

WILHELM SANDERMANN und KLAUS BRUNS

Biogenetische Studien, VI¹⁾

Über die Biogenese von Longifolen in *Pinus longifolia* Roxb.

Aus der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft,
Institut für Holzchemie, und Chemische Technologie des Holzes,
Reinbek, Bez. Hamburg

(Eingegangen am 1. September 1961)

Nach Abbaueversuchen mit ¹⁴C-markiertem Longifolen aus *Pinus longifolia* Roxb. müssen bei dessen Biogenese entsprechend den Hypothesen von OURISSON und HENDRICKSON Umlagerungen im C-Gerüst erfolgen, obwohl die regelmäßige Verknüpfung der C₅-Bausteine einen ohne Umlagerungen verlaufenden Syntheseweg erwarten ließe.

Das zuerst von J. L. SIMONSEN²⁾ aus *Pinus longifolia* Roxb. isolierte Longifolen (IX) wurde inzwischen in über 20 Kiefernarten aufgefunden. In *Pinus maritima*³⁾ und *Pinus longifolia* Roxb. kommt es zusammen mit Caryophyllen (V) vor, während es im Wurzelharz von *Pinus thunbergii*⁴⁾, im Harz von *Pinus densiflora*⁵⁾ sowie in der Rinde von *Juniperus communis*^{5,6)} von Longiborneol begleitet wird. Wiederholt ist darauf hingewiesen worden, daß zwischen diesen Verbindungen, und auch dem Humulen (IV), ein enger biogenetischer Zusammenhang bestehen muß.

Die im Schrifttum für das Longifolen oft angewandte Schreibweise XI läßt deutlich eine regelmäßige Kopf-Schwanz-Verknüpfung der Isopentan-Bausteine erkennen. Nichts deutet darauf hin, daß während der Biogenese innermolekulare Umlagerungen stattgefunden haben, wie etwa bei den unregelmäßig gebauten Sesquiterpenverbindungen Elemol, Petasin u. a.

G. OURISSON bestimmte die absolute Konfiguration des Longifolens (IX) und stellte die Hypothese auf, daß sich Longifolen biogenetisch über das Longibornyl-Ion I bilde⁷⁾.

Ausführlicher geht J. B. HENDRICKSON auf die Biogenese des Longifolens ein⁸⁾. Ausgehend vom *cis*-Farnesol (II) soll sich zunächst das Kation III bilden. Durch einfachen Verlust eines Protons entsteht Humulen (IV). Das Carboniumion am Kohlenstoffatom 10 der Formel III kann auch mit einer Äthylenbindung reagieren. Die Bindung Δ^{6-7} (III) kommt hierfür jedoch nicht in Betracht, da sie durch das nach innen ragende H-Atom am Kohlenstoffatom 1 blockiert ist. Hingegen kann das Kation mit

¹⁾ V. Mitteil.: W. SANDERMANN und W. SCHWEERS, Chem. Ber. 93, 2266 [1960].

²⁾ J. chem. Soc. [London] 117, 570, 578 [1920]; 123, 2642 [1923]; Indian Forest Rec. 9, pt. 4 [1922]; 10, pt. 4 [1923].

³⁾ G. DUPONT, R. DULOU und P. NAFFA, Bull. Soc. chim. France 1948, 990.

⁴⁾ S. AKIYOSHI, Repts. Imp. Ind. Research Inst., Osaka, Japan 17, Nr. 10 [1937].

⁵⁾ S. AKIYOSHI, H. ERDTMAN und T. KUBOTA, Tetrahedron [London] 9, 237 [1960].

