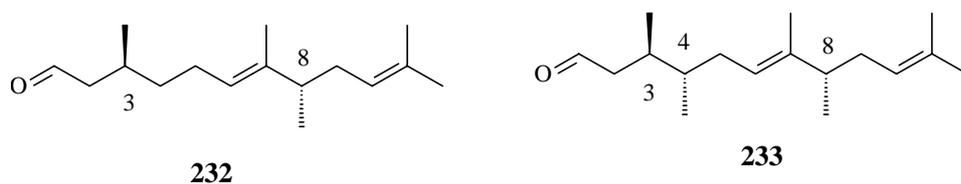


Abb. 11.7

im Naturextrakt von *Tetramorium semilaeve*, und der Retentionszeitenvergleich des derivatisierten Fragments **208** (s. Abb. 11.5) mit synthetischem Material auf enantioselektiven gaschromatographischen Kapillarsäulen zeigte, dass das stereogene Zentrum des Naturstoffes **232** an Position 3 (S)-Konfiguration besitzt. Für *T. moravicum*, welches Tetramorin II (**233**) als Inhaltsstoff hat, konnte in ähnlicher Weise die absolute Konfiguration des stereogenen Zentrums an Position 8 als (S)-konfiguriert bestimmt werden. Hier sorgte Synthese und Retentionszeitenvergleich des Diesters **240** auf enantioselektiven, gaschromatographischen Trennsäulen für den entscheidenden Hinweis.

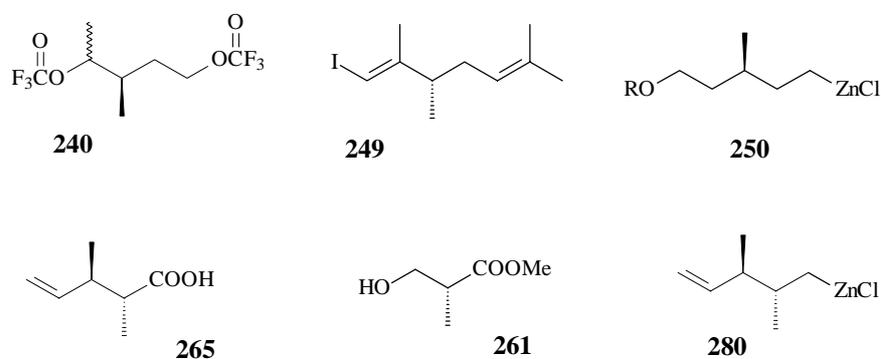


Abb. 11.8.

Außerdem führten ähnliche Untersuchungen zum Ergebnis, dass die Methylsubstituenten in den Positionen 3 und 4 in *anti*-Konfiguration vorliegen. Die Synthese von (E)-(3S,8S)-3,7,8,11-Tetramethyldodeca-6,10-dienal (**232**) gelang inklusive Schutzgruppenmethodik in 19 Stufen. (E)-(3R,4S,8S)-3,4,7,8,11-Pentamethyldodeca-6,10-dienal **233** wurde in 21 Stufen synthetisiert. Die Synthesen beruhen in den Schlüsselreaktionen auf Palladium(0)-katalysierten Kopplungen des Vinyliodids **249** mit den Zinkorganyle **250** bzw. **280**. Ersteres lässt sich in sechs Stufen aus (S)-Citronellol darstellen. Zur Synthese von **280** wurde (E)-Crotylpropionat in einer [3.3]-sigmatropen Ireland-Claisen-Reaktion zur Säure **265** umgelagert. Die anschließende Racematspaltung gelang unter Verwendung einer optisch

aktiven Base. Vinyljodid **249** wurde in elf Stufen aus (R)-Hydroxyisobuttersäuremethylester **261** synthetisiert. Der gaschromatographische Retentionszeitenvergleich des synthetischen Aldehyds (3S,8S)-(**232**) zeigte eine Übereinstimmung mit dem unbekanntem Inhaltsstoff der Masse 236 von *Tetramorium semilaeve*. Auch das Massenspektrum war identisch. Der Aldehyd (3R,4S,8S)-(**233**) zeigte ebenfalls die oben beschriebenen Übereinstimmungen mit dem unbekanntem Naturstoff in *Tetramorium moravicum*, wobei aber nicht ausgeschlossen werden kann, dass die drei asymmetrischen Kohlenstoffatome des Naturstoffes in (3S,4R,8S)- statt in (3R,4S,8S)-Konfiguration vorliegen.

