

Ferdinand Bohlmann, Ruth Jente, Wolfgang Lucas, Joachim Laser und Horst Schulz

Polyacetylenverbindungen, CXXXVI¹⁾

Die Biogenese von Polyinen des Tribus *Anthemideae*

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Universität Berlin

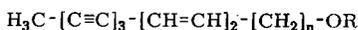
(Eingegangen am 15. April 1967)

Die Biogenese mehrerer Polyine wird durch Verfütterung markierter Verbindungen weitgehend geklärt. Überraschenderweise werden recht verschiedene Verbindungen aus gemeinsamen Vorstufen aufgebaut, deren Bildung aus Ölsäure erfolgt.

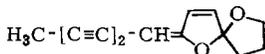
Im Tribus *Anthemideae* kommen weit über 100 Acetylenverbindungen vor, die auf den ersten Blick recht unterschiedliche Strukturen aufweisen²⁾. Man kann diese Verbindungen jedoch in Gruppen biogenetisch eng verwandter Substanzen einteilen: Zunächst lassen sich die C₁₀-Polyine vom Typ 1 zusammenfassen; dann die C₁₃- und C₁₄-Verbindungen vom Typ 2 bzw. 3 und 4 bzw. 5 sowie die Phenylverbindungen, die mit 6 und 7 in enger biogenetischer Beziehung stehen; und schließlich eine kleinere Gruppe von C₁₇-Verbindungen, die hier nicht diskutiert werden sollen. Die verschiedenartigsten Umwandlungen dieser Grundtypen ergeben die große Zahl der in diesem Tribus gefundenen Acetylenverbindungen²⁾.



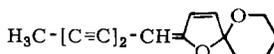
1



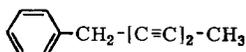
2: n = 2 3: n = 3



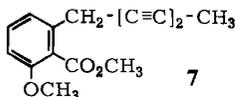
4



5



6



7

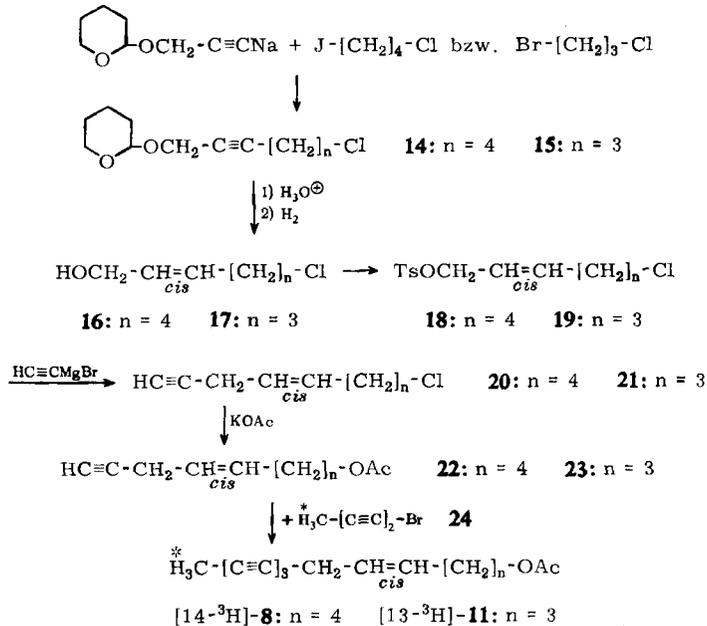
Gut untersucht ist bereits die Biogenese von 4 und 5³⁾. Offen ist jedoch die Frage, aus welchen Vorstufen die Hydroxyketone 10 und 13 gebildet werden.

¹⁾ CXXXV. Mittel.: F. Bohlmann, C. Zdero und H. Bethke, Chem. Ber. 100, 2523 (1967).

²⁾ F. Bohlmann, H. Bornowski und C. Arndt, Fortschr. chem. Forsch. 4, 138 (1962); F. Bohlmann, ebenda 6, 65 (1966); F. Bohlmann, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe, im Druck.

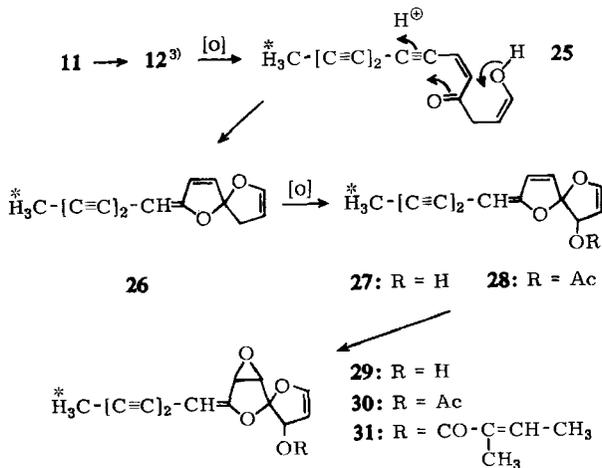
³⁾ F. Bohlmann und G. Florentz, Chem. Ber. 99, 990 (1966).

Die markierten Acetate **8** und **11** werden auf folgendem Wege erhalten:

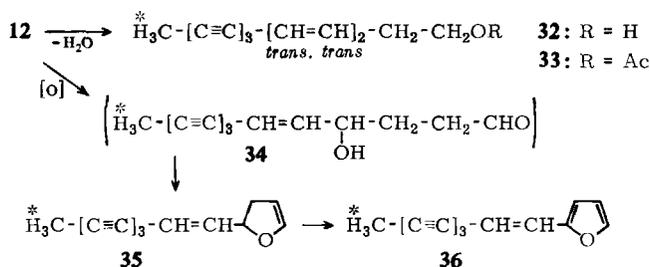


Das Acetat **8** stimmt in allen spektralen Eigenschaften mit denen des Naturstoffs⁴⁾ überein.

Auch die stärker ungesättigten und sauerstoffhaltigeren Derivate von **4** werden aus **12** gebildet, wie durch Fütterungsversuche an *Chrysanthemum maximum* Ramond, *Chr. lacustre* Brot. und *Chr. silvaticum* Hofm. gezeigt werden kann. Ihre Bildung erfolgt demnach wahrscheinlich nach folgendem Schema:

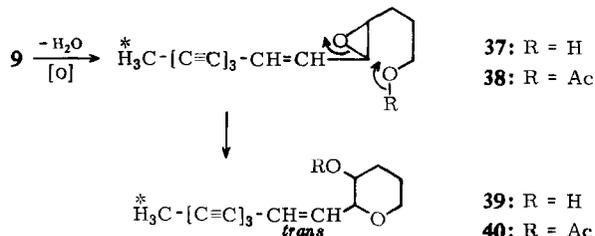


Erwartungsgemäß bilden sich auch das Acetat **33** und die Furanverbindung **36** aus dem Diol **12**:

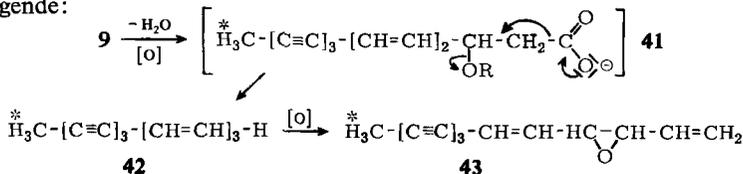


Daß **36** durch Dehydrierung von **35** gebildet wird, ist lediglich eine wahrscheinliche Annahme, da beide Verbindungen meistens nebeneinander vorkommen. **36** könnte auch direkt aus dem **34** entsprechenden Ketoaldehyd gebildet werden. Die gleiche Frage stellt sich bei der Bildung von **26**. Wie durch Verfütterung von ^3H -**4** gezeigt werden kann, wird auch dieses in **26** übergeführt.

Da *Matricaria globifera* L. auch das Tetrahydropyran-Derivat **39** bzw. **40** enthält, konnte bei der Verfütterung von **8** gleichzeitig der Biogeneseweg dieser Verbindung geklärt werden. Offensichtlich wird **8** in **9** übergeführt, das dann das Epoxid **37** liefert, das neben **40** in *Chrysanthemum serotinum* L. vorkommt. Durch innermolekulare Öffnung des Epoxidringes ergibt **37** dann **39** bzw. **40**:



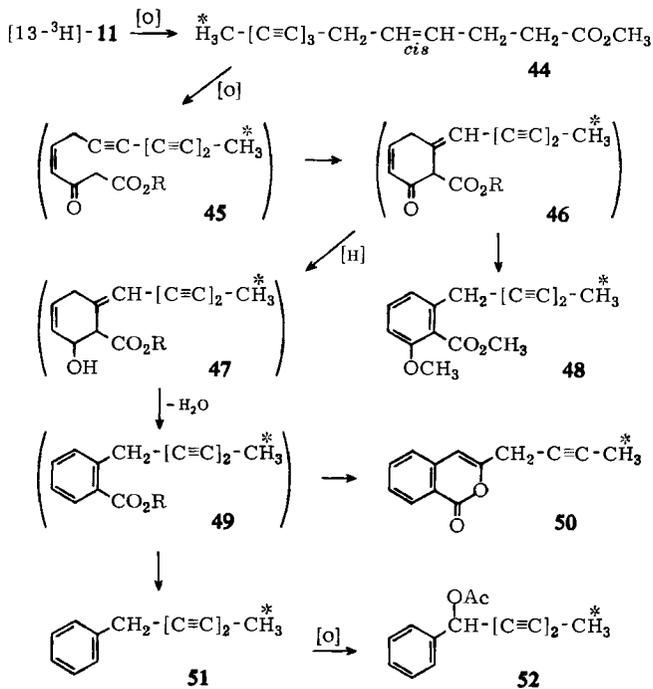
Wahrscheinlich entsteht auch der relativ weitverbreitete Kohlenwasserstoff **42** aus **9**, da das isolierte Epoxid **43** ebenfalls aktiv ist. Der mögliche Reaktionsweg ist der folgende:



Die Bildung von **43** aus **42** konnte schon früher gezeigt werden⁶⁾.

