

strahlvakuum eingedampft, in Äther aufgenommen, mit 10-proz. Kaliumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft. Der Rückstand (36 mg) kristallisiert aus Methanol-Wasser bei  $-15^{\circ}$  in Blättchen, Smp.  $68-72^{\circ}$ . Misch-Smp. mit einem authentischen Präparat von 2,6,10-Trimethyl-pentadecanon-semicarbazon ohne Erniedrigung.

Die Analysen wurden im Mikrolaboratorium der Organisch-Chemischen Anstalt der Universität Basel (Leitung E. THOMMEN) und in der Mikroanalytischen Abteilung der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel (Leitung Dr. H. WALDMANN), sowie im Department of Organic Chemistry, University of Liverpool, ausgeführt.

#### SUMMARY

The isolation in pure form of the ubiquinone from pig heart is described. From 750 kg raw material 37 g of pure crystalline material could be obtained. Its structure has been established as that of a 2,3-dimethoxy-5-methylbenzoquinone derivative with a vitamin- $K_2$ -like isoprenoid side chain of 50 carbon atoms (I). It is proposed to name this compound ubiquinone(50).

Department of Biochemistry, The University, Liverpool 3, England  
Organisch-Chemische Anstalt der Universität, Basel, Schweiz  
Forschungsabteilung  
der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, Schweiz

---

## 249. Die Struktur des Ubichinons aus Hefe

von U. Gloor, O. Isler, R. A. Morton, R. Rüeegg und O. Wiss

(12. X. 58)

Im Verlaufe unserer Arbeiten über Ubichinon aus Schweineherzen<sup>1)</sup> [Ubichinon(50)] suchten wir nach leichter zugänglichen und ergiebigeren Quellen für diese Verbindung. Auf Grund einer Beobachtung von einem von uns (R.A.M.)<sup>2)</sup>, nach welcher in Hefe ein Ubichinon vorkommt, haben wir dieses Ausgangsmaterial genauer untersucht. Es gelang leicht, aus Bäckerhefe durch Verseifung, Extraktion und Chromatographie ein oranges, öliges Produkt mit einem UV.-Absorptionsmaximum bei  $272 m\mu$  (in Cyclohexan) zu erhalten. Die neue, reine Verbindung, die wir aus dem Rohprodukt durch Verteilung zwischen Methanol und Isooctan erhielten, liess sich in der Kälte aus Aceton oder Alkohol umkristallisieren und schmilzt bei  $19-20^{\circ}$ .

Das IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 2) ist demjenigen von Ubichinon aus Schweineherzen (beide in flüssigem Zustand aufgenommen) ausserordentlich ähnlich. Einzig die Intensitäten der Banden, die von der ungesättigten Iso-prenkette stammen, sind schwächer. Die IR.-Absorptionsspektren der entsprechenden Perhydrochinone sind praktisch identisch. Das UV.-Absorptions-

<sup>1)</sup> Vgl. vorhergehende Mitteilung, Helv. **41**, 2343 (1958).

<sup>2)</sup> F. W. HEATON, J. S. LOWE & R. A. MORTON, J. chem. Soc. **1956**, 4094.



Das synthetische Präparat erwies sich in seinen Eigenschaften, wie Smp., UV.- und IR.-Absorptionsspektrum, Verhalten im Papierchromatogramm und Verteilungskoeffizient, als identisch mit der Verbindung aus Hefe. Die beiden Präparate ergaben auch bei der Mischprobe keine Smp.-Erniedrigung. Ausser der Konstitution des Ubichinons aus Hefe ist damit, in Analogie zu den Verbindungen der Vitamin-K<sub>2</sub>-Reihe, auch die *trans*-Konfiguration der Doppelbindungen der Seitenkette bewiesen.