11.2. Summary (English version)

The thesis deals with the identification and stereoselective synthesis of unsaturated acetogenins and terpenes which may act as chemical signal in seven different communication systems.

A short introduction discusses occurrence, biosynthesis and function of acetogenins and terpenes, especially their role as volatile signal. The following chapter provides a survey on known methods of stereoselective synthesis of C-C double bonds. The third chapter describes a common subject of research which is put in concrete form in the respective chapters. The signal compounds discussed in this thesis act mostly as volatile messengers emitted by insects and received by individuals of the same or another species.

However, in one of the seven projects, acetogenins are described which do not work as volatile signal compounds between insects, but probably as messengers between cells. They are called “conjugated linoleic acids” (CLA) and are known to be anabolic, anticarcinogenic and antiatherogenic. A natural source of these doubly unsaturated fatty acids is the bacterial isomerisation of linoleic acid in paunches of cattle. In chapter 4 the thesis reports on the stereoselective synthesis of various CLA-isomers, i.e. (9E,11E)- (**70**), (10E,12Z)- (**78**), (7E,9Z)- (**85**), (9Z,11E)- (**93**) und (9Z,11Z)-(**116**) configured octadecadienoic acid. Besides, the synthesis of a ¹³C- and deuterio-labelled CLA-Isomer - [1-¹³C]-(9Z,11E)- (**109**) and [9,10-d₂]- (9Z,11E)-configured Octadecadienoic acid (**99**) - is depicted.

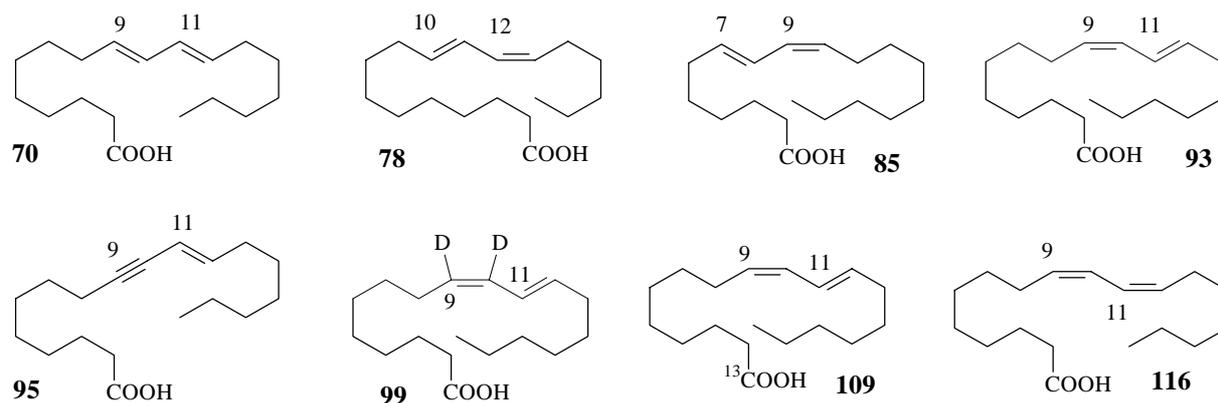


Fig. 11.1.

The synthesis of the CLA isomers is based on C-C cross-linking reactions by alkyne coupling and stereoselective Wittig or Horner-Emmons reactions. The C-C triple bond generated by alkyne coupling is either early reduced to (E)-configured or lately reduced to (Z)-configured C-C double bonds. The concept of synthesis is based on a kind of unit construction system, so that more than one isomer can be prepared from common starting material. In exceptional cases the natural compound santalbic acid **95** from *Santalum album* is used as starting compound, so that only few conversions have to be carried out to obtain CLA-isomers. In cooperation with the "Food and Drug Administration" in Washington, DC, (USA), it was shown that the known octadeca-7,9-dienoic acid **85** in milk possesses (7E,9Z) configuration. In collaboration with the "Institut für Ernährungsforschung" in Potsdam it was shown that the (10E,12Z)-configured CLA isomer (**78**) is responsible for the anabolic effect in cultured fat cells from hamsters. This result started off for the synthesis of (E)-octadec-10-enoic acid. Results of corresponding biotests are pending.

