

136. Die Struktur eines pflanzlichen Chinons mit isoprenoider Seitenkette

von M. Kofler, A. Langemann, R. Rüegg, L. H. Chopard-dit-Jean,
A. Rayroud und O. Isler

Herrn Prof. Dr. P. KARRER zum 70. Geburtstag gewidmet

(25. IV. 59)

Bei der Isolierung von Vitamin K₁ aus Blättern stiess der eine¹⁾ von uns auf eine unbekannte Verbindung, die ein ähnliches chromatographisches Verhalten wie Vitamin K₁ aufweist und ebenso wie dieses mit alkoholischer Lauge eine unbeständige Blaufärbung ergibt (DAM-KARRER-Test). Auf Grund des UV.-Absorptionsspektrums konnte geschlossen werden, dass es sich um ein tri- oder tetrasubstituiertes Benzochinon-Derivat vom ungefähren Molekulargewicht 800 handeln muss. Ein vermeintlich negativer Ausfall des CRAVEN-Tests²⁾ liess seinerzeit ein tetrasubstituiertes Benzochinon-Derivat als wahrscheinlich vermuten. Inzwischen fanden wir, dass die Verbindung einen positiven CRAVEN-Test gibt; der negative Ausfall war offensichtlich durch die schlechte Löslichkeit der Verbindung in wässrigem Alkohol vorgetäuscht worden. Damit wurde für diese Verbindung die Struktur eines tri-substituierten Benzochinon-Derivates wahrscheinlich, eine Annahme, die sich, wie unten gezeigt wird, voll bestätigen liess.

Bei dem Chinon handelt es sich um eine im Pflanzenreich weit verbreitete Substanz. Wir haben verschiedene Blätter auf ihren Gehalt an diesem Chinon untersucht, wobei es sich zeigte, dass er im Laufe des Wachstums stark ansteigt. Die in der Tab. verzeichneten Werte beziehen sich auf Blätter, die im Sommer oder Herbst gepflückt worden waren; diese Werte sind ziemlich grossen Schwankungen unterworfen.

Gehalt der Blätter an Chinon pro kg Trockengewicht

Blätter von	Gehalt g/kg	Blätter von	Gehalt g/kg
Roskastanien, weissblühend . . .	1,6–3,5	Walnuss	2,6
Roskastanien, rotblühend . . .	2,5	Akazien	1,5
Eschen	1,2	Weiden	1,1
Prunus	1,4	Birnen	0,9
Blutbuchen	3,0	Oliven	0,2
Rotbuchen	1,2	Feigen	0,7
Ahorn	3,2	Linden	0,5
Ginkgo	0,8	Eichen	0,9
Pappeln	1,7	Sonnenblumen . . .	0,2
Katalpa	0,4	Spinat	0,2
Platanen	0,9		

¹⁾ M. KOFLER, Festschrift für Emil Christoph Barel, Basel 1946, S. 199; vgl. auch R. H. THOMSON, Naturally Occurring Quinones, London 1957, S. 141.

²⁾ R. CRAVEN, J. chem. Soc. 1931, 1605.

Zur Analyse wurden 100 g des getrockneten Pflanzenmaterials mit Petroläther extrahiert, der Extrakt an Aluminiumoxyd chromatographiert und das Chinon mit Hilfe des DAM-KARRER-Tests quantitativ bestimmt. Bei niedrigem Chinongehalt gelingt es, das etwas leichter eluierbare Vitamin K₁ neben dem Chinon getrennt zu bestimmen. Über ein anderes Verfahren der getrennten Bestimmung berichten STUDER & WINTERSTEIN³⁾. Wie schon früher¹⁾ darauf hingewiesen, fallen die mit dem DAM-KARRER-Test bestimmten Vitamin K₁-Gehalte der Pflanzen um ein Mehrfaches zu hoch aus, wenn die beiden Verbindungen nicht getrennt werden; dasselbe gilt³⁾ auch bei der Bestimmung mit Xanthan-Wasserstoff⁴⁾.

Wie schon oben erwähnt, weisen UV.-Absorptionsspektrum (Fig. 1) und positiver CRAVEN-Test auf die Struktur eines trisubstituierten Benzochinon-Derivates hin.

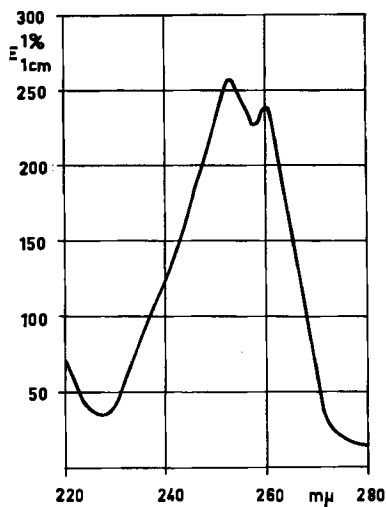


Fig. 1. UV.-Absorptionsspektrum des pflanzlichen Chinons in Petroläther

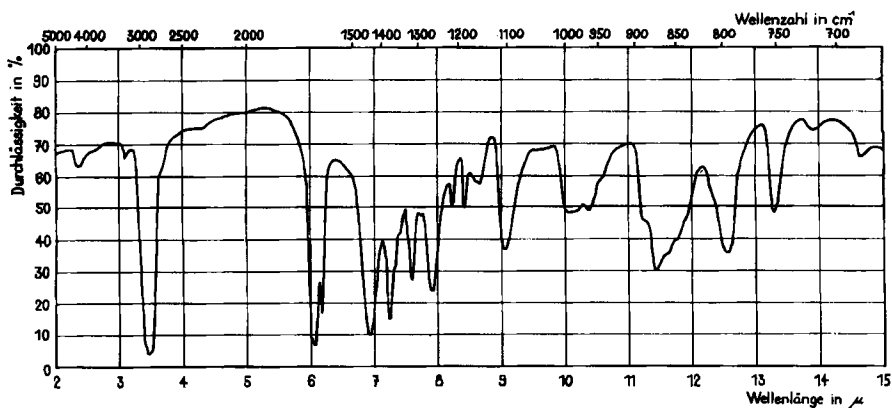


Fig. 2. IR.-Absorptionsspektrum des pflanzlichen Chinons

³⁾ A. STUDER & A. WINTERSTEIN, *Chimia* **13**, 174 (1959).