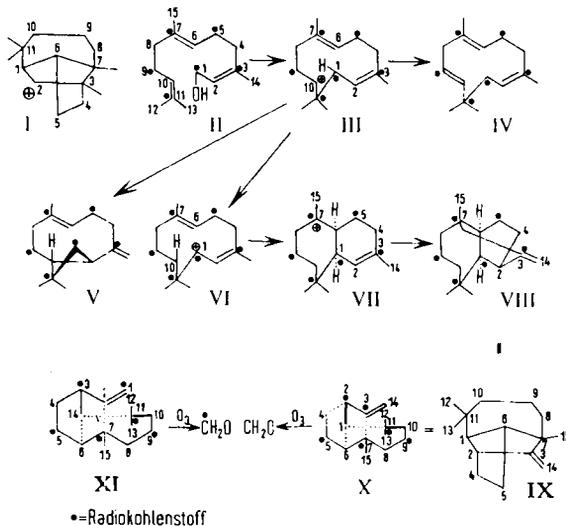
⁶⁾ G. MATTSON, Bidrag Finl. Nat. Folk H 72, 1 [1913]; zit. nach S. V. HINTIKKA, C. 1923 I, 1540.

⁷⁾ Bull. Soc. chim. France 1955, 895.

⁸⁾ Tetrahedron [London] 7, 82 [1959].

der Bindung Δ^{2-3} reagieren, wobei wahrscheinlich synchron aus der Methylgruppe am Kohlenstoffatom 3 ein Proton abgespalten und Caryophyllen (V) gebildet wird. Für die Biogenese des Longifolens (VIII–X) aus dem Kation III wird eine 1.3-Hydridwanderung zu VI, ein Ringschluß zum Kation VII und eine Ausbildung der 3–7- und 2–4-Bindungen unter gleichzeitiger Sprengung der 3–4-Bindung angenommen.

Um die Frage zu entscheiden, ob im Longifolen das ursprünglich regelmäßig aufgebaute Gerüst XI noch vorhanden ist oder ob es sich im Sinne der Hypothese von OURISSON und HENDRICKSON so umgewandelt hat, daß der regelmäßige Aufbau nur noch scheinbar besteht, wurde nach Einführung von Na-Acetat-[1- 14 C] in *Pinus longifolia* Roxb. radioaktives Longifolen gewonnen und mit Ozon abgebaut. Da nach Versuchen von K. BLOCH einerseits⁹⁾ und CORNFORTH und POPIAK andererseits¹⁰⁾ sich im Kohlenstoffgerüst der Terpene Methyl- und Carboxylkohlenstoff aus Essigsäure abwechseln und seitenständige C-Atome ausschließlich aus der Methylgruppe der Essigsäure stammen, muß die Aktivität die in den Formeln II bis XI angegebene Verteilung aufweisen.



Liegt eine echte regelmäßige Verknüpfung der C₅-Bausteine im Sinne der Formel XI vor, so muß der durch Ozonspaltung erhaltene Formaldehyd radioaktiv sein. Stimmt dagegen die Hypothese von OURISSON und HENDRICKSON, so ist der regelmäßige Aufbau nur vorgetäuscht, der Formaldehyd muß inaktiv sein, wie sich aus der Aktivitätsverteilung in VIII und X ergibt. Da der aus Longifolen abgespaltene Formaldehyd in der Tat nur 1.6% der für den Fall einer regelmäßigen Verknüpfung der Bausteine zu erwartenden Aktivität besaß (Tabelle), muß während der Biogenese eine Umwandlung eingetreten sein, bei der an der Stelle des ursprünglich radioaktiven C-1-Atoms in XI ein inaktives zu stehen kommt (vgl. C-14-Atom in X). Damit erhält die Hypothese von OURISSON und HENDRICKSON eine starke Stütze.

⁹⁾ Harvey Lectures 48, 68 [1954].

¹⁰⁾ P. POPIAK, Annu. Rev. Biochem. 27, 533 [1958] (Übersicht).