Chapter five reports on a short and efficient synthesis of (7E,9Z)-dodeca-7,9,11-trienylacetate (**129**). It is a pheromone component of the European vine moth (*Lobesia botrana*). The key step of the synthesis is the ring opening of a pyrrolium cation (**132**) by use of a lithiated ω -substituted alkane. The resulting aldehyde was elongated by methyltriphenylphosphorane.

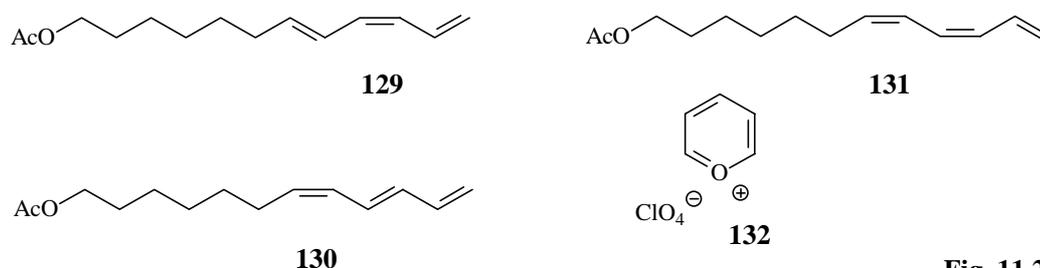


Fig. 11.2.

The synthesis of (7Z,9Z)-dodeca-7,9,11-trienylacetate, a potential pheromone component of *Lobesia botrana*, failed. In fact the desired conjugated, terminally (Z,Z)-configured chain was synthesised in nine steps, but a [1,7]-H-shift rearrangement took place spontaneously.

This kind of rearrangement is known in literature, so that terminally conjugated (Z,Z)-configured trienes lead to internally conjugated trienes. In cooperation with the “Eidgenössischen Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau“ in Wädenswil (Switzerland) (7Z,9E)-dodeca-7,9,11-trienylacetate (**130**) had turned out to be an active component as sex pheromone of females of *Lobesia botrana*.

In cooperation with the lab of ecological chemistry of the University of Stellenbosch, South Africa, the synthesis of a racemate and an enantioselective approach of 7-vinyldecylacetate (**146**) reported. **146** blocks the pheromone receptors of male false codling moths (*Cryptophlebia leucotreta*).

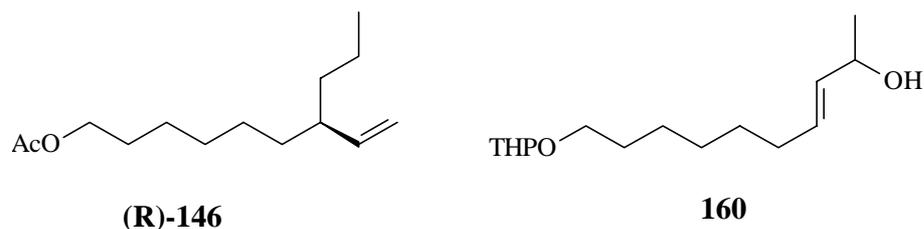


Fig. 11.3.

The racemate of this non-natural substance **146** is structurally similar to the natural sex pheromone and was synthesised by ring opening of protected glycidol followed by a heteroatom-assisted cuprate substitution of a secondary tosylate. The enantioselective synthesis is based on kinetic resolution of the racemic allylic alcohol **160** and a [3.3]-sigmatropic Johnson-*ortho*-Ester-Claisen-rearrangement. (R)-**146** has not been tested yet. But it is not unlikely that (R)-enantiomer **146** shows a different binding constant to pheromone receptor than racemic **146**.

In cooperation with the institute of phytopathology of the University of Kiel surface extracts of *Alloxysta victrix* females were analysed by GC-MS in order to identify the sex pheromone indicated by behavioural and analytical tests with *Alloxysta victrix* males. Geranyl acetone (**174**) was identified and seemed to have a biological effect as sex pheromone in biotests.