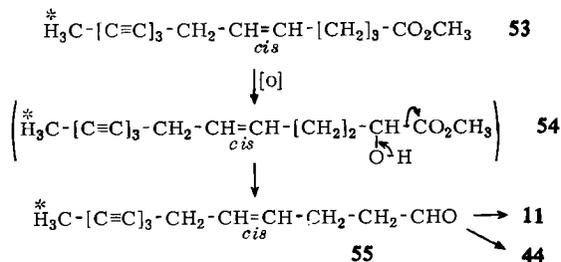
Da man in einigen Fällen im Tribus *Anthemideae* neben **4** und seinen Derivaten auch Phenylpolyline findet, war es denkbar, daß **11** bzw. **44** evtl. auch Vorstufen für derartige Verbindungen darstellen. Die Verfütterung von [^{13}C]-**11** oder **44** an *Chrysanthemum frutescens* L. ergibt in der Tat einen glatten Einbau in die dort sehr zahlreich vorkommenden Phenylverbindungen. Das folgende Schema ist als Biogeneseweg für die untersuchten Verbindungen am wahrscheinlichsten:

⁶⁾ F. Bohlmann, U. Hinz, A. Seyberlich und J. Replinger, Chem. Ber. **97**, 809 (1964).



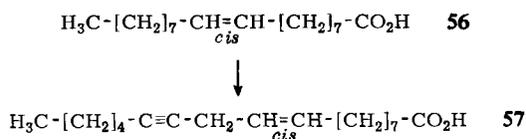
Gegenüber der Bildung von **4** aus **11** erfolgt hier also nach Oxydation zu **44** β -Oxydation und Ringschluß durch eine Art Michael-Addition zu **46**, das dann in bekannten Biogeneseschritten die Folgeprodukte liefert. Weitere Versuche mit mehrfach markierten Verbindungen werden vielleicht eine eindeutige Klärung dieses Schemas ermöglichen.

Um zu prüfen, ob **11** aus C_{14} -Verbindungen durch α -Oxydation entsteht, haben wir **53** an Pflanzen verfüttert, die keine C_{14} -Verbindungen enthalten. Es zeigt sich, daß z. B. die Blätter von *Chrysanthemum flosculosum* L. tatsächlich auch **53** in **4** überführen, jedoch ist die Einbaurrate um etwa eine Zehnerpotenz kleiner. Die Pflanze ist nicht in der Lage, **53** in **5** überzuführen. Ähnliche Ergebnisse erhält man bei Versuchen mit *Chrysanthemum frutescens* L. Auch hier wird **53** sehr viel schlechter eingebaut. Demnach ist die Pflanze zwar in der Lage, C_{14} -Verbindungen in C_{13} -Ketten überzuführen, jedoch handelt es sich wahrscheinlich nicht um den normalen Biogeneseweg. Als mögliches Schema für diesen Schritt wäre das folgende in Betracht zu ziehen:



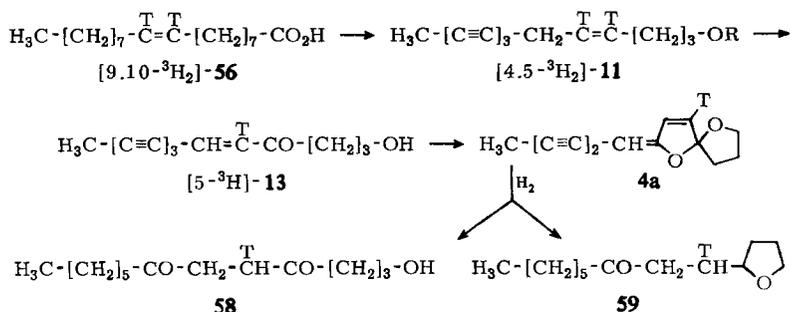
Daß derartige Reaktionsschritte bei den Compositen wahrscheinlich sind, zeigen die homologen Reihen von Polyin-Aldehyden mit 15–17 C-Atomen in den oberirdischen Teilen vieler *Centaurea*-Arten⁷⁾.

Nachdem somit gezeigt worden ist, daß **8** bzw. **11** wichtige Vorstufen sind, erhebt sich die Frage, wie diese Verbindungen entstehen. Die Tatsache, daß in der letzten Zeit viele Polyine mit einer isolierten *cis*-Doppelbindung aufgefunden wurden²⁾, in denen die Doppelbindung an der gleichen Stelle steht wie in der Ölsäure, macht es wahrscheinlich, daß Ölsäure eine entscheidende Ausgangsverbindung für die Bildung der Polyine darstellt. Bei Mikroorganismen konnte dieses in zwei Fällen gesichert werden⁸⁾. Versuche mit höheren Pflanzen waren zunächst erfolglos⁹⁾. Mit reifen Samen von *Crepis rubra* ließ sich jedoch zeigen, daß Ölsäure in die sog. Crepissäure (**57**) übergeht¹⁰⁾:



Daraus ergibt sich, daß der wahrscheinlich erste Schritt wie bei Mikroorganismen⁸⁾ auch in höheren Pflanzen ablaufen kann.

Erneute Fütterungsversuche mit verschiedenen Pflanzen zeigen, daß der erfolgreiche Einbau stark von der Methodik abhängig ist. Zerkleinerte Blätter von *Chrysanthemum flocculosum* L. überführen Ölsäure ([9.10-³H₂]-**56**) in hoher Ausbeute in **4** (als **4a**). Die Hydrierung von **4a** liefert neben dem bekannten Diketon **58** das Keton **59**, dessen Struktur sich eindeutig aus den spektralen Daten ergibt. Da das Tritium bei **58** in α -Stellung zur Ketogruppe steht, läßt es sich austauschen, während das bei **59** nicht möglich ist, was eindeutig die Stellung erkennen läßt. Intakte Blätter von *Chrysanthemum flocculosum* L. wandeln überraschenderweise **56** viel weniger in **4** um.



7) F. Bohlmann, K.-M. Rode und C. Zdero, Chem. Ber. **99**, 3544 (1966); vgl. auch C. Hitchcock und A. T. James, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **116**, 413 (1966), Abbau von Palmitinsäure.

8) J. D. Bu'Lock und G. N. Smith, J. chem. Soc. [London] **1967**, 332.

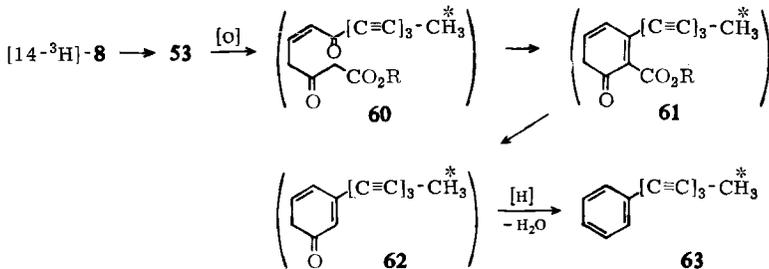
9) F. Bohlmann, W. v. Kap-herr, R. Jente und G. Grau, Chem. Ber. **99**, 2091 (1966).

10) W. G. Haigh und A. T. James, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam], im Druck.

Die Verfütterung von [9.10-³H₂]-**56** an zerkleinerte Wurzeln von *Chrysanthemum frutescens* L. ergibt ebenfalls den Einbau in die Phenylverbindung **52**. Damit dürfte geklärt sein, daß die C₁₃-Polyine des Tribus *Anthemideae* aus Ölsäure gebildet werden, die wahrscheinlich zunächst zu einer C₁₈-Triin-Säure dehydriert wird, die dann durch β- bzw. α-Oxydation zu C₁₄- bzw. C₁₃-Verbindungen abgebaut wird, wobei die Frage offen ist, an welcher Stelle die Gabelung zu den ungeradzahligen Verbindungen erfolgt. Weitere Versuche müssen diese Frage klären.

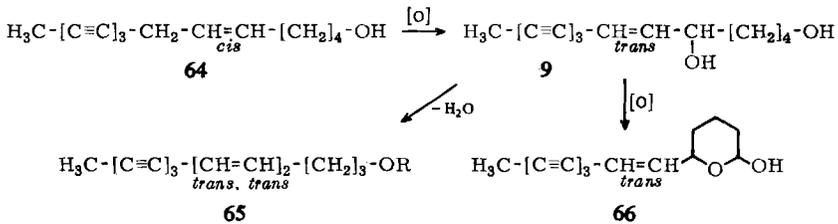
Die Bedeutung der isolierten *cis*-Doppelbindung geht auch aus dem Ergebnis der Verfütterungen von [16-³H]Hexadecatriin-(10.12.14)-säure-(1) hervor. Während für **1** eine hohe Einbaurrate zu beobachten ist, sind **5**, **40**, **43**, **48** und **52** inaktiv.

Die zentrale Stellung von Verbindungen vom Typ **8** ergibt sich auch aus Versuchen mit Pflanzen aus anderen Tribus. So werden **8** und **53** von *Coreopsis lanceolata* L. in das Phenylheptatriin **63**²⁾ übergeführt. Als Mechanismus ist der folgende Weg vorzuschlagen:



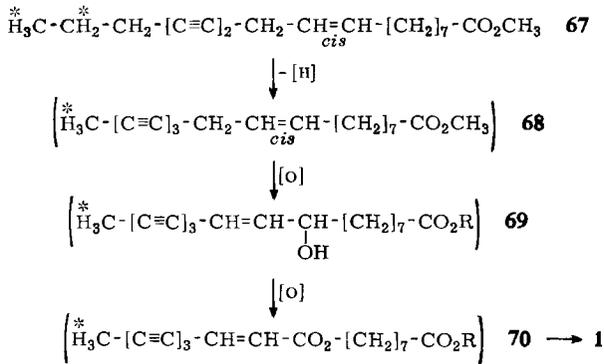
In diesem Falle würde also zunächst die reaktionsfähige Methylengruppe und die β-Stellung oxydiert und der Ringschluß durch Aldolkondensation erfolgen.