⁴⁾ K. SCHILLING & H. DAM, *Acta chem. scand.* **12**, 347, 348 (1958).

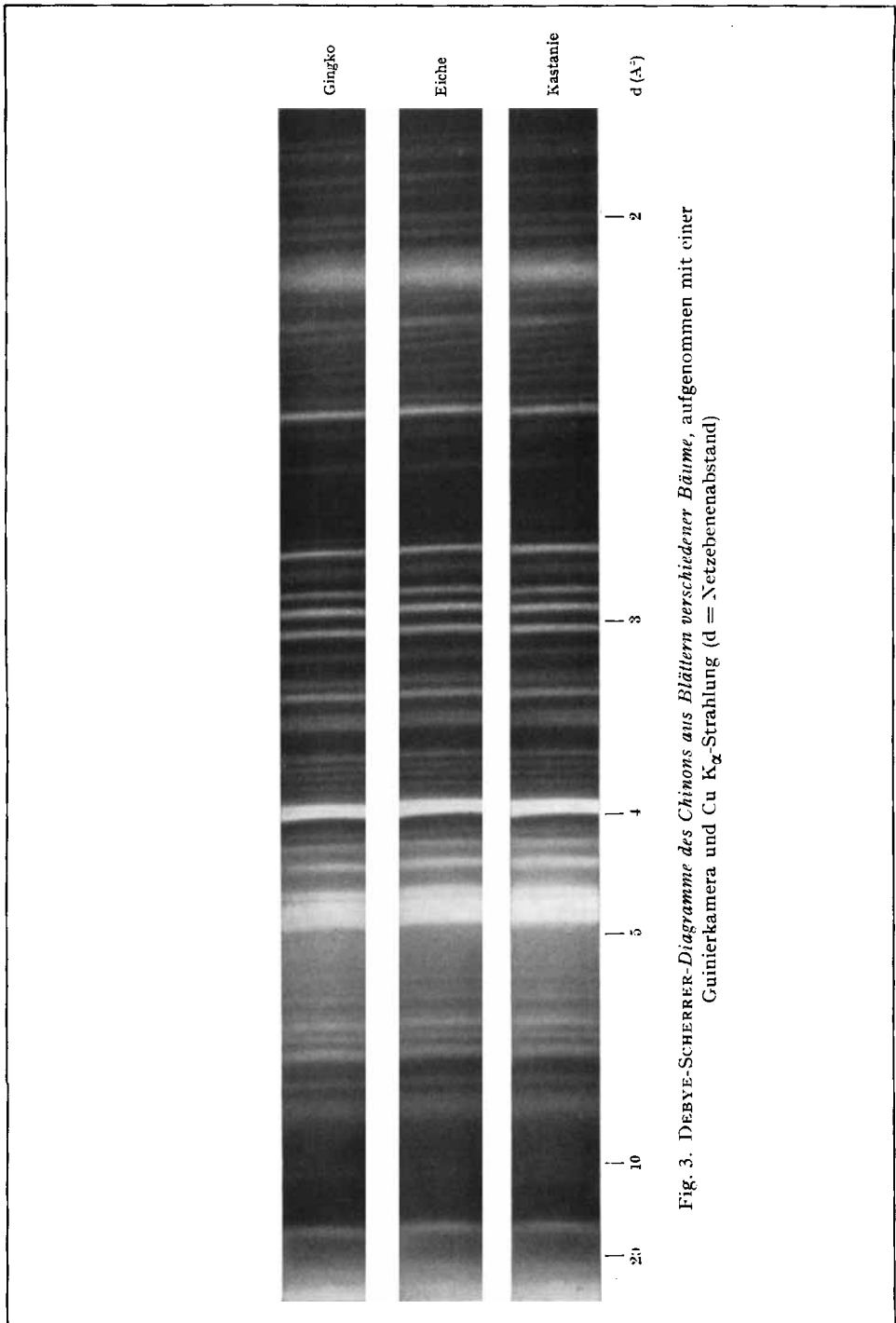


Fig. 3. DEBYE-SCHERRER-Diagramme des Chinons aus Blättern verschiedener Bäume, aufgenommen mit einer Guinierkamera und Cu $K\alpha$ -Strahlung (d = Netzebenenabstand)

Der Nachweis eines an den Chinon-Ring gebundenen Wasserstoff-Atoms gelang auch mit Hilfe der magnetischen Kernresonanz⁵⁾. Aus dem IR.-Absorptionsspektrum (Fig. 2), aufgenommen in festem Zustand, entnimmt man die für Chinone charakteristische Bande bei $6,07 \mu$ und drei starke Banden bei $11,45 \mu$, $12,57 \mu$ und $13,29 \mu$. In letzterer Beziehung besteht eine grosse Ähnlichkeit mit den in festem Zustande aufgenommenen Spektren aus der Vitamin-K₂-Reihe, was auf eine mehrere Einheiten enthaltende all-*trans*-Isoprenkette hindeutet.

Die Mikroanalyse ergab Werte, aus denen sich eine Bruttoformel zwischen $C_{54}H_{76}O_2$ und $C_{62}H_{96}O_2$ berechnen liess. Später konnten wir durch die Resultate des oxydativen Abbaues die Bruttoformel auf $C_{58}H_{88}O_2$ festlegen.

Eine ebullioskopische Molekulargewichtsbestimmung in Benzol ergab den Wert 844 ± 34 in guter Übereinstimmung mit dem aus optischen Daten geschätzten Wert. Die in der vorangehenden Arbeit veröffentlichte Farbtafel⁶⁾ zeigt eine Aufnahme der gelben Kristalle vom Smp. $46-48^\circ$ (unkorr.) im polarisierten Licht.