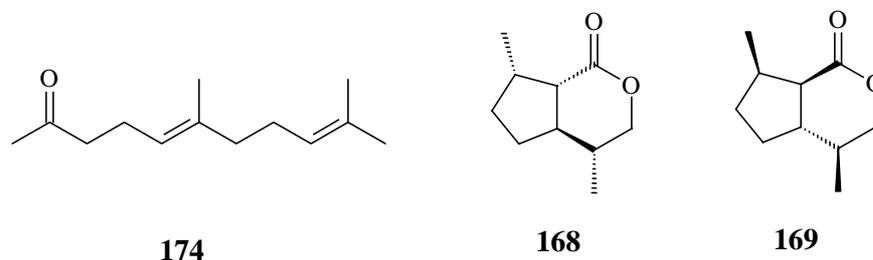


Fig. 11.4.

Nepetalactones **168** and **169** were synthesised in order to complete a set of already known *trans*-fused nepetalactones being components in the surface extracts of *Alloxysta victrix* females. However, comparing gas-chromatographic analyses with natural extracts and already

known *trans*-fused nepetalactones showed that **168** and **169** are not natural products in females of *Alloxysta victrix*.

The surface extracts of six European and North American male bumble bees (*Bombus hypnorum*, *B. hunttii*, *B. jonellis*, *B. morrisoni*, *B. balteatus*, *B. affinis*) were analysed by GC-MS. 35 substances were identified, including 2,3-dihydrofarnesol (**204**), 2,3-dihydrofarnesal (**206**) and geranylcitronellol (**205**). These terpenoids are known to be pheromones used by drones for marking their territory during mating time.

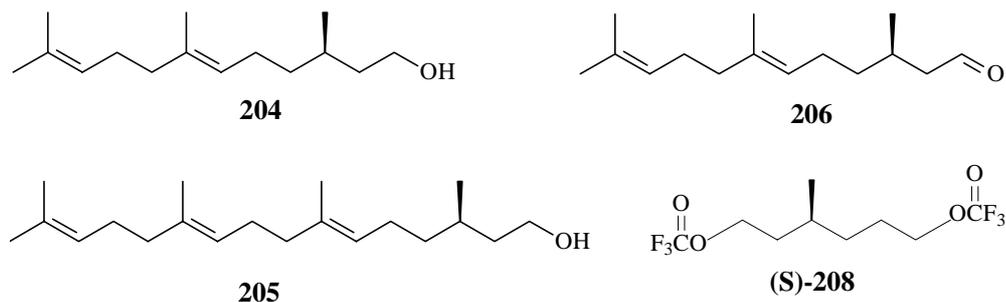


Fig. 11.5.

The stereogenic centers in position three were determined to be (*S*)-configured. This result was obtained by oxidative degradation and derivatisation of the natural products followed by gas-chromatographic analysis on enantioselective columns by use of synthetic diester **208**. The enantiomeric excess of the natural products **204** – **206** ranges between 77 and 96 % *ee* for the investigated species.

The most prominent component in surface extracts of *Eciton burchelli*, a tropical soldier ant, is probably 3,7-dimethyl-1,3,6-nonatrien (**211**) (homoocimene).

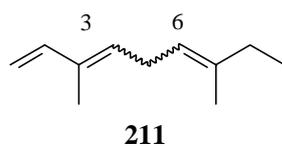


Fig. 11.6.

In order to prove this suggestion of Prof. Dr. D. Morgan (University of Sussex, UK) and to determine the stereochemistry of the natural product two mixtures of isomers of **211** were synthesised. Mixture A contains all four isomers, thus (3*E*,6*Z*)-, (3*E*,6*E*)-, (3*Z*,6*Z*)- and (3*Z*,6*E*)-configured **211** in relation to 18:16:3:2. Mixture B consists of (3*Z*,6*Z*)- and (3*Z*,6*E*)-**211** in relation of ca. 7:4. The syntheses are essentially based on acid catalysed rearrangements of vinyl- and ethynyl-substituted tertiary cyclopropyl alcohols, respectively. The double bonds in position six are generated by Wittig reaction with 2-butanone.