Auch im Tribus *Cynareae* scheinen Verbindungen vom Typ **8** wichtig zu sein. Aus *Centaurea*-Arten haben wir die folgenden, biogenetisch nahe verwandten Verbindungen isoliert:

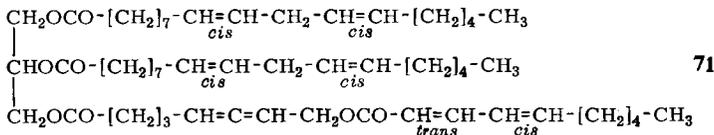


Die C₁₀-Verbindungen des Tribus *Anthemideae* entstehen offenbar ebenfalls aus C₁₈-Säuren. Neben einfachen Triinsäuren⁹⁾ wird auch der Diinsäureester **67** (Darst. s. Versuchsteil) mit isolierter *cis*-Doppelbindung in **1** umgewandelt, so daß evtl. folgender Mechanismus nach einem Vorschlag von Sir E. Jones¹¹⁾ denkbar ist:

11) Sir E. Jones, Privatmitteil.



Der Übergang von **69** in **70** wäre eine Art Baeyer-Villiger-Oxydation und wird wahrscheinlich durch die Isolierung von **71** mit einer derartigen Gruppierung¹²⁾:



Die Verfütterung von **10** an *Artemisia vulgaris* L. zeigt jedoch, daß **1** auch sehr glatt aus diesem Keton gebildet wird, so daß erst weitere Versuche notwendig sind, um den Biogeneseweg zu **1** und seinen Derivaten endgültig zu klären.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse über die Biogenese der natürlichen Acetylenverbindungen lassen vermuten, daß die Dreifachbindungen durch Dehydrierung mit speziellen Enzymen gebildet werden, wobei offenbar in der Regel Fettsäuren mit einer *cis*-Doppelbindung das eigentliche Ausgangsmaterial darstellen. Die so entstehenden stark ungesättigten Säuren werden dann in die eigentlichen Polyine umgewandelt, wobei im wesentlichen wiederum Dehydrierungen bzw. Oxydationen entscheidend sind. Da in Vorstufen wie z. B. **53** mehrere reaktionsfähige Methylengruppen vorhanden sind, entstehen zahlreiche Sekundärprodukte, die dann zu der beobachteten Vielzahl der Acetylenverbindungen recht unterschiedlicher Struktur führen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem ERP-Sondervermögen und dem Fonds der Chemie danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

Beschreibung der Versuche

Die UV-Spektren wurden in Äther im Beckman DK 1, die IR-Spektren in CCl₄ oder CHCl₃ im Beckman IR 9 und die NMR-Spektren in CCl₄ im Varian HA 100 mit TMS als innerem Standard gemessen. Die Massenspektren nahm man im MS 9 der Firma AEI auf; die Substanzen führte man im Direktinlaß in das Gerät ein. Die Aktivitätsbestimmungen wurden entweder im Gaszählrohr mit einem Gerät von Prof. Berthold oder im Szintillationszähler der Firma Beckman ausgeführt. Die angegebenen spezif. Aktivitäten sind jeweils auf unverdünntes Material bezogen. Alle bereits bekannten Substanzen wurden durch Ver-

¹²⁾ H. W. Sprecher, R. Maier, M. Barber und R. T. Holman, *Biochemistry* **4**, 1856 (1965).

gleich ihrer IR- und UV-Spektren mit denen authentischer Proben identifiziert. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Substanzen aus Äther/Petroläther umkristallisiert. Die angegebenen Siedepunkte beziehen sich auf die Luftbadtemperaturen bei Kugelrohrdestillationen. Für die Säulenchromatographien verwandte man Al_2O_3 (schwach sauer, Akt.-St. II) und für die Dünnschichtchromatographien Kieselgel HF 254 (E. Merck AG).

cis-1-Acetoxy-[14- ^3H]tetradecen-(5)-triin-(8.10.12) ([14- ^3H]-8): 11.5 g Natrium wurden in ca. 1 l flüss. NH_3 zum Amid umgesetzt und anschließend 48.6 g des Tetrahydropyranyl-(2)-äthers von Propargylalkohol (durch Umsetzung von Propargylalkohol mit Dihydropyran in Gegenwart von 0.1% Phosphoroxchlorid) innerhalb 30 Min. unter Rühren eingetrofft. Nach weiteren 30 Min. tropfte man 73 g 1-Chlor-4-jod-butan in 120 ccm absol. THF hinzu, zersetzte nach 4 Stdn. mit 40 g NH_4Cl , rührte über Nacht mit 800 ccm Äther, trennte die Ätherphase ab, löste den Rückstand in Wasser und ätherte aus. Die vereinigten Ätherphasen wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt. Ausb. 74.8 g [7-Chlor-heptin-(2)-yl]-[tetrahydropyranyl-(2)]-äther (14), farbloses, nicht destillierbares Öl.

74.8 g 14 in 140 ccm Methanol versetzte man mit 140 ccm 2n H_2SO_4 , rührte 2 Tage bei Raumtemp., neutralisierte mit NaHCO_3 , verdünnte mit Wasser und nahm in Äther auf. Die vereinigten Ätherphasen wurden mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingeengt. Sdp._{0.5} 88–89°, Ausb. 28 g (57%) 7-Chlor-heptin-(2)-ol-(1).

IR: –OH 3600; –C≡C– 2250/cm.

NMR: $\text{HOCH}_2\text{—C}\equiv\text{t}$ 5.85 τ (2) ($J = 2$ Hz), s 6.65 τ (1); – CH_2Cl t 6.49 τ (2) ($J = 6$); $\equiv\text{C—CH}_2\text{—}[\text{CH}_2]_2\text{—}$ tt 7.75 τ (2) ($J = 6$ und 2), m 8.2 τ (4).

10.9 g des obigen Alkohols hydrierte man in 275 ccm Äther in Gegenwart von 1.5 g Lindlar-Katalysator bis zur Aufnahme von 1 Mol H_2 . Nach Abfiltrieren des Katalysators und Eindampfen wurde *cis*-7-Chlor-hepten-(2)-ol-(1) (16) destilliert. Sdp._{0.2} 95–100°. Ausb. 10.5 g.

IR: –OH 3630; –CH=CH– 1670/cm.

NMR: –CH=CH– m 4.57 τ (2); $\text{HOCH}_2\text{—d}$ 5.96 τ (2) ($J = 5$ Hz), s 6.4 τ (1); – CH_2Cl t 6.55 τ (2) ($J = 6$); $\equiv\text{C—CH}_2\text{—}[\text{CH}_2]_2\text{—}$ m 8.0 τ (2), m 8.4 τ (4).

10.5 g 16 in 480 ccm absol. Äther versetzte man mit 13.8 g *p*-Toluolsulfochlorid und fügte bei 0° unter Rühren anteilweise 16 g gepulvertes *KOH* hinzu. Dann wurde 4 Stdn. bei 0° und 1 Stde. bei 20° nachgerührt, anschließend in Äther aufgenommen, neutralgewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Tosylat (18) blieb als schwach gelbliches Öl zurück. Ausb. 19.7 g.

IR: –CH=CH– 1665; Tosylat 1605, 1380, 1195, 1185/cm.

Zu einer Lösung von Äthynylmagnesiumbromid (aus 3.33 g Mg) gab man 20 mg Cu_2Cl_2 , tropfte 10.0 g 18 in 70 ccm absol. THF innerhalb von 10 Min. ein und erhitzte 2½ Stdn. zum Sieden. Nach dem Abkühlen wurde mit verd. Salzsäure und Eis zersetzt, mit Petroläther ausgeschüttelt, neutralgewaschen, die getrocknete Petrolätherlösung eingedampft und der Rückstand (6.0 g) an 170 g SiO_2 chromatographiert. Mit Petroläther eluierte man 4.15 g (80%) *cis*-9-Chlor-nonen-(4)-in-(1) (20), farbloses Öl, Sdp._{0.3} 80–90°.

IR: –C≡CH 3300, 2140; –CH=CH– 1650/cm.

NMR: –CH=CH– m 4.6 τ (2); – CH_2Cl t 6.55 τ (2) ($J = 6$ Hz); $\equiv\text{CH—CH}_2\text{—C}\equiv$ m 7.15 τ (2); $\equiv\text{CH—CH}_2\text{—}$ m 7.95 τ (2); $\text{HC}\equiv\text{t}$ 8.2 τ (1) ($J = 2.5$); – $[\text{CH}_2]_2\text{—}$ m 8.4 τ (4).

4.15 g 20 in 48 ccm Aceton rührte man mit 5 g wasserfreiem *NaJ* 2 Stdn. bei Raumtemp., 5 Stdn. bei 60° und anschließend noch 16 Stdn. bei 20°. Das ausgefallene NaCl wurde abgesaugt, die Acetonlösung i. Vak. eingeengt, in Wasser gegossen und anschließend mehrmals ausgeäthert. Die vereinigten Ätherphasen wurden mit NaHSO_3 -Lösung geschüttelt, getrocknet und eingeengt. Ausb. 5.27 g rohes *cis*-9-Jod-nonen-(4)-in-(1), das noch 20 enthält.