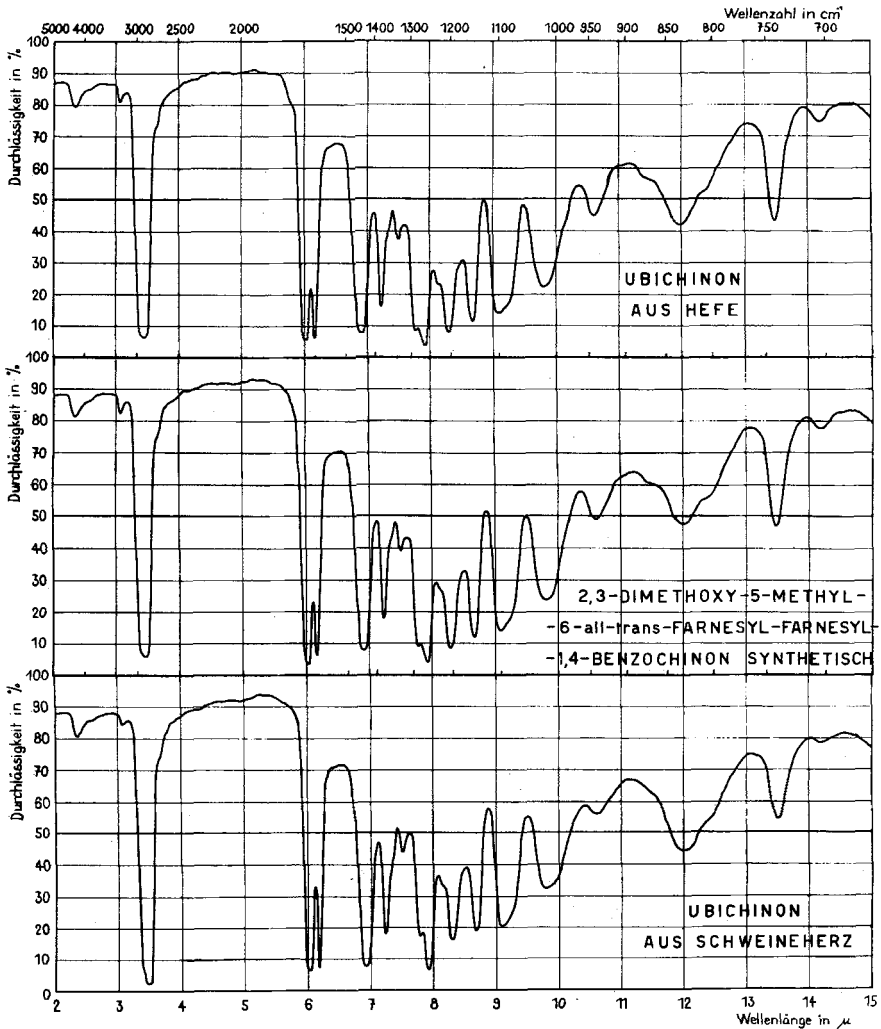
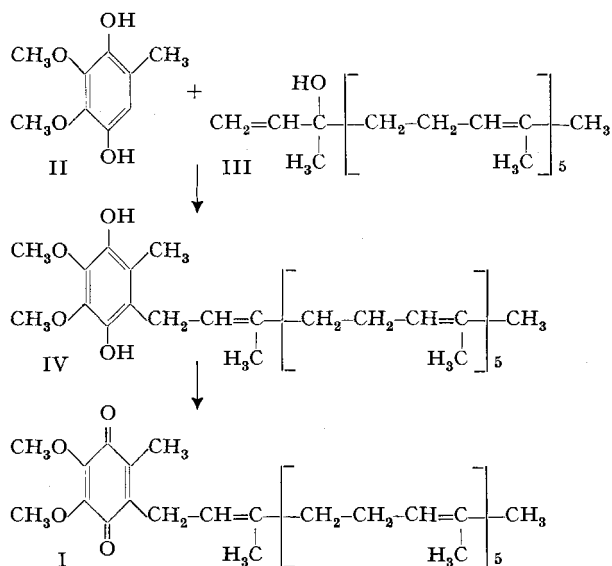