The structure of two unknown components of surface extracts of ants of genus *Tetramorium* were postulated to be (*E*)-3,7,8,11-tetramethyldodeca-6,10-dienal (**232**; tetramorine I) and (*E*)-3,4,7,8,11-pentamethyldodeca-6,10-dienal (**233**; tetramorine II).

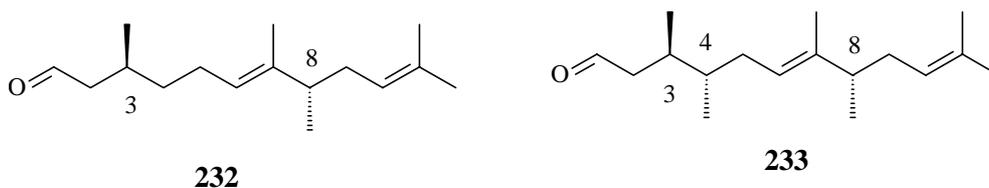


Fig. 11.7

But these suggestions have not been verified yet. In chapter 10 this thesis reports on GC-MS-analyses of surface extracts of eight different *Tetramorium* species. The content of tetramorine I (**232**) and tetramorine II (**233**) were determined roughly. The oxidative degradation of **232** in *Tetramorium semilaeve* followed by derivatisation and gas-chromatographic analysis of the resulting fragment **208** (fig. 11.5) showed that the stereogenic centre at position 3 is (S)-configured. For *T. moravicum* and its natural product **233** stereogenic centre at position 8 was similarly determined to show (S)-configuration. The synthetic diester **240** provided the decisive hint. The configuration of the methyl substituents at position 3 and 4 in natural aldehyde **233** turned out to be *anti*-configured.

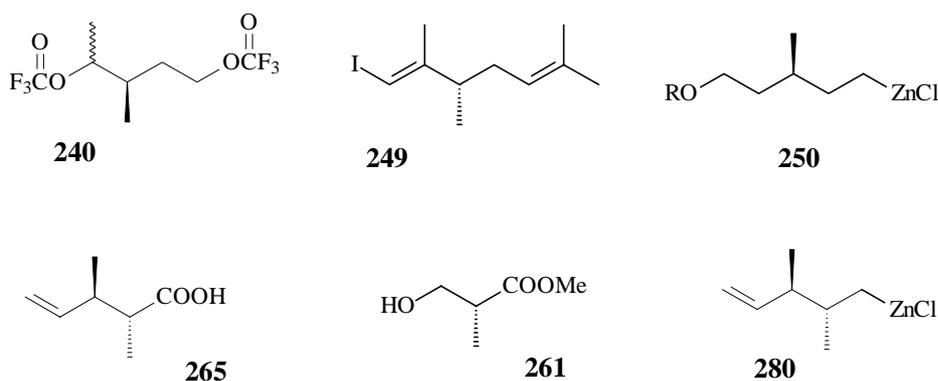


Fig. 11.8.

The syntheses of aldehydes **232** and **233** carried out for the first time are based on palladium-catalysed cross-coupling reactions of vinyl iodide **249** with zinc organyls **250** and **280**, respectively. (E)-(3S,8S)-3,7,8,11-tetramethyldodeca-6,10-dienal (**232**) was synthesised in 19 steps, inclusive protecting group methodology. The synthesis of (E)-(3R,4S,8S)-3,4,7,8,11-pentamethyldodeca-6,10-dienal **233** was carried out in 21 steps. Vinyl iodide **249** was synthesised in eleven steps from (R)-hydroxy-*iso*-butyric acid methylester **261**. **250** was prepared from (S)-Citronellol. In order to obtain **280** crotyl propionate was rearranged in a sigmatropic [3.3]-Claisen-Ireland reaction to **265** followed by racemic resolution with a chiral base. The gas-chromatographic retention times of synthetic **232**, **233** and corresponding natural substances were in accordance. Also mass spectra of synthetic samples and natural products were identical although it is possible that **233** possesses (3S,4R,8S)- instead of (3R,4S,8S)-configuration.