3.3 g des obigen *Jodids* erhitzte man mit 4.2 g *Kaliumacetat* (wasserfrei) in 14 ccm Eisessig 1 Stde. auf 120–125°, chromatographierte das Reaktionsprodukt an 180 g SiO₂ und erhielt mit Petroläther 1.75 g **20** und mit 2% Ätherzusatz 1.1 g *cis-9-Acetoxy-nonen-(4)-in-(1)* (**22**) als farbloses Öl.

IR: —C≡CH 3300, 2140; —CH=CH— 1670; —COCH₃ 1750, 1250/cm.

NMR: —CH=CH— m 4.6 τ (2); —CH₂—OAc t 6.02 τ (2) (*J* = 6 Hz); =CH—CH₂—C≡ m 7.15 τ (2); =CH—CH₂— m 7.95 τ (2); —COCH₃ s 8.05 τ (3); HC≡ t 8.16 τ (1) (*J* = 2.5); —[CH₂]₂— m 8.45 τ (4).

Zu 2.5 ccm Methanol gab man nacheinander 8 mg Cu₂Cl₂, 50 mg NH₂OH·HCl, 0.7 ccm einer 50-proz. Äthylamin-Lösung und 200 mg **22** in 3.5 ccm absol. THF. Innerhalb von 25 Min. wurden in Stickstoffatmosphäre 1 mMol *1-Brom-[5-³H]pentadiin-(1.3)* (**24**) (aus [^{5-³H]Pentadiin-(1.3)}³) durch Schütteln der äther. Lösung mit Natriumhypobromit in 2 ccm Methanol bei 0° unter Rühren eingetropft. Anschließend rührte man 35 Min. bei 0°, dann 70 Min. bei 20° und chromatographierte mit Äther/Petroläther (1 : 30) das Reaktionsprodukt an 50 g Al₂O₃, wobei unumgesetztes **22** und entstandenes **8** gemeinsam von der Säule kamen. **22** trennte man als Silbersalz ab. Man löste dazu in wenig Methanol, versetzte mit ammoniakalischer Ag-Salz-Lösung, verdünnte mit Wasser und nahm in Äther auf. Die vereinigten Ätherphasen wurden mit Wasser neutralgewaschen, getrocknet und eingeengt. Den Rückstand reinigte man durch präparative Dünnschichtchromatographie (Äther/Petroläther 3 : 7) und erhielt 51.5 mg **8** (20%) als farbloses Öl. Spezif. Akt. 4.50·10⁹ ipm/mMol.

IR: —C≡C— 2230; —CH=CH— 1670; CH₃CO— 1250, 1750/cm.

NMR: —CH=CH— m 4.6 τ (2); —CH₂—OAc t 6.02 τ (2) (*J* = 6 Hz); ≡C—CH₂—C≡ m 7.0 τ (2); =CH—CH₂— m 7.9 τ (2); —COCH₃ s 8.04 τ (3); H₃C—C≡ s 8.05 τ (3); —[CH₂]₂— m 8.5 τ (4).

C₁₆H₁₈O₂ (242.3) Ber. C 79.31 H 7.49 Gef. C 79.31 H 7.66

Azobenzolcarbonsäureester von cis-[14-³H]Tetradecen-(5)-triin-(8.10.12)-ol-(1) ([14-³H]-**64**): 10 mg [14-³H]-**8** verseifte man mit 1 n methanol. KOH und setzte den erhaltenen Alkohol **64** in Benzol/Pyridin mit Azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid um. Orangefarbene Kristalle, Schmp. 86.5–87°.

UV: λ_{max} 323, 212 mμ (ε = 27770, 118100).

C₂₇H₂₄N₂O₂ (408.5) Ber. C 79.38 H 5.92 N 6.86 Gef. C 79.19 H 5.95 N 6.68

cis-[14-³H]Tetradecen-(5)-triin-(8.10.12)-säure-(1)-methylester (**53**): 1.63 g **22** wurden in 90 ccm Methanol mit 0.6 g *p-Toluolsulfonsäuremonohydrat* 2 Stdn. zum Sieden erhitzt. Nach Verdünnen mit Wasser nahm man in Äther auf und chromatographierte den Eindampfrückstand an 50 g Al₂O₃ (Äther/Petroläther 1 : 1). Ausb. 1.22 g *cis-9-Hydroxy-nonen-(4)-in-(1)* als farbloses Öl.

IR: —OH 3640; —C≡CH 3310, 2120; —CH=CH— 1645/cm.

NMR: —CH=CH— m 4.62 τ (2); —CH₂OH t 6.50 τ (2) (*J* = 6 Hz), s 6.5 τ (1); ≡C—CH₂—C≡CH dd 7.15 τ (2) (*J* = 5 und 2.5), t 8.15 τ (1) (*J* = 2.5); —[CH₂]₂—CH₂—C≡ m 8.47 τ (4), m 7.95 τ (2).

432 mg des obigen *Alkohols* wurden in 3.1 ccm Aceton unter Rühren und Eiskühlung innerhalb von 30 Min. mit 3.13 ccm einer Lösung aus 5 g CrO₃ und 8 g H₂SO₄ in 20 ccm Wasser versetzt. Nach 12stdg. Rühren bei 20° verdünnte man mit Wasser, extrahierte mit Äther, schüttelte die Ätherphase dreimal mit NaHCO₃-Lösung aus und isolierte die entstandene Säure durch Ansäuern mit verd. Schwefelsäure und Ausschütteln mit Äther. Ausb. 226 mg ölige *Nonen-(5)-in-(8)-säure-(1)*.

Die äther. Lösung der Säure wurde bei 0° mit *Diazomethan* verestert. Den entstandenen Ester chromatographierte man an 50 g SiO₂ mit Äther/Petroläther (1 : 20). Ausb. 162 mg (31%) *Nonen-(5)-in-(8)-säure-(1)-methylester* als farbloses Öl.

IR: —C≡CH 3300, 2130; —CH=CH— 1670; —CO₂CH₃ 1740/cm.

NMR: —CH=CH— m 4.57 τ (2); —CO₂CH₃ s 6.40 τ (3); ≡C—CH₂—C= $\overset{|}{\text{C}}$ dd 7.13 τ (2) (*J* = 5 und 2.5 Hz); —CH₂CO₂R t 7.74 τ (2) (*J* = 6); —CH₂—C= $\overset{|}{\text{C}}$ m 7.9 τ (2); ≡CH t 8.19 τ (1) (*J* = 2.5); —CH₂— tt 8.28 τ (2) (*J* = 6 + 6).

Wie bei 8 wurden 268 mg *Nonen-(5)-in-(8)-säure-(1)-methylester* mit 1.6 mMol *1-Brom-[5-³H]pentadiin-(1,3)* (24) umgesetzt. Ausb. 80.2 mg (22%) 53. Spezif. Akt. 4.50 · 10⁹ ipm/mMol.

IR: —C≡C— 2230; —CH=CH— 1660; —CO₂CH₃ 1750/cm.

NMR: H₃C—C≡ s 8.04 τ (3); ≡C—CH₂—C= $\overset{|}{\text{C}}$ d 7.00 τ (2) (*J* = 5 Hz); —CH=CH— m 4.58 τ (2); ≡C—CH₂CH₂CH₂CO₂R m 8.0 τ (2), tt 8.30 τ (2) (*J* = 6.5 und 6), t 7.76 τ (2) (*J* = 6.5).

Massenspektrum: M⁺ 228.1151 (35%) (ber. 228.1150); —CO₂CH₃ *m/e* 169 (45%); —CH₂CO₂CH₃ *m/e* 155 (65%); —CH₃CO₂CH₃ *m/e* 154 (97%); 154 — H *m/e* 153 (100%); H₃C—[C≡C]₃—CH₂—CH=CHCH₂⁺ *m/e* 141 (47%); 141 — H *m/e* 140 (15%); 140 — H *m/e* 139 (27%); 141 — C₂H₂ *m/e* 115 (50%).

cis-1-Acetoxy-[13-³H]tridecen-(4)-triin-(7.9.11) (11): Analog zu 14 erhielt man aus 56.5 g *1-Chlor-3-brom-propan* und 50.0 g *Tetrahydropyranyl-(2)-äther des Propargylalkohols* 77.5 g rohen [6-*Chlor-hexin-(2)-yl*]-[*tetrahydropyranyl-(2)*]-äther (15), der in 240 ccm Methanol mit 2.4 g *p-Toluolsulfonsäuremonohydrat* 2 Std. zum Sieden erhitzt wurde. Man erhielt 30 g *6-Chlor-hexin-(2)-ol-(1)*, Sdp._{0.2} 80—85°.

IR: —OH 3630; —C≡C— 2250/cm.

NMR: HOCH₂—C≡ m 5.84 τ (2), s 6.26 τ (1); ≡C—CH₂CH₂CH₂Cl m 7.6 τ (2), tt 8.05 τ (2) (*J* = 6 und 6 Hz), t 6.38 τ (2) (*J* = 6).

Aus 12.0 g *6-Chlor-hexin-(2)-ol-(1)* erhielt man durch Hydrierung wie oben 11.9 g *cis-6-Chlor-hexen-(2)-ol-(1)* (17). Sdp._{0.1} 85—90°.

IR: —OH 3620; —CH=CH— 1670/cm.

NMR: —CH=CH— m 4.5 τ (2); HOCH₂— d 5.93 τ (2) (*J* = 6 Hz), s 7.25 τ (1); ≡C—CH₂CH₂CH₂Cl dt 7.78 τ (2) (*J* = 6 und 6), tt 8.19 τ (2) (*J* = 6 und 6), t 6.54 τ (2) (*J* = 6).

11.9 g 17 ergaben bei der Tosylierung mit 17.3 g *p-Toluolsulfochlorid* 22.9 g *cis-6-Chlor-1-p-toluolsulfonyloxy-hexen-(2)* (19).