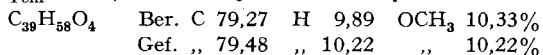
Fig. 2

Vergleich der IR.-Absorptionsspektren von Ubichinon aus Hefe mit denjenigen von synthetischem Ubichinon(30) und von Ubichinon aus Schweineherz (in flüssigem Zustand aufgenommen)



#### Experimenteller Teil<sup>4)</sup>

*Isolierung des Ubichinons aus Hefe.* Eine Lösung von 3,5 kg Kaliumhydroxyd in 10 l Wasser wird auf 100° erwärmt. In die heisse Lösung gibt man 3,5 kg zerkleinerte Bäckerhefe und 100 g Pyrogallol. Die Mischung wird unter Stickstoff 3 Std. bei 100° gerührt, rasch abgekühlt und zweimal mit je 7 l Methylenechlorid ausgezogen. Die Methylenechloridauszüge werden vereinigt, mit Wasser neutral gewaschen, das Lösungsmittel bis auf ein Volumen von ca. 500 ml abdestilliert und der Rest im Vakuum entfernt. Der Rückstand (ca. 35 g) wird in 350 ml Aceton heiss gelöst und unter Rühren schnell auf -10° abgekühlt. Die ausgefallenen Hefe-Sterine werden abfiltriert und mit eiskaltem Aceton gewaschen. Das Filtrat und das Waschaceton werden vereint, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand (ca. 10 g) an der 30fachen Menge Aluminiumoxyd (GIULINI, Aktivität I, mit 7% Wasser desaktiviert) chromatographiert. Die mit 5% Äther in Petroläther (Siedebereich 30-45°) eluierten Fraktionen, die orange gefärbt sind, werden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand, ca. 2,5 g eines tief orange gefärbten Öles, wird einer 50stufigen CRAIG-Verteilung zwischen absolutem Methanol und Isooctan zugeführt. Die entsprechend den UV.-Absorptionsspektren an Ubichinon reichsten Fraktionen werden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand von ca. 1,4 g wird nochmals wie oben beschrieben an Aluminiumoxyd chromatographiert. Eine Vorfraktion wird verworfen. Die Hauptfraktion von ca. 1,3 g ist reines Ubichinon(30). Es wird aus der 10fachen Menge abs. Alkohol bei -10° umkristallisiert: orange-gelbe Kristalle, Smp. scharf bei 19-20°; UV.-Absorptionsspektrum in Cyclohexan: Min. bei 238 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 75$ ), Max. bei 272 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 246$ ). Verteilungszahl 2,5 im System abs. Methanol/Isooctan.



Papierchromatogramm: Papier: WHATMAN Nr. 1 imprägniert mit DOW CORNING Siliconöl DC 1107. Laufmittel: Isopropanol / Eisessig / Wasser (600:25:375). Zeit: 15 Std.

<sup>4)</sup> Alle Smp. sind korrigiert. Die UV.-Absorptionsspektren wurden mit einem BECKMAN-Spektrophotometer Modell DK 1 aufgenommen. Die IR.-Absorptionsspektren wurden in einer Schichtdicke von 0,023 mm mit einem Doppelstrahlsspektrophotometer, Marke PERKIN-ELMER, Modell 21, aufgenommen.

Zimmertemperatur. Bestimmung: Eigenfarbe (über 50  $\gamma$  per Fleck gut sichtbar). Rf-Wert: 0,54. (Im Vergleich dazu wandert Ubichinon(50) in diesem System nicht.)

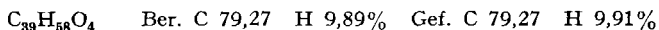
*Quantitative Hydrierung* [*Perhydro-Ubichinon(30)*]. 150 mg Platinoyd werden in 30 ml eines Gemisches gleicher Teile Eisessig, Cyclohexan und Alkohol bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme hydriert und anschliessend mit 172,9 mg Ubichinon(30) versetzt. Die Wasserstoffaufnahme von 27,3 ml entspricht einem Verbrauch von 1,22 Mol pro 100 g Substanz. Das hydrierte Produkt (120 mg) wird in Äther gelöst, mit 200 mg Silberoxyd versetzt und 2 Std. im offenen Gefäss gerührt. Die Lösung wird filtriert, das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand an Aluminiumoxyd chromatographiert. Die gefärbten Fraktionen werden vereint und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand bildet ein oranges Öl, das bei Zimmertemperatur nicht kristallisiert.