Wir haben das Chinon aus verschiedenen Pflanzen isoliert und konnten keine Unterschiede chemischer oder physikalischer Natur zwischen den einzelnen Präparaten feststellen. So erwiesen sich (vgl. Fig. 4) auch die DEBYE-SCHERRER-Diagramme des Chinons aus Blättern der Rosskastanie, der Eiche und des Ginkgo-Baumes (s. Tafel) als identisch. Damit dürfte gezeigt sein, dass auch die Länge der Seitenketten im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den K₂-Vitaminen⁷⁾ nicht variiert.

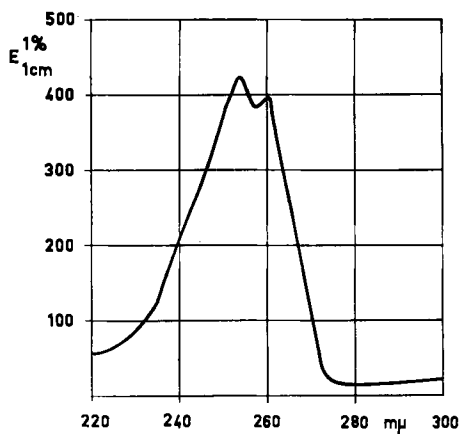


Fig. 4. UV.-Absorptionsspektrum von 2,3-Dimethyl-5-phytyl-benzochinon

Durch katalytische Hydrierung mit LINDLAR-Katalysator liess sich das Chinon in die farblose Dihydro-Form überführen, deren UV.-Absorptionsspektrum ein Maximum bei $290 m\mu$ aufwies. Die Dihydro-Verbindung oxydierte sich sehr leicht an der Luft und liess sich durch Oxydation mit Silberoxyd wieder in das Ausgangs-

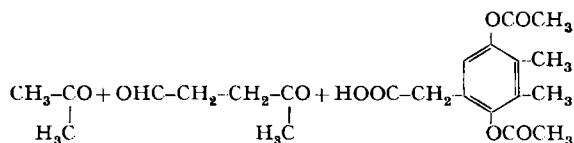
⁵⁾ C. v. PLANTA, E. BILLETER & M. KOFLER, Helv. **42**, 1278 (1959).

⁶⁾ Helv. **42**, 1280 (1959).

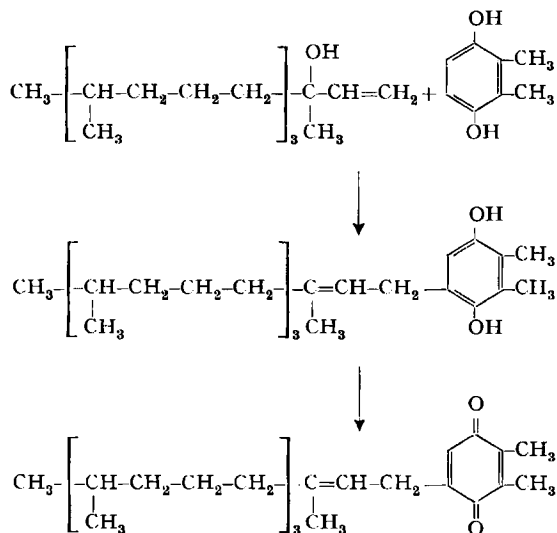
⁷⁾ O. ISLER, R. RÜEGG, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN, A. WINTERSTEIN & O. WISS, Helv. **41**, 786 (1958).

chinon zurückführen. Bei der Reduktion mit Palladium in Eisessig wurde unter Aufnahme von 10,92 Mol. Wasserstoff ein Hydrochinon mit vollständig hydrierten Seitenketten erhalten, das sich ebenfalls zum Chinonsystem rückoxydieren liess (Perhydro-Chinon). Dadurch konnte man auf zehn Doppelbindungen in den Seitenketten schliessen, was auch durch katalytische Hydrierung der Di-O-acetyl-dihydro-Verbindung, die eine Wasserstoffaufnahme von 10,04 Mol. zeigte, bestätigt wurde. Letztere Verbindung wurde aus dem pflanzlichen Chinon durch reduktive Acetylierung als farblose Kristalle erhalten und zeigte im UV.-Spektrum nur eine schwache Absorption bei 265–270 $m\mu$. Das IR.-Absorptionsspektrum zeigte im Vergleich zu demjenigen der Ausgangssubstanz charakteristische Phenylacetat-Banden bei 5,69 μ und 8,60 μ , die C=C-Valenzschwingungsbande bei 6,02 μ und die Absorptionen bei 11,53 μ , 12,64 μ und 13,35 μ einer Vitamin-K₂-ähnlichen isoprenoiden Seitenkette.

Der oxydative Abbau führte zur weiteren Aufklärung der Struktur des pflanzlichen Chinons, wobei wir die Di-O-acetyl-dihydro-Verbindung mit Ozon behandelt haben. Nach reduktiver Spaltung des Ozonides wurden aus den wasserlöslichen Anteilen Aceton und Lävulinaldehyd isoliert, beide als 2,4-Dinitrophenylhydrazin-Derivate, die mit authentischen Derivaten verglichen wurden. Durch oxydative Spaltung des Ozonisationsproduktes erhielten wir aus dem sauren Anteil die kristalline 2,5-Diacetoxy-3,4-dimethyl-phenylessigsäure, womit das Vorhandensein zweier vicinaler Methylgruppen am Ring bewiesen ist.



Zu Vergleichszwecken wurden Modellverbindungen hergestellt und diese zu den entsprechend substituierten Phenylessigsäuren abgebaut. Durch Kondensation von



2,3-Dimethylhydrochinon und Isophytol mit Zinkchlorid erhielt man ein Gemisch von substituierten Hydrochinonen, die durch Oxydation in die entsprechenden Chinone übergeführt wurden. Die chromatographische Trennung ergab 2,3-Dimethyl-5-phytyl-benzochinon und 2,3-Dimethyl-5,6-diphytyl-benzochinon. Das UV.-Absorptionsspektrum des ersteren (Fig. 4) zeigte sehr grosse Ähnlichkeit mit demjenigen des pflanzlichen Chinons, doch liess es sich von den Spektren der Isomeren und anderen Trialkyl-benzochinonen kaum unterscheiden. Zur Darstellung der substituierten Phenylelessigsäure wurde 2,3-Dimethyl-5-phytyl-benzochinon reduktiv acetyliert, mit Ozon behandelt und das Ozonid oxydativ gespalten, wobei man die 2,5-Diacetoxy-3,4-dimethyl-phenylelessigsäure erhielt, die sich nach Smp., Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum mit der Abbausäure des pflanzlichen Chinons als identisch erwies.