IR: —CH=CH— 1670; Tosylat 1610, 1380, 1195, 1185/cm.

Die Umsetzung von 10.5 g 19 mit *Äthynylmagnesiumbromid* in absol. THF lieferte nach Chromatographie des Rohproduktes an 170 g SiO₂ mit Petroläther 3.85 g *cis-8-Chlor-octen-(4)-in-(1)* (21), Sdp._{0.5} 85°.

IR: ≡CH 3300; —C=C— 2130; —CH=CH— 1670/cm.

NMR: —CH=CH— m 4.6 τ (2); —CH₂Cl t 6.55 τ (2) (*J* = 6 Hz); =CH—CH₂—C≡ dd 7.13 τ (*J* = 5; 2.5); =CH—CH₂— m 7.9 τ (2); HC≡ t 8.18 τ (*J* = 2.5); —CH₂— m 8.3 τ (2).

2.6 g **21** wurden wie oben mit 3.6 g *NaJ* in 34 ccm Aceton und das Reaktionsprodukt mit 4.7 g *Kaliumacetat* in 14 ccm Eisessig zum Acetat umgesetzt. Ausb. 1.16 g *8-Acetoxy-octen-(4)-in-(1)* (**23**) als farbloses Öl.

IR: $\equiv\text{CH}$ 3300; $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 2130; $-\text{CH}=\text{CH}-$ 1670; $-\text{COCH}_3$ 1750, 1250/cm.

NMR: $-\text{CH}=\text{CH}-$ m 4.6 τ (2); $-\text{CH}_2\text{OAc}$ t 6.1 τ (2) ($J = 6$ Hz); $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}\equiv$ m 7.15 τ (2); $=\text{CH}-\text{CH}_2-$ m 7.95 τ (2); $-\text{COCH}_3$ s 8.07 τ (3); $\text{HC}\equiv$ t 8.16 τ (1) ($J = 2.5$); $-\text{CH}_2-$ m 8.4 τ (2).

180 mg **23** wurden mit 1.0 mMol *1-Brom-[5-³H]pentadiin-(1.3)* (**24**) umgesetzt. Ausb. 42 mg **11** (18%), spezif. Akt. $4.5 \cdot 10^9$ ipm/mMol.

IR: $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 2230; $-\text{CH}=\text{CH}-$ 1670; OAc 1750, 1250/cm.

NMR: $-\text{CH}=\text{CH}-$ m 4.57 τ (2); $=\text{CH}-\text{CH}_2-$ m 7.9 τ (2); $=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}\equiv$ m 7.0 τ (2); $-\text{CH}_2\text{O}-$ t 6.03 τ (2) ($J = 6$ Hz); $-\text{COCH}_3$ s 8.04 τ (3); $\text{H}_3\text{C}-\text{C}\equiv$ s 8.06 τ (3); $-\text{CH}_2-$ m 8.33 τ (2).

$\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_2$ (228.3) Ber. C 78.91 H 7.07 Gef. C 78.48 H 7.16

Azobenzolcarbonsäureester: 10 mg **11** verseifte man zum *Alkohol* und setzte in *Pyridin*/Benzol mit *Azobenzol-carbonsäure-(4)-chlorid* um. Orangefarbene Kristalle aus Petroläther, Schmp. 78–78.5°.

UV: λ_{max} 322, 212 m μ ($\epsilon = 30\,500, 134\,000$).

$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2$ (394.5) Ber. C 79.16 H 5.62 N 7.10 Gef. C 79.06 H 5.78 N 7.06

[13-³H] *Tridecen-(4)-triin-(7.9.11)-säure-(1)-methylester* (**44**): 266 mg **23** wurden wie oben umgeestert, das erhaltene *Octen-(4)-in-(7)-ol-(1)* wie oben oxydiert und mit *Diazomethan* verestert. Der erhaltene ölige *Octen-(4)-in-(7)-säure-(1)-methylester* war nach Chromatographie an SiO_2 (Äther/Petroläther 1:10) rein, Ausb. 29% (bezogen auf **23**).

NMR: $\text{HC}\equiv$ t 8.18 τ (1) ($J = 3$ Hz); $-\text{[CH}_2\text{]}_2-$ m 7.67 τ (4); $\equiv\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{}$ dd 7.07 τ (2) ($J = 5$ und 3); $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ s 6.38 τ (3); $-\text{CH}=\text{CH}-$ m 4.44–4.64 τ (2).

43.15 mg *Octen-(4)-in-(7)-säure-(1)-methylester* und 40.5 mg *1-Brom-[5-³H]pentadiin-(1.3)* (**24**) gaben wie bei **53** nach Chromatographie an SiO_2 (Äther/Petroläther 1:10) und Silber-salztrennung 13.8 mg **44**, farbloses Öl, spezif. Akt. $4.5 \cdot 10^9$ ipm/mMol.

IR: $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 2230; $-\text{CH}=\text{CH}-$ 1660; $-\text{CO}_2\text{CH}_3$ 1750/cm.

[9.10-³H₂] *Ölsäure* (**56**): 53 mg *Stearolsäure-methylester* in 3 ccm Äther wurden mit 50 mg Lindlar-Katalysator mit *Tritium* gerührt und anschließend bis zur Aufnahme von 1 Mol *H*₂ nachhydriert. Der erhaltene Ester wurde in 0.6 ccm Methanol mit 0.6 ccm 5-proz. *Kalilauge* 12 Stdn. bei 20° verseift. Die *Ölsäure*, Ausb. 87%, zeigte eine spezif. Aktivität von $7.4 \cdot 10^{10}$ ipm/mMol. IR-Spektrographisch identisch mit inaktiver *Ölsäure*.

[17.18-³H₂] *Octadecen-(9)-diin-(12.14)-säure-(1)-methylester* (**67**): 4.97 g *Natrium* wurden in 400 ccm flüss. *Ammoniak* zum *Amid* umgesetzt, dazu wurden innerhalb von 20 Min. unter Rühren 21.0 g *3-[Tetrahydropyranyl-(2)-oxy]-propin-(1)* getropft und 30 Min. nachgerührt. Danach gab man 35.5 g *1-Chlor-6-jod-hexan* in 50 ccm absol. THF hinzu, zersetzte nach 4 Stdn. mit Ammoniumchlorid, nahm in 500 ccm Äther auf und wusch die Ätherphase neutral. Der Äther wurde abgezogen und der Rückstand (43.3 g) der Ätherspaltung unterworfen. Man löste in 80 ccm Methanol und gab 80 ccm 2*n* *H*₂*SO*₄ hinzu. Nach zweitägigem Rühren bei Raumtemp. wurde mit *NaHCO*₃ neutralisiert, mit Wasser verdünnt und ausgeäthert. Den Eindampfdruckstand destillierte man i. Vak., Sdp._{0.05} 90–110°. Ausb. 16.6 g (65.6%) *9-Chlor-nonin-(2)-ol-(1)*.

IR: $-\text{OH}$ 3650; $-\text{C}\equiv\text{C}-$ 2240/cm.

4.67 g *9-Chlor-nonin-(2)-ol-(1)* und 5.4 g *NaJ* wurden in 50 ccm absol. Aceton 10 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Das Reaktionsprodukt destillierte man i. Vak., Sdp._{0.15} 105–120°, Ausb. 50% *9-Jod-nonin-(2)-ol-(1)*.

IR: —OH 3635; —C≡C— 2250/cm.

1.01 g *Natrium* in 20 ccm absol. Äthanol versetzte man mit 4.5 ccm *Malonsäure-diäthylester* und erwärmte 1 Stde. zum Sieden. Die erkaltete Lösung wurde mit 6.02 g *9-Jod-nonin-(2)-ol-(1)* in 10 ccm absol. Äthanol versetzt und dann 12 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Aus dem Reaktionsgemisch wurde der überschüssige Malonester i. Vak. abdestilliert und der Rückstand an 400 g Al_2O_3 chromatographiert. Mit Äther/Petroläther (1 : 10) erhielt man 5 g des *Diesters*, der mit 3.29 g *KOH* in 10 ccm Äthanol und 5 ccm Wasser 18 Stdn. bei Raumtemp. und anschließend noch 1½ Stdn. unter Rückfluß gerührt wurde. Die erhaltene *Dicarbonsäure* wurde auf 180° erhitzt, bis keine CO_2 -Entwicklung mehr sichtbar war. Anschließend destillierte man die *11-Hydroxy-undecin-(9)-säure-(1)* i. Vak., Sdp._{0.01} 135–150°, Schmp. 45.5–46.5°, identisch mit authent. Material¹³⁾ (Ausb. 50%).

IR: —CO₂H 1695; —C≡C— 2220/cm.

1.36 g der *Undecinolsäure* wurden in 70 ccm Äther gelöst und in Gegenwart von 230 mg Lindlar-Katalysator bis zur Aufnahme von 130 ccm *Wasserstoff* hydriert. Die erhaltene *cis-11-Hydroxy-undecen-(9)-säure-(1)* wurde i. Vak. destilliert. Sdp._{0.1} 115–125°, Schmp. 31–32°, Ausb. 99%.

614 mg *Undecenolsäure* wurden in 60 ccm absol. Äther unter Rühren und Einleiten von CO_2 mit 0.6 ccm *Phosphortribromid* bei —15° versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde noch 24 Stdn. bei Raumtemp. gerührt und anschließend 1½ Stdn. zum Sieden erhitzt. Nach Neutralwaschen, Trocknen und Eindampfen wurde das erhaltene Rohprodukt an 50 g Al_2O_3 chromatographiert. Man erhielt mit Äther/Petroläther (2 : 1) 481 mg (59.6%) *11-Brom-undecen-(9)-säure-(1)*. Sdp._{0.1} 105–120°.