Dem BUNDESMINISTERIUM FÜR ATOMKERNENERGIE UND WASSERWIRTSCHAFT danken wir für die finanzielle Unterstützung der Arbeit und den Herren S. C. BHATTACHARYYA (Poona), Prof. G. BRUS (Bordeaux), Dir. P. LEGENDRE (Bordeaux), Dr. H. SCHUBERT (Gersthofen), der GOVT. JALLO ROSIN AND TURPENTINE FACTORY (Lahore) sowie der INDIAN TURPENTINE AND ROSIN Co. LTD. (Bareilly) für die freundliche Überlassung von Ausgangsmaterial.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Applikation von Na-Acetat-[1-¹⁴C] in Pinus longifolia Roxb. und Isolierung des Longifolens

Drei 2¹/₂jährige Pflanzen wurden unter Wasser in 10 Teile geschnitten. Die zugeführte Menge an aktiver Vorstufe betrug 1.0 mC Na-Acetat-[1-¹⁴C], die in 25 ccm Wasser gelöst, von dem Pflanzenmaterial innerhalb von 96 Stdn. bei Belichtung und Belüften aufgenommen wurde. Die Gesamtmenge an aufgenommener Flüssigkeit betrug während der Versuchsdauer 59 ccm, wobei im gesamten Material — bis in die Zweigspitzen — Aktivität festgestellt werden konnte. Anschließend wurde das so behandelte Pflanzenmaterial (84.0 g) mit fester Kohlensäure eingefroren, zerkleinert und im Ölpumpenvakuum ausgeheizt. Das Destillat wurde in einem 50-ccm-Meßkolben mit 1.0 ccm einer Longifolenfraktion versetzt und nach Schütteln über Nacht stehengelassen. Nach Abtrennung der organischen Schicht wurde die wäßrige Lösung mit etwa 2 ccm Äther geschüttelt und der Auszug zum Öl gegeben. Danach wurde das Öl durch Kugelrohrdestillation bei 20 Torr abgetrennt (Luftbadtemperatur 150—170°). Das rohe Longifolen wurde gaschromatographisch unter folgenden Arbeitsbedingungen gereinigt: Säulenmaterial Kieselgur/Apiezonfett; Länge 2.6 m (präparativ); Temperatur 230°; Trägergas Helium; Druck 1.4 atü.

Das so gewonnene Longifolen erwies sich nach gaschromatographischer Prüfung auf einer analytischen Säule als rein. Es besaß eine spezif. Aktivität von 165090 Imp./min · mMol. Gasphasenmessung¹¹⁾: Nullwert 47.5 Imp./min; Präparat: 6288 Imp./min (Einwaage: 7.72 mg); Fehlergrenze: ± 1%.

Ozonisierung von Longifolen und hydrierende Spaltung

210 mg (0.22 ccm) aktives Longifolen wurden in 15 ccm über CaCl₂ getrocknetem und destilliertem Essigester gelöst und bei -30° in einem raschen Ozonstrom 4 Min. 34 Sek. behandelt. Die ozonisierte Lösung wurde mit etwa 50 ccm Essigester mit 200 mg 10-proz. Pd-Aktivkohle bei -20° während 8 Stdn. hydriert. Die vom Katalysator befreite Lösung wurde fünfmal mit je 15 ccm Wasser extrahiert. Den vereinigten wäßrigen Extrakten aus der Ozonidspaltung wurden 2 ccm *n*-K-Acetat und 2 ccm alkohol. Dimedonlösung (80 mg/ccm) zugesetzt. Es trat sofortige Trübung ein. Nach Stehenlassen über Nacht wurde die Dimedonverbindung des Formaldehyds abgesaugt, fünfmal mit Wasser gewaschen und getrocknet; Schmp. 189—190°. Ausb. 168 mg = 56%, bez. auf 100% Ozonisierung bzw. 75%, bez. auf gefundene Ozonidmenge.

Nach Reinigung durch Umkristallisieren aus Äthanol wurde eine spezif. Aktivität von 441.4 ± 9 Imp./min · mMol gefunden. Gasphasenmessung: Nullwert 47.5 Imp./min; Präparat 65.99 Imp./min (Einwaage 12.2 mg).

Einbau von Acetat-[1-¹⁴C] in Longifolen

Spezif. Aktivität Imp./min · mMol	Longifolen	Dimedonderivat des Formaldehyds	
		aus X	aus XI
Ber.	—	0	27515
Gef.	165090 ± 1650		441 ± 9

¹¹⁾ H. SIMON, H. DANIEL und J. F. KLEBE, *Angew. Chem.* 71, 303 [1959].