Ein weiterer Vergleich ergab sich aus der Darstellung des 2,3-Dimethyl-5-(dihydro-phytyl)-benzochinons, dessen IR.-Absorptionsspektrum mit dem Spektrum des Perhydro-Chinons grosse Ähnlichkeit aufwies in bezug auf die Lage und Form der Banden (Fig. 5). Die relativen Intensitäten sind jedoch verschieden und deuten auf eine längere substituierte Paraffinkette beim Perhydro-Chinon.

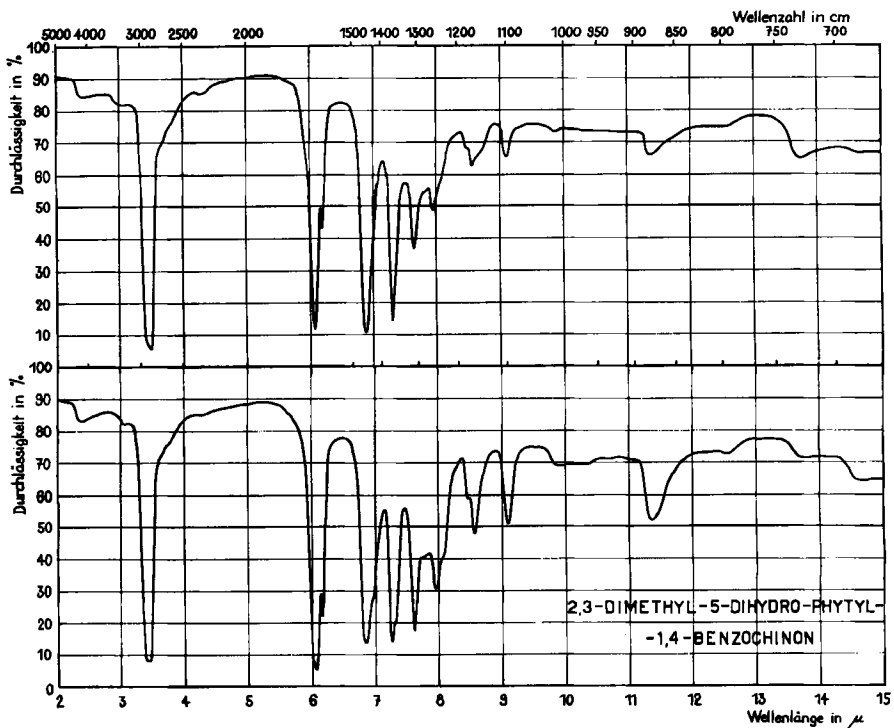
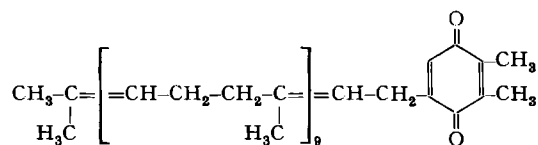


Fig. 5. IR.-Absorptionsspektren von Perhydro-Chinon und 2,3-Dimethyl-5-(dihydro-phytyl)-benzochinon

Alle unsere Befunde sprechen für die folgende Struktur⁸⁾ des pflanzlichen Chinons:



Diese steht in naher Beziehung zu dem von ROWLAND⁹⁾ isolierten Solanachromen.

Experimenteller Teil¹⁰⁾

Analyse des Pflanzenmaterials. 100 g des bei 40° getrockneten und pulverisierten Pflanzenmaterials werden mit 500 ml Petroläther¹¹⁾ bei Zimmertemperatur durch 2stündiges Schütteln extrahiert, abgenutscht und nachgewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum auf 50–100 ml eingengt und an saurem Aluminiumoxyd chromatographiert. (Das Oxyd muss, wegen der grossen Alkali-Empfindlichkeit des Chinons, unbedingt sauer sein. Wir verwenden für analytische Zwecke Aluminiumoxyd «WOELM» sauer, Aktivitätsstufe I, und deaktivieren mit 8% Wasser.) Ein Chromatogramm-Rohr von 3 cm lichter Weite wird mit 150 ml desaktiviertem Aluminiumoxyd beschickt und die Carotin-Fraktion mit Petroläther eluiert. Dann wird mit einer Mischung von Petroläther-Benzol 10:1 weiter eluiert unter Auffangen des Eluates in 100 ml-Messkölbchen. Je 5 ml der 100 ml Eluate werden vom Lösungsmittel befreit, in 2 ml abs. Alkohol aufgenommen und mit 0,5 ml einer 10-proz. Lösung von KOH in Methanol versetzt. Bei Anwesenheit von Chinon tritt sofort eine Blaufärbung auf. Die Chinon-haltigen Eluate werden vereinigt. Zur quantitativen Analyse wird ein aliquoter Teil vom Lösungsmittel befreit, in 3,5 ml einer 70-proz. Lösung von abs. Alkohol in Propylenglykol aufgenommen, mit 1 ml einer 5-proz. Lösung von KOH in Methanol-Propylenglykol 1:1 versetzt, sofort in die Messcuvette eingefüllt und die maximale Extinktion bei 580 m μ (nach ca. 60 Sek. erreicht) gegen eine Blindlösung abgelesen. Zur Extinktionsmessung verwenden wir ein Spektrophotometer BECKMAN, Modell B. Die Eichkurve wurde mit reinstem Chinon aufgenommen. Im Bereich von 0,1 bis 0,9 mg Chinon erhielten wir eine lineare Extinktionskurve von $E \cong 0,1$ bis 1. Die Gehaltsbestimmung erfolgt unter Berücksichtigung der zur qualitativen Analyse eingesetzten 5%.