*Synthese von Ubichinon(30)*. 6 g 2,3-Dimethoxy-5-methyl-1,4-benzochinon<sup>5)</sup> in 50 ml Methanol werden mit 0,5 g LINDLAR-Katalysator<sup>6)</sup> bei Zimmertemperatur in einer Wasserstoffatmosphäre geschüttelt, bis die Wasserstoffaufnahme beendet ist (ca. 30 Min.). Sodann wird vom Katalysator abfiltriert, das Methanol im Wasserstrahlvakuum abgedampft und das Rohprodukt 1 Std. im Hochvakuum getrocknet, wobei es durchkristallisiert. Zur Kondensation wird das Hydrochinon in 180 ml abs. Äther mit 0,3 ml Eisessig, 3,3 g wasserfreiem Zinkchlorid und 20 g all-*trans*-Farnesylnerolidol<sup>3)</sup> über Nacht in einer Stickstoffatmosphäre bei Zimmertemperatur geschüttelt und hierauf noch 1,5 Std. unter Rückfluss gekocht. Dann dampft man im Wasserstrahlvakuum ab und löst den Rückstand in 500 ml Petroläther (Siedebereich 30–45°) und 250 ml 70-proz. Methanol. Die Petrolätherlösung wird noch dreimal mit je 250 ml 70-proz. Methanol ausgeschüttelt; die Methanollösungen werden nacheinander in einem zweiten Scheidetrichter mit 250 ml Petroläther ausgeschüttelt. Die vereinigten Petrolätherlösungen dampft man nach dem Waschen und Trocknen ab, wobei 17,5 g eines gelbbraunen Öles erhalten werden. Dieses wird in 50 ml Petroläther (Siedebereich 80–110°) gelöst und nach Zugabe von 1 g LINDLAR-Katalysator nachhydriert. Man filtriert vom Katalysator ab und chromatographiert durch eine Säule aus 400 g Aluminiumoxyd (GIULINI, Akt. I, mit 4% Wasser desaktiviert). Dabei eluieren 3,5 l Petroläther (Siedebereich 30–45°) 8 g Nebenprodukte und 1 l Äther 8,3 g des Kondensationsproduktes. Letzteres wird in 100 ml Äther mit 20 g Silberoxyd bei Zimmertemperatur 2 Std. geschüttelt. Die Lösung wird dann filtriert und der Äther abgedampft. Man erhält das rohe 2,3-Dimethoxy-5-methyl-6-all-*trans*-farnesylfarnesyl-1,4-benzochinon als gelboranges Öl mit UV.-Absorptionsmaximum bei 272 m $\mu$ . Zur weiteren Reinigung wird das Produkt an 150 g Aluminiumoxyd (GIULINI, Akt. I, mit 7% Wasser desaktiviert) chromatographiert, wobei Petroläther (Siedebereich 30–45°) 5,5 g Substanz eluiert.

116 mg dieses Konzentrates ( $\lambda_{\max}$  in Cyclohexan 272 m $\mu$ ,  $E_{1\text{cm}}^{1\%} = \text{ca. } 100$ ) werden auf 10 g Polyäthylpulver (Hostalen W) mit 72-proz. wässrigem Aceton als mobiler Phase chromatographiert. Es werden 100 Fraktionen à 5,5 ml aufgefangen. Die gelbgefärbten Fraktionen 51–70 (275–380 ml) werden vereinigt, mit Wasser verdünnt, mit Petroläther ausgezogen, mit Wasser gewaschen und vom Lösungsmittel befreit. Rückstand 30 mg tief-oranges Öl. UV.-Absorptionsspektrum in Cyclohexan: Min. bei 237 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 69$ ), Max. bei 272 m $\mu$  ( $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 260$ ).