IR: —CH=CH— 3030, 1650; —CO₂H 1720/cm.

NMR: $Br-CH_2-\overset{|}{C}=\overset{|}{C}$ d 6.01 τ (2) ($J = 7$ Hz); —CH=CH— m 4.5 τ (2); —CO₂H s — 1.5 τ (1); $=\overset{|}{C}-CH_2-$ und —CH₂CO₂H m 7.5–8.0 τ (4); —[CH₂]₅— m 8.6 τ (10).

Zu einer Lösung von *Äthynylmagnesiumbromid* (aus 160 mg Mg) in 30 ccm THF gab man nach Zugabe von 20 mg *Kupfer(1)-chlorid* 570 mg des obigen *Bromids* in 10 ccm THF, rührte 20 Stdn. bei 55°, chromatographierte das Reaktionsprodukt an 40 g Al_2O_3 (Äther/Petroläther 2 : 1) und erhielt 108 mg *Tridecen-(9)-in-(12)-säure-(1)* (24.5%) als farbloses Öl.

IR: —C≡CH 3300, 2140; —CH=CH— 3030, 1650; —CO₂H 1720/cm.

Die Säure wurde mit *Diazomethan* verestert. Sdp._{0.1} 90–95°.

IR: HC≡C— 3320, 2140; —CH=CH— 3030, 1650; —CO₂CH₃ 1750/cm.

73 mg des obigen *Esters* wurden in 2 ccm Methanol/THF (1 : 1) nacheinander mit 1.5 mg *Cu₂Cl₂*, 25 mg *Hydroxylaminhydrochlorid* und 1.5 ccm 50-proz. *Äthylamin*-Lösung versetzt. Dieses Gemisch wurde auf —15° abgekühlt, und danach wurden langsam 73.5 mg *1-Brom-[4.5-³H₂]pentin-(1)*⁹⁾ in 5 ccm Methanol/THF (1 : 1) hinzugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde eine halbe Stunde bei 0° und eine weitere Stde. bei Raumtemp. gerührt. Dabei wurde fortwährend Stickstoff durch die Apparatur geleitet. Anschließend versetzte man mit verd. Schwefelsäure und nahm in Äther auf. Die neutralgewaschene äther. Phase wurde über

¹³⁾ M. de Gaudemaris und P. Arnaud, Bull. Soc. chim. France 1962, 315.

MgSO₄ getrocknet und der Eindampfrückstand an Al₂O₃ chromatographiert (Äther/Petroläther 1 : 20). Ausb. 23 mg (24.3%) **67**, farbloses Öl, spezif. Akt. 5.92 · 10⁸ ipm/mMol.

IR: —CH=CH— 3030, 1650; —C≡C— 2250; —CO₂CH₃ 1750/cm.

NMR: =C—CH₂—C= m 7.05 τ (2); —CH=CH— m 4.62 τ (2); —CO₂CH₃ s 6.4 τ (3); —CH₂CO₂R t 7.78 τ (2); =C—[CH₂]₆— m 8.0 τ (2), m 8.5 τ (10).

Massenspektrum: M⁺ 288.2084 (theor. 288.2089); — OCH₃ m/e 257; C₃H₇—[C≡C]₂—CH₂CH=CHCH₂[⊕] m/e 145.

Verfütterung von [14-³H]-**8** an *Matricaria globifera* L.: 8.8 mg [14-³H]-**8** (1.7 · 10⁸ ipm) in 2 ccm Baumwollsaatöl emulgierte man unter Zusatz von Saccharosemonostearat in 1 l Wasser. Die eingestellten intakten Pflanzen hatten nach 45 Stdn. die Lösung aufgesogen. Die Wurzeln (35 g) und die oberirdischen Teile (1.6 kg) wurden getrennt zerkleinert und jeweils zweimal mit Äther (100 bzw. 2000 ccm) extrahiert. Die Extrakte chromatographierte man mit Petroläther, dem steigende Mengen Äther zugesetzt wurden, an Al₂O₃ und reinigte die einzelnen Verbindungen bis zur konstanten Aktivität. Der Extrakt aus den Wurzeln (Gesamtakt. 2.44 · 10⁷ ipm) ergab 1.6 mg **43**²⁾, spezif. Akt. 7.6 · 10⁶ ipm/mMol, Schmp. 66°, und 3.5 mg *cis*-**5**²⁾, spezif. Akt. 4.3 · 10⁵ ipm/mMol, Schmp. 78°.

Der Extrakt aus den oberirdischen Teilen ergab: 328 mg *cis*-**5**²⁾, das durch UV-Isomerisierung in *trans*-**5**, Schmp. 83°, umgewandelt wurde, spezif. Akt. 9.0 · 10³ ipm/mMol (Natriumacetat aus Abbau¹⁴⁾: spezif. Akt. 8.1 · 10³ ipm/mMol), sowie ca. 10 mg rohes **40**⁴⁾ (Chromatographie mit Äther/Petroläther 1 : 20).

Zur Reinigung von **40**⁴⁾ wurde dieses mit 2*n* methanol. KOH verseift und das erhaltene Carbinol **39**⁴⁾ (5.6 mg) bis zur konstanten Aktivität aus Äther/Petroläther kristallisiert. Spezif. Akt. 5.6 · 10⁵ ipm/mMol, Schmp. 89—90°.

Verfütterung von [13-³H]-**11** an *Chrysanthemum flosculosum* L.: 42 mg [13-³H]-**11** (8 · 10⁸ ipm) in 2 ccm Baumwollsaatöl wurden wie oben in 500 ccm Wasser emulgiert. Nach 45 Stdn. hatten die eingestellten oberirdischen Teile die Emulsion aufgesogen. Nach Zerkleinerung (645 g) extrahierte man dreimal mit Äther und isolierte 800 mg *cis*-**4** durch Chromatographie an Al₂O₃ (Äther/Petroläther 1 : 30). Zur Entfernung von evtl. vorhandenem **11** löste man in 30 ccm Methanol und erwärmte mit 500 mg KOH in 15 ccm Wasser 1 Stde. auf 50°. Nach dreimaliger Wiederholung war die Aktivität von *cis*-**4** (600 mg) konstant, spezif. Akt. 2.02 · 10⁶ ipm/mMol, Schmp. 49°. 52 mg *cis*-**4** hydrierte man in wassergesättigtem Äther mit Palladium/BaSO₄ (5-proz.) und erhielt 26 mg **58**¹⁵⁾, Schmp. 63.5°, spezif. Akt. 2.04 · 10⁶ ipm/mMol. Das durch Oxydation¹⁴⁾ erhaltene Acetat zeigte eine spezif. Akt. von 1.71 · 10⁶ ipm/mMol.

Der analoge Versuch mit 13 mg [14-³H]-**53** ergab 900 mg *cis*-**4** mit einer spezif. Akt. von 2.22 · 10⁴ ipm/mMol (Reinigung durch Chromatographie (s. o.) und Kristallisation, Schmp. 49.5°). Der oxydative Abbau¹⁴⁾ ergab Acetat der spezif. Akt. von 2.05 · 10⁴ ipm/mMol. Die Mutterlauge von *cis*-**4** wurde mit inaktivem *cis*-**5**²⁾ versetzt und dieses durch Dünnschichtchromatographie mit Äther/Petroläther (1 : 4) zurückisoliert. Nach Kristallisation erhielt man inaktives *cis*-**5**²⁾, Schmp. 78°. Damit war gezeigt, daß die Pflanze keine unspezifischen Synthesen durchführt.

Verfütterung von [13-³H]-**12** an *Chrysanthemum flosculosum* L., *Chrysanthemum lacustre* Brot. und *Chrysanthemum silvaticum* Hofm. L. K.: Das Diol [13-³H]-**12**³⁾, spezif. Akt.

¹⁴⁾ F. Bohlmann und R. Jente, Chem. Ber. **99**, 995 (1966).

¹⁵⁾ F. Bohlmann, P. Herbst, C. Arndt, H. Schönowsky und H. Gleinig, Chem. Ber. **94**, 3193 (1961).

4.77·10⁹ ipm/mMol, wurde wie oben in 2 l Wasser emulgiert. In diese Emulsion wurden die Pflanzen ca. 40–45 Stdn. eingestellt. Nach Aufnahme der gesamten Wassermenge wurden die oberirdischen Teile oder die Wurzeln zerkleinert und dreimal mit Äther extrahiert. Aus den Extrakten isolierte man die gewünschten Polyine durch Chromatographie (Äther/Petroläther 1 : 30 bis 1 : 10) und reinigte bis zur konstanten spezifischen Aktivität.

Chrysanthemum flosculosum L.: Es wurden 28.6 mg [13-³H]-12 (Gesamtakt. 6.74·10⁸ ipm) an 280 g oberirdische Teile verfüttert. Nach Reinigung wurden 261.6 mg *cis*-4¹⁵) der spezifischen Aktivität 5.12·10⁶ ipm/mMol erhalten, Schmp. 49°.

Chrysanthemum lacustre Brot.: 57.2 mg [13-³H]-12 (1.35·10⁹ ipm) wurden verfüttert. Aus dem Extrakt von 1.3 kg Wurzeln isolierte man folgende Polyine:

- a) 97.1 mg 26¹⁵); spezif. Akt. 1.14·10⁷ ipm/mMol, Schmp. 75°,
- b) 51.63 mg 28¹⁵); spezif. Akt. 5.11·10⁶ ipm/mMol, Schmp. 91°,
- c) 54.46 mg 30¹⁶); spezif. Akt. 1.41·10⁶ ipm/mMol, Schmp. 153°.