Soll Vitamin K₁ gesondert bestimmt werden (der Gehalt ist relativ zum Chinon meist so klein, dass er die Chinon-Bestimmung, wie sie oben angegeben wurde, nicht wesentlich beeinflusst), so empfiehlt es sich, zur chromatographischen Trennung eine Petroläther-Benzol-Mischung zu verwenden, die nur 2–5% Benzol enthält. Der qualitative Nachweis von Vitamin K₁ und Chinon in den Eluaten (Vitamin K₁ wird etwas leichter eluiert als das Chinon) kann analog wie oben angegeben vorgenommen werden; dabei erhält man für Vitamin K₁ eine schwächere Blaufärbung als für das Chinon, die maximale Farbintensität wird jedoch erst in 8–9 Min. erreicht gegenüber 20–30 Sek. für das Chinon (ohne Zusatz von Propylenglykol). Wesentlich empfindlicher ist der Nachweis von Vitamin K₁ (nicht von Chinon) nach IRREVERRE-SULLIVAN¹²⁾. Dazu werden je 5 ml der Eluate vom Lösungsmittel befreit, in 2 ml abs. Alkohol aufgenommen, mit 2 ml Na-Diäthylthiocarbamatlösung (5-proz. in abs. Alkohol) und 1 ml Na-Alkoholatlösung (2 g Na

⁸⁾ Während sich unsere Publikation im Druck befand, ist aus den Laboratorien der MERCK & Co., USA, eine Arbeit über ein pflanzliches Chinon erschienen. Es handelt sich sehr wahrscheinlich auf Grund des Vorkommens, Smp. und UV.-Absorptionsspektrums um dasselbe Chinon, doch schlagen die amerikanischen Bearbeiter eine kürzere Seitenkette vor. N. R. TRENNER, B. H. ARISON, R. E. ERICKSON, C. H. SHUNK, D. E. WOLF & K. FOLKERS, J. Amer. chem. Soc. **81**, 2026 (1950).

⁹⁾ R. L. ROWLAND, J. Amer. chem. Soc. **80**, 6130 (1958).

¹⁰⁾ Alle Smp. sind unkorrigiert. – Die UV.-Absorptionsspektren wurden mit einem registrierenden BECKMAN-Spektrophotometer, Modell DK 1, aufgenommen; Lösungsmittel Petroläther (Siedebereich 80–105°); es wird in der Regel nur das Hauptmaximum angegeben. Die IR.-Absorptionsspektren wurden mit einem PERKIN-ELMER-Zweistrahl-Spektrophotometer, Modell 21, aufgenommen.

¹¹⁾ Wenn nicht anders vermerkt, wurde Petroläther vom Siedebereich 40–45° verwendet.

¹²⁾ F. IRREVERRE & M. X. SULLIVAN, Science **94**, 497 (1941).

zu 100 ml mit abs. Alkohol) versetzt. Vitamin K₁ und Chinon geben eine Blaufärbung, die beim Vitamin K₁ wesentlich langsamer erscheint und stabiler ist als beim Chinon. Bei guter chromatographischer Trennung, die möglich ist, wenn vergleichbare Mengen der beiden Stoffe vorhanden sind, sollen die Eluate, die der Zwischenzone entsprechen, vollständig negativ sein. Die positiven Eluate von Vitamin K₁ werden vereinigt; ein aliquoter Teil wird wie bei der qualitativen Prüfung angegeben behandelt und das Maximum der Extinktion bei 580 m μ bestimmt (nach 4–5 Min. erreicht). Die Eichkurve, aufgenommen mit reinem Vitamin K₁, ergab einen linearen Verlauf im Gebiete von 0,1 bis 0,9 mg Vitamin K₁ mit Extinktionen $E \cong 0,17$ bis 1,35. Der Chinon-Gehalt wird wie oben angegeben bestimmt.

Isolierung des pflanzlichen Chinons. Die bei ca. 40° getrockneten Blätter werden fein pulvriert und 25 kg des Pulvers mit 125 l Petroläther bei Raumtemperatur durch einfaches Rühren über Nacht extrahiert, abgutscht und mit einigen l Petroläther nachgewaschen. Die Lösung wird im Vakuum auf 1–2 l eingengt und in Zentrifugenbecher abgefüllt. Nach dem Stehen über Nacht bei –10° wird zentrifugiert und dekantiert (auf ein Extrahieren des merkliche Mengen Chinon enthaltenden wachsartigen Rückstandes wurde im Gegensatz zu früher¹⁾ verzichtet). Falls nur wenig Dekantat erhalten wird, ist der Rückstand erneut in mehr Petroläther zu lösen, die Lösung auszufrieren und zu zentrifugieren. Das Dekantat wird in 3–4 Portionen an je 8 kg Aluminiumoxyd chromatographiert (Aluminiumoxyd sauer, Aktivitätsstufe I, «WOELM» oder «GIULINI», mit 8% Wasser desaktiviert).

Man eluiert die Carotin-Fraktion mit Petroläther und prüft anschliessend mit alkoholischer Lauge auf das Chinon. Dazu werden Proben von einigen ml entweder vom Lösungsmittel befreit und in ca. 2 ml Alkohol aufgenommen oder man verdünnt die Probe direkt mit Alkohol und versetzt mit alkoholischer Lauge (10-proz. KOH in Methanol). Bei Anwesenheit von Chinon tritt in wenigen Sek. eine Blaufärbung auf. Falls viel Ballast vorhanden ist, wird die Chinon-Zone schon mit Petroläther eluiert, andernfalls eluiert man mit einer Mischung Petroläther-Benzol 10:1.

Die Chinon-haltigen Eluate werden vereinigt und erneut chromatographiert. Bei gut gelungener Chromatographie ist es in der Regel möglich, das Chinon direkt aus Petroläther zu kristallisieren. Dazu werden die Chinon-haltigen Eluate vereinigt, zur Entfernung des Benzols im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rückstand in ca. 1/2 l Petroläther gelöst und die Fällung durch Kühlen mit Trockeneis-Aceton eingeleitet. Nach dem Stehenlassen bei –10° über Nacht wird abfiltriert und erneut (evtl. mehrmals) aus Petroläther bei tiefer Temperatur umkristallisiert. Fällt das Chinon ölig aus, so ist erneut zu chromatographieren. Je nach der Güte der chromatographischen Trennung erhält man 50–80% des analytisch bestimmten Chinongehaltes.