Papierchromatogramm wie im 1. Abschnitt beschrieben. Rf-Wert ebenfalls 0,54. Im Mischchromatogramm mit aus Hefe isoliertem Material keine Auftrennung in verschiedene Flecken.

Das Öl wird aus der 10fachen Menge abs. Alkohol oder Aceton bei  $-15^{\circ}$  kristallisiert. Die Kristalle schmelzen bei 19–20° und geben keine Erniedrigung des Smp. mit Ubichinon aus Hefe.



<sup>5)</sup> W. K. ANSLOW, J. N. ASHLEY & H. RAISTRICK, J. chem. Soc. 1938, 441.

<sup>6)</sup> H. LINDLAR, Helv. 35, 446 (1952).

Die Analysen wurden in der mikroanalytischen Abteilung (Leitung Dr. H. WALDMANN) der F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel, ausgeführt. Die IR.-Absorptionsspektren wurden in der physikalisch-chemischen Abteilung (Leitung Dr. M. KOFLER) von Dr. L. H. CHOPARD-DIT-JEAN aufgenommen.

## SUMMARY

An ubiquinone compound isolated from baker's yeast has been identified as 2,3-dimethoxy-5-methyl-6-all-*trans*-farnesylfarnesyl-1,4-benzoquinone by its total synthesis starting from 2,3-dimethoxy-5-methyl-hydroquinone and all-*trans*-farnesylnerolidol. The name ubiquinone(30) is proposed for this compound.

Forschungsabteilung der  
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co. AG., Basel  
und Department of Biochemistry, University of Liverpool

---

## 250. Reaktionen mit Mikroorganismen

5. Mitteilung<sup>1)</sup>

### Die stereospezifische Reduktion von stereoisomeren Dekalindionen-(1,4)

von P. Baumann und V. Prelog

(11. X. 58)

1. In der 1.<sup>2)</sup>, 3.<sup>3)</sup> und 4.<sup>1)</sup> Mitteilung dieser Reihe haben wir über den sterischen Verlauf der mikrobiologischen Reduktionen von gewissen 9-Methyldekalon-(1)-Derivaten berichtet. In dieser und in den folgenden Mitteilungen möchten wir analoge Versuche mit einigen einfachen, am C-9 nichtmethylierten Dekalon-(1)-Derivaten behandeln. Diese Versuche wurden in der Absicht ausgeführt, weitere Erfahrungen über die Edukt-Selektivität und die Produkt-Stereospezifität bei mikrobiologischen Reaktionen zu sammeln und die Grundlagen für enzymatische Arbeiten auf diesem Gebiete zu schaffen.

Methodisch gingen wir nach dem bei den mikrobiologischen Reaktionen von Steroiden üblichen Verfahren vor, welches wir auch bei früheren analogen Arbeiten verwendeten. Die wachsenden oder «ruhenden» Kulturen<sup>4)</sup> von Mikroorganismen werden zuerst mit kleinen Mengen des Eduktes versetzt, die Kulturfiltrate nach verschiedenen Inkubationszeiten extrahiert und die Extrakte papierchromatographisch untersucht. Wenn die Ergebnisse der papierchromatographischen Untersuchung auf interessante Reaktionsprodukte hinweisen, so wird der Versuch im präparativen Maßstab wiederholt, die Reaktionsprodukte isoliert und ihre Konstitution und Konfiguration (relative und absolute) bestimmt.

---

<sup>1)</sup> 4. Mitt. W. ACKLIN, V. PRELOG & D. ZÄCH, *Helv.* **41**, 1428 (1958).

<sup>2)</sup> V. PRELOG & W. ACKLIN, *Helv.* **39**, 748 (1956).

<sup>3)</sup> W. ACKLIN, D. DÜTTING & V. PRELOG, *Helv.* **41**, 1424 (1958).

<sup>4)</sup> W. ACKLIN, V. PRELOG & A. P. PRIETO, *Helv.* **41**, 1416 (1958).