27.23 mg 30 wurden in 15 ccm Methanol gelöst und in Gegenwart von 30 mg Lindlar-Katalysator bis zur Aufnahme von 0.2 mMol Wasserstoff hydriert. Nach Abfiltrieren des Katalysators versetzte man mit einem Kriställchen *Osmiumtetroxid* und 171 mg *Natriumperjodat* in 2 ccm Wasser und destillierte die gebildeten *Aldehyde* bei einer Badtemperatur von 80–86° in eine vorgelegte, gekühlte, schwefelsaure 2.4-Dinitro-phenylhydrazin-Lösung über. Die Hydrazone wurden mit Benzol ausgeschüttelt und zur Entfernung unumgesetzten Dinitro-phenylhydrazins an Al₂O₃ mit Chloroform/Petroläther (3 : 4) chromatographiert. Durch Dünnschichtchromatographie mit Benzol an SiO₂ und Papierchromatographie (CHCl₃/Petroläther 3 : 17) erfolgte die Reinigung des [2-³H]Acetaldehyd-dinitrophenylhydrazons⁹). Ausb. 1.04 mg, spezif. Akt. 1.38·10⁶ ipm/mMol (97.9%), Schmp. 145° (aus CH₃OH).

Aus dem Extrakt von 2 kg Blättern isolierte man folgende Polyine:

- a) 10.2 mg 26¹⁵); spezif. Akt. 3.07·10⁶ ipm/mMol, Schmp. 75°,
- b) 19.6 mg 29¹⁶); spezif. Akt. 1.12·10⁶ ipm/mMol, Schmp. 139°,
- c) 24 mg 30¹⁶); spezif. Akt. 5.83·10⁵ ipm/mMol, Schmp. 153°,
- d) 2 mg rohes 33²).

Das Acetat 33²) wurde in 15 ccm Methanol gelöst und mit 150 mg KOH 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen. Ausb. 935.1 γ 32²), spezif. Akt. 3.05·10⁶ ipm/mMol, Schmp. 104°.

Chrysanthemum silvaticum Hofm. L. K.: Es wurden 57.2 mg [13-³H]-12 (1.35·10⁹ ipm) verfüttert. Aus dem Extrakt von 450 g Wurzeln wurden folgende Polyine isoliert:

- a) 12.54 mg 36²), spezif. Akt. 6.68·10⁴ ipm/mMol, Schmp. 68°. Der oben beschriebene Abbau zum 2.4-Dinitro-phenylhydrazon des Aldehyds, Schmp. 145°, ergab eine spezif. Akt. von 2.65·10⁴ ipm/mMol (95.3%).
- b) 310 mg 26¹⁵); spezif. Akt. 6.39·10⁶ ipm/mMol, Schmp. 75°,
- c) 80.1 mg 28¹⁵); spezif. Akt. 162·10⁷ ipm/mMol, Schmp. 91°.

Verfütterung von [ω-³H]-4³) an *Chrysanthemum maximum* Ramond: Die verfütterte Aktivität betrug 8.2·10⁶ ipm. Aus dem Extrakt von 520 g Wurzeln wurden folgende Polyine durch Säulenchromatographie mit Äther/Petroläther (1 : 30 bis 1 : 10) isoliert:

- a) 94.63 mg 28¹⁵), spezif. Akt. 5.08·10⁴ ipm/mMol. Zur Reinigung wurde in 15 ccm Methanol mit 170 mg KOH 12 Stdn. bei Raumtemp. stehengelassen und danach aufgearbeitet:

¹⁶) F. Bohlmann, H. Bornowski und C. Arndt, Liebigs Ann. Chem. 668, 51 (1963).

42.87 mg **27**¹⁵⁾, Schmp. 102°, spezif. Akt. $4.84 \cdot 10^4$ ipm/mMol, das wie oben zum 2,4-Dinitrophenylhydrazon des Acetaldehyds abgebaut wurde. Die spezif. Akt. betrug $4.91 \cdot 10^4$ ipm/mMol (100.5%), Schmp. 145° (aus CH₃OH), Ausb. 25%.

b) Es wurde ferner ein Gemisch von 94 mg **30**¹⁶⁾ und **31**¹⁷⁾ erhalten. Die Verseifung des Esters ergab 30.95 mg **29**¹⁵⁾, spezif. Akt. $264 \cdot 10^4$ ipm/mMol, Schmp. 139°.

Verfütterung von [¹³-³H]-**11** und -**44** sowie [¹⁴-³H]-**53** an *Chrysanthemum frutescens* L.: 0.065 mMol [¹³-³H]-**44** ($2.9 \cdot 10^8$ ipm) wurden in 700 ccm Wasser emulgiert. Die eingestellten Pflanzen hatten die Emulsion nach 46 Stdn. aufgenommen. Die Wurzeln (170 g) wurden zerkleinert und dreimal mit Äther extrahiert. Der Extrakt (Gesamtakt. $5.8 \cdot 10^7$ ipm) wurde chromatographisch aufgetrennt¹⁸⁾ und die einzelnen Fraktionen durch Dünnschichtchromatographie mit Äther/Petroläther (1:10 bis 1:3) und Kristallisation weiter gereinigt. Man erhielt schließlich 18.55 mg **48**¹⁸⁾, Schmp. 70.5° (spezif. Akt. $1.61 \cdot 10^6$ ipm/mMol), 100 mg **52**¹⁸⁾ (spezif. Akt. $3.86 \cdot 10^5$ ipm/mMol)¹⁹⁾, 15.8 mg *Capillin*¹⁹⁾ (spezif. Akt. $2.35 \cdot 10^6$ ipm/mMol) und 1 mg **50**¹⁸⁾, Schmp. 124° (spezif. Akt. $3.46 \cdot 10^6$ ipm/mMol). Zum Abbau verdünnte man **48**¹⁸⁾ und **50**¹⁸⁾ und erhielt im gebildeten *Natriumacetat* bei **48** 92%, bei **52** 104% und bei **50** 93% der jeweiligen Aktivität.

Die analoge Verfütterung von 0.107 mMol [¹³-³H]-**11** ($4.8 \cdot 10^8$ ipm) ergab 11.5 mg **48**, Schmp. 71° (spezif. Akt. $1.57 \cdot 10^6$ ipm/mMol), 89 mg **52** (spezif. Akt. $1.83 \cdot 10^5$ ipm/mMol)¹⁹⁾, 10.6 mg *Capillin* (spezif. Akt. $2.04 \cdot 10^6$ ipm/mMol¹⁹⁾), 1 mg **50**, Schmp. 124° (spezif. Akt. $3.47 \cdot 10^6$ ipm/mMol) und 1.36 mg **28**, Schmp. 91° (spezif. Akt. $2.78 \cdot 10^6$ ipm/mMol).

Entsprechend ergab die Verfütterung von 0.057 mMol [¹⁴-³H]-**53** ($2.55 \cdot 10^8$ ipm) 22.7 mg **48**¹⁸⁾ (spezif. Akt. $4.81 \cdot 10^4$ ipm/mMol), 122 mg **52**¹⁸⁾ (spezif. Akt. $7.55 \cdot 10^3$ ipm/mMol¹⁹⁾), 7.9 mg *Capillin* (spezif. Akt. $4.92 \cdot 10^4$ ipm/mMol¹⁹⁾) und 1 mg **50**¹⁸⁾ (spezif. Akt. $6.84 \cdot 10^4$ ipm/mMol). Der Abbau¹⁴⁾ von *Capillol* aus **52** ergab inaktive *Benzoessäure*, Schmp. 121°, und *Natriumacetat* mit 91% der eingesetzten spezif. Aktivität.

Fütterung von [⁹.10-³H₂]-**56** an oberirdische Teile von *Chrysanthemum flosculosum* L.: 0.31 mg [⁹.10-³H₂]-**56** ($7.75 \cdot 10^7$ ipm) löste man unter Zugabe von 0.4 mg K₂CO₃ in 3 ccm Wasser. 3 Triebe (ca. 8 g) hatten die Lösung in 24 Stdn. aufgenommen. Weitere 48 Stdn. wurden sie in Wasser belassen, dann zerkleinert und zweimal mit Äther extrahiert. Der Rohextrakt wurde mit Äther/Petroläther (1:30) an SiO₂ aufgetrennt und das isolierte *cis*-**4**¹⁵⁾ nochmals dünnschichtchromatographisch mit Äther/Petroläther (1:4) gereinigt. Nach Verdünnen mit kristallinem, inaktivem *cis*-**4** wurde bis zur konstanten Aktivität aus Petroläther umkristallisiert, spezif. Akt. $8.46 \cdot 10^4$ ipm/mMol, Schmp. 49°.

Fütterung von [⁹.10-³H₂]-**56** an *Chrysanthemum flosculosum* L. und *Chrysanthemum frutescens* L.: 1.33 mg [⁹.10-³H₂]-**56** wurden unter Zusatz von ca. 1 mg K₂CO₃ in 50 ccm 0.25 *m* Saccharose gelöst.

In dieser Lösung wurden in je einem Versuch zerkleinerte Blätter von *Chrysanthemum flosculosum* L. (18.5 g) und zerkleinerte Wurzeln von *Chrysanthemum frutescens* L. (24 g) 3 Tage inkubiert. Dann wurden die Pflanzenmaterialien zweimal je einen Tag mit Äther extrahiert. Die Rohextrakte wurden über präparative Kieselgelplatten (Äther/Petroläther 1:3) aufgetrennt und die isolierten Polyine kristallisiert.

Aus *Chrysanthemum flosculosum* L. wurden 20 mg *cis*-**4**¹⁵⁾ isoliert, mit 100 mg kristallinem, inaktivem Material verdünnt und bis zur konstanten Aktivität aus Petroläther umkristallisiert, spezif. Akt. $1.91 \cdot 10^6$ ipm/mMol, Schmp. 49°.

¹⁷⁾ F. Bohlmann, L. Fanghänel, K.-M. Kleine, H. Kramer, H. Mönch und J. Schuber, Chem. Ber. **98**, 2596 (1965).