Zur Gewinnung eines Analysen-Präparates wurden 623 mg kristallines Material an der 50-fachen Menge Polyäthylenpulver (Hostalen W¹³) mit 85-proz. wässrigem Aceton chromatographiert und Fraktionen à 12 ml genommen. Nach 40 Fraktionen wurde auf 90-proz. wässriges Aceton gewechselt und weitere 75 Fraktionen aufgefangen. Das Chinon fiel aus den Fraktionen 55–95 in hellgelben Blättchen vom Smp. 46–48° an (432 mg). $[\alpha]_D^{25} = 0,00^\circ$ (in Benzol), UV.-Absorptionsmaxima 254 m μ ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 253 \pm 2\%$), 261 m μ ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 232 \pm 2\%$) und 314 m μ ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 11$), s. Fig. 1, IR.-Absorptionsspektrum s. Fig. 2.

C₅₈H₈₈O₂ Ber. C 85,23 H 10,85 O 3,92% Gef. C 85,13 H 10,82 O 4,04%

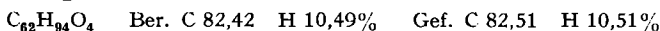
Konstitution des Chinons. – CRAVEN-Test. Das Chinon wurde in abs. Alkohol durch Erhitzen teilweise gelöst. Zur abgekühlten Lösung gab man Cyanessigsäure-äthylester in NH₃-Alkohol, worauf sofort eine blaue Färbung entstand. Tetrasubstituierte Chinone, wie Durochinon und Trimethyl-phytyl-benzochinon, gaben keine Färbung, während bei Trimethyl-benzochinon und 2-Methylnaphthochinon diese Probe sofort positiv ausfiel.

Reduktion und Reoxydation des Chinons. 150 mg Chinon wurden in 20 ml Äther gelöst, mit 100 mg LINDLAR-Katalysator¹⁴⁾ versetzt und hydriert, bis die gelbe Farbe verschwunden war. Die vom Katalysator abfiltrierte Lösung wurde mit 300 mg Silberoxyd eine Std. geschüttelt, filtriert und eingedampft. Den gelben Rückstand löste man in wenig Petroläther, filtrierte durch etwas Silicagel und erhielt nach dem Abdampfen des Lösungsmittels 128 g eines gelben Öles, das beim Stehen kristallisierte. Das UV.-Absorptionsspektrum war identisch mit demjenigen des Ausgangsmaterials.

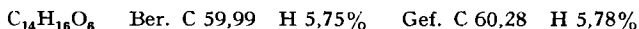
¹³⁾ FARBERWERKE HOECHST A.G., Frankfurt a. Main/Hoechst.

¹⁴⁾ H. LINDLAR, Helv. 35, 446 (1952).

Di-O-acetyl-dihydro-chinon. 1,80 g Chinon in 50 ml Petroläther wurden mit 0,50 g LINDLAR-Katalysator hydriert, bis die Lösung farblos war. Diese versetzte man mit 10 ml wasserfreiem Pyridin, 10 ml Acetanhydrid und 20 ml trockenem Äther und liess über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurde vom Katalysator abfiltriert und das Filtrat bei 60° im Vakuum eingedampft. Den Rückstand löste man in Äther, extrahierte mit 3-n. Schwefelsäure, 2-proz. Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser und dampfte die ätherische Lösung nach dem Trocknen über Natriumsulfat im Vakuum ein, wobei man ein gelbliches, zähes Öl erhielt. Durch Chromatographie an Silicagel wurde aus den Petroläther-Benzol- und Benzol-Eluaten die Di-O-acetyl-dihydro-Verbindung kristallin erhalten, die nach Umlösen aus Aceton-Methanol bei 54–56° schmolz (1,75 g), $([\alpha]_D^{25} = 0,00$ in Benzol).



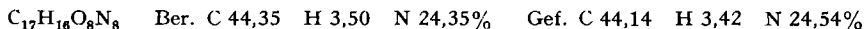
Ozonisierung des Di-O-acetyl-dihydro-chinons. – *A. Isolierung von 2,5-Diacetoxy-3,4-dimethylphenyllessigsäure*. In die Lösung von 900 mg Di-O-acetyl-dihydro-chinon, Smp. 54–56°, in 30 ml Essigester wurde bei 0° während 2 Std. ein Sauerstoffstrom mit ca. 4% Ozon geleitet. Das Reaktionsgemisch versetzte man mit 1,2 ml 30-proz. Wasserstoffperoxydlösung und 5 ml Eisessig und liess die Lösung 18 Std. bei Zimmertemperatur stehen. Nach Zusatz von 50 ml Wasser wurde mit Äther extrahiert. Die Ätherauszüge wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung ausgeschüttelt. Diese wurde mit 3-n. Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgezogen. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat und Eindampfen erhielt man 292 mg Säuren als gelbliches zähes Öl, das aus Äther in der Kälte 21 mg farblose Nadeln gab. Die aus Äther-Petroläther umkristallisierte 2,5-Diacetoxy-3,4-dimethylphenyllessigsäure schmolz bei 146–147°, $\lambda_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 2,93, 5,72, 5,82, 6,21, 6,78, 7,05, 7,34, 8,13, 8,50, 9,35, 9,44 μ .



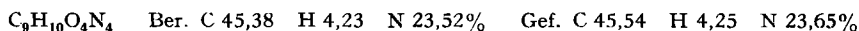
Aus den Mutterlagen konnten durch Chromatographie an Silicagel mit Äther noch weitere 9 mg der Säure mit Smp. 145–146° gewonnen werden.

B. Isolierung von Lävulin-aldehyd und Aceton. 900 mg Di-O-acetyl-dihydro-chinon wurden in 30 ml Essigester gelöst und, wie oben beschrieben, 30 Min. ozonisiert. Die Lösung versetzte man mit 20 ml Eisessig und gab während 30 Min. 4 g Zinkstaub in kleinen Portionen unter Schütteln zu, worauf die KJ-Probe negativ ausfiel. Nachdem das Reaktionsgemisch 1,5 Std. bei Zimmertemperatur gestanden hatte, wurde in eine gekühlte Vorlage abgenutscht, mit 20 ml Äther nachgewaschen und aus dem Filtrat alles Leichtflüchtige bei einer Badtemperatur bis 110° abdestilliert.

Den Destillationsrückstand versetzte man mit 50 ml Äther, extrahierte viermal mit 15 ml Wasser und versetzte die vereinigten wässrigen Auszüge mit einer Lösung von 4 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 200 ml 6-n. Schwefelsäure. Nach 20 Std. wurde das ausgefallene Dinitrophenylhydrazon abgenutscht und mit 40 ml Methanol, dann 100 ml Chloroform ausgekocht, wobei nach dem Abkühlen jeweils abgenutscht wurde. Das Produkt wurde aus Chloroform umgelöst, Smp. 241–243°, 0,59 g, und gab mit einem authentischen Präparat von Lävulin-aldehyd-bis-2,4-dinitrophenylhydrazon keine Smp.-Erniedrigung. Auch die IR.-Absorptionsspektren der beiden Präparate in KBr waren identisch.

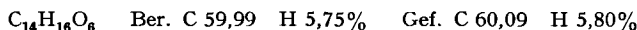


Das oben erwähnte Destillat, welches die mit Äther flüchtigen Anteile enthielt, wurde dreimal mit 10 ml 10-proz. Natriumhydrogensulfatlösung extrahiert, die vereinigten wässrigen Auszüge mit 2,5 g Kaliumhydroxyd in 12 ml Wasser versetzt und ca. ein Drittel in eine gut gekühlte Vorlage destilliert. Man setzte das Destillat mit einer Lösung von 200 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 30 ml 6-n. Schwefelsäure um. Nach 20 Std. bei Zimmertemperatur wurde das ausgefallene Dinitrophenylhydrazon abgenutscht und zweimal aus Methanol umgelöst, wobei man 43 mg orange Nadeln vom Smp. 122–124° erhielt, die mit authentischem Aceton-2,4-dinitrophenylhydrazon keine Smp.-Erniedrigung zeigten. Im Papierchromatogramm verhielt sich die rohe Fällung des aus natürlichem Material gewonnenen Aceton-2,4-dinitrophenylhydrazons in zwei Lösungsmittelsystemen einheitlich und gleich wie das synthetische. Auch die IR.-Absorptionsspektren der beiden Präparate in KBr waren identisch.

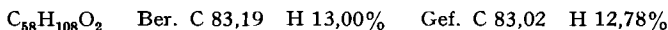


2,3-Dimethyl-5-phytyl-benzochinon. 6 g o-Xylochinon¹⁵) in 250 ml Äther wurden mit 0,65 g LINDLAR-Katalysator bei Zimmertemperatur hydriert, bis die Wasserstoffaufnahme beendet war. Dann wurde filtriert, mit Äther nachgewaschen und das Lösungsmittel im Vakuum abgedampft, wobei ein kristallines Rohprodukt vom Smp. 215–217° gewonnen wurde. Zur Kondensation löste man das Hydrochinon in 300 ml trockenem Äther, versetzte mit 11 g Isophytol, 2,9 g wasserfreiem Zinkchlorid und 0,4 ml Eisessig, schüttelte das Reaktionsgemisch über Nacht bei Zimmertemperatur und kochte hierauf noch 1,5 Std. unter Rückfluss. Dann wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 400 ml Petroläther und 150 ml 75-proz. Methanol gelöst und die Petrolätherlösung noch einmal mit 150 ml 75-proz. Methanol ausgeschüttelt. Nach dem Waschen und Trocknen dampfte man die Petrolätherlösung im Vakuum ein und erhielt ein gelbliches, zähes Öl. Dies wurde in 200 ml Äther gelöst, mit 20 g Silberoxyd 2 Std. bei Zimmertemperatur geschüttelt, filtriert und der Äther abgedampft. Das dunkelgelbe Rohprodukt (12,1 g) wurde an einer Säule von 400 g Silicagel chromatographiert. Dabei eluierten 7 l Petroläther 0,7 g farbloses Öl, das verworfen wurde. Weitere 7 l Petroläther ergaben 1,7 g 2,3-Dimethyl-5,6-diphytyl-benzochinon als gelbes Öl mit UV.-Absorptionsmaxima bei 258 μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 198$) und 267 μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 201$). Mit 4 l 50-proz. Benzol-Petroläther wurden 7,2 g eines dunkelgelben Öles erhalten, das an 20 g Polyäthylpulver (Hostalen W) mit 85-proz. wässrigem Aceton chromatographiert wurde. Aus 1,3 l Eluat erhielt man nach Verdünnen mit Wasser und Ausziehen mit Petroläther aus letzterem 5,5 g dunkelgelbes Öl. Davon wurden 4,0 g an 200 g Hostalen W mit 75-proz. wässrigem Aceton chromatographiert, wobei in 1,25 l Eluat die fast farblosen Verunreinigungen erhalten wurden. Mit 300 ml Aceton eluierte man 1,5 g 2,3-Dimethyl-5-phytyl-benzochinon als dunkelgelbes Öl. UV.-Absorptionsmaximum bei 254 μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 430$) s. Fig. 4; $\lambda_{\text{max}}^{\text{flüssig}}$ 6,07, 6,18, 6,85, 7,27, 7,63 μ .