¹⁸⁾ F. Bohlmann und K.-M. Kleine, Chem. Ber. **95**, 39 (1962); **95**, 602 (1962).

¹⁹⁾ Nach Überführung in *Capillol*¹⁸⁾, Schmp. 106°.

75 mg *cis*-**4**¹⁵) wurden in 35 ccm Äther (gesättigt mit Wasser) mit Palladium/BaSO₄ (5-proz.) hydriert¹⁵). Das Hydrierungsprodukt wurde über eine präparative Kieselgelplatte (Äther) aufgetrennt. Neben **58**, Schmp. 63°, spezif. Akt. $1.98 \cdot 10^6$ ipm/mMol, das zu ca. 50% entsteht, wurden 9.35 mg **59** (spezif. Akt. $1.65 \cdot 10^6$ ipm/mMol) als farbloses Öl isoliert.

2-[3-Oxo-[1-³H]nonyl]-tetrahydrofuran (**59**): IR: C=O 1710/cm.

NMR:  m 6.3 τ (3); -CH₂-CO-CH₂- m 7.6-7.7 τ (4).

Massenspektrum: M⁺ m/e 212; H₃C-[CH₂]₅-CO⁺ m/e 113; H₂C= m/e 84; 

m/e 71; ⁺COCH₂CH₂- m/e 127; CH₃COCH₂CH₂- m/e 142.

C₁₃H₂₄O₂ (212.3) Ber. C 73.53 H 11.39 Gef. C 73.52 H 11.29

26 mg **58** wurden in 5 ccm Dioxan nach Zugabe von 1.3 ccm 10-proz. Kaliumcarbonatlösung 12 Stdn. bei 90° belassen. Spezif. Akt. $8.06 \cdot 10^5$ ipm/mMol, nach weiteren 12 Stdn. $4.23 \cdot 10^5$ ipm/mMol.

8.4 mg **59** wurden in gleicher Weise behandelt, spezif. Akt. nach 12 Stdn. $1.65 \cdot 10^6$ ipm/mMol.

Das *Capillolacetat* (**52**)¹⁸) aus *Chrysanthemum frutescens* L. (21 mg) wurde vorsichtig alkalisch behandelt, das gebildete *Capillol* über eine präparative Kieselgelplatte mit Äther/Petroläther (1 : 3) gereinigt und kristallisiert. Nach Verdünnen mit 84 mg inaktivem Material wurde bis zur konstanten Aktivität umkristallisiert; spezif. Akt. $1.21 \cdot 10^6$ ipm/mMol, Schmp. 106°.

Fütterung von [14-³H]-53 an Coreopsis lanceolata L.: 0.0585 mMol [14-³H]-**53** ($2.63 \cdot 10^8$ ipm) emulgierte man in 300 ccm Wasser. 900 g oberirdische Teile von *Coreopsis lanceolata* L. hatten nach 38 Stdn. die Emulsion aufgenommen; sie wurden zerkleinert und fünfmal mit Äther extrahiert. Das Lösungsmittel wurde i. Vak. abgedampft und der Rückstand in kaltem Methanol aufgenommen. Der darin lösliche Anteil hatte eine Gesamtaktivität von $1.53 \cdot 10^8$ ipm und wurde zweimal an Al₂O₃ mit Petroläther chromatographiert. Anschließend reinigte man **63**²⁾ (159 mg) durch Kristallisieren aus Petroläther, Schmp. 57°, spezif. Akt. $3.11 \cdot 10^5$ ipm/mMol.

Verfütterung von [14-³H]-8 an Coreopsis lanceolata L.: 0.0535 mMol [14-³H]-**8** ($2.40 \cdot 10^8$ ipm) emulgierte man wie oben in 300 ccm Wasser und stellte 750 g oberirdische Pflanzenteile für 38 Stdn. ein. Danach war alle Emulsion aufgesogen. Das Pflanzenmaterial wurde wie im vorstehenden Versuch aufgearbeitet. Der Rohextrakt ergab eine Gesamtaktivität von $1.65 \cdot 10^8$ ipm und das daraus isolierte **63**²⁾ (131 mg) eine spezif. Aktivität von $3.15 \cdot 10^5$ ipm/mMol, Schmp. 56°.

Abbau von 63: 4.48 mg aktives und 34.37 mg inaktives **63** oxydierte man mit 5 g *Chromtrioxid* in 14 ccm 10-proz. *Schwefelsäure* und arbeitete wie beschrieben¹⁴) die dabei entstandene *Essigsäure* als *Natriumacetat* (10.70 mg) und die *Benzoessäure* (12.35 mg) auf. Während das Natriumacetat 96% (spezif. Akt. $3.02 \cdot 10^5$ ipm/mMol) der spezif. Aktivität von **63** enthielt, war die *Benzoessäure* inaktiv.

Verfütterung von [17,18-³H₂]-67 an Artemisia vulgaris L.: 23 mg [17,18-³H₂]-**67** ($6.99 \cdot 10^7$ ipm) wurden in 1 l Wasser emulgiert und in diese Emulsion 15 intakte Pflanzen 36 Stdn. eingestellt. Nach Aufnahme der gesamten Wassermenge wurden die Wurzeln (750 g) zerkleinert und dreimal mit Äther extrahiert. Die Roh- und Rechromatographie erfolgte an Al₂O₃ mit Petroläther bzw. Äther/Petroläther (1 : 30). Es wurden 50 mg *Centaur X*₃²⁾, 30 mg *Artemisia-*

keton²) und 80 mg *cis*-1²) isoliert. Aus dem Centaur X₃ wurde das Maleinsäureanhydrid-Addukt gebildet, welches inaktiv war. Das Artemisiaketon konnte nach mehrmaligem Umkristallisieren ebenfalls als inaktiv angesehen werden. Das *cis*-1 wurde durch UV-Bestrahlung in Äther/Petroläther (1 : 10) zum *trans*-1 isomerisiert, Ausb. 59.2 mg, spezif. Akt. $9.75 \cdot 10^4$ ipm/mMol, Schmp. 105°.

35 mg *trans*-1 wurden in Methanol in Gegenwart von Lindlar-Katalysator bis zur Aufnahme von 3 Moläquiv. Wasserstoff hydriert. Der Katalysator wurde abfiltriert und der hydrierte Ester wie oben mit OsO₄/NaJO₄ zum Acetaldehyd abgebaut. Das gereinigte 2,4-Dinitro-phenylhydrazon des Acetaldehyds (7.86 mg), Schmp. 145°, zeigte eine spezif. Aktivität von $9.82 \cdot 10^4$ ipm/mMol (100.7%).

Verfütterung von [¹⁶⁻³H]Hexadecatriin-(10.12.14)-säure-(1) an *Chrysanthemum serotinum* L. und *Chrysanthemum frutescens* L.: 0.085 mMol der Säure als Kaliumsalz⁹) (spezif. Akt. $1.8 \cdot 10^9$ ipm/mMol) wurden an intakte Pflanzen von *Chrysanthemum serotinum* L. verfüttert (s. o.). Die Auftrennung der Polyine aus dem Wurzelextrakt⁴) ergab inaktives 43²), Schmp. 66°, 51⁵), Schmp. 78°, und 40 (isoliert als 39⁴), Schmp. 89°), während *cis*-1²) eine spezif. Aktivität von $1.11 \cdot 10^8$ ipm/mMol (nach Isomerisierung zu *trans*-1²), Schmp. 106°) aufwies. Das aus 1 durch Abbau erhaltene Acetat zeigte eine spezif. Aktivität von $1.08 \cdot 10^8$ ipm/mMol.

Die Verfütterung von 0.141 mMol der Säure (Kaliumsalz) an *Chrysanthemum frutescens* L. ergab inaktives 48¹⁸), Schmp. 71°, und 52^{18,19}).

Verfütterung von [¹⁴⁻³H]-10³) an *Artemisia vulgaris* L.: Die Verfütterung von 0.038 mMol [¹⁴⁻³H]-10 ($6.75 \cdot 10^7$ ipm)³) ergab aktives *cis*-1²) mit einer spezif. Aktivität von $1.00 \cdot 10^6$ ipm/mMol (nach Isomerisierung zu *trans*-1²), Schmp. 106°).

Isolierung von 64 und 66: 2.6 kg oberirdische Teile von *Centaurea moschata* L. wurden frisch zerkleinert und zweimal mit Äther/Petroläther (1 : 2) extrahiert. Der Extrakt ergab nach mehrfacher Chromatographie an Al₂O₃ mit Äther/Petroläther (1 : 100) 3 mg Centaur X₃²) und 40 mg eines Gemisches von C₁₅—C₁₇-Aldehyden mit Tetraen-, En-dien-dien- und Triindien-Chromophor⁷). Mit Äther/Petroläther (1 : 3) eluierte man ein Gemisch von Alkoholen, das 65 mg 1-[6-Hydroxy-tetrahydropyranyl-(2)]-nonen-(1)-triin-(3.5.7) (66)¹) und 10 mg *cis*-Tetradecen-(5)-triin-(8.10.12)-ol-(1) (64) enthielt. Die Mutterlauge von 66 ergab nach Dünnschichtchromatographie mit Äther/Petroläther (1 : 1) 64, das man in den Azobenzol-carbonsäureester überführte, orangefarbene Kristalle, Schmp. 85° (aus Petroläther), keine Schmp.-Depression mit synthetischem Material (s. o.). Auch die IR- und NMR-Spektren stimmten mit denen des Syntheseproduktes überein. Neben 64 erhielt man noch ca. 1 mg eines Diin-ens, ebenfalls mit isolierter *cis*-Doppelbindung. Eine Reindarstellung und eindeutige Strukturaufklärung gelang jedoch nicht.

[169/67]