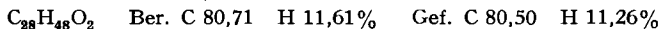
2,5-Diacetoxy-3,4-dimethyl-phenylelessigsäure. Di-O-acetyl-2,3-dimethyl-5-phytyl-hydrochinon wurde auf gleiche Weise, wie beim Chinon beschrieben, hergestellt. 1,08 g Rohprodukt, das ein farbloses Öl bildete, wurden in 30 ml Essigester gelöst und bei 0° während 2 Std. mit einem Sauerstoffstrom mit ca. 4-proz. Ozon behandelt. Die Lösung versetzte man 0,3 ml 30-proz. Wasserstoffperoxydlösung und 5 ml Eisessig und liess sie 18 Std. bei Zimmertemperatur stehen. Die Säure wurde, gleich wie beim Chinon beschrieben, aufgearbeitet und gab nach dem Eindampfen der Ätherauszüge hellbraune Kristalle. Durch Umlösen aus Äther-Pentan und Äther erhielt man 82 mg 2,5-Diacetoxy-3,4-dimethyl-phenylelessigsäure als farblose Nadeln vom Smp. 146–147°, die sich auf Grund von Misch-Smp. und IR.-Absorptionsspektrum mit der aus dem Di-O-acetyl-dihydrochinon erhaltenen Säure als identisch erwies.



Perhydrochinon. 0,40 g Chinon in 40 ml Eisessig suspendiert wurden mit 0,20 g 5-proz. Palladium-Bariumsulfat bei Zimmertemperatur hydriert, bis die Wasserstoffaufnahme beendet war (ca. 3 Std.). Dann wurde vom Katalysator abfiltriert, das Filtrat mit 150 ml Wasser versetzt und mit Petroläther extrahiert. Man schüttelte die Petrolätherauszüge noch mit wenig Wasser aus, trocknete über Natriumsulfat und dampfte das Lösungsmittel ab. Der fast farblose zähe Rückstand wurde in 100 ml Äther gelöst, mit 1,5 g Silberoxyd 2 Std. geschüttelt, filtriert und eingedampft, wobei man ein gelbes Öl erhielt, das an 10 g Silicagel chromatographiert wurde. Mit 1-proz. Benzol-Petroläther eluierte man 0,28 g gelbes Öl. UV.-Absorptionsmaximum bei 255 μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 241$), IR.-Absorptionsspektrum s. Fig. 5.



2,3-Dimethyl-5-(dihydro-phytyl)-benzochinon. 0,50 g 2,3-Dimethyl-5-phytyl-benzochinon in 20 ml Eisessig wurden mit 0,20 g 5-proz. Palladium-Bariumsulfat, wie für das Chinon beschrieben, hydriert und mit Silberoxyd zum entsprechenden Chinon oxydiert. Durch Chromatographie an Silicagel erhielt man 0,35 g 2,3-Dimethyl-5-(dihydro-phytyl)-benzochinon als gelbes Öl. UV.-Absorptionsmaximum bei 254 μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 443$), IR.-Absorptionsspektrum s. Fig. 5.



¹⁵) O. H. EMERSON & L. I. SMITH, J. Amer. chem. Soc. **62**, 141 (1940).

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung Dr. A. DIRSCHERL) ausgeführt. Wir danken den Herren Dr. F. BURKHARDT für die Bestimmung des Molekulargewichtes und der Drehungen, Dr. H. WALDMANN für die Aufnahme des Kristallbildes und Dr. C. VON PLANTA für die Aufnahme der DEBYE-SCHERRER-Diagramme.

SUMMARY

The isolation of a new quinone from leaves is described. Its structure has been established as an *o*-dimethylbenzoquinone derivative with a vitamin K₂-like isoprenoid side chain of 50 carbon atoms.

Chemische Forschungsabteilung der
F. HOFFMANN-LA ROCHE & Co., AG., Basel

137. Hemmung der Bernsteinsäure-Cytochrom-c-Reduktase und deren Reaktivierung durch isoprenartige Verbindungen

von F. Weber und O. Wiss

(25. IV. 59)

Frühere Untersuchungen¹⁾ haben ergeben, dass die Bernsteinsäure-Cytochrom-c-Reduktase, die nach einer von NASON & LEHMAN²⁾ beschriebenen Methode durch Isooctan-Behandlung inaktiviert worden ist, durch Zusatz isoprenartiger Verbindungen reaktiviert werden kann. Es wurde festgestellt, dass dieser Effekt der Vitamine E, K₁, K₂ und des Ubichinons unabhängig vom Redoxsystem ist.

Diese Reaktivierung durch Isoprenabkömmlinge wird durch deren Kettenlänge modifiziert. Eine deutliche Abhängigkeit liess sich in der Reihe der Isoprenologen der Vitamine K₁ und K₂ nachweisen; das Maximum der Wirksamkeit liegt bei 20 bzw. 25 Kohlenstoffatomen³⁾.

NASON und Mitarbeiter⁴⁾ haben angenommen, dass der Inaktivierung der Cytochrom-c-Reduktase durch Isooctan-Behandlung eine Extraktion von Lipiden zugrunde liegt, die für den Elektronentransport in der Atmungskette benötigt werden. Diese Hypothese wird vor allem dadurch gestützt, dass auch durch Zusatz des mit Isooctan extrahierten Materials eine Reaktivierung zustande kommt.

DEUL *et al.*⁵⁾ hingegen vermuteten, dass die Inaktivierung von Enzymsystemen der Atmungskette durch Isooctan-Behandlung möglicherweise nicht auf eine Extraktion von Lipiden, sondern auf eine Adsorption von Isooctan an die Enzymoberfläche zurückzuführen ist. Tocopherol und andere fettlösliche Substanzen würden demnach durch Desorption des Isooctans von der Enzymoberfläche reaktivieren.

¹⁾ F. WEBER, U. GLOOR & O. WISS, *Helv.* **41**, 1038 u. 1046 (1958).

²⁾ A. NASON & I. R. LEHMAN, *Science* **122**, 19 (1955); *J. biol. Chemistry* **222**, 511 (1956).

³⁾ F. WEBER & O. WISS, *Helv.* **42**, 217 (1959).

⁴⁾ K. O. DONALDSON, A. NASON, I. R. LEHMAN & A. NICKON, *J. biol. Chemistry* **233**, 566 (1958); K. O. DONALDSON, A. NASON & R. H. GARRETT, *ibid.* **233**, 572 (1958).

⁵⁾ D. DEUL, E. C. SLATER & L. VELDSTRA, *Biochim. biophys. Acta* **27**, 133 